

## Подсекция «АНТРОПОЛОГИЯ»

### Сравнительное исследование когнитивных способностей павианов гамадрилов (*Papio hamadryas*) и макаков резусов (*Macaca mulatta*) при решении задач на манипуляционную активность

*Аникаев Алексей Евгеньевич*

*НИИ медицины приматологии РАНН, Сочи, Россия*

*mg\_anykey@mail.ru, anilk.a.ev.anykey@gmail.com*

Приматы отличаются наибольшим морфологическим разнообразием из всех млекопитающих. Их современные представители демонстрируют основные ступени эволюции отряда. Исследование приматов играет важную роль в реконструкции ранних стадий антропогенеза. Не последнее место в данной проблеме занимает изучение манипуляционной активности, как основы орудийной деятельности, когнитивных способностей и интеллекта.

Целью данной работы являлось сравнительное исследование когнитивных способностей павианов гамадрилов (*Papio hamadryas*) и макаков резусов (*Macaca mulatta*) при решении задач на манипуляционную активность.

В качестве объекта исследования использовались полуторагодовалые обезьяны: 11 павианов гамадрилов и 10 макаков резусов. Использовались следующие тесты: притягивание приманки за веревку (String-Pulling), прозрачный экран (с предъявлением приманки поочередно с правой (R) и левой (L) стороны), прозрачная трубка (опыт Йеркса).

Были получены следующие результаты. По макакам резусам: тест притягивание приманки — из 8 приступивших, 5 справились с задачей; прозрачный экран (R) — из 7 приступивших, 4 дали верное решение; прозрачный экран (L) — 7 приступивших, 2 дали верное решение; прозрачная трубка — 5 приступивших, 0 верных решений. По павианам гамадрилам: тест притягивание приманки — из 10 приступивших, 7 справились с задачей; прозрачный экран (R) — из 11 приступивших, 3 дали верное решение; прозрачный экран (L) — 7 приступивших, 3 дали верное решение; прозрачная трубка — 9 приступивших, 0 верных решений.

В целом можно заключить, что и павианы гамадрилы и макаки резусы обладают определенными способностями к решению данных задач на манипуляционную активность. Видно небольшое преимущество павианов гамадрилов, за исключением теста прозрачный экран, здесь наблюдается некоторое отставание. Преимущество павианов наблюдается и в других аспектах: общей активности, исследовательской деятельности, скорости адаптации к условиям экспериментальной клетки.

### Диагностика продольного плоскостопия

*Антанович Алла Александровна*

*Белорусский государственный педагогический университет имени М.Танка, Минск, Беларусь*

*asay1990@mail.ru*

Стопа человека представляет собой очень сложный механизм, имеющий сводчатую конструкцию, обладающий гибкостью и эластичностью. Сводчатое строение стопы отсутствует у всех других животных, включая антропоидов, и является характерным признаком для человека, обусловленным прямохождением. В последние годы увеличивается количество студентов с нарушениями опорно-двигательного аппарата. Среди молодежи распространенным является такое заболевание как плоскостопие — изменение формы стопы, характеризующееся опущением её продольного и поперечного сводов.

Цель нашей работы — диагностика продольного плоскостопия у студентов 3-го курса факультета естествознания БГПУ. Для определения продольного плоскостопия существуют визуальный, измерительный (подометрический, плантографический), рентгенографический, оптический методы. Нами были проанализированы с помощью плантографического метода И.М. Чижина отпечатки стоп 120 студентов.

В результате проведенной работы установлено, что 58 % юношей имеют нормальную стопу, 42 % — уплощенную стопу. Студентов с плоской стопой в исследуемой выборке

не выявлено. Среди девушек 76% имеют нормальную стопу, 22,2 % — уплощенную стопу и 1,8 % — плоскую стопу.

Полученные экспериментальные данные легли в основу написания курсовой и дипломной работы, включающей гигиенические рекомендации и комплекс упражнений по профилактике плоскостопия у студентов.

**Физическое развитие и адаптационные возможности школьников  
в городской среде (Минск)**

*Демченко Мария Александровна*

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*karamelka134@yandex.ru*

В 2011-2012 гг. автор исследовала 116 мальчиков и 117 девочек в возрасте 8, 13 и 17 лет, проживающих в Минске — самом урбанизированном городе республики. Исследование проводилось по традиционной антропологической методике, программа включала измерение длины и массы тела, функциональных показателей сердечно-сосудистой системы (артериальное давление, частота сердечных сокращений, адаптационный потенциал, рассчитанный по формуле Р.М. Баевского и сотрудников).

Анализ половозрастной динамики показателей физического развития показал, что у девочек в 8 лет длина и масса тела несколько меньше, чем у мальчиков. С завершением полового созревания к 13 годам у девочек в основном заканчивается ускоренный продольный рост тела, в результате чего длина и масса тела превышает данные показатели у мальчиков, у которых к этому времени половое созревание только начинается. К 17 годам длина тела у юношей значительно превышает на 15,97 см данные показатели девушек, а масса тела — на 15,92 кг.

Избыток массы тела наблюдается среди девочек в 8 (29 %) и 13 лет (13,6 %), а среди мальчиков — только в возрасте 8 лет (10,53 %). Становление гормонального статуса женского организма приводит к более гармоничному формированию подкожного жира отложения, среди девушек постепенно снижается частота случаев с избыточной массой тела, исчезают случаи ожирения. Частота случаев избытка массы тела среди мальчиков изменяется в том же направлении, но к 17-ти годам, вследствие дифференциации соматотипа по мужскому варианту с более выраженной массой скелетной мускулатуры, среди юношей в 2 раза чаще встречается повышенная масса тела.

В начале процесса обучения (8 лет) несколько чаще наблюдаются случаи напряжения адаптационных возможностей среди девочек. В дальнейшем учащиеся становятся более адаптированными к учебному процессу. При сравнении средних показателей адаптационного потенциала школьников, исследованных в 2011-2012 гг. и в начале 2000-х годов, отмечено снижение уровня этого показателя у детей и молодежи обоего пола по сравнению с их ровесниками 2000-х годов. Положительная динамика уровня адаптационного потенциала у школьников может быть обусловлена улучшением социальных условий жизни за последнее десятилетие.

**Анализ нового палеоантропологического материала из раскопок 2011-2012 года  
на территории Краснодарского края**

*Кожина Екатерина Анатольевна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*e\_kozhina@mail.ru*

В настоящее время Краснодарский край является одним из регионов, на территории которого идут наиболее интенсивные археологические раскопки. Крайне быстрые темпы работ не всегда позволяют обеспечить хранение и должное исследование антропологического материала. Это приводит к тому, что в конце сезона раскопок материалы перезахоранивают, проведя лишь поверхностную фиксацию материала для отчетов. При этом мы теряем ценный материал, который может дополнить палеоантропологическую картину региона.

В рамках работы в Восточно-Боспорской археологической экспедиции и сотрудничества с Краснодарской археологической экспедицией удалось обследовать ряд археологических памятников, содержащих обильный костный и зубной материал. Был изучен материал из трех курганов Ильской группы (приблизительно, бронзовый век — эпоха средневековья), кургана №2 курганного могильника «Розы Люксембург 1» (эпоха бронзы — ранний железный век), кургана Гостагаевского Западного (V-III в. до н.э.) и некрополя Гермонассы Западного (период античности). Таким образом, речь идет как о кочевом населении, отраженном в материале из курганов, так и об оседлом населении античной Гермонассы. Целью работы была реконструкция условий существования и сопоставление образа жизни оседлого городского и кочевого населения.

Наиболее показательные результаты были получены в процессе исследования следов заболеваний, стрессов и физических нагрузок. Так, мы можем констатировать патологические изменения периоста у останков из некрополя Гермонассы (8 из 45 индивидов). При этом аналогичных случаев не было зафиксировано в погребениях с, предположительно, кочевым населением. Это можно связать с большим развитием Гермонассы в торговой сфере: есть вероятность распространения через торговые пути инфекционных заболеваний или нарушений обмена веществ в силу повышенной доли рыбы в рационе (в отличие от доли таковой при скотоводческо-растеньеводческом укладе кочевников).

Костяки из погребения кочевников характеризуются большей встречаемостью функциональных усилений рельефа на длинных костях конечностей, а также следов сильных физических нагрузок на суставных поверхностях (15,5 % против 6 % у костяков из некрополя Гермонассы). Чаще встречаются следы нагрузок на верхнюю половину тела, чем на нижнюю, что может быть следствием тяжелого земледельческого труда. Аналогичная закономерность наблюдается и для узлов Шморля. Пищевые стрессы, острые инфекции и другие заболевания, судя по всему, стали причиной повышенной частоты гипоплазии эмали у населения, представленного в некрополе Гермонассы (8,9 %), в то время как у кочевого населения частота меньше (3,5 %). Также мы можем констатировать более высокую детскую смертность у городского населения (3 случая из 45), в то время как у кочевников — 3 случая из 58 (все они локализованы в Гостагаевском кургане). Наряду с травмами, которые можно расценивать как типичные бытовые (перелом ключицы, к примеру), у кочевников было обнаружено 2 случая наличия травм, имеющих, судя по всему, насильственную природу. Примечательно, что в рамках исследования не было зафиксировано ни одного случая смещения суставных поверхностей, типичного для «комплекса положения на корточках» и «комплекса всадничества».

Таким образом, мы можем констатировать существенные различия образов жизни городского и кочевого населения территории нынешнего Краснодарского края различных временных периодов, что нашло свое отражение в палеоантропологическом материале.

*Данная работа была выполнена под руководством к.б.н. С.В. Дробышевского.*

## **Оценка адаптационного потенциала сердечно-сосудистой системы школьников 12–13 лет**

***Кузнецова Анна Павловна***

*Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

*Kuznetsovaap08081987@yandex.ru*

В качестве интегрального критерия здоровья все чаще рассматривают адаптационные возможности организма. Для их оценки используют адаптационный потенциал как количественную характеристику разнообразных факторов, к которым человек может приспособиться. Адаптационные возможности обеспечивают развитие организма и защитно-приспособительные реакции.

В ходе работы было обследовано 410 девочек в возрасте 12–13 лет, проживающих в разных районах г. Ярославля, отличающихся по уровню и характеру техногенной нагрузки. Обследование включало измерение и оценку роста, массы тела, окружности грудной клетки, частоты сердечных сокращений, артериального давления, систолического и минутного объема

крови, жизненной емкости легких, определение соматотипа и гармоничности физического развития. Адаптационный потенциал рассчитывали по формуле Р.М. Баевского.

Анализ среднегрупповых результатов показал, что у девочек преобладает удовлетворительная адаптация сердечно-сосудистой системы. Индивидуальная оценка адаптационного потенциала с учетом места проживания школьниц выявила, что доля детей с преобладанием состояния удовлетворительной адаптации выше в Ярославском и Фрунзенском районах (92,75 % и 87,23 % соответственно). В Заволжском районе, по сравнению с другими исследуемыми нами районами, больше доля детей с напряжением адаптационных механизмов (11,63 %).

При сопоставлении особенностей физического развития и оценки адаптационного потенциала было установлено, что для девочек с гармоничным физическим развитием характерно преобладание удовлетворительной адаптации к условиям окружающей среды (93,57 %). По мере нарастания дисгармоничности физического развития увеличивается доля девочек с состоянием напряжения регуляторных систем (15,79 %).

Оценивая влияние соматотипа на величину адаптационного потенциала, установили, что наибольшая доля детей с удовлетворительной адаптацией имеет мезосоматотип (93,17 %). Доля детей, имеющих состояние напряжения, значительно выше при макросоматотипе (23,08 %).

Результаты корреляционного анализа выявили, что между величиной адаптационного потенциала и морфофункциональными показателями имеется значимая связь: слабая связь с весом ( $r=0,22$ ) и окружностью груди ( $r=0,26$ ), умеренная связь с диастолическим давлением ( $r=0,49$ ) и ЖЕЛ ( $r=0,31$ ), средняя связь с районом проживания ( $r=0,52$ ) и пульсом ( $r=0,50$ ), сильная связь с систолическим давлением ( $r=0,77$ ).

Таким образом, на адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы школьниц 12-13 лет влияют морфологические, функциональные и экологические показатели.

*Работа выполняется в рамках государственного задания ЗН № 4.7772.2013.*

## **Морфофункциональные особенности долгожительниц Приднестровья**

*Лапина Наталья Евгеньевна*

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*afarensis@rambler.ru*

Исследование долгожительства является интересной, но и сложной задачей современной антропологии. Ключевой работой в данной области является комплексное исследование абхазского долгожительства в 1978–1983 гг., проведенное при участии НИИ антропологии МГУ. Прочие исследования весьма ограничены, что выявляет необходимость комплексного подхода в изучении этого феномена.

Долгожительство — монотонная картина старости, которая возникает после быстрых темпов возрастных изменений во всех системах организма от 50 до 70 лет.

Нами была обследована выборка из 44 женщин–долгожительниц Приднестровья (старше 90 лет), проживающих на этой территории более 60-ти лет. Особенности физического развития определялись анализом компонентного состава тела: жировой и скелетно-мышечной массы, активной клеточной массы — косвенного показателя активности образа жизни, уровня удельного обмена. Дополнительно измерялись артериальное давление, частота пульса, а также динамометрия кисти, как критерий физической силы. Результаты представлены в сравнении с женщинами Приднестровья 50–80 лет.

Для женщин–долгожительниц характерен невысокий рост, в среднем  $149 \pm 6,7$  см, при массе тела  $58,8 \pm 12$  кг. Индекс массы тела равен  $26,3$  кг/м<sup>2</sup>. Характерно небольшое количество жировой ткани (17 кг, 29 % от общей массы тела). Количество скелетно-мышечной массы около 16 кг. На долю активной клеточной массы приходится 22 кг, а показатель удельного обмена составляет 905 ккал/м<sup>2</sup>, что говорит о высокой активности образа жизни и высоком уровне обменных процессов.

Средние показатели артериального давления свидетельствуют о гипертонии в большинстве случаев, что является нормальным возрастным изменением: систолическое

давление 161 мм рт.ст., диастолическое — 84 мм рт.ст., пульс 84 уд/мин. Кистевая динамометрия имеет небольшие значения, что подтверждает наступление мышечной слабости у долгожителей: 17 и 15 кг для правой и левой руки соответственно.

Результаты проведенного исследования подтверждают гипотезу о прекращении процессов резкого ухудшения морфофизиологических параметров и переходе от старческого возраста к возрасту долгожителей, в фазу устойчивого состояния всех систем.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 12-06-00265.*

### **Перцентильные стандарты ИМТ и оценка изменений этого показателя у детей Архангельского региона за последние 20 лет**

***Пермякова Екатерина Юрьевна***

*НИИ и Музей антропологии имени Д.Н. Анучина МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
ekaterinapermyakova@gmail.com*

Сравнение таких характеристик жировоголожения, как индекс массы тела (ИМТ), и построенные на его основании перцентильные стандарты с нормативами ВОЗ служит для непосредственной оценки статуса питания населения. При этом выделяются варианты недостатка или избытка массы, особенно на данном этапе времени, когда процесс увеличения веса приобретает столь глобальный характер, что многие исследователи говорят о «секулярном ожирении».

Целью работы стала разработка перцентильных стандартов индекса массы тела (ИМТ) для оценки соматического статуса детей и подростков Архангельского региона.

Материалом послужили результаты комплексного обследования детского населения Архангельского региона, проводившегося сотрудниками НИИ и Музея антропологии в 2009–2010 гг. в рамках проекта, посвященного 300-летию со дня рождения М.В. Ломоносова. Полученные материалы сравнивали с данными для 1988 г. Всего было обследовано 2870 человек в возрасте от 7 до 17 лет. Для адекватной оценки ИМТ и построения кривых развития ребенка использовался метод экспотенциального преобразования Бокса-Кокса, на котором основан метод LMS-трансформации.

Количество девочек с дефицитом массы тела в современной выборке увеличивается с наступлением пубертатного периода. Число индивидов с отставанием по массе тела у современных девочек с возрастом также увеличивается, у их сверстниц из предыдущего поколения — уменьшается, что, как было предположено ранее, связано со сдвигом границ нормы. У мальчиков за прошедшие два десятилетия в постпубертатном периоде произошло увеличение количества индивидов с дефицитом и уменьшение — с отставанием по массе тела. Число же индивидов с избыточной массой тела и ожирением возросло, причем, внутри самой группы современных детей по достижении пубертаса эта цифра несколько уменьшилась, что подтверждает тенденции, описанные для девочек.

В целом, секулярные изменения ИМТ у детей Архангельского региона идут в сторону увеличения количества индивидов с избыточной массой тела, что соответствует общемировым тенденциям.

### **Антропометрическая характеристика больных индуцированным стероидами сахарным диабетом при бронхиальной астме**

***Щуплова Ирина Сергеевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
irishansky100@yandex.ru*

За последние два десятилетия во многих странах мира произошло примерно двукратное увеличение распространенности бронхиальной астмы (БА), в том числе и в России. При лечении БА широко распространено применение стероидных препаратов, в результате лечения которыми возникают ятрогенные нарушения и сахарный диабет. Антропологические подходы к решению актуальной проблемы природы возникновения данных углеводных

нарушений у больных БА единичны и до настоящего времени остаются недостаточно изученными.

С целью определения соматических особенностей больных индуцированным стероидами сахарным диабетом при БА людей было проведено антропометрическое обследование, общая численность обследованных составила 194 человека (96 мужчин и 98 женщин), находящихся на лечении в ГКБ № 57 г. Москвы. В качестве контрольной группы использовались данные по практически здоровым людям с нормальным глюкозотолерантным тестом и отсутствием маркера сахарного диабета II типа общей численностью 220 человек (115 женщин и 105 мужчин).

Для больных БА с сопутствующим индуцированным стероидами сахарным диабетом в сравнении со здоровыми людьми наибольшую диагностическую ценность имеют следующие соматические параметры: степень развития ожирения, длина туловища, длины руки и ноги, длина шеи, тазовый диаметр, а также выраженная тенденция к брахиморфии. По комплексу антропометрических признаков более чем в 94% случаев можно ставить правильный диагноз. В ходе проведения пошагового дискриминантного анализа были выявлены маркерные признаки индуцированного стероидами сахарного диабета при БА, имеющие наибольшую диагностическую ценность: длина туловища и длина шеи. Значения этих параметров необходимо учитывать при назначении стероидной терапии. Это особенно важно, если в семьях пациентов есть родственники, страдающие сахарным диабетом II типа. Такие больные составляют группу риска среди всех больных бронхиальной астмой в отношении лечения кортикостероидами.

## Подсекция «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ»

### Исследование клеточных и молекулярных механизмов гистогенеза сетчатки в развитии тритона *Pleurodeles waltl*

*Абдыев Вена*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*mailto:vepa@gmail.com*

Сетчатка хвостатых амфибий (*Urodela*), является одной из наиболее интересных моделей биологии развития. Известна уникальная способность представителей хвостатых амфибий — взрослых тритонов к полноценной регенерации сетчатки после ее удаления. Несмотря на многолетние исследования регенерации сетчатки у взрослых тритонов, и параллель, проводимую между механизмами развития и регенерации, развитие сетчатки хвостатых амфибий, в частности у *Pleurodeles waltl* оказалась вне внимания исследователей.

Объектом работы служили тритоны *P. waltl*, с 5 по 56 сутки развития, разводимые в аквариальной ИБР РАН. Цель работы состояла в изучении клеточных и молекулярных процессов гистогенеза сетчатки глаза тритона *P. waltl*. Применялись методы иммуногистохимии, световой и флуоресцентной микроскопии. Для регистрации *in situ* пролиферирующих клеток сетчатки, находящихся в S-фазе клеточного цикла, и апоптотических клеток сетчатки использовали методы BrdU и TUNEL, соответственно.

Впервые описаны последовательные морфологические изменения в ходе формирования сетчатки у *P. waltl*. Дифференцировка нейронов сетчатки тритона распространяется от центра к периферии, повторяя закономерности, установленные для сетчатки других видов позвоночных. Зарегистрировано снижение количества клеток в S-фазе от центра к периферии, с сохранением единичных BrdU-позитивных клеток и митотических фигур в клетках краевой зоны сетчатки. Обнаружено уменьшение числа TUNEL-позитивных клеток в процессе дифференцировки сетчатки. В клетках-предшественниках нейронов сетчатки обнаружена экспрессия транскрипционных факторов «глазного поля» Pax6, Prox1, Otx2. В созревающих нейронах сетчатки выявлена дифференциальная экспрессия этих транскрипционных факторов. Белок Pax6 локализован в ганглиозных клетках и клетках внутреннего ядерного слоя сетчатки (предположительно амакриновых), Prox1 — в клетках внутреннего ядерного слоя сетчатки (амакриновые и горизонтальные), Otx2 — в ганглиозных клетках, а также в клетках наружного и внутреннего ядерных слоев сетчатки.

Впервые получена картина динамики развития сетчатки *P. waltl*. Результаты свидетельствуют об участии транскрипционных факторов Pax6, Prox1, Otx2 в контроле спецификации разных типов нейронов сетчатки *P. waltl*, что согласуется с данными по развитию сетчатки других позвоночных. Полученные данные подтверждают представление об эволюционной консервативности клеточных и молекулярных механизмов развития сетчатки позвоночных.

*Работа выполнялась при поддержке РФФИ (грант № 11-04-00125) и Программы Президиума РАН "Динамика и сохранение генофондов".*

### Взаимодействие мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток с нейральными клетками

*Бабенко Валентина Андреевна, Мкртчян Вероника Павловна*

*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова,*  
*Москва, Россия*  
*nucleus-90@yandex.ru*

В структуре неврологической патологии нейродегенеративные заболевания занимают значительное место, являясь одной из социально значимых и в то же время недостаточно изученных проблем. Одним из активно разрабатываемых методов лечения нейродегенеративных заболеваний являются регенеративные клеточные технологии. Целью нашего исследования является изучение механизмов взаимодействия нейральных клеток и

мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) *in vitro* и терапевтических эффектов ММСК при лечении экспериментального ишемического инсульта.

Для изучения межклеточных взаимодействий ММСК из костного мозга сокультивировали с нейральными клетками крысы, оценивая на разных сроках сокультивирования транспорт цитоплазмы с помощью проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии. Ишемию/реперфузию головного мозга моделировали перекрытием средней мозговой артерии нитью, оценивали на разных сроках объем повреждения и неврологический дефицит.

С помощью флуоресцентных зондов Calcein Green AM и Calcein Red-Orange показано, что в смешанной культуре ММСК и нейральных клеток происходит обмен цитоплазмой. Было обнаружено, что сразу после пассирования окрашенных Calcein Red-Orange кальцеином ММСК в культуру окрашенных Calcein Green нейронов, красная флуоресценция наблюдалась только в ММСК, а зеленая флуоресценция — только в нейрональных клетках. Через 24 часа сокультивирования многие клетки тесно контактировали и появлялись клетки, несущие оба флуоресцентных зонда.

Затем были изучены *in vivo* нейропротекторные свойства ММСК и ММСК, подвергшихся сокультивированию с нейральными клетками (нейроММСК). Введение крысам с экспериментальным инсультом как ММСК, так и нейроММСК приводило к статистически значимому снижению объема повреждения и неврологического дефицита. Однако нейроММСК вызывали более выраженное уменьшение неврологического дефицита по сравнению с ММСК.

Таким образом, при сокультивировании между ММСК и нейральными клетками происходит обмен цитоплазмой. Такое сокультивирование приводит к более выраженному нейропротекторному действию ММСК при экспериментальном инсульте.

*Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-01307 и 11-04-00771 и грантом Президента РФ МК-729.2012.4.*

### **Органная репарация печени мыши после частичной гепатэктомии**

***Василегина Юлия Игоревна, Чернышева М.Б., Кулигина К.А., Налобин Д.С.***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*yulavas26@mail.ru*

Классическая модель частичной гепатэктомии применяется для изучения механизмов органной репарации печени. Несмотря на многочисленные исследования в области регенерации печени, до сих пор до конца не ясен вклад отдельных клеточных популяций в процесс восстановления органа.

На основании этого, было решено изучить гистологическую и иммуногистохимическую картину печени мыши на разных этапах репарации органа после частичной гепатэктомии; охарактеризовать культуры эпителиальных и мезенхимальных клеток печени, полученных из печени мышей после резекции.

Для эксперимента использовали мышей самцов гибридов (C57Bl x CBA)F<sub>1</sub>. Проводили частичную гепатэктомию правой и левой лопасти передней доли и левой доли печени, при этом масса резерцированных долей составляла 75% от общей массы печени мыши (по методике G.M. Higgins и R.M. Anderson). Фиксацию материала производили с 1-х по 7-е сутки после операции. Оценка этапов регенерации печени осуществляли с помощью окрашивания гистологических препаратов по методу Маллори и иммуногистохимического анализа на специфические белки, такие как альбумин — маркер гепатоцитарной дифференцировки; десмин — маркер мезенхимальной дифференцировки и  $\alpha$ -SMA — маркер миофибробластной дифференцировки. Также из печени на 1, 2, 3, 5 и 7-е сутки после операции выделяли фракцию мезенхимальных и эпителиальных клеток и проводили иммуноцитохимический анализ популяций этих клеток.

Благодаря измерению морфометрических показателей удалось оценить динамику восстановления клеточной массы резерцированного органа, изменение микроархитектоники печени, а именно морфологии и кровоснабжения ацинусов. Показано, что сразу после операции проявляется пролиферативная активность клеток, которая сменяется морфогенетическими процессами, направленными на полное восстановление структуры и функции печени за счет

компенсаторной гипертрофии органа. Иммуногисто- и иммуноцитохимический анализы позволили выявить клеточные популяции, которые после частичной гепатэктомии были активированы в направлении пролиферации и дифференцировки.

Изучение процессов регенерации с использованием морфометрических и иммуногистохимических методов помогает детально изучить механизмы репарации печени после частичной резекции органа и способствует разработки новых подходов в области регенеративной медицины.

### **Воздействие слабого лазерного излучения на раннее развитие вьюна (*Misgurnus fossilis*)**

**Великанов Александр Николаевич**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*av-bioem@mail.ru*

В последние годы ведутся активные работы по изучению действия слабого лазерного излучения на различные биологические объекты. Низкоуровневая лазерная терапия (low lever laser therapy) достаточно широко используется в медицине. Икра низших позвоночных является удобным объектом для изучения ряда эффектов различных воздействий. В нашей работе в качестве объекта исследования использовали икру вьюна. Облучение проводили при помощи полупроводникового лазерного модуля 650нм, плотность мощности составляла 0,02мВт/см<sup>2</sup>. Облучение проводили в процессе развития икры: через 15 минут после оплодотворения и на ранней бластуле. Использованные дозы: 1,2, 3, 6мДж/см<sup>2</sup>. В качестве критериев оценки биологического эффекта сравнивали темпы развития и выживаемость зародышей в разных опытных группах. Икра, облучённая через 15 минут после оплодотворения не показала достоверных различий по сравнению с контрольной группой. Икра, облучённая на стадии бластулы, показала увеличение выживаемости, ускорение и синхронизацию темпов развития по сравнению с контрольной группой. Интересно, что на предшествующих стадиях развития (начиная со стадии средней бластулы) у вьюна начинает работу собственный геном зародыша. Стадия, предшествующая первому делению дробления (15мин. после оплодотворения), не чувствительна к данным дозам — возможно, в данном случае прошедшая кортикальная реакция и образовавшееся перивителлиновое пространство икринки блокируют эффект облучения.

Таким образом, показано, что функциональное состояние развивающейся биосистемы оказывает решающее влияние на реакцию системы на сверхнизкие дозы когерентного электромагнитного излучения, что необходимо учитывать при разработке оптимальных режимов коррекции биологических процессов лазерным излучением.

### **Изоформы гена IGF-1 в гепатоцеллюлярной карциноме у мышей**

**Гончарова Наталия Олеговна<sup>1</sup>, Зиневич Людмила Сергеевна<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*<sup>2</sup>Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*goncharovan22@gmail.com*

Инсулиноподобный фактор роста типа 1 (IGF-1) стимулирует рост, пролиферацию и дифференцировку клеток, имеет как гормональную, так и паракринную функции (D'Ercole, 1984). Основным источником IGF-1 в крови является печень (Yakar, 1999). Описаны изоформы IGF-1 — продукты альтернативного сплайсинга, в том числе локально-активная — MGF, и циркулирующая — транскрипционный вариант 4 (Gatto, 2008). Используя модель гепатоцеллюлярной карциномы (ГК) у мышей мы показали, что экспрессия гена IGF-1 понижается в ткани опухоли, но возрастает в окружающей ее ткани (Зиневич, 2012). Известно, что окружение опухоли участвует в прогрессии и поддержании ее роста (Ju Dong Yang, 2011). Целью данной работы было исследование экспрессии локально-активной и циркулирующей изоформ IGF-1 в ГК для понимания роли IGF-1 во взаимодействии опухоли с ее микроокружением.

Анализ экспрессии изоформ IGF-1 проводили с помощью метода ОТ-ПЦР. Были использованы специфические праймеры: MGF прямой (5'-3') ААТCAGCAGCСТTССААСТС,

обратный (5'-3') CGATAGGGACGGGGACTTC, variant 4 прямой (5'-3')  
СТАААТСССТСТТСТГСТТГС, обратный (5'-3') АСАТТСТГТАГГТСТТГТТСС, GAPDH  
прямой (5'-3') СТGACGTGCCGCTGGAGAAAC, обратный (5'-3')  
СССGGCATCGAAGGTGGAAGAGT.

Экспрессия как локально-активной, так и циркулирующей изоформ IGF-1 понижалась в опухоли и повышалась в окружающей ее ткани. При этом не наблюдалось исчезновение или явное преобладание какой-либо изоформы. Мы проанализировали также экспрессию изоформ IGF-1 в тканях других органов у мышей контрольной группы без ГК. Показано, что локально-активная и циркулирующая изоформы экспрессируются в легком, селезенке, почке и семеннике.

На основе полученных результатов мы предположили, что регуляция активности IGF-1 в ГК происходит на уровне транскрипции гена, а не на уровне сплайсинга. Тем не менее, IGF-1, вырабатываемый окружающей ГК тканью, может стимулировать рост и прогрессию опухоли как за счет паракринного, так и за счет гормонального эффекта. Поскольку мРНК циркулирующей изоформы экспрессируется в различных органах мышцы, а также в клетках опухоли, печень является основным, но не единственным источником IGF-1 в крови.

### **Эмбриональное происхождение хрящевых элементов висцерального скелета**

*Ambystoma mexicanum*

*Давидьян Ася Генриковна*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*asya.davidian@yandex.ru*

Висцеральный скелет позвоночных животных формируется из клеток нервного гребня. Вместе с тем, ещё в первой трети XX века было высказано предположение о двойном происхождении некоторых его элементов. При трансплантации участка головной мезодермы на латеральную часть туловищных сомитов, там формировались зачаток сердца и небольшой хрящ — предположительно задний медиальный элемент жаберных дуг — *basibranchiale 2*. С тех пор эмбриональные источники висцерального скелета не исследовались методами точного долговременного маркирования. Благодаря созданию новых трансгенных моделей *Ambystoma mexicanum*, несущих флуоресцентные белки (GFP, Cherry и другие) во всех клетках организма, стало возможным решение подобных вопросов.

Мы проводили гомотопные двусторонние трансплантации нервных валиков, включающих до 95% всех клеток презумптивного нервного гребня от трансгенных GFP+ эмбрионов-доноров к хозяйским белым эмбрионам, а также аналогично, участки головной мезодермы. В этих экспериментах клетки нервного гребня, несущие GFP, слагали все элементы жаберных дуг, кроме *basibranchiale 2*, тогда как обратная картина наблюдалась при пересадках латеральной части головной мезодермы. Эксперименты показали, что *basibranchiale 2* развивается из того же района, из которого происходит мезодермальный зачаток сердца. При одновременном мечении головной мезодермы противоположных сторон клетками от разных трансгенов (GFP+ и Cherry+) видно, что *basibranchiale 2* формируется из парного зачатка. Таким образом, осевые элементы жаберного аппарата формируются из разных тканей: *basibranchiale 1* — из нервного гребня, а *basibranchiale 2* — из мезодермы.

В эволюции у амфибий по сравнению с рыбами наблюдается уменьшение участия нервного гребня в формировании скелета. Вероятно, при сильной редукции элементов рядом лежащая головная мезодерма может брать на себя функции скелетогенного нервного гребня и формировать элементы, несущие функциональную нагрузку, что мы видим на примере *basibranchiale 2*.

*Автор благодарит своего научного руководителя, доц. каф. эмбриологии Е.Б. Малашичева за обучение методикам трансплантации эмбриональных тканей и иммуногистохимии, а также Э. Танака ("Технический университет Дрездена") за предоставление трансгенных животных.*

## **Накопление пигмента меланофорами личинок шпорцевой лягушки в зависимости от различных сочетаний фона дна и боковых стенок контейнеров**

**Джапова Вита Валентиновна**

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия*

*dzhapova@list.ru*

В опубликованных работах по накоплению меланина пигментными клетками использовались личинки *Xenopus laevis*, выращенные на белом, сером и черном фонах, при этом учитывали лишь фон дна контейнеров, стенки контейнеров были прозрачными.

Результаты наших экспериментов получены при фотометрировании меланинсодержащих клеток на тотальных препаратах дермального слоя кожи личинок шпорцевой лягушки 55 стадии развития, содержащихся в контейнерах с различным фоном дна и стенок. Сопоставление препаратов фотометрирования дермальных меланофоров личинок показало зависимость степени меланизации клеток не только от фона дна, но и от фона стенок контейнеров. При изменении фона дна от белого к черному при одинаковом фоне стенок количество пигмента в меланофорах возрастает на 15–40 %, при изменении фона стенок контейнеров от белого к черному при одинаковом фоне дна количество пигмента возрастает на 40–60 %. Таким образом, разница в накоплении пигмента меланофорами личинок шпорцевой лягушки в ряду с разным боковым фоном от белого к черному при одинаковом фоне дна на 20–25 % выше по сравнению с накоплением пигмента в ряду с разным фоном дна от белого к черному при одинаковом боковом фоне. Особенно отчетливо проявляется разница в количестве пигмента на 1 мг сухой массы животного при сочетаниях одинаковой окраски стенок и дна контейнеров: белые стенки/белое дно, серые стенки/серое дно и черные стенки/черное дно. На сером фоне в меланофорах количество пигмента на 50 %, на черном фоне — на 92 % выше по сравнению с белым фоном.

Количество пигмента на 1 мг сухой массы у животных, выросших на разных фонах и находящихся на одинаковой стадии развития, определяется количеством меланофоров и плотностью пигмента в отдельном меланофоре. Последние два показателя определяются уровнем освещенности внутри контейнеров с разными сочетаниями бокового фона и фона дна.

Результаты эксперимента показывают насколько значительно влияние освещенности, создаваемое боковым фоном, как на физиологическую, так и на морфологическую фоновую адаптацию личинок *Xenopus laevis*. Данное обстоятельство следует учитывать при постановке экспериментов с личинками *Xenopus laevis*.

## **Стимуляция остеогенеза у собаки с помощью мезенхимных стволовых клеток аутологичной жировой ткани**

**Катина Маргарита Николаевна**

*Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия*

*k.i.t.t.1807@gmail.com*

Не смотря на успехи современной травматологии, лечение несросшихся переломов и ложных суставов остается серьезной проблемой как в медицине, так и в ветеринарии. Они ведут не только к большим затратам на лечение, но и являются серьезной социально-экономической проблемой.

Половозрелый самец беспородной собаки с травматическим переломом бедра был трехкратно оперирован с проведением остеосинтеза с исходом в формирование ложного сустава. Консолидации перелома достигнуто не было. В условиях ветеринарной операционной был получен фрагмент большого сальника животного. Стромально-сосудистая фракция жировой ткани была получена по стандартной методике инкубацией с 0,2 % раствором коллагеназы краба. Полученные мезенхимные стволовые клетки культивировали на среде  $\alpha$ -МЕМ с добавлением 10 % сыворотки плодов коров, антибиотика и L-глутамин до 6 пассажа. Во время операции костного остеосинтеза вводили местно непосредственно в область костного диастаза 15 000 000 клеток в 1 мл двухкомпонентного фибринового клея Тиссукол. Проводили динамическое рентгенологическое обследование животного. Консолидация

перелома с восстановлением опорной функции конечности была достигнута через 8 недель, что соответствует нормальному времени консолидации переломов данной локализации у животных данного вида и массы тела.

Полученные клетки имели фибробластоподобную морфологию. Методами иммуноцитохимии и проточной цитометрии показано, что введенные животному клетки соответствуют по своим антигенным свойствам мезенхимным стволовым клеткам. Полученные клетки при культивировании на специальных средах дифференцировались в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях, что так же характерно для мезенхимных стволовых клеток.

Таким образом, в данной работе были выделены мезенхимные стволовые клетки жировой ткани собаки, определены их антигенные свойства и дифференцировочный потенциал. Клетки, введенные в область несросшегося перелома, способствовали регенерации.

## **Новые подходы в проблеме регенерации пигментной системы бесхвостых амфибий (*Xenopus laevis* L.)**

**Молчанов Александр Юрьевич**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*AlexanderMSU@gmail.com*

Пигментные клетки — меланофоры — шпорцевой лягушки являются производными нервного гребня. Впервые в онтогенезе они появляются на 34 стадии развития (Nieuwkoop, Faber, 1994). Меланофоры расположены в дермальном слое кожи и формируют пигментную систему личинки лягушки, основная функция которой — адаптация животного к изменениям световых и температурных условий за счет морфологических (изменение количества пигмента в клетке и числа самих клеток) и физиологических (перераспределение пигмента по клетке) пигментных реакций. Так как меланофоры не иннервируются, то пигментная реакция может быть регулируема исключительно за счет влияния на клетки факторов гуморальной системы. При воздействии меланоцитстимулирующего гормона (МСГ) меланофоры распределяют гранулы пигмента равномерно по всей клетке и кожа животного темнеет. При наличии критической концентрации мелатонина (МЕЛ) гранулы с пигментом собираются в центре клетки (в области ядра) и кожа светлеет. Интересно отметить, что меланофоры дифференцируются, синтезируя пигмент, до того, как начинает функционировать гуморальный регуляторный компонент. Появление физиологических пигментных реакций в развитии животного является результатом его активации.

В дерме кожи присутствуют одновременно дифференцированные и бластные формы (меланобласты), последние пигмента не имеют и визуально без специального окрашивания не могут быть выявлены. В норме меланобласты дважды в онтогенезе личинки имеют периоды активной пролиферации и дифференцировки: органогенез (стадия хвостовой почки) и метаморфоз. В интервалах между ними дифференцированные меланофоры митотически делятся при увеличении размеров личинки, формируя равномерный слой, покрывающий все тело животного. Кроме того, размеры отдельного меланофора при развитии личинки значительно увеличиваются — от 30 мкм на ранних стадиях до 100 мкм на поздних. Доказано, что угнетающее действие на развитие и дифференцировку пигментных клеток оказывает МЕЛ, избыточно вырабатываемый у животного, находящегося либо в постоянной темноте (механизм регуляции первичных физиологических реакции пигментной системы) либо на светлом фоне при неярком освещении (механизм регуляции вторичных — фоновых — пигментных реакций).

В нашей работе мы сопоставили динамику регенерационных процессов в пигментной системе с достаточно полно изученной динамикой ее онтогенетических изменений и влиянием на восстановление пигментной системы основных гуморальных регуляторов — МСГ и МЕЛ. Деструкцию пигментных клеток на определенном участке кожи вызывали у предварительно наркотизированной личинки методом точечного перфорирования меланофора стеклянной иглой диаметром 20 мкм в области ядра. Послеживали динамику последующего апоптоза клетки. Пигмент и другие остатки меланофора поглощались макрофагами. Через неделю мы наблюдали локальную дифференцировку клеток меланобластов, которая визуально проявляла себя по появлению пигмента меланина в меланосомах. Провели сопоставление темпов и

степени проявления меланизации поврежденного участка в условиях разной функциональной нагрузки пигментной системы личинки.

### **Получение иПСК из клеток дермальной папиллы волосяного фолликула человека**

*Мучкаева Ирина Алексеевна, Дашиинимаев Эрдэм Баирович,*

*Артюхов Александр Сергеевич*

*Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*izomerizaciya@list.ru*

Благодаря своим способностям к самоподдержанию в культуре и дифференцировке в клетки-производные трех зародышевых листков, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) являются ценным объектом биологии развития и клеточных технологий. Легко доступные клетки дермальной папиллы (ДП) человека к моменту начала данной работы не были репрограммированы до плюрипотентного состояния.

С помощью лентивирусной доставки четырех транскрипционных факторов *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc* и *Klf4* мы получили иПСК из культуры клеток дермальной папиллы взрослого человека. Известно, что полному репрограммированию подвергается лишь очень малая часть трансфицированных клеток. После селекции репрограммированных клонов по морфологии и экспрессии поверхностных антигенов плюрипотентных клеток, мы отобрали один клон, отвечающий критериям полностью репрограммированные иПСК. Далее мы приступили к характеристике полученного клона, обозначив его как иПСК-ДП. С помощью иммуноцитохимического окрашивания было выявлено, что иПСК-ДП экспрессировали транскрипционные факторы плюрипотентности: OCT4, SOX2, NANOG, а также поверхностные антигены плюрипотентных клеток SSEA-3, SSEA-4, Tra-1-60, Tra-1-81. По данным проточной цитофлуориметрии на 18-ом пассаже в популяции иПСК-ДП было 55 % SSEA-3+ клеток, 67 % Tra-1-81+ клеток, 78 % Tra-1-60+ клеток, 99 % SSEA-4+ клеток. TRAP-ПЦР-анализ показал, что в репрограммированном клоне происходила реактивация фермента теломеразы, активность которой свидетельствует о процессе репрограммирования. Методами количественный и качественный ПЦР-анализов мы детектировали наличие транскриптов генов, играющих важную роль в раннем эмбриогенезе. После образования эмбрионидных телец, иПСК-ДП были дифференцированы в направлении трех зародышевых листков. иПСК-ДП после индукции остеогенной дифференцировки экспрессировали соответствующие маркеры остеопонтин и остеонектин; гепатоцитарной — HNF4a, Foxa2, АФП и альбумин; нейрональной — PDX1, нестин, даблкортин, бета тубулин III.

Полученные нами иПСК-ДП могут представлять интерес при исследовании механизмов эпигенетического регулирования и служить источником при моделировании тест-систем для скрининга лекарственных препаратов, а также в других областях.

### **Влияние гипоксии на культуру клеток дермальной папиллы**

*Мягкова Екатерина Павловна*

*Институт биологии развития имени Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия*

*katerina.myagkova@gmail.com*

Дермальная папилла (ДП) находится в основании волосяного фолликула и является пулом мезенхимных стволовых клеток кожи. До сих пор не известно, какую именно роль этот богатый ресурс стволовых клеток играет в процессе ранозаживления. Мы оценили влияние гипоксии, как фактора воспаления, на потенции клеток ДП к дифференцировке в эндотелиальном и гладкомышечном направлении и скорость миграции. В качестве контроля использовали дермальные фибробласты (ДФ).

Клетки ДП получали из вибрисс мыши путем микродиссекции. ДФ получали из кожи живота и спины путем ферментативной обработки. Дифференцировку в эндотелиальном направлении проводили под действием среды для эндотелия. Дифференцировку в гладкомышечном направлении проводили в условиях низкой плотности клеток и низкого содержания сыворотки.

Мы показали, что гипоксия не оказывала значительного влияния на миграцию клеток ДП и ДФ на модели раны. В условиях гипоксии дифференцировка клеток ДП в эндотелиальном направлении протекала быстрее, чем в нормоксии. ДФ не вступали в дифференцировку.

Эффективность дифференцировки в нормоксии в гладкомышечном направлении клеток ДП была очень низкой, но в несколько раз выше, чем ДФ. В условиях гипоксии дифференцировались только единичные клетки ДП. Влияние гипоксии на культуру ДФ было противоположным, при этом эффективность дифференцировки возрастала более чем в 4 раза. Это явление соответствует формированию миофибробластов при повреждении кожи, необходимых для контракции раны.

Снижение эффективности дифференцировки клеток ДП в гладкомышечном направлении и отсутствие эффектов на миграцию в условиях гипоксии свидетельствует о том, что клетки ДП не принимают непосредственного участия на ранних стадиях ранозаживления. Однако ускорение процессов дифференцировки в эндотелиальном направлении говорит об изменении стволового статуса клеток ДП. В дальнейшем мы планируем оценить участие нативных и трансплантированных клеток ДП в регенерации повреждений кожи: способность к трансдифференцировке, индукции ангиогенеза и ремоделированию внеклеточного матрикса. Изучение роли клеток ДП в процессе ранозаживления позволит применить эти знания при создании тканеинженерных конструкций и лечении заболеваний кожи.

### **Изучение паттерна закладки волосяных фолликулов и формирования полнослойной структуры эмбрионального эпидермиса у мутантных мышей с развивающейся алопецией**

*Риппа Александра Леонидовна*

*Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*rippa86@yandex.ru*

Изучение проблем гомеостаза кожи и регенерации волосяных фолликулов имеет как фундаментальный, так и медицинский аспекты. В последнее время все больше внимания уделяется заболеваниям, связанным с выпадением волос.

Мутантные мыши, *we/we wal/wal*, являются уникальным объектом для изучения морфогенеза кожи. В возрасте 21 день у них появляются четко выраженные признаки алопеции. На 18,5 сутки эмбрионального развития у мышей *we/we wal/wal* нами были обнаружены существенные аномалии в развитии кожи и волосяных фолликулов. В это время в волосяном покрове мышей дикого типа наблюдаются генерации всех 4 типов волосяных фолликулов на разных стадиях развития. Фолликулы мутантов *we/we wal/wal* запаздывали в развитии, и плотность их распределения в коже была снижена по сравнению с контролем. Эмбриональный эпидермис мутантов тоньше по сравнению с нормой. Результаты иммуногистохимического анализа экспрессии маркеров дифференцировки кератиноцитов: кератина 1, инволюкрина и лорикрина на 18,5 сутки развития показали, что это связано с уменьшением числа клеток в дифференцированных слоях. Исследовав экспрессию цитокератина 5 и Р- кадгерина, синтез которых в норме ограничен базальным слоем недифференцированных кератиноцитов и зачатками волосяных фолликулов, мы выявили у мутантов зоны мультипликации базального слоя и фолликулоподобные структуры. Анализ экспрессии маркера пролиферирующих клеток Ki-67 показал, что клетки в этих зонах пролиферируют без инвагинации в дерму. Интересно было обнаружить у мутантов равномерную экспрессию щелочной фосфатазы во всей дерме, непосредственно прилегающей к базальному слою эпидермиса, когда в норме она экспрессируется исключительно в дермальном конденсате и дермальной папилле волосяных фолликулов. Фолликулоподобные структуры нами идентифицировались по наличию в основании дермального конденсата, интенсивно экспрессирующего этот маркер.

Мы полагаем, что выявленные нарушения формирования волосяных фолликулов и полнослойного пласта эпидермиса являются проявлением мутаций генов *we* и *wal* в эмбриогенезе кожи и приводят к дальнейшему облысению у мутантных мышей в постнатальном развитии.

## **Возрастные различия регенерации хрусталика у испанских тритонов *Pleurodeles waltli***

**Савченко Елена Сергеевна, Молчанов Александр Юрьевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*savelaine@gmail.com*

Восстановительные процессы у животных разделяют на две категории: физиологическая и репаративная регенерация. Последняя встречается в том числе у некоторых низших позвоночных. Обладателями одних из самых ярких спектров восстановительных морфогенезов во взрослом состоянии являются тритоны, у которых регенерируют конечности, хвост, сердце, ткани глаза и т.д. Известно, что хрусталик заново образуется из дифференцированных клеток пигментного эпителия радужки, имеющих нейроэпителиальное происхождение. Процесс осуществляется благодаря трансдифференцировке клеток радужки — последовательного превращения их из пигментированных эпителиальных клеток в хрусталиковые волокна. Новообразованный хрусталик, завершив развитие *de novo*, отделяется от радужки и выполняет функции светопроведения и преломления. Эта хорошо изученная модель позволяет решать вопросы зависимости восстановительных процессов от возраста животного.

Мы исследовали степень восстановления хрусталика на 21 день после лензэктомии у молодых (3 мес) и старых (6 лет) тритонов. Для этого животных наркотизировали, оперировали, удаляя микрохирургически из обоих глаз интактные хрусталики. Образцы глаз фиксировали в растворах Буэна и 4%-ного формалина. Готовили серии гистологических срезов глаз и микроскопически анализировали морфологию процесса регенерации. Для определения стадий регенерации хрусталика использовали классификацию, разработанную ранее Туэно Ямада (Yamada, 1967).

На статистически репрезентативном материале обнаружено, что возраст не является фактором, значительно ограничивающим или, тем более, блокирующим регенерацию хрусталика. Старые животные (стадия 2,7 по Yamada) осуществляют процесс восстановления с небольшой задержкой, но в том же порядке, что и молодые (стадия 3,7 по Yamada). Однако при этом обнаруживаются существенные отличия в деталях процесса, в частности во взаимоотношениях радужки с окружающими тканями глаза. Обнаружены значительно большее число случаев и объемов «сращения» радужки в сайте регенерации с одной стороны и эндотелия и стромы роговицы — с другой. Это приводит к изменению поведения клеток радужки и их более обширной по площади депигментации — т.е. меняет паттерн конверсии клеток радужки при сравнении с таковым у молодых животных. В том случае, если контакт радужки и роговицы отсутствовал, степень регенерации хрусталика значительно отставала. Мы обнаружили, что характер и интенсивность процессов дедифференцировки клеток дорсального края радужки (источника регенерации) у старых тритонов зависит от его контакта с фибробластами вне — и в составе стромы роговицы. Кроме этого, подобный контакт вызывал дедифференцировку клеток дополнительно в не связанных с регенерацией областях радужки. Подобная корреляция, отмеченная у старых животных, не наблюдается у молодых и свидетельствует о возрастании с возрастом роли соединительной ткани в восстановлении хрусталика у тритона.

## **Особенности организации гемопоэтической ткани у личинок земноводных**

**Светашева Диана Рафаиловна**

*Астраханский государственный технический университет,*

*Институт рыбного хозяйства, биологии и природопользования, Астрахань, Россия*

*svetashevadr@yandex.ru*

Исследованы формирующиеся гемопоэтические органы и ткани у личинок зеленой жабы. Исследование проводилось на сериях срезов личинок зеленой жабы (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) на вторые сутки личиночного развития, приготовленных и окрашенных по общепринятым методикам (Волкова, Елецкий, 1982).

В полости жаберного кармана, выстланного многослойным плоским неороговевающим эпителием, выявлено выпячивание эпителиальной стенки — зачаток тимуса. Основу образования составляли ретикулярные клетки, между которыми рассредоточены клетки белой крови. Были выявлены нейтрофильные гранулоциты и лимфоциты на разных стадиях

дифференцировки. Также были обнаружены единичные бластные клетки эритроидного ряда. Позади жаберной полости находился верхний уровень формирующегося мезонефроса — парного образования, лежащего продольно вдоль тела. Пронефрос без четких границ переходил в мезонефрос. Морфологически пронефрос и мезонефрос были представлены изогнутыми почечными канальцами различного размера. Отмечалось очень мало межканальцевой ткани. Стенки канальцев построены из кубического и плоского эпителия. Канальцы мезонефроса своими конусами открывались в вольфов проток, стенки которого были тонкими, состояли из низкого кубического эпителия, лежащего на базальной мембране. Межканальцевая ткань была образована, в основном, ретикулярной тканью, среди элементов которой были сосредоточены формирующиеся клетки крови. Здесь формировались клетки эритропоэтического, гранулоцитопоэтического и лимфоцитопоэтического рядов. Ротовое отверстие переходило в глотку, переходящую в начальный отдел пищеварительного канала, выстланного однослойным низким призматическим эпителием. В стенке этой трубки в области глотки отмечены незначительные узелки ретикулярной ткани. Среди развивающихся клеток основную массу составляли дифференцирующиеся лимфоциты, клеток гранулоцитопоэтического ряда было отмечено незначительное количество. Пищевод переходил в небольшое расширение — желудок. Стенка желудка была утолщена, его поверхность выстлана эпителием с многоядным расположением ядер, выявлялась тонкая прослойка мышечных клеток. Далее пищеварительная трубка переходит в кишечник, просвет которого на всем его протяжении был значителен. В стенках кишечника выявлялись незначительного размера узелки ретикулярной ткани, где формировались лимфоциты и гранулоциты, кроме того, здесь были отмечены единичные клетки эритропоэтического ряда. Незначительного размера селезенка, лежащая в петлях кишечника, снаружи была покрыта тонкой капсулой. Орган представлен ретикулярной тканью, в которой выявлялись очаги кроветворения. Здесь у головастика на вторые сутки личиночного развития выявлялись развивающиеся клетки эритропоэтического и лимфоцитопоэтического рядов. Печень, окруженная очень тонкой соединительнотканной капсулой, у личинки расположена каудальнее поджелудочной железы. Прослеживались балки клеток-гепатоцитов, сопровождаемые капиллярами. В печени личинки экстраваascularно развивались клетки эритропоэтического и гранулоцитопоэтического рядов.

Таким образом, у головастика жабы на вторые сутки процесс кроветворения осуществляется в мезонефросе, селезенке, тимусе, узелках ретикулярной ткани в области глотки, в кишечнике, в печени.

### **Механочувствительные ионные каналы в раннем развитии *Xenopus laevis* L.**

**Силина Светлана Георгиевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*embr.sv@gmail.com*

Механотрансдукция, или преобразование механического стимула в биологический ответ, составляет основу фундаментальных физиологических процессов, таких как осязание, чувство равновесия, проприоцепция и слух, и вносит важнейший вклад в гомеостаз. Способность живых организмов воспринимать механические силы является ключевой для взаимодействия с физическим миром. В процессе развития клетки зародыша постоянно подвергаются механическим воздействиям со стороны окружающих клеток и тканей, что оказывает непосредственное влияние на их судьбу. Способность механорецепторов обнаруживать механические сигналы зависит от присутствия специальных механочувствительных каналов, и хотя есть сведения о механочувствительных каналах и их функциях у взрослых особей, данных об их наличии и функциях в раннем развитии совсем немного.

Исследование проводилось на зародышах *Xenopus laevis*, на стадиях развития от зиготы до головастика.

В этой работе методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) мы проверили наличие мРНК генов ионных каналов, упоминание о механочувствительности которых встречается в литературе. Всего было проверено около 30 каналов. Те каналы, мРНК которых была

обнаружена на ранних стадиях, исследовались с помощью метода ПЦР в реальном времени (RT-PCR) для наблюдения количественной динамики экспрессии генов.

В результате исследования была показана экспрессия около 20 генов механо-чувствительных ионных каналов, среди которых есть как селективные каналы для  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ , так и низкоселективные каналы, например, семейства TRP. Для некоторых каналов показана количественная динамика экспрессии по стадиям, по которой можно судить о необходимости того или иного канала в определенный период развития зародыша. Для натриевого канала ENaC, функциональная форма которого состоит из трех субъединиц, показано отсутствие на ранних стадиях субъединицы  $\alpha$  и наличие субъединицы  $\delta$ , участие которой в образовании канала редко встречается у взрослых особей. Эти результаты могут говорить об альтернативном варианте образования этого канала у зародышей и взрослых особей, с использованием разных субъединиц для создания функционального канала.

### **Перспективы коррекции повреждений головного мозга у крыс с использованием стволовых клеток**

*Стукач Юлия Павловна<sup>1</sup>, Хотянович М.О.<sup>1</sup>, Денисов А.А.<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси;*

*<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*Stukachyulay@gmail.com*

Процесс культивирования стволовых клеток для репарации органов висцеральной и соматической сферы предполагает целенаправленную дифференцировку клеток в определенном направлении. Разработанные протоколы культивирования клеток включают множество дорогостоящих реактивов, ростовых факторов, сред и специальных устройств. Целесообразно найти способы снижения количества регуляторных субстанций при сохранении эффективности новых технологий в отношении основной направленности их применения. В ряде работ продемонстрировано, что не только электрические, но и иные физические факторы сопровождаются трансформацией процессов пролиферации и дифференцировки. В связи с этим в работе поставлена цель — изучить влияние электрических импульсов разной формы, частоты и интенсивности на процессы пролиферации и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани культивировали в среде Dulbecco's Modified Eagle's Medium, а затем в среде Neurocult. В одной серии опытов в качестве эндогенных биорегуляторов использовали мозг-производный нейротрофический фактор в концентрации 20нг/мл, 1мМ 5-азациитидин и 1мкМ ретиноевую кислоту. Во второй серии культивирование клеток в среде Neurocult совмещали с воздействием на клетки электрическими импульсами, амплитудно-частотные характеристики которых ассоциируются с ритмами головного мозга (пачки из 10 импульсов, 0,9В, 10Гц). Через 3, 5, 7 дней культивирования имплантировали клетки в предварительно разрушенный участок прецентральной извилины головного мозга крысы. При сопоставлении эффектов восстановления двигательной активности крыс в крестообразном лабиринте (Plus-Maze, Stoelting, США) после имплантации МСК в разрушенный участок мозга установлены достоверные различия в восстановлении двигательной функции, отражающей интенсивность репаративных процессов в сериях опытов. Восстановление происходило быстрее в группе крыс, которым имплантировали МСК после воздействия электрических импульсов. Перспективность экспериментальных данных может быть корректно оценена после анализа структуры клеток в зоне имплантации с исключением ситуации злокачественного перерождения МСК.

## **Дифференцировка клеток тканевых и суспензионных нейротрансплантатов**

**Сухинич Кирилл Константинович**

*Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*transpl@hotmail.com*

Регенерация в ЦНС крайне ограничена, что приводит к тяжелым последствиям при заболеваниях и травмах головного и спинного мозга. Для решения этой проблемы существуют различные подходы, в том числе нейротрансплантация различных типов клеток. Целью данного исследования был анализ приживления, развития и дифференцировки клеточных и тканевых аллотрансплантатов мозга эмбрионов разных сроков, в клетках которых синтезируется зелёный флуоресцентный белок (GFP — green fluorescent protein). Для этого фрагменты либо клеточную суспензию неокортекса эмбрионов мыши (Э-12.5, 14.5, 16.5, 19.5) трансплантировали в неокортекс и стриатум взрослого животного. Фиксацию животных проводили через 7, 30 и 60 суток после трансплантации. Мозг резали на замораживающем микротоме, срезы окрашивали крезил-виолетом и иммуногистохимически антителами против GFAP, NeuN, Ki67, Tyrosine Hydroxylase.

По флуоресценции GFP выявляются трансплантаты в мозге реципиента. Гистологический анализ показывает дифференцировку клеток в трансплантатах разных возрастов, и наличие среди них лимфоцитов, макрофагов, и микроглии. Окраска против Ki67 показала пролиферацию клеток трансплантата. Наиболее активная пролиферация приходится на 7-ые сутки после трансплантации (у Э-12.5), хотя единичные клетки отмечаются и на 60-ые сутки (у Э-19.5). Были обнаружены пролиферирующие клетки реципиента, образующие путь миграции от субвентрикулярной зоны в область трансплантата. На 7 сутки в трансплантатах не было дифференцировки в нейроны, о чем свидетельствует отсутствие совпадения меток NeuN и GFP. Интересно, что в области повреждения рядом с трансплантатом также отсутствуют NeuN положительные клетки. По маркерному белку астроцитов обнаружено, что клетки трансплантата дифференцируются в глиальном направлении уже на 7-ые сутки. По глиальной реакции клеток реципиента можно заключить, что образования глиального рубца не происходит при трансплантации неокортекса от эмбрионов ранних сроков.

Результаты свидетельствуют о временном сдвиге дифференцировки клеток в трансплантате. Наблюдается задержка дифференцировки нервных клеток и ускоренное развитие астроцитов. Выявлена миграция прогениторных клеток субвентрикулярной зоны в область трансплантации, что может быть стимулировано факторами от трансплантата или сопутствующей травмой.

## **Морфофункциональные изменения яичников при экспериментальном эндотоксикозе у мышей линии C57BL/6**

**Тихонов Евгений Александрович**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*НИИ морфологии человека РАМН, Москва, Россия*

*genebio@mail.ru*

При хронических воспалительных заболеваниях у женщин нередко наблюдаются нарушения репродуктивной функции. Механизмы этих нарушений у человека недостаточно изучены, и поэтому необходимо проведение экспериментальных исследований, которые позволяют оценивать изменения репродуктивной системы в динамике с использованием различных методических подходов. С целью моделирования хронического воспалительного процесса и эндотоксикоза самкам мышей линии C57BL/6 в фазу диэструса подкожно вводили суспензию липополисахарида (ЛПС) *E. coli* O26:B6 с гранулами сефарозы. Сефароза использована в качестве сорбента, позволяющего добиться пролонгированного действия ЛПС. Животных выводили из эксперимента через 1, 7, и 40 суток. Проводили морфометрическое исследование серийных срезов яичников, в сыворотке крови определяли ИФА-методом уровни эстрадиола, прогестерона, эндотоксина и С-реактивного белка (ELISA KIT, Cusabio). Развитие воспалительного процесса у мышей-самок C57BL/6 сопровождалось повышением в сыворотке

крови уровня С-реактивного белка и эндотоксина, нарушением эстрального цикла. При морфологическом исследовании в зоне введения ЛПС с сефарозой на 1 сутки выявляли экссудативное гнойное воспаление, на 7–40 сутки вокруг введенного материала формировался хронический абсцесс. По данным морфометрического исследования яичников показано, что на 1 и 7 сутки после введения ЛПС с сефарозой усиливаются процессы атрезии фолликулов, а на 40 сутки отмечается тенденция к нормализации морфофункционального состояния яичников. Таким образом, бактериальный эндотоксикоз, индуцированный у самок мышей С57BL/6 путем введения ЛПС с сефарозой, вызывает развитие хронического воспалительного процесса и характеризуется повышением уровня С-реактивного белка, изменением уровня эстрадиола и прогестерона и нарушением процессов фолликулогенеза.

**Влияние условий культивирования на фенотип клеток,  
полученных из кардиальной и скелетной мускулатуры крысы**

**Чепелева Елена Васильевна**

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*amareza@mail.ru*

Ишемическая болезнь сердца — одна из тяжелых форм сердечно-сосудистых заболеваний, которая часто приводит к инфаркту миокарда и является основной причиной смертности населения. Клеточная терапия является одним из наиболее современных подходов к лечению инфаркта миокарда, использование различных типов клеток в период острой и хронической фазы заболевания облегчает восстановление пораженных тканей, приводит к улучшению функциональных параметров сердечной деятельности, и ускорению процесса реабилитации больных.

В сердце показано существование так называемых кардиальных стволовых клеток, которые способны дифференцироваться в кардиомиоциты, гладкомышечные и эндотелиальные клетки сосудов. В скелетных мышцах также было показано наличие региональных стволовых клеток (миогенных и гематопоэтических), которые способны к самоподдержанию и дифференцировке в различных направлениях. Таким образом, эти клетки могут быть использованы для получения самоподдерживающейся популяции мультипотентных стволовых клеток и их дальнейшей дифференцировки в кардиальном направлении.

В данной работе исследуются и отрабатываются протоколы получения и культивирования стволовых клеток из эксплантов тканей сердца и четырехглавой мышцы бедра крысы. Клетки, полученные из кардиальной мускулатуры, культивировали в среде с различным процентным содержанием сыворотки; клетки, полученные из скелетной мускулатуры, культивировали на пластике и на слое экстракта базальной мембраны «BD Matrigel™» (при этом в культуре клеток выявлялись ритмичные сокращения). Также оценивалась способность полученных культур к дифференцировке под действием дексаметазона.

В ходе работы показано, что культивирование в условиях низкого процентного содержания сыворотки в среде приводит к сохранению маркеров стволовых клеток (C-kit, Sca-1); тип поверхности, на которой культивируются клетки, выделенные из мышечной ткани, оказывает влияние на особенности клеточного состава, экспрессию миогенных маркеров, адгезивные свойства и темпы дифференцировки.

**Индукция трансдифференцировки фибробластов мышцы в нейрональные клетки**

**Шнайдер Татьяна Александровна<sup>1,2</sup>, Фишман В.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*shnyder.t@yandex.ru*

На сегодняшний день существует большое количество заболеваний, не поддающихся медикаментозному лечению. Среди них особое место занимают нейродегенеративные заболевания, проблема которых в последние годы стала особенно острой. Одним из методов лечения подобных патологий является аутологичная клеточная терапия. Перспективный подход

получения аутологичных клеток — репрограммирование генома дифференцированных клеток. Получить индуцированные нейрональные клетки путём прямого репрограммирования можно несколькими путями, в том числе в виде индуцированных нейронов, т.е. терминально дифференцированных клеток и нейральных предшественников. В данной работе нами были реализованы оба подхода. Для индукции трансдифференцировки фибробластов мыши в нейрональные клетки мы использовали лентивирусные векторы, несущие гены трёх транскрипционных факторов: *Ascl1*, *Brn2* и *Myt1l*. Полученные таким образом нейрональные клетки анализировали иммуноцитохимически на наличие молекулярных маркёров фибробластов (*FNI* и *Col-1*) и нейрональных клеток (*bTubb3*, *MAP2* и *NF-H*) в нескольких временных точках. Для получения нейральных предшественников мы использовали лентивирусный вектор, несущий ген транскрипционного фактора *Sox2*. В ходе проделанной работы нами была получена культура индуцированных нейральных стволовых клеток.

В ходе проделанной работы путём трансдифференцировки нами были получены нейрональные клетки. Свидетельством репрограммирования фибробластов служило изменение морфологии на нейрональную, а также экспрессия специфических молекулярных маркеров. В дальнейшем планируется изучение полноты репрограммирования полученных нейрональных клеток.

### **Использование метода ДНК-баркодирования для исследования механизмов репрограммирования генома соматических клеток**

***Юнусова Анастасия Маратовна***

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия  
Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия  
yunusova-nastya92@mail.ru*

Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) имеют огромный потенциал для медицины и фундаментальных исследований. К сожалению, многие фундаментальные основы индукции плюрипотентности остаются неизвестными. Существующие на данный момент модели, описывающие механизмы репрограммирования, не позволяют объяснить, что отличает ту малую часть клеточной популяции, которая успешно превращается в ИПСК, от остальных клеток. Данная работа направлена на изучение распределения способности к репрограммированию в популяции дифференцированных клеток.

Нами была создана система, позволяющая маркировать клетки исходной популяции фибробластов уникальным ДНК-баркодом и таким образом следить за судьбой потомков каждой клетки в процессе репрограммирования. Для маркирования клеток в нетранскрибируемую часть одного из вирусов, используемого для индукции плюрипотентности, была введена искусственно синтезированная последовательность из 30 случайных нуклеотидов. Теоретически, полученный вирусный коктейль содержит комбинацию из более чем  $10^{19}$  вирусов, последовательность генома которых отличается только уникальным сочетанием 30 нуклеотидов. При обработке фибробластов баркодированным вирусом и интеграции провирусной последовательности в геном, каждая клетка оказывается маркированной уникальным баркодом, который будет наследоваться следующими поколениями.

На данный момент нами созданы векторы, несущие репрограммирующие факторы Яманакис под контролем индуцибельного промотора, необходимые для индукции плюрипотентности. Получена библиотека баркодированных вирусов, несущих белок-трансактиватор, который регулирует экспрессию репрограммирующих факторов. Репрограммирующая способность полученных векторов была подтверждена в опыте по трансдукции ими фибробластов мыши.

Последующий анализ ДНК-баркодов успешно репрограммировавшихся клеток, включающий массовое параллельное секвенирование, позволит ответить на вопрос, наследуется ли способность фибробластов к репрограммированию в ходе клеточных делений.

## **Подсекция «БИОФИЗИКА, БИОИНЖЕНЕРИЯ И НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ»**

### **Получение каркасных трехмерных пористых матриц для инженерии костной ткани**

*Акулина Елизавета Александровна, Жаркова Ирина Игоревна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*akoolka@mail.ru*

Разработка полимерных систем медицинского назначения для тканевой инженерии является актуальным направлением, поскольку появление 3D матриц позволит изучать и выращивать клетки в объеме, что значительно повышает скорость образования поврежденной ткани

Нами предложен новый способ получения трехмерных полимерных структур для инженерии костной ткани. Основой для таких структур может служить биоразлагаемый биосовместимый полимер микробиологического происхождения полиоксибутират (ПОБ), а также его сополимеры и композиты. Мы использовали сополимер поли-3-оксибутират-со-3-оксивалерат (ПОБВ).

Методика основана на принципе выщелачивания — вымывание из системы одного из её компонентов, который является порообразователем, и формования с использованием 3D-шаблона. В качестве порообразователя и 3D-шаблона используется прессованный сахар-рафинад в форме кубика, который последовательно насыщается раствором ПОБВ в хлороформе различной концентрации: 30 мг/мл, 60 мг/мл, 120 мг/мл. После полного испарения хлороформа полученная структура помещается в дистиллированную воду на шейкер на 2–3 часа. После высушивания в термостате получается пористый матрикс кубической формы. Матрикс из ПОБВ обладает прочностью и упругостью, что является необходимым фактором для культивирования клеток костной ткани. Пористость матриц составляет 80 %, размер пор — 180–200 мкм.

Полученные матрицы были исследованы на биосовместимость *in vitro* на мышинных фибробластах линии 3Т3. Для оценки жизнеспособности клеток использовался стандартный метод ХТТ.

При сравнении показателей роста клеток на плоской поверхности культуральной плашки и на трехмерной пористой структуре было показано, что по истечении пяти суток на 96-луночном культуральном планшете клетки образовывали монослой, и дальнейшего роста не наблюдалось. Однако на трехмерном матриксе такой проблемы не возникало, и количество клеток продолжало увеличиваться.

Таким образом, разработанную нами методику можно использовать для создания пористых 3D-матриц для заполнения костных дефектов с целью последующего активного замещения биополимерной системы костной тканью.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ГК № 14.740.11.1077 от 24 мая 2011 г. Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».*

### **Роль ионных механизмов в регуляции фотосинтетических процессов возбудимой растительной клетки**

*Алова Анна Владимировна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*ava1945@mail.ru*

При освещении клеток междуузлия харовых водорослей *Chara corallina* происходит образование устойчивых паттернов с пространственно неоднородным распределением фотосинтеза и транспорта  $H^+$  через плазматическую мембрану. Генерация потенциала действия (ПД) сглаживает профиль рН в апопласте, но усиливает различия в работе фотосинтетического аппарата. Неоднородная активность фотосистемы II (ФСII) в пределах клетки в покое и подавление ФСII при возбуждении обусловлены возрастанием тепловых потерь в пигментной

антенне при повышении градиента рН на тилакоидных мембранах. Энергозависимое тушение флуоресценции возрастает, когда количество поглощаемых квантов превышает возможности фиксации CO<sub>2</sub>, которая зависит от ионного состава цитоплазмы в окружении хлоропластов. Возможно, что взаимодействия между плазмалеммой и хлоропластами опосредованы изменениями концентраций H<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> в цитоплазме. Это связано с разным направлением потоков H<sup>+</sup> через плазмалемму в разных участках освещенной клетки в покое и с резким (более, чем 100-кратным) возрастанием [Ca<sup>2+</sup>] в цитоплазме во время ПД.

Внутриклеточная перфузия клеток междуузлия позволяет имитировать предполагаемые изменения рН и [Ca<sup>2+</sup>] в цитоплазме, оценить их влияние на активность ФСII хлоропластов с помощью микрофлуориметрии. Это может прояснить причины варьирования тепловых потерь в разных частях освещенной клетки в покое и роль ионов Ca<sup>2+</sup> в возрастании тепловых потерь при генерации ПД.

В ходе работы были установлены рН-зависимости для квантового выхода фотопереноса в ФСII (КВ ФСII), нефотохимического тушения (NPQ) и характерного времени снятия NPQ. При сравнении данных для нативных и перфузируемых клеток сделан вывод о неоднородном распределении рН в цитоплазме на свету. Выявлена зависимость от концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитоплазме для КВ ФСII при двух значениях рН перфузионного раствора. Показанная зависимость имеет более выраженный вид при щелочных значениях рН<sub>цит.</sub>, чем при нейтральных. Следовательно, энергозависимое тушение флуоресценции определяется не только градиентом H<sup>+</sup> на тилакоидной мембране, но зависит и от других факторов, в частности от повышения уровня [Ca<sup>2+</sup>] в строме хлоропластов.

### **Исследование структуры и конформационной подвижности нуклеосом методом молекулярной динамики**

***Армеев Григорий Алексеевич, Шайтан Алексей Константинович***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*armeev@molsim.org*

Нуклеосомы играют важную роль при упаковке генетического материала, а так же регулируют его транскрибирование. Для определения свойств хроматина, важно изучать межгистонные взаимодействия и взаимодействия между гистонами и ДНК. Анализ конформационной подвижности нуклеосом позволяет находить коллективные движения, играющие роль при упаковке ДНК.

Метод молекулярной динамики позволяет исследовать эволюцию молекулярной системы в растворителе на достаточно больших временах (сотни наносекунд). С помощью метода ковариационного анализа, выявляют низкочастотные скоррелированные передвижения атомных группировок, которые можно использовать для управляемой молекулярной динамики.

В результате работы были построены молекулярно-механистические модели нуклеосом. Показана возможность существования нуклеосомных интермедиатов на временах 100 и более наносекунд. Обнаружены остатки, связывающие гистоны за счет ионных взаимодействий. Выявлены скоррелированные движения, отвечающие за расхождения витков ДНК в нуклеосоме. Произведено силовое воздействие на систему вдоль наиболее амплитудных собственных векторов. Исследована возможность возвращения системы в исходное состояние. Произведена оценка силы, необходимой для отрыва нити ДНК от гистонов.

Нуклеосомы и их интермедиаты можно исследовать в полноатомном приближении. Некоторые из выявленных коллективных мод соответствуют движениям, показанным другими методами. Данные движения могут играть большую роль в процессе формирования 30 нм фибрилл, а так же в процессе прохождения РНК полимеразы по ДНК. Нуклеосомы способны возвращаться в исходное состояние после деформации. Полученные оценки силы отделения ДНК от гистонов позволяют судить о стабильности нуклеосом.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-04-31942.  
Вычислительные ресурсы предоставлены суперкомпьютерным центром МГУ.*

## **Хитозан как сорбент для иммобилизации протеолитических ферментов**

*Беленова Алена Сергеевна, Логвинова Елизавета Евгеньевна,*

*Королева Виктория Александровна*

*Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия*

*pfi.pharm@mail.ru*

Создание новых фармацевтических веществ на основе иммобилизации определяет более высокую пролонгированность действия и снижение риска побочных эффектов. Подбор носителей при иммобилизации ферментов для клинического применения представляет собой определенную экспериментальную задачу, так как к подобного рода подложкам, кроме основных требований предъявляются еще и ряд специальных установок, учитываемых фармакологической безопасностью и особенностями доклинических и клинических испытаний. В этой связи мы осуществили адсорбционную иммобилизацию трипсина на хитозане.

Определение количества белка в препарате липазы осуществляли методом Лоури, в иммобилизованном ферменте — модифицированным методом Лоури. Каталитическую активность свободного и иммобилизованного трипсина измеряли при помощи стандартной методики.

Опыты показали, что трипсин, иммобилизованный хитозане, сохраняет 94 % активности нативного фермента. При исследовании зависимости каталитической активности фермента от температуры гидролиза козеина установлено, что при иммобилизации энзима на хитозане оптимальная температура гидролиза смещается в сторону более высоких значений и составляет 37 °С.

Выявлено, что кривая зависимости величины каталитической активности от значений концентрации ионов водорода для данного фермента имеет максимум в диапазоне рН 8–9. При иммобилизации имеет место сужение диапазона оптимальных значений рН, оптимальным рН для иммобилизованного фермента является 8,0.

Инфракрасные спектры поглощения липазы регистрировали на ИК-спектрофотометре Specord M-80 в диапазоне 4000–400 см<sup>-1</sup>.

Для получения данных о механизме взаимодействия фермента с носителями были зарегистрированы спектры поглощения свободного энзима, трипсина иммобилизованной на хитозане, а так же спектры свободных носителей.

Проведенные исследования позволяют предположить, что при взаимодействии трипсина с хитозаном связывание протекает по карбоксильным группам трипсина и аминок группам носителя по типу водородных и электростатических взаимодействий.

Анализ полученных результатов по иммобилизации трипсина на хитозане позволяет сделать заключение о том, что адсорбция фермента не приводит к изменениям каталитически активной конформации. Данный факт позволяет считать хитозан перспективным носителем для иммобилизации ферментных препаратов с целью получения стабильных и высокоактивных лекарственных препаратов пролонгированного действия.

## **Получение полимерных систем на основе композитных микрочастиц в альгинатном геле для тканевой инженерии**

*Беспалова Алла Евгеньевна, Жаркова Ирина Игоревна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*bespalovaalla@mail.ru*

В настоящее время актуальной является разработка полимерных систем медицинского назначения для тканевой инженерии костной ткани. Нами предложена новая полимерная система, состоящая из композитных полимерных микрочастиц, скрепленных альгинатом натрия. Композитные микрочастицы, в свою очередь, сконструированы из сополимера биоразлагаемого и биосовместимого поли-3-оксибутирата и полиэтиленгликоля (ПОБ-ПЭГ) и гидроксиапатита натрия (ГА).

В качестве агента, активно используемого в тканевой инженерии для стимулирования пролиферации клеток и замещения костной тканью, использован гидроксиапатит натрия. Для

обеспечения длительного эффекта высвобождения ГА использованы системы пролонгированного высвобождения на основе микрочастиц из ПОБ-ПЭГ. Ввиду уникальных свойств ПОБ-ПЭГ такие частицы биосовместимы и не вызывают острых и хронических воспалительных реакции, при этом ГА высвобождается в течение длительного времени за счет деградации полимерной основы микрочастиц. Для придания твердой каркасной структуры и возможности трансплантации клеток в полученной полимерной системе использован альгинат, который также широко используется в качестве искусственного внеклеточного матрикса при трансплантации клеток.

Для получения микрочастиц с ГА использован метод одноэтапного эмульгирования с последующим испарением органического растворителя, хлороформа. Композитные микрочастицы состояли из ПОБ-ПЭГ (с молекулярной массой 700 кДа) и ГА в следующем соотношении: 60/40. Диаметр полученных микросфер составил  $50 \pm 15$  мкм. При постоянном перемешивании к 2 % раствору альгината натрия добавляли микросферы, к полученной смеси добавляли 2 % раствор хлорида кальция до получения плотного матрикса, после чего высушивали в термостате. В результате данного эксперимента получен материал, представляющей собой тонкую плотную пластину из микрочастиц ПОБ-ПЭГ/ГА, скрепленных альгинатным гелем.

Таким образом, разработана методика создания биополимерных систем для инженерии костной ткани, которую можно использовать для закрытия полостей ткани с целью последующего активного замещения биополимерной системы костной тканью.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ГК № 14.740.11.1077 от 24 мая 2011 г. Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».*

### **Изучение динамики липидных рафтов методом молекулярной динамики**

***Боздаганиян Маринэ Евгеньевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*m.bozdaganyayn@gmail.com*

Большое количество экспериментов указывает на то, что в мембране есть наноразмерные области, обогащенные сфингомиелином и холестерином — «рафты» (от англ. raft – плот), которые играют важную роль в функциональной активности клетки: мембранного транспорта, передачи сигнала, регуляции активности мембранных белков и т.д. Современное понимание организации липидных рафтов в биологических мембранах предполагает, что это, скорее всего, гранулированные структуры нанометровых размеров различного состава, а не крупномасштабные образования, разделяющие всю клеточную мембрану на две фазы.

Целью настоящей работы было исследование формирования и структуры рафта методом молекулярной динамики (в тяжелоатомном приближении) из трех липидов: пальмитоил-олеоилфосфатидилхолина, холестерина и сфингомиелина.

Основное внимание было уделено таким характеристикам рафта как размер, толщина, коэффициенты диффузии холестерина, параметры порядка ацильных цепей. Рассчитан потенциал средней силы между двумя монослоями. Показано, что для рафта длиной 12 нм, два монослоя оказываются сдвинутыми на 4 нм относительно друг друга.

### **Расчёт свободной энергии взаимодействия калиевого канала с блокатором аджитоксином**

***Большакова Мария Александровна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*b.m.a.16@mail.ru*

Современная биофизика уделяет большое внимание изучению причин патологий, связанных с нарушением работы ионных каналов, участвующих в целом спектре важнейших физиологических процессов. В связи с этим, представляет особый интерес выявление структурных и функциональных особенностей белков. Ценными инструментами для исследования в этом направлении являются токсины, выделенные из яда скорпиона. Все данные о взаимодействиях помогают понять общую структуру поверхности ионного канала

и особенности связывания со специфическими блокаторами, что способствует дальнейшему созданию новых пептидов, нацеленных на канал, как на мишень.

С помощью методов компьютерного моделирования мы начали изучение связывания аджитоксина с калиевым каналом *Kv1.2* при физиологических условиях. На базе известных кристаллических структур калиевого канала и его блокатора предварительно был создан комплекс в соответствии с данными об аминокислотных остатках, непосредственно участвующих в связывании. Полученные значения свободной энергии, вычисленные методом зонтичного сэмплирования, сравнимы с экспериментальными данными из литературных источников. Для определения достоверности полученных значений и определения погрешности был произведен ряд повторных расчётов энергии связывания канала с аджитоксином при тех же условиях. Расширение диапазона концентраций раствора, в котором проводилось исследование, и проведение расчётов при новых условиях позволили установить заметное влияние ионной силы раствора на энергию связывания токсина с каналом.

В целом можно заключить, что метод зонтичного сэмплирования позволяет правильно рассчитывать константу связывания токсинов с каналами при правильно подобранной ионной силе растворов. В ходе работы была создана вычислительная модель *Kv1.2* канала с блокатором, которая будет служить отправной точкой для других теоретических исследований, в особенности, для тестирования новых блокаторов.

### **Флуоресценция гидрофобного красителя нильского красного в зависимости от содержания холестерина в миелиновом нервном волокне**

*Вердиян Екатерина Эдуардовна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*ekatverdi@gmail.com*

Аксоны большинства нервных клеток позвоночных животных покрыты оболочкой из миелина, образуя так называемые миелиновые нервные волокна (МНВ). Миелин — сложная структура, играющая важную роль в передаче возбуждения по нервному волокну. Изменения в структуре миелина, в частности, изменение содержания холестерина, может приводить к разрушению богатых холестерином, сфинголипидами и некоторыми белками областей — мембранных рафтов, участвующих в протекании многих процессов на клеточном уровне.

В данной работе для оценки состояния миелина при изменении содержания холестерина в составе МНВ был использован метод флуоресцентной зондовой микроскопии. В качестве флуоресцентного зонда был взят нильский красный, параметры флуоресценции которого (интенсивность, положение максимума флуоресценции) зависят от гидрофобности среды. Известно, что в гидрофильной среде краситель имеет низкий квантовый выход флуоресценции, в то время как в гидрофобной среде его квантовый выход увеличивается, и максимум флуоресценции сдвигается в коротковолновую область.

МНВ инкубировали с метил- $\beta$ -циклодекстрином — веществом, используемым для экстракции холестерина из плазматических мембран. Было обнаружено, что после инкубации МНВ с метил- $\beta$ -циклодекстрином наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции нильского красного, а также сдвиг максимума в длинноволновую область, что следует из изменения гидрофобности окружения в результате модификации липидного состава мембран. Уменьшение уровня содержания холестерина может приводить к разрушению мембранных рафтов, нарушению функционирования связанных с ними мембранных белков и нервного волокна в целом.

## Поли(АДФ-рибозил)ирование белков, гомеостаз $\text{Ca}^{2+}$ и функциональное состояние митохондрий в нейронально дифференцированных клетках РС12 в условиях окислительного стресса

*Владимирова Инна Валерьевна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*vladimirova-bph@yandex.ru*

Постоянно образующиеся в клетке активные формы кислорода (АФК), быстро элиминируются различными антиоксидантными системами. Однако при некоторых патологиях уровень АФК в клетке значительно возрастает, и они начинают оказывать токсическое действие на липиды, белки, нуклеиновые кислоты и различные структуры клетки. Это явление получило название «окислительный стресс». Оно лежит в основе патогенеза таких заболеваний как инфаркт мозга, диабетическая полинейропатия, болезнь Паркинсона, шизофрения и др. Целью данной работы было выяснить причинно-следственные отношения между нарушением ионного гомеостаза, дисфункцией митохондрий и поли(АДФ-рибозил)ированием белков в клетке в условиях окислительного стресса.

Эксперименты проводили на культуре нейронально дифференцированных клеток феохромоцитомы крысы РС12. Окислительный стресс вызывали инкубацией клеток в среде, содержащей 0,1–1,0 мМ пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) и мембранный митохондриальный потенциал ( $\Delta\Psi_m$ ) измеряли с использованием флуоресцентных зондов — Fura2 и Rh123, соответственно. Содержание и распределение в клетке поли(АДФ-рибозы) (PAR) определяли с помощью имуннофлуоресцентной микроскопии.

Было показано, что при длительной (несколько десятков минут) инкубации клеток РС12 в среде с 1 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , практически во всех клетках происходит двухфазное повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , причем второе повышение было более сильным, отставленным по времени и, как правило, необратимым. Характер изменения уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  во времени хорошо соответствовал изменениям  $\Delta\Psi_m$ , указывая на то, что при действии  $\text{H}_2\text{O}_2$  основным депо поступающих извне ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке являются митохондрии. Инкубация клеток РС12 в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$  приводила к сильной активации синтеза PAR, причем еще до наступления второго подъема  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ . Повышенный уровень PAR в клетках сохранялся вплоть до полного развития дисрегуляции  $\text{Ca}^{2+}$ .

Полученные результаты указывают ключевую роль активации системы поли(АДФ-рибозил)ирования белков в повреждении нейронов АФК при окислительном стрессе. Для подтверждения этого предположения в дальнейшем нами будут проведены исследования с применением специфических ингибиторов ферментов синтеза PAR.

## Конструирование и экспрессия в *Escherichia coli* генов гибридных флуоресцентных белков Гапизов Султан Шахбанович<sup>1,2</sup>, Петровская Л.Е.<sup>1</sup>, Шингарова Л.Н.<sup>1</sup>, Лукашев Е.П.<sup>2</sup>, Долгих Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,*

*Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*gsultan3@gmail.com*

С целью разработки новых методов молекулярной визуализации мы поставили задачу путем экспрессии в клетках *E. coli* получить гибридный белок, содержащий мономерный флуоресцентный белок mCherry и 10 домен фибронектина человека III типа (<sup>10</sup>F<sub>n</sub>3). Домен фибронектина имеет небольшой размер, обладает высокой термостабильностью и хорошей растворимостью. В качестве альтернативного каркасного белка он широко используется для конструирования искусственных связывающих белков — аналогов антител.

В работе использовались стандартные методы генной инженерии. Спектры флуоресценции были измерены на спектрофлуориметре Fluorolog 3 (Horiba Jobin Yvon), приобретенном в рамках Программы развития МГУ.

Нами были получены 2 плазмидные конструкции на основе pET32a, в одной из которых на 5'-конце гибридного гена находится ген <sup>10</sup>F<sub>n</sub>3, а во второй — ген mCherry. Проведена оптимизация 5'-концевой последовательности гена mCherry, в результате которой удалось

повысить уровень экспрессии второго варианта. Сравнительный анализ интенсивности флуоресценции лизатов бактериальных культур, экспрессирующих полученные гибридные гены, показал, что уровень флуоресценции в клетках, экспрессирующих ген N-Cherry2, в 4,3 раза выше. Установлено, что использование данной конструкции повышает выход растворимого гибридного белка, который был выделен при помощи металлоаффинной хроматографии. Анализ с помощью гель-фильтрации показал, что очищенный белок является мономером, а его спектр флуоресценции полностью совпадает со спектром белка mCherry.

Результаты работы могут быть использованы для создания агентов, обеспечивающих визуализацию различных белковых мишеней.

*Работа проводится при финансовой поддержке гранта НШ-5597.2012.4 и программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».*

### **Спиртовая экстракция как способ солюбилизации рекомбинантного интерферона бета-1b из телец включения**

***Журавко Анастасия Сергеевна***

*Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,  
факультет биотехнологии и органического синтеза, Москва, Россия*

*nastasya\_Zh@mail.ru*

Высокоуровневая экспрессия гетерологических белков в клетках *E. coli* приводит к их аккумуляции в тельца включения (ТВ). Образование ТВ является следствием внутриклеточного накопления частично сложенных экспрессированных белков с незамкнутыми дисульфидными связями, которые агрегируют в результате гидрофобных или ионных взаимодействий не сложенных участков белковой молекулы. Поэтому важный этап на пути получения активного белка из ТВ — стадия солюбилизации. Ее условия должны быть мягкими, не приводящими к образованию спиральных структур белка. Задача усложняется, необходимостью извлекать из ТВ белок, проявляющий выраженные гидрофобные и щелочные свойства.

Типичным представителем таких белков является рекомбинантный интерферон бета-1b (IFN $\beta$ -1b). При извлечении IFN $\beta$ -1b из ТВ все выше перечисленные проблемы не дают применить стандартную методологию, включающую в себя щелочной pH и невысокую концентрацию мочевины. Целью настоящей работы является разработка альтернативного и эффективного метода солюбилизации IFN $\beta$ -1b из ТВ.

Основываясь на знании физических свойств IFN $\beta$ -1b предположили, что органические растворители, в частности спирты, будут, хорошими солюбилизирующими агентами: они нарушают систему водородных связей и ослабляют в белковых молекулах гидрофобные взаимодействия вследствие установления контактов с неполярными радикалами аминокислот. Для решения поставленной задачи провели ряд экспериментов по изучению растворимости IFN $\beta$ -1b в спиртах в диапазоне значений pH от 2 до 12. Использовали такие спирты как: этанол, 1-пропанол и изопропанол. Было установлено, что после обработки ТВ 0,3 % раствором ТФУ, целевой белок легко экстрагируется в любой из выше перечисленных спиртов. Однако наилучшую растворимость IFN $\beta$ -1b показал в 55 % растворе 1-пропанола. Данный способ позволил избирательно экстрагировать целевой белок из ТВ на 80–85 %. Более высокие концентрации спирта извлекали из ТВ балластные компоненты клетки, что приводило к повышенному содержанию белков клетки-хозяина в конечном препарате.

Таким образом, впервые был разработан новый метод, позволяющий проводить спиртовую экстракцию гидрофобных и щелочных белков из ТВ.

**Пролонгированное высвобождение лизоцима из микрочастиц  
на основе сополимера поли-3-оксибутирата с полиэтиленгликолем  
Иванова Элина Валерьевна<sup>1,2</sup>, Зернов Антон Лаврентиевич<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Институт биохимии им А.Н. Баха РАН, Москва, Россия*

*eliza92@yandex.ru*

Разработка и исследование полимерных систем пролонгированного высвобождения биологически активных веществ белковой природы позволяет устранить многие недостатки традиционных лекарственных форм. Поли-3-гидроксибутират (ПГБ) и его сополимеры, получаемые в нашей лаборатории биотехнологическим путем с помощью штамма *Azotobacter chroococcum* 7Б, используются для создания широкого спектра изделий биомедицинского назначения, обладающих необходимыми для этого свойствами биodeградируемости и биосовместимости.

В работе исследованы микрочастицы, загруженные белком, полученные с использованием методики двухэтапного эмульгирования S/O/W. В качестве модельного белка выбран лизоцим, обладающий ферментативной активностью. Для инкапсулирования белка использованы сополимер поли-3-гидроксибутират-полиэтиленгликоль (ПГБ-ПЭГ) молекулярной массы 250 кДа, а также полимеры ПГБ с молекулярной массой 25 и 255 кДа. Высвобождение белка из микрочастиц осуществлялось *in vitro* в фосфатном буфере (рН 7,4) при 37 °С.

Высвобождение белка из микрочастиц происходит посредством двух процессов: диффузии и деградации микрочастиц. На кинетику высвобождения белка оказывают влияние молекулярная масса и гидрофобность полимера. Для улучшения характеристик пролонгированного высвобождения лизоцима использован более гидрофильный ПГБ-ПЭГ. Для сравнения использовались ПГБ разных молекулярных масс. Показано, кинетика высвобождения частиц из ПГБ-ПЭГ была значительно лучше, чем у микрочастиц из ПГБ. По эффективности инкапсулирования белка данный сополимер также имел преимущества.

Белок, инкапсулированный в полимерный матрикс, в процессе высвобождения может менять свою структуру. Его целостность контролировали электрофорезом аликвот высвободившегося белка в ПААГ в присутствии SDS и исследованием ферментативной активности лизоцима. Лизоцим сохранял ферментативную активность на высоком уровне в течение 10 суток высвобождения *in vitro* в фосфатном буфере (рН 7,4) при 37 °С.

Таким образом, получены микрочастицы из трех полимеров, способные к пролонгированному высвобождению белков. Наилучшими параметрами инкапсулирования и высвобождения обладают микрочастицы из ПГБ-ПЭГ, лизоцим при выходе из частиц не теряет своей целостности и ферментативной активности в течение достаточно долгого времени — не менее 10 суток.

**Характеристика устойчивости фотосинтетического аппарата лишайников**

**Карпулевич Анастасия Андреевна, Тхор Евгений Сергеевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*biophys2010@yandex.ru*

Лишайники — фотосинтезирующие организмы, симбиотические ассоциации грибов (микобионты) и одноклеточных зеленых водорослей или цианобактерий (фотобионты). Лишайники не способны регулировать водный баланс, их фотосинтетический аппарат должен быть хорошо приспособлен к изменениям влажности, ионного состава, кислотности среды. Цель работы — изучить влияние освещенности, увлажнения, влияния кислой и щелочной среды и действия некоторых токсических веществ (диурон, медный купорос, ПАВ, выхлопные газы автомобиля) на фотосинтетический аппарат лишайников. Исследование проведено на лишайниках родов *Xanthoria*, *Hypogimnia*, *Parmelia*. Образцы собраны на территории Звенигородской Биологической Станции им. Скадовского. В экспериментах на талломах лишайников измерены спектры отражения, кривые индукции флуоресценции хлорофилла,

кинетики фотоокисления и восстановления реакционного центра фотосистемы 1. Содержание фотосинтетических пигментов в талломах измерено в экстрактах спектрофотометрически.

Показано, в сухом лишайнике фотохимическая активность фотосистем 1 и 2 практически отсутствует. При увеличении влажности воздуха фотосинтетическая активность постепенно возрастает. При увлажнении лишайника рода *Xanthoria* в спектре отражения таллома наблюдается сдвиг максимума от 560 нм к 554 нм. Во всех изученных лишайниках не наблюдалось насыщения электронного транспорта даже при самом интенсивном излучении ( $650 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{max}} = 455 \text{ нм}$ ). Величина нефотохимического тушения, наблюдаемого в ответ на интенсивное облучение, для родов *Hypogymnia* и *Parmelia* оказывается в 3–4 раза больше, чем у *Xanthoria*. Время переноса электрона из пула хинонов к фотосистеме 1 возрастает в ряду: *Xanthoria* (17 msec), *Hypogymnia* (24 msec), *Parmelia* (67 msec). Действие выхлопных газов повреждает фотосинтетический аппарат водорослей во влажном и в сухом талломе лишайника. Во влажном состоянии таллом лишайника лучше пропускает свет в центральную часть, где содержатся клетки водорослей. Фотосинтетический аппарат клеток водорослей у лишайников рода *Xanthoria* наиболее устойчив к изменениям pH среды и к воздействию токсических веществ. Все исследованные лишайники лучше переносят более щелочную среду, чем более кислую. Лишайники не восстанавливают полностью фотосинтетическую активность спустя 24 часа после действия выхлопных газов.

### **Прижизненная оценка деполаризующих свойств коллагена методом кросс-поляризационной ОКТ**

***Киселева Елена Борисовна<sup>1</sup>, Сергеева Екатерина Александровна<sup>2</sup>, Гладкова Наталья Дороевна<sup>1</sup>, Тарарова Екатерина Сергеевна<sup>3</sup>, Стрельцова Ольга Сергеевна<sup>1</sup>***

<sup>1</sup> *Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России,  
Нижний Новгород, Россия*

<sup>2</sup> *Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия*

<sup>3</sup> *Нижегородский областной онкологический диспансер, Нижний Новгород, Россия  
kiseleva84@gmail.com*

Коллаген на всех уровнях иерархической организации обладает оптической анизотропией и, как следствие, способен деполаризовать поляризованную световую волну. Это свойство использовано для визуализации коллагена неинвазивным высокоразрешающим оптическим методом — кросс-поляризационной оптической когерентной томографией (КП ОКТ), помогающей в постановке клинического диагноза.

Цель работы состояла в разработке и проверке на клинических примерах способа количественной оценки полезного сигнала в ортогональном КП ОКТ изображении, отражающем деполаризующие свойства коллагеновых волокон. В качестве численного критерия предложен безразмерный параметр — интегральный фактор деполаризации (ИФД), который представляет собой соотношение принятых мощностей ОКТ сигнала в ортогональных и исходных каналах, усредненное по области изображения, который позволяет избавиться от влияния спекл-шумов а также от инструментального шума, создающего определенный фоновый сигнал. Полуавтоматическим методом в программе ImageJ (версия 1.43u) проведен количественный анализ 162 КП ОКТ изображений слизистой оболочки мочевого пузыря, полученных на приборе «ОКТ 1300-У» (ИПФ РАН, г. Нижний Новгород). Из них 94 изображения: здоровых добровольцев и больных с первичной патологией слизистой оболочки мочевого пузыря, как пример вызванного воспалительным или неопластическим процессом повреждения коллагеновых волокон; 68 изображений больных с лучевым циститом как пример индуцированного ионизирующим излучением повреждения коллагеновых волокон.

Показано, что ИФД, предложенный для количественной оценки относительного полезного сигнала КП ОКТ изображения, объективизирует визуальную характеристику изображения и достоверно ( $p < 0,005$ ) оценивает деполаризующие свойства коллагеновых волокон при разной природе патологии.

*Работа поддержана ФЦП Минобрнауки России (Соглашения № 8145, № 8741) и грантом Правительства РФ (Договор № 11.G34.31.0017).*

## **Анализ возможности существования устойчивого состояния эритроцитов**

### **в области низких значений концентрации АТФ**

**Краснова Мария Алексеевна, Зайцева Галина Владимировна, Маслова Марина Николаевна**

*Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва, Россия*

*mashavin@mail.ru*

Данная работа ставит своей целью выяснить условия возможного существования у эритроцитов устойчивого стационарного состояния при низких концентрациях АТФ в цитоплазме, отличного от *in vivo*. Такое состояние может возникнуть при различных патологиях организма или в донорской крови при ее хранении, что с большой вероятностью приведет к нарушению функционирования эритроцитов.

Объектом исследования являются эритроциты человека. Метод исследования заключается в анализе кинетики проточного гомеостатирования концентрации АТФ в цитоплазме ( $p_{ATF}$ ), как одного из основных параметров клеточного метаболизма, от которого зависят скорости ферментативных реакций. По общепринятым взглядам скорость синтеза АТФ равна нулю в точке с нулевой  $p_{ATF}$ . Мы предполагаем, что это может быть не так. В работе указано, что кроме реакций гликолиза возможен другой источник пополнения цитоплазмы молекулами АТФ — синтез в реакциях сопряжения с реакциями ферментативного распада пептидных соединений. В самом деле, в цитоплазме всегда присутствуют в достаточном количестве и АДФ, и неорганический фосфат, и белки; известны эритроцитарные протеолитические ферменты. Получены зависимости скоростей синтеза ( $V^+$ ) и расхода ( $V^-$ ) АТФ от  $p_{ATF}$ . Кривая  $V^+$  имеет максимум, кривая  $V^-$  следует закону Михаэлиса-Ментен. Взаимное расположение рассматриваемых кривых может давать от одной до трех точек пересечения, две из которых устойчивы по  $p_{ATF}$ . Одна из этих точек соответствует состоянию эритроцитов *in vivo* и находится в области физиологических значений  $p_{ATF}$ . Вторая устойчивая точка может находиться в области более низких значений  $p_{ATF}$ . По нашему мнению это второе устойчивое состояние не может соответствовать состоянию основной массы эритроцитов. Но полностью ответить на вопрос, при каких условиях это состояние может быть реализовано можно только опытным путем. Ясно, что эритроциты, находящиеся в устойчивом состоянии с низкой  $p_{ATF}$ , не могут в полной мере выполнять свои функции.

## **Влияние лазерного облучения на состояние опухолевых сфероидов с флуоресцентным белком KillerRed**

**Кузнецова Дарья Сергеевна, Мелешина А.В., Черкасова Е.И., Елагин В.В., Ширманова М.В.**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

*bio.dasha.ds@gmail.com*

Фотодинамическая терапия является одним из перспективных методов лечения злокачественных новообразований. Предполагается, что использование флуоресцентных белков может расширить возможности этого метода. В связи с этим актуальна разработка методик, обеспечивающих возможность тестирования новых фотосенсибилизаторов и режимов облучения. Известно, что сфероиды, образующиеся при культивировании клеток опухоли в средах, имитирующих окружение клеток в организме, являются 3D-моделями солидных опухолей до начала ангиогенеза. В данной работе впервые было исследовано воздействие лазерного излучения на рост и состояние опухолевых сфероидов, полученных из клеток, трансфицированных красным флуоресцентным белком KillerRed, который при облучении светом с длиной волны от 530 до 580 нм продуцирует активные формы кислорода, вызывающие необратимые повреждения в клетках и их гибель. Сфероиды выращивали в матрикеле по методике Тауаба Hasan из клеток культуры колоректального рака (Colo26) с белком KillerRed и подвергали лазерному облучению с длиной волны 594 нм, мощностью 150 мВт/см<sup>2</sup>. Сравнивали состояние сфероидов и продолжительность их жизни без облучения лазером и после различных режимов облучения: на 12 день в течение 20 мин однократно и в течение 10 мин. через 3 дня и через 5 дней после начала их культивирования. Фотографии получали на инвертированном микроскопе Leica DMIL. Обнаружено, что лазерное воздействие на 3 день

тормозило формирование и рост сфероидов, а повторное облучение на 5 день вызывало их гибель к 7 дню культивирования. При однократном облучении сфероида, сформировавшиеся к 12 дню их роста, разрушались на 18 день. Не подвергавшиеся облучению сфероида начинали разрушаться не ранее, чем через 27 дней после их посева в матригель. Полученные результаты показали возможность и перспективность использования сфероидов в качестве модели, позволяющей осуществлять тестирование различных режимов облучения клеток, содержащих фотосенсибилизаторы.

**Использование генетически-кодируемого сенсора для анализа рН в опухолях *in vivo***  
**Кузнецова Мария Максимовна, Ширманова М.В., Игнатова Н.И., Клементьева Н.В.,**  
**Дружкова И.Н., Мишина Н.М., Белоусов В.В., Загайнова Е.В.**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*  
*kuznetsova.m.m@yandex.ru*

Внутриклеточный рН — важный параметр, определяющий функционирование почти всех биологических процессов в клетках. Известно, что внутриклеточное подкисление является индуктором апоптоза, тогда как подщелачивание возникает при активной пролиферации. Цель работы состояла в разработке методики наблюдения генетически-кодируемого сенсора *HyPer2C199S* на рН в экспериментальной опухоли *in vivo* с помощью флуоресцентного поверхностного имиджинга. В работе использовались клетки линии HeLa Kyoto (рак шейки матки человека), трансфецированные геном белка *HyPer2C199S* цитоплазматической локализации. *HyPer2C199S* — это мономер белковой природы, имеющий два пика возбуждения флуоресценции на длине волны  $\lambda = 420$  нм и  $\lambda = 500$  нм и пик эмиссии на  $\lambda = 516$  нм. При щелочных значениях рН происходит пропорциональное уменьшение пика возбуждения на 420 нм и увеличение пика на 500 нм, при кислых — наоборот. Исследования проводили на 7 самках мышей линии *nude* массой 18–20 г. За изменением размеров опухолей и интенсивности флуоресценции наблюдали с 4-го по 17 день роста опухоли на установке IVIS Spectrum. В результате разработана оригинальная методика наблюдения сенсора *HyPer2C199S in vivo* с помощью поверхностного флуоресцентного имиджинга. Для эффективной визуализации флуоресценции требуется хирургическое открытие кожного лоскута над опухолью. Полученные флуоресцентные изображения обрабатываются в программе ImageJ 1.43i путем вычета фона и деления изображения с возбуждением флуоресценции при  $\lambda = 500$  нм на изображение с  $\lambda = 430$  нм. Результирующее изображение отражает сигнал сенсора *HyPer2C199S*, т.е. рН. Обнаружена значительная гетерогенность по уровню сигнала сенсора в пределах одного опухолевого узла и опухолей в процессе роста. Результаты работы демонстрируют возможность оценки рН в опухоли *in vivo* с помощью генетически-кодируемого сенсора *HyPer2C199S*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашения 8269, 8303, договор 11.G34.31.0017).*

**Характеристика активности фотосинтетического аппарата листьев клёна,**  
**приспособленных к разной степени освещенности**

**Лисицына Анастасия Александровна, Никельшпарг Эвелина Ильинична**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*Evelinanick@gmail.com*

Световые стадии фотосинтеза — энергетическая «основа» для последующих биохимических процессов усвоения углерода, азота и т.д. Ставилась задача выявления особенностей характеристик первичных процессов фотосинтеза и соотношения пигментного состава для листьев одного дерева, выросших в различных условиях освещенности. Исследовались 4 типа листьев клёна платановидного (*Acer platanoides* L.): зрелые хорошо освещенные листья (тип1), умеренно затененные листья (тип2), сильно затененные листья (тип3), молодые листья (тип4).

Характеристиками для высших растений являются данные по пигментному составу

хлоропластов; данные по флуоресценции хлорофилла фотосистемы II (*PSII*) — переменная флуоресценции *Fv/Fm* характеризует максимально возможный квантовый выход (эффективность работы) *PSII*; данные по кинетике окисления и восстановления реакционного центра (*RC*) фотосистемы I (*PSI*). На основе этих данных рассчитываются дополнительные характеристики — показатель скорости потока электронов через *PSII* (*ETR*); характерные времена стадий передачи электрона по электрон-транспортной цепи.

Проведен сравнительный анализ групп по вышеуказанным критериям. Функция переменной флуоресценции (*Fv/Fm*) падает быстрее для листьев типа3. Зависимость *ETR* от освещенности представляет собой кривую, максимум которой смещен в сторону больших интенсивностей для листьев типа1 и меньших для листьев типа3. Как и ожидалось, количество *RC PSI* выше у листьев типа1. Характерные времена переноса электрона с пластоцианина и от *PSII* у листьев типа3 на порядок больше, чем у листьев типа1. Общее количество хлорофилла уменьшается в ряду от листьев первого типа к четвертому. Листья типа4 сильнее всего реагируют на высокую интенсивность освещения по всем анализируемым параметрам, содержат меньшее количество хлорофилла, но отличаются повышенным содержанием каротиноидов. Также удалось зафиксировать полуденную депрессию фотосинтеза.

При сопоставлении всех измерений было показано, что каждый параметр в отдельности подходит для сравнительного анализа листьев разных типов, что в дальнейшем может быть использовано для оценки благосостояния растительного организма и его отдельных частей.

### **Создание биосовместимых и биodeградируемых фармацевтических препаратов на основе коллагена, выделенного из дермы прудовых рыб**

**Макарова Екатерина Леонидовна, Ковалева Т.А., Петракова И.В., Хаустова Г.А.**

*Воронежский государственный университет,*

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

*makarova7809@mail.ru*

В медицине и фармации коллаген используется как основа лекарственных препаратов пролонгированного действия. В отличие от синтетических полимеров коллаген подвергается лизису в организме человека, постепенно замещаясь его собственными тканями. В настоящее время большой интерес представляет коллаген, выделенный из дермы прудовых рыб, так как обладает высокой проникающей способностью, стимулирует организм к воспроизводству собственного коллагена, а по аминокислотному составу минимально отличается от человеческого.

Объектом исследования служили коммерческий препарат ампициллина тригидрат фирмы «Биосинтез», сорбционную иммобилизацию фермента проводили на коллагене, выделенном ферментативным методом из дермы прудовых рыбгй, для определения содержания антибиотика в иммобилизованном препарате применяли метод с использованием фенольного реактива Фолина-Чокальтеу, активность устанавливали диффузионным методом в агаре.

Осуществлена адсорбционная иммобилизация ампициллина на коллагене при температуре 25 °С и рН 7,0. Рассчитана сорбционная емкость коллагена, которая составила 52,27 %. Ампициллин, адсорбированный на коллагене, сохраняет 88 % антибактериальной активности по сравнению с таблетированной формой. Наибольший процент сорбции наблюдается при концентрации антибиотика 0,07 г/мл. Показано, что комплекс коллаген-ампициллин вызывает задержку роста тест-культуры *Bacillus subtilis* 16 мм, свободный антибиотик — 18 мм, а чистый носитель — не задерживает роста микрофлоры.

Уменьшение ширины зоны отсутствия роста культуры *Bacillus* может быть обусловлено образованием слабых связей между антибиотиком и коллагеном, усложняющие воздействие вещества на стенки бактерий *Bacillus subtilis* и обеспечивающие пролонгированный эффект. Проведенные исследования позволяют придти к заключению о том, что коллаген, выделенный из дермы прудовых рыб, может использоваться в качестве носителя для разработки фармацевтических препаратов пролонгированного действия.

## **Исследование динамики размеров белков плазмы крови *in vitro***

### **методами молекулярного рассеяния света**

**Маслова Марина Николаевна, Зарицкий Александр Романович, Чайков Леонид Леонидович**

*Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва, Россия*

*maslova\_marina87@mail.ru*

Работа посвящена исследованию динамики средних размеров пептидных и белковых соединений в плазме пробы крови после взятия ее из организма. Для этой цели используется метод молекулярного рассеяния света (МРС), который является неразрушающим и не нарушающим естественных ход процессов в исследуемом образце.

Плазма крови представляет собой сложную систему, состоящую из множества компонентов, основную часть составляют вещества пептидной природы (белки и пептиды). Постоянство состава плазмы крови поддерживается в протоке за счет равенства скоростей притока и убыли составляющих ее соединений. После взятия пробы крови из организма поступление белковых соединений прекращается, доминирующей становится скорость их распада. При этом действие протеолитических ферментов не прекращается, появляются новые частицы других размеров, что может существенно изменить нативный состав и белковый спектр плазмы крови.

С помощью методов МРС была исследована динамика средних размеров белков плазмы крови в течение 12 часов после взятия пробы из организма с добавлением ингибиторов протеолитических ферментов и без них для доноров разных возрастных групп (здоровых и больных сахарным диабетом). Показано, добавление ингибиторов протеолитических ферментов стабилизирует средние размеры белков (в диапазоне размеров от 100 до 1000 нм) плазмы крови. Анализ полученных данных позволил выявить существенные отличия в скоростях деградации белков и пептидов особенно в области малых размеров частиц, как для доноров разных возрастных групп, так и для здоровых и больных (одинакового возраста). Эти отличия могут быть связаны именно с нарушениями энергетического метаболизма клеток и организма при старении и/или системных заболеваниях. Результаты данной работы могут помочь в разработке методик определения биологического возраста индивидуума, а также диагностики таких системных заболеваний, как СД.

## **Исследование агрегативной устойчивости и влияние на клетки млекопитающих наночастиц магнетита с различными стабилизирующими агентами**

**Миронова Елена Александровна<sup>1,2</sup>, Фадеев П. Ю.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН*

<sup>2</sup> *Пуцинский государственный естественно-научный институт*

<sup>3</sup> *Филиал МГУ, г. Пушкино Московской обл., Россия*

*miroнова\_e27@rambler.ru*

В настоящее время значительно расширяется область использования магнитных наночастиц в медицине и биологии, в частности, для фотодинамической терапии, магнитной гипертермии, адресной доставки лекарств, введения магнитных диагностических меток.

Оксиды железа являются перспективной биосовместимой магнитной фазой, которая может существовать в виде наночастиц различной морфологии, зависящей от модификации и условий синтеза. Однако, основным критерием, предъявляемым к таким объектам, можно отнести нетоксичность и биосовместимость и возможность их длительного хранения в неагрегированом состоянии.

Одним из способов решения подобных проблем является создание композитов, в которых магнитные наночастицы заключены в водорастворимую матрицу, и не подвергаются агрегации и химическим превращениям, а при растворении высвобождаются с сохранением химического и фазового состава. Другой возможный подход заключается в создании суспензий поверхностно-модифицированных частиц или частиц типа «ядро-оболочка», которые одновременно позволяют осуществлять дальнейшую модификацию частиц.

В настоящей работе, использовали наночастицы оксида железа покрытые цитратом, декстраном, бычьим сывороточным альбумином.

Агрегативную устойчивость наночастиц определяли методом измерения динамического светорассеяния на Submicron Particle Size Analyser «Beckman Coulter».

Установлено, что наночастицы в оболочках декстрана, бычьего сывороточного альбумина и цитрата в среде, содержащей сыворотку, оставались стабильными в течение длительного срока. Частицы  $Fe_3O_4$  в декстрановой оболочке и покрытые БСА сохраняли стабильность в дистиллированной воде.

Для оценки цитотоксичности магнитных наночастиц проводили МТТ тест на культурах клеток NCTC clone L929 и эпителиальных клетках карциномы гортани Hep-2. Результаты анализа показали, что данные наночастицы не являются токсичными для данных клеточных культур.

Показано, что полученные нанокомпозиты не являются цитотоксичными, что открывает возможности разработки новых биологически-активных магнитных препаратов на основе оксида железа (III).

### **Разработка многофункциональной полиэлектролитной ферментной сенсорной системы широкого назначения**

*Мусин Егор Валиевич, Ким Александр Леонидович, Тихоненко Сергей Алексеевич*

*Филиал Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова в г.Пушино,*

*Пушино, Россия*

*eglorok@gmail.com*

Целью данной работы является создание полиэлектролитного ферментного микродиагностикума как средства микро- и наноразмерной величины, позволяющего распознавать и количественно определять низкомолекулярные вещества в нативных биологических жидкостях. Такой микродиагностикум выполнен в виде ансамбля полиэлектролитных микрокапсул (ПЭ-микрокапсул) с включенным в них ферментом, оболочки которых состоят из чередующихся слоев поликатиона и полианиона. Технология изготовления капсул позволяет варьировать их диаметр от 2 до 10 мкм и толщину оболочки от 10 до 100 нм.

Важным свойством оболочки ПНМК является ее полупроницаемость — проницаемость для низкомолекулярных соединений и непроницаемость для высокомолекулярных веществ и крупных частиц. Благодаря этому свойству полиэлектролитной оболочки, содержащая фермент микрокапсула, помещенная в многокомпонентную среду, становится анализатором в ней низкомолекулярных веществ — субстратов, ингибиторов или активаторов инкапсулированного фермента. В качестве объекта, были выбраны ЛДГ и уреазы, микродиагностикумы на лактат и мочевины соответственно.

Из полученных данных следует, что по сравнению с существующими в медицине ферментативными клинико-биохимическими методами анализа биожидкостей предлагаемый нами микродиагностикум имеет явные преимущества.

- Фермент, включенный в мультислойную полиэлектролитную капсулу, может, по предварительным данным, сохранять свою активность в течение нескольких месяцев, в то время как активность фермента в растворе, «в свободном» состоянии падает практически до нуля в течение нескольких дней.
- Фермент, включенный в полиэлектролитную капсулу, полностью сохраняет свою активность в анализируемой биологической жидкости, содержащей протеиназы, что исключает необходимость достаточно трудоемкого удаления протеиназ из анализируемой биологической жидкости. Микродиагностикум позволяет проводить анализ биожидкости без ее предварительного фракционирования.
- Предлагаемый нами способ дает возможность многократного использования микродиагностикума. Следует отметить, что в одной полиэлектролитной капсуле содержится лишь десятки пикограммов фермента.

- Предлагаемый способ в перспективе позволит определять концентрации анализируемого вещества с помощью нескольких или даже одной капсулы, когда оболочка помечена флуоресцентной или радиоактивной меткой.

### **Разработка технологий получения конструкций для создания монослоев клеток и последующего использования в области регенеративной медицины**

**Орлова Алина Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*orlovaseelin@gmail.com*

В последнее время область регенеративной медицины развивается большими темпами, однако это направление серьезно ограничивается проблемой донора и реципиента. По этой причине разработка технологий получения биоискусственных конструкций для восстановления и замены поврежденных или утраченных органов, тканей и их функций стала бурно развивающимся направлением. Возможность создания *in vitro* биодеградируемых аналогов, из опорного каркасного компонента, способного поддерживать пространственную целостность, может решить основную проблему трансплантологии.

Уникальным материалом, сочетающим высокую прочность, хорошую биологическую совместимость, эластичность, является фиброин шелка из коконов шелкопряда *Bombyx mori*. Для проверки свойств материала были созданы биодеградируемые матриксы методом выщелачивания и замораживания-оттаивания, и пленки из водного раствора фиброина и пленки из фиброина, растворенного в муравьиной кислоте, содержащей 10 % хлорида лития методом кастинга.

Незамкнутость пор матриксов, помимо микроскопических методов, была проверена тестом по распределению частиц туши. При использовании метода замораживания-оттаивания раствора фиброина формируется пористая структура, поры связаны между собой каналами и отверстиями, через которые возможна миграция клеток в глубокие слои, пористость матриксов можно контролировать, регулируя температуру замораживания. При использовании метода выщелачивания размер пор совпадает с размером частиц порообразователя. Структура матриксов, благодаря сложной незамкнутой структуре пор, способствует созданию однородных условий, обеспечивающих газообмен и обмен питательными веществами и продуктами метаболизма, что необходимо для культивирования клеток. Фиброин — прекрасный субстрат для адгезии и пролиферации клеток: к пленкам из фиброина прикреплялось в два раза больше клеток, чем к культуральному пластику. Полученные изделия из шелка не токсичны, имплантированные экспериментальным животным матриксы, не отторгались, а со временем подвергались биодеградации.

*Работа была выполнена частично на средства Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 год” по ГК № П2460 от 19.11.2009.*

### **Исследование вязко-упругих свойств цитоплазматической мембраны лимфоцитов крови человека в норме и при инсулин-независимом сахарном диабете методом АСМ**

**Панюшева Е.С., Бодрягина А.М., Сони́на М.В.**

*Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия*

*espan92@yandex.ru*

Атомно-силовая микроскопия, как один из современных методов клеточной биологии дает возможность при высоком разрешении молекулярной визуализации клеточных мембран изучить нано-механические свойства мембран, определяющие течение физиологических и патологических процессов в клетке.

В исследовании использовали лимфоциты крови здоровых доноров и больных инсулиннезависимым сахарным диабетом (ИНСД). Лимфоциты выделяли в градиенте плотности фико́л-верографина. Вязко-упругие свойства клеточной мембраны лимфоцитов оценивали с помощью модуля Юнга. Для изучения поверхности лимфоцитов использовали

сканирующий зондовый микроскоп Solver P47-PRO (ЦНТИМ) (кремниевые зонды серии NSG10 (NT-MDT) с жесткостью 5,5 Н/м, резонансной частотой приблизительно 150 кГц, радиусом закругления 10 нм, высота зонда 10–20 мкм). Сканировали 50 клеток из каждой исследуемой группы в контактном режиме на воздухе. Полученные данные анализировали в программе Nova, Matlab. Достоверность различий оценивали на основе U-критерия Манна-Уитни, за достоверность принимали различия на уровне значимости 95 % ( $p < 0,05$ ).

Анализ результатов атомно-силовой спектроскопии лимфоцитов периферической крови здоровых доноров, позволил выявить, что модуль Юнга клеточной мембраны над областью ядра лимфоцитов составляет  $0,0055 \pm 0,0051$  МПа, а в адгезивной части мембраны модуль Юнга составляет  $0,0074 \pm 0,0068$  МПа. Показатели модуля Юнга мембраны лимфоцитов больных ИНСД над ядром составляют  $0,0157 \pm 0,0645$  МПа, а в области адгезивной цитоплазмы —  $0,0117 \pm 0,0032$  МПа. Показатели модуля упругости при сахарном диабете превышают соответствующие показатели у здоровых доноров ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, более высокие значения модуля Юнга цитоплазматической мембраны лимфоцитов при инсулиннезависимом сахарном диабете, вероятно, отражают патологические изменения молекулярной структуры клеточной мембраны, которые характеризуются снижением вязко-упругих свойств мембраны, повышением ее жесткости и увеличением способности к адгезии.

### **Взаимодействие клеток бактерий с соединениями серебра и золота: влияние на рост, образование биопленок, механизмы действия, биогенез наночастиц**

**Радциг Марина Александровна**

*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

*radzig@yandex.ru*

Цель работы — сравнительное исследование антибактериальных эффектов ионов и наночастиц серебра и золота, изучение некоторых аспектов механизма их действия и разработка методов получения наночастиц золота с помощью бактерий.

Определены концентрационные закономерности ингибирующего действия ионов серебра, золота и НЧС на рост и формирование биопленок грамотрицательными бактериями. Проведены исследования некоторых аспектов механизмов действия соединений серебра и золота на бактериальные клетки. Впервые показано, что мутации в генах, ответственных за репарацию окислительных повреждений ДНК (*mutY*, *mutS*, *mutM*, *mutT*, *nth*), увеличивали чувствительность клеток *E. coli* к ионам серебра и НЧС; вероятно, эти гены вовлечены в восстановление окислительных повреждений ДНК, связанных с действием соединений серебра. Однако, мы не обнаружили подобных эффектов при действии ионов золота. Полученные результаты показывают, механизмы бактерицидного действия ионов золота и соединений серебра (ионов и НЧС) на бактериальные клетки существенно различаются.

Впервые показано, мутантные штаммы *E. coli*, лишенные белков поринов OmpF или OmpC, существенно более устойчивы к НЧС по сравнению со штаммом дикого типа. Поры, образуемые поринами OmpF и OmpC, имеют размер 1–1,1 нм, поэтому через них могут проходить ионы серебра, выделяемые наночастицами, но не исследованные НЧС ( $8,3 \pm 1,9$  нм). Эти данные свидетельствуют о том, что антибактериальное действие НЧС на клетки *E. coli* связано, главным образом, с проникновением ионов серебра через клеточную стенку.

Вторым аспектом данной работы является разработка методов получения НЧ металлов биологическими способами. Были получены стабильные наночастицы золота при культивировании цианобактерий в среде, содержащей соль золота. Была исследована возможность получения НЧ различной формы и размера при использовании бактерий различных родов (цианобактерии, *Azotobacter*) и варьировании условий культивирования. Показано, что существенную роль в биогенезе наночастиц золота играет процесс азотфиксации у этих бактерий.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.132.21.1672.*

**Фотостимуляция ранних эмбрионов млекопитающих  
искусственным солнечным светом с дополнительной оранжево-красной компонентой**

**Решетников Дмитрий Александрович<sup>1,2,3</sup>, Фахранурова Л.И.<sup>1,2</sup>, Чернов А.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Пуцинский государственный естественно-научный институт, Пуццо, Россия

<sup>2</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццо, Россия

<sup>3</sup>Филиал Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г.Пуццо, Россия  
152no@bk.ru

Низкая эффективность методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) связана с понижением жизнеспособности эмбрионов при манипуляциях *in vitro* и невысокой вероятности их имплантации. Цель данной работы — исследование фотостимулирующего воздействия искусственного солнечного света с дополнительной люминесцентной оранжево-красной компонентой на развитие доимплантационных эмбрионов мышей *in vitro* для повышения их качества и жизнеспособности.

Использовали зиготы, полученные от мышей SHK. Облучение проводили ксеноновой лампой. Светообразующий экран, покрытый оксисульфидом иттрия активированного европием ( $Y_{1,9}Eu_{0,1}O_2S$ ), трансформировал УФ-излучение ксеноновой лампы в дополнительную оранжево-красную компоненту (макс. излучения 626 нм). Облучение проводили однократно в течение 7,5, 10, 15, 20 и 30 минут. Отрицательный контроль: облучение ксеноновым светом без дополнительной оранжево-красной компоненты.

Оптимальное время облучения зигот — 15 минут: увеличивается жизнеспособность эмбрионов, снижается число аномально развитых эмбрионов, повышается число бластоцист, вышедших из оболочки оплодотворения. Облучение зигот в течение 7,5 и 10 минут не приводит к существенным изменениям в развитии, облучение в течение 20 и 30 минут оказывает негативное действие: по сравнению с контролем возрастает число аномально сформировавшихся эмбрионов. Без дополнительной люминесцентной компоненты при облучении снижалось количество эмбрионов, погибших в процессе культивирования, количество бластоцист, вышедших из оболочки оплодотворения, и аномально развившихся эмбрионов оставалось на уровне контроля.

Полученные данные позволяют сделать вывод: стимулирующее действие на процесс развития ранних эмбрионов и формирование из них бластоцист в условиях *in vitro* осуществляется при непосредственном участии дополнительной люминесцентной компоненты с максимумом излучения 626 нм, при этом стимулируется жизнеспособность развивающихся эмбрионов и увеличивается число нормальных эмбрионов, полностью прошедших доимплантационное развитие и сформировавшихся бластоцисту.

*Работа выполнена при поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009–2013 годы (гос.контракт №14.В37.21.1515).*

**Наноматериалы на основе серебра  
для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния эритроцитов  
Сарычева Ася Сергеевна, Паршина Евгения Юрьевна**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносов, Москва, Россия  
assergevna@gmail.com

Усиление сигнала комбинационного рассеяния (КР) от биологических объектов коллоидными частицами серебра или золота вследствие плазмонного резонанса происходит если расстояние между молекулой, комбинационно рассеивающей свет, и поверхностью частиц составляет не более 10–20 нм. Примером применения наночастиц серебра может выступать регистрация спектра КР от примембранного гемоглобина в специальных микрочипах, где наночастицы должны оставаться иммобилизованными на подложке. Коллоидные частицы благородных металлов ввиду своей реакционной способности могут оказывать деструктивное воздействие на живые клетки. Целью данной работы являлось создание наноматериалов без деструктивных свойств и способных давать сигнал гигантского КР.

В качестве материалов выбраны коллоидные растворы частиц серебра различной формы и подложки, полученные методом ультразвукового пиролиза. Эритроциты инкубируются в буфере Аллена со значительным содержанием хлорид-ионов, обладающих сродством к ионам серебра. Т.о. равновесие «серебро в растворе — серебро в твердой фазе» нарушается, что приводит к снижению содержания ионов серебра в растворе. Ионы серебра оказывают токсическое влияние на живые клетки. В ходе работы подобран буфер для инкубации клеток с нитрат-ионами вместо ионов хлора. При добавлении наночастиц перед разрушением клетки изменяют форму. Выявлено, наночастицы в нитратом буфере оказывают большую деструкцию, чем в буфере Аллена. Вероятно, разрушающее действие на клетку оказывают ионы серебра, которые в случае буфера Аллена связываются хлорид-ионами. Были исследованы дыхание и люминесценция генномодифицированных штаммов *E. coli*. Показано, ионы серебра вызывают многостадийное повреждение клеток. Основной механизм повреждения клеток НЧ серебра, вероятно, связан с присутствием ионов серебра, т.к. соответствующие концентрации  $\text{AgNO}_3$  оказывают большее токсическое действие по сравнению с НЧ. Наноструктурированные подложки, позволяющие регистрировать сигнал ГКР живых эритроцитов, созданы методом пиролиза аэрозолей. В отличие от коллоидных растворов серебра, подложки не оказывали гемолитического действия на эритроциты. Разработан оптимальный метод получения ГКР — активных подложек по реакции разложения аммиачного комплекса серебра с образованием оксида серебра и последующим его разложением.

### **Сравнение и анализ наноструктурированных поверхностей глаз насекомых методом атомно-силовой микроскопии**

***Сергеев Антон Владимирович<sup>1</sup>, Крючков М.В.<sup>2</sup>, Озерова А.Н.<sup>2</sup>***

<sup>1</sup> *Институт математических проблем биологии РАН, Пущино, Россия*

<sup>2</sup> *Институт белка РАН, Пущино, Россия*

*antonsergeevphd@gmail.com*

Поверхность роговицы глаз некоторых видов насекомых представляет собой структурированную поверхность нанометрового масштаба. Благодаря сложной морфологии роговица насекомых может обладать рядом свойств, зависящих не только от материала роговицы, но и от самой геометрии поверхности, что позволяет причислить обнаруженные структуры к классу метаматериалов. В частности, в ряде экспериментов было показано, что данная поверхность является фотонным кристаллом — структурой с периодическим изменением показателя преломления в пространственных направлениях. Разработки, позволяющие эффективно использовать антирефлекторные свойства фотонных кристаллов в настоящее время активно развиваются в промышленности (например, ячейки солнечных батарей, радиопоглощающие материалы и покрытия, применяемые в технологии снижения заметности, и т.д.).

Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) было показано, что поверхность глаза *Drosophila melanogaster* покрыта квазиупорядоченными наноструктурами — с характерными размерами порядка 200 нм в диаметре и несколькими десятками нанометров в высоту. Впервые продемонстрирована возможность проведения экспресс-анализа поверхности глаза мушек. Разработанные нами методы анализа геометрии роговицы позволили выявить значительные отличия в особенностях структуры у различных видов насекомых. Также с помощью представленных аналитических методов была обнаружена зависимость между Wnt-сигнальными каскадами и морфологией роговицы. Помимо этого, удалось выяснить, что изменение в экспрессии генов некоторых секретлируемых белков вносит значительный вклад в геометрию поверхности.

Применяемый набор статистических и топологических способов обработки АСМ изображений позволяет не только качественно, но и количественно оценить различия между различными видами сложноструктурированных поверхностей. Поставленный нами метод дает мощный инструмент для будущих исследований и может быть использован для решения широкого круга задач в области анализа двумерных оптических кристаллов и структурированных поверхностей на наноуровне.

## **Влияние фуллерена C<sub>60</sub> на морфометрические параметры нейтрофилов**

**Стулин Дмитрий Сергеевич<sup>1</sup>, Горшкова Екатерина Николаевна<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия*

<sup>2</sup>*Нижегородский государственный университет им. Н.Е. Лобачевского,  
НОЦ «Физика твердотельных наноструктур», г. Нижний Новгород, Россия*

*d.stulin@yandex.ru*

Благодаря своей уникальной геометрической форме и электронной структуре фуллерены и их производные рассматриваются в качестве наноконтейнера для адресной доставки лекарственных средств. Однако существующие на сегодняшний день данные о возможной токсичности фуллерена противоречивы. Изучение влияния наночастиц на клетки крови — как важного гомеостатического фактора и показателя функционального состояния организма в целом является весьма актуальной задачей. Исследовано влияние фуллерена C<sub>60</sub> на морфометрические показатели нейтрофилов (НГ).

НГ выделяли из венозной крови 10 здоровых доноров ( $2 \cdot 10^6$  клеток/мл) и инкубировали с суспензией фуллерена C<sub>60</sub> (0,75 мг/мл) в течение 30 мин при 37 °С. С использованием лазерного анализатора размеров частиц SALD — 7101 (Shimadzu) показано, что в полученной нами суспензии присутствовали наночастицы фуллерена C<sub>60</sub> от 10 до 80 нм. Для исследования морфологических изменений НГ в системе с фуллеренами C<sub>60</sub> проводили сканирование топографии НГ в полуконтактном режиме на установке SOLVER BIO<sup>TM</sup> (NT-MDT, Зеленоград) с использованием зондов DNP (Veeco, USA). Для визуализации сканируемых объектов применялась программа Nova NT-MDT SPM Software (NT-MDT, Зеленоград). Выявлено статистически значимое увеличение диаметра ядра и тела, высоты ядра НГ ( $p < 0,01$ ). Таким образом, наблюдаемое нами изменение морфометрических параметров нейтрофилов, в частности изменение размера ядра и цитоплазмы, является показателем их повышенной функциональной активности и может свидетельствовать о цитотоксическом эффекте фуллерена C<sub>60</sub>.

### **Изучение эффективности внутриклеточной доставки гидрофильных и гидрофобных веществ в составе липосом**

**Тихонова Анна Сергеевна, Паутова Мария Александровна, Великанова Елена Анатольевна**

*НИИ Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН, Кемерово, Россия*

*Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

*tichonovanna@gmail.ru*

Липосомы являются перспективным средством доставки биологически активных веществ в органы и клетки. При микроскопических исследованиях липосомы и включенные в них вещества не видны, но возможно их визуализация путем введения в состав люминесцентных красителей в качестве метки. В наших экспериментах изучалось включение и распределение липосом, содержащих люминесцентные метки, как в липидной части липосом, так и внутренней водной фазе.

Исследования проводились на культуре кардиомиоцитов, в качестве красителей использовали красный липофильный РКН-26 для липосомальной мембраны и зеленый водорастворимый FITC-декстран для внутренней фазы липосом. После инкубации клетки фиксировали 4 % забуференным параформальдегидом и дополнительно окрашивали ядра красителем DAPI, имеющим люминесценцию в фиолетовой области.

При исследовании с помощью люминесцентного микроскопа в клетках наблюдалась люминесценция обоих красителей. Через 6 часов инкубации клеток с мечеными липосомами люминесценция красителей была неравномерной в пределах клеток: наблюдались структуры с яркой и слабой люминесценцией. Области внутриклеточной люминесценции РКН-26 и FITC-декстрана совпадали. В ядерной области люминесценция липосомальных меток не наблюдалась. Через 24 часа инкубации клеток с липосомами внутриклеточная люминесценция липосомальных меток была равномерной.

Присутствие в клетках обоих красителей указывает на эффективность внутриклеточной доставки липофильных и гидрофильных веществ в составе липосом. Неравномерное распределение люминесцентных красителей в клетке через 6 часов инкубации клеток с мечеными липосомами указывает на накопление липосом в некоторых клеточных компартментах. Совпадение областей внутриклеточной люминесценции РКН-26 и FITC-декстрана показывает, что липосомы попадают в цитоплазму без их разрушения. Внутриклеточная люминесценция липосомальных меток через 24 часа инкубации клеток с липосомами меток стала равномерной, что, по-видимому, связано с миграцией красителей в процессе клеточного метаболизма.

### **Фотоповреждение клеток как модель макулярной дистрофии сетчатки**

**Фахранурова Лилия Ильгизовна**

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия*

*LFakhranurova@gmail.com*

Основными причинами возникновения макулярной дистрофии сетчатки (МДС) являются постепенный процесс старения организма и глаза в частности, травма, инфекционные, воспалительные заболевания глаз, высокая близорукость, наследственные причины, перенесенные офтальмологические операции. Среди ряда исследователей существует мнение, что воздействие света играет определенную роль в старении сетчатки и возникновении некоторых дегенеративных изменений (в том числе и МДС). Эта точка зрения подтверждается большим гистологическим сходством изменений в сетчатке пожилых людей и изменений, вызванных воздействием интенсивного света.

Нами было исследовано влияние света в синей ( $\lambda_{\max} = 470$  нм), фиолетовой части спектра ( $\lambda_{\max} = 395$  нм) и света большой интенсивности на жизнеспособность фибробластов линии NCTC clone L929 и функциональную активность клеток сетчатки крыс. Для исследования жизнеспособности был применен МТТ тест, основанный на восстановлении бесцветной соли тетразолия (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид, МТТ) митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами живых метаболически активных клеток. Степень развития МДС у крыс после облучения оценивали с помощью метода электроретинографии. Электроретинографию (ЭРГ) применяют для количественной оценки функционального состояния нейронов сетчатки, более точного определения локализации патологического процесса. ЭРГ регистрировали с помощью компьютерного многофункционального комплекса «Нейро-ЭРГ» (ООО «Нейрософт», г. Иваново, Россия) после предварительной темновой адаптации.

Облучение, как в разных участках спектра, так и большой интенсивностью света, вызывало явное угнетение жизнеспособности фибробластов. Такое же снижение функциональной активности сетчатки мы наблюдали в системе *in vivo* на крысах.

Таким образом, мы показали, что фотоповреждение может приводить к дегенерации клеточных элементов сетчатки, в первую очередь ее рецепторов и клеток пигментного эпителия, также к значительному снижению жизнеспособности фибробластов. На основе полученных данных мы пришли к заключению, что повреждение сетчатки светом может стать моделью для изучения ВДМ.

### **Компьютерное моделирование образования белок-белковых комплексов на примере электрон транспортных белков пластоцианина и цитохрома *f***

**Федоров Владимир Андреевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*xbgth@yandex.ru*

Белок-белковые взаимодействия являются основой большинства биологических процессов. Компьютерное моделирование динамики связывания белков даёт важную информацию для понимания механизмов их функционирования.

Целью данной работы является исследование процесса образования комплекса белков при помощи метода молекулярной динамики с явно заданным растворителем на примере

хорошо изученной пары белков. В качестве модельного объекта были выбраны белки пластоцианин и цитохром *f*, участвующие в электронтранспортной цепи хлоропластов высших растений в процессах фотосинтеза. Структура комплекса этих белков (2PCF) была получена на основе ЯМР спектров в 1997 году М. Уббинком и др.

Был проведён анализ траектории молекулярной динамики белков пластоцианина и цитохрома *f*, в котором начальное положение белков соответствовало их ориентации в экспериментальном комплексе, а расстояние между белками было увеличено на 5 Å. При анализе данных было установлено, что белки сближаются и расстояние между функциональными группами (атомом меди пластоцианина и атомом железа цитохрома *f*) уже через 2 нс становится таким же, как и в экспериментальном комплексе, и практически не изменяется в дальнейшем. Вместе с тем структура образующегося комплекса отличается от экспериментальной. Это позволяет предположить, что комплекс электрон-транспортных белков пластоцианин–цитохром *f* имеет динамически изменяющуюся структуру, в которой возможен перенос электрона между атомами металлов на белках, что обеспечивается постоянством расстояния между этими атомами в таком динамическом комплексе. Это предположение косвенно подтверждается тем, что в экспериментально определённой методом ЯМР структуре комплекса 2PCF авторами предложено десять моделей комплекса, несколько отличающихся положением одного белка относительно другого, и все эти структуры могут являться функционально активными.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 12-07-33036 и № 12-04-31839 и выполняется при поддержке CUDA Center of Excellence МГУ.*

### **Исследование циркуляции магнитных частиц в кровеносной системе мышей**

**Э.Ю. Хлебус<sup>1,2</sup>, М.В. Юрьев<sup>1,3</sup>, Т.Р. Ялаев<sup>1,2</sup>, М.П. Никитин<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>*Московский физико-технический институт (ГУ), Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва*

<sup>3</sup>*Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия*

*elkhlebus@gmail.com*

Магнитные частицы (МЧ) обладают широким спектром применений в биологии и медицине (диагностика заболеваний, визуализация и гипертермия опухолей и т.д.). Одним из важнейших параметров, влияющих на потенциальные терапевтические свойства частиц, является время их циркуляции в кровеносной системе.

В предложенной работе регистрация МЧ в кровеносной системе лабораторных животных осуществляется с помощью прибора "БиоМаг". Прибор позволяет в реальном времени неинвазивно и при комнатной температуре количественно детектировать магнитный материал, находящийся в измерительной области.

В экспериментах по изучению циркуляции МЧ в кровотоке мышей хвост животного помещался в измерительную зону прибора, затем в ретроорбитальный синус мыши вводились магнитные частицы, после чего регистрировался магнитный сигнал, пропорциональный содержанию МЧ в кровотоке хвостовых вен и артерий мыши. Была исследована динамика циркуляции частиц fluidMAG-ARA (Chemicell, Germany) размером 50, 100, 200, 500 нм. Было проведено сравнение времен полувыведения этих частиц из кровотока и показано, что частицы с меньшим размером циркулируют в крови мышей дольше. Изучена зависимость времени полувыведения МЧ из кровотока от концентрации МЧ. Показано существование «пороговой» концентрации МЧ, при которой время циркуляции значительно возрастает, что может объясняться насыщением макрофагов.

В работе проведено систематическое исследование времени полувыведения магнитных частиц из кровотока мыши. Полученные результаты представляют практический интерес для дальнейших биомедицинских исследований.

## **Анализ корреляции между структурными особенностями инулиназ из различных продуцентов и их физико-химическими свойствами**

**Холявка Марина Геннадьевна**

*Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия*

*holyavka@rambler.ru*

Инулиназы (КФ 3.2.1.7) расщепляют инулин и фруктоолигосахариды до фруктозы. Изучение физико-химических свойств и структурных особенностей инулиназ имеет высокое теоретическое и прикладное значение. Эти ферменты участвуют в углеводном метаболизме высших растений и микроорганизмов, играют одну из ключевых ролей в контроле процессов клеточной дифференцировки, роста и развития. Они также могут быть использованы в циклах производства сахаров с различной степенью полимеризации, в частности, фруктозы и инулоолигосахаридов.

Целью работы был анализ степени корреляции между структурными особенностями инулиназ из различных продуцентов и их физико-химическими свойствами. Логично предположить, что оптимальное значение температуры для функционирования инулиназ зависит от отношения числа аминокислотных остатков, расположенных в упорядоченных структурах, к тому, что образуют петли, однако, подобной корреляции мы не обнаружили. Мы также не выявили прямой связи между количеством аминокислотных остатков, образующих отдельно  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -слои, и значением температурного и рН оптимумов инулиназы. Число остатков в  $\alpha$ -спиралях коррелирует только с видом продуцента, в частности, у энзимов из *Pichia guilliermondii*, *Cichorium intybus* и *Kluyveromyces marxianus* оно составляет 36,4–41,2 %, у ферментов из *Arthrobacter species* — 44,8–48,8 %, внутри рода *Aspergillus* варьирует в диапазоне 39,3–42,3 %, а внутри рода *Bacillus* находится в пределах 47–48 %. Не наблюдалось прямой корреляции между температурными оптимумами инулиназ и отношением содержания гидрофобных аминокислотных остатков к гидрофильным. Выявляется лишь тенденция к тому, что данный показатель выше у инулиназ бактериального происхождения, немного ниже — у плесневых ферментов, еще ниже — у дрожжевых энзимов.

Итак, исследование аминокислотных последовательностей инулиназ из различных продуцентов является полезным на первых этапах изучения структурно-функциональных свойств ферментов, но недостаточным для составления достоверных прогнозов относительно оптимальных условий функционирования, стабильности, длительности хранения инулиназ и перспектив их применения в промышленных циклах, а, следовательно, должно быть дополнено и углублено работами биофизического и биохимического характера.

## **Изучение влияния типа покрытия золотых наночастиц на характер их внутриклеточного распределения**

**Южакова Диана Владимировна, Елагин Вадим Вячеславович**

*Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

*yuzhakova-diana@mail.ru*

В работе изучен характер взаимодействия золотых наночастиц, стабилизированных различными веществами и разработана методика лазерной гипертермии опухолевых клеток *in vitro* с использованием золотых наночастиц.

Раствор золотых наночастиц, использованных в работе, — смесь частиц в форме стержней размером  $\sim 42 \times 13$  нм и частиц сферической формы  $\varnothing \sim 42$  нм, с концентрацией  $\sim 10^{11}$  частиц/мл, пик плазмонного резонанса частиц располагался на длине волны 800 нм. Наночастицы стабилизировали Плуороником F127, хитозаном и полиэтиленгликолем с молекулярной массой 6 кДа и 40 кДа. Исследование выполнено на клетках линии SKOV-3. Изучение проникновения и внутриклеточного распределения проводили методами многофотонной флуоресцентной и трансмиссионной электронной микроскопии. При проведении гипертермии клетки облучали лазером с длиной волны 0,81 мкм в течение 10 мин с выходной мощностью от 1,77 Вт/см<sup>2</sup> до 10,62 Вт/см<sup>2</sup>. Механизмы гибели клеток исследовали микроскопически с использованием флуоресцентных маркеров.

На основании данных многофотонной и электронной микроскопии установлено, наночастицы, стабилизированные ПЭГ 6 кДа и 40 кДа, формируют крупные кластеры на поверхности клеток и внутрь практически не проникают. Частицы, стабилизированные Плуороником, активно проникают в клетки в первые 3 часа инкубации. Наночастицы обнаружены в цитоплазме, кариоплазме и в митохондриях. В течение 3-х часов в цитоплазме клеток обнаруживаются единичные наночастицы, стабилизированные хитозаном. С увеличением времени инкубации количество наночастиц в клетках увеличивается, частицы проникают в ядра клеток. При лазерном воздействии на клетки без наночастиц гибель происходит, преимущественно, по механизму некроза. Присутствие наночастиц в клетках способствовало повышению гибели клеток при малых мощностях воздействия. Гибель клеток происходила, в основном, по пути апоптоза.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашения №№ 8303, 8269), РФФИ (гранты №№ 12-02-00914, 12-02-31514).*

**Создание системы избирательной доставки  
противоопухолевых препаратов в опухолевые клетки  
Яббаров Никита Григорьевич<sup>1</sup>, Никольская Елена Дмитриевна<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГУП ВПО Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>НБИКС центр Курчатовский институт, Москва, Россия

*nikita\_yabbarov@yahoo.com*

Низкая эффективность химиотерапии онкозаболеваний обусловлена, в первую очередь, низкой селективностью противоопухолевых препаратов и опасностью развития множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток.

Один из подходов в решении данной проблеме - направленный транспорт лекарственных препаратов с помощью специально разработанных систем доставки для увеличения терапевтической эффективности и уменьшения системной токсичности противоопухолевых агентов. Использование векторных молекул для доставки противоопухолевых препаратов обеспечивает избирательность их действия в отношении раковых клеток.

В качестве векторной молекулы был использован рекомбинантный рецептор-связывающий фрагмент онкофетального белка альфа-фетопротейна (rAFP3D). Была сконструирована трехкомпонентная система доставки, в состав которой кроме векторного белка rAFP3D входили полимерный носитель PAMAM дендример G2 и противоопухолевый антибиотик доксорубин (Dox).

Показано, что присоединение к векторному белку двух молекул дендримера не влияло ни на эффективность связывания rAFP3D с рецептором AFP на поверхности опухолевых клеток, ни на эффективность рецептор-опосредованного эндоцитоза. Доксорубин конъюгировали с G2 с помощью цис-аконитового ангидрида. Исследование релиза Dox *in vitro* продемонстрировало стабильность конъюгата при нейтральных и лабильность при кислых значениях pH. Профиль высвобождения Dox коррелировал с внутриклеточным распределением конъюгата в опухолевых клетках. Конъюгат rAFP3D-G2-Dox проявлял высокую цитотоксическую активность в отношении клеток аденокарцином яичника человека, как чувствительной линии SKOV3, так и резистентной к Dox линии SKVLB, но был малотоксичен для лимфоцитов периферической крови человека. Сопоставление данных связывания, эндоцитоза, внутриклеточного распределения и цитотоксичности свидетельствуют об избирательности действия rAFP3D-G2-Dox в отношении опухолевых клеток, в отличие от конъюгата, не содержащего векторную молекулу G2-Dox.

Полученные данные позволяют сделать вывод об эффективности использования rAFP3D-G2 в качестве системы направленной доставки.

## Подсекция «БИОХИМИЯ»

### Получение и исследование иммунохимических свойств рекомбинантного предшественника натрийуретического пептида В-типа собак *Бекетова Елена Владимировна, Хорошкин Матвей Сергеевич*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*elena-v-beketova@yandex.ru*

Натрийуретический пептид В-типа (BNP) — гормон, осуществляющий регуляцию системного кровяного давления и натрийуреза и синтезируемый кардиомиоцитами в виде прогормона-предшественника (proBNP). Измерение концентрации BNP и N-концевого фрагмента прогормона в крови используют в клинической практике для диагностики сердечной недостаточности. При этом механизм процессинга прогормона не изучен полностью, и в качестве возможного модельного объекта для изучения процессинга предложено использовать собак и специфичный для собак proBNP.

Целью данной работы было получение рекомбинантного proBNP собак в экспрессионной системе клеток млекопитающих и исследование его иммунохимических свойств. Вставку, содержащую оптимизированную по кодонному составу кДНК proBNP собак, клонировали в экспрессионный вектор pCER4, и полученной конструкцией проводили трансфекцию клеток НЕК293F и CHO-S с использованием реагента PEIpro. Условия для трансфекции клеток НЕК293F подбирали, используя модельный вектор pSelect-Zeo-SEAP. Иммунореактивность афинно-очищенного proBNP (CHO-S) и proBNP, содержащегося в кондиционированной среде (НЕК293F), определяли методом сэндвич-иммуоферментного анализа с использованием антител, специфичных к участкам, перекрывающим всю последовательность N-концевого фрагмента proBNP. Кажущуюся молекулярную массу и чистоту очищенного препарата proBNP определяли методом ДСН-электрофореза в трис-трициновой буферной системе.

Оптимальными для трансфекции клеток НЕК293F были следующие соотношения трансфектанта и вектора: 1,5 мкл PEIpro и 0,75 мкг ДНК на 0,4 млн клеток. Максимальный уровень экспрессии proBNP в культурах НЕК293F и CHO-S составлял 350 и 600 мкг/л, соответственно. Электрофоретическая подвижность proBNP (CHO-S) соответствовала массе около 12,5 кДа. Выявили различие во взаимодействии антител, специфичных к участку 64-80, с proBNP, экспрессированным в клетках CHO-S и НЕК293F.

Таким образом, в ходе работы был получен препарат рекомбинантного proBNP собак и показано различие иммунохимических свойств proBNP, полученного в экспрессионной системе клеток CHO-S и НЕК293F. Полученные данные позволили предположить, что proBNP, экспрессированный в клетках НЕК293F, может быть модифицирован на участке с 64 по 80 аминокислотный остаток.

### Влияние расположения флуоресцентного белка на структуру и свойства "химер", состоящих из малых белков теплового шока человека и флуоресцентных белков

*Дацкевич Петр Николаевич*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*datsbio@gmail.com*

Малые белки теплового шока (sHsp) обеспечивают гомеостаз и участвуют в ключевых процессах жизнедеятельности клеток. Для исследования внутриклеточной локализации и механизмов функционирования часто используются химеры sHsp с флуоресцентными белками (FP). Прикрепление флуоресцентного белка к sHsp может изменить свойства изучаемого белка. Поэтому возникает необходимость предварительного изучения свойств изолированных химер, состоящих из малых белков теплового шока и sHsp.

Получены химеры, содержащие sHsp человека HspB1, HspB5, HspB6 и HspB8 и флуоресцентные белки, прикрепленные к N- или C-концу sHsp и изучены некоторые свойства таких химер. C-концевые химерные белки экспрессируются в клетках бактерий преимущественно в виде телец включения и в меньших количествах, чем аналогичные

N-концевые химеры. Флуоресцентные химеры HspB1 и HspB5, также как и белки дикого типа, образуют крупные олигомеры, однако количество субъединиц в составе олигомеров химерных белков меньше, чем количество субъединиц в составе олигомеров белков дикого типа. Субъединичный состав таких химер изменяется в порядке sHsp WT > sHsp-FP > FP-sHsp. Субъединичный состав химер HspB6 и HspB8, в норме формирующих небольшие олигомеры, не отличается от белков дикого типа. Шапероноподобная активность C-концевых химерных белков меньше, чем у белков дикого типа. N-концевые химеры HspB1 и HspB8 обладают более высокой, а HspB5 и HspB6 более низкой шапероноподобной активностью, чем соответствующие немодифицированные sHsp. C-концевые химеры HspB1 и HspB5 эффективно образуют гетероолигомеры с аналогичными белками дикого типа. Обмен мономерами с химерами HspB6 затруднен.

Расхождения в свойствах N- и C- концевых химер, вероятно, отражают различия в функциях концевых доменов sHsp. N-концевой домен ответственен за формирование крупных олигомеров, поэтому добавление флуоресцентного белка к этому участку нарушает образование крупных комплексов. C-конец регулирует динамику обмена субъединиц и растворимость образуемых олигомеров. Поэтому C-концевые химеры склонны к образованию нерастворимых агрегатов и обладают пониженной шапероноподобной активностью. Прикрепление флуоресцентных белков сильно влияет на структуру и свойства малых белков теплового шока, что ограничивает применение флуоресцентных химер для изучения sHsp.

*Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант 13-04-00015).*

### **Сайт-направленное пегилирование Fab-фрагментов GD2-специфичных антител**

***Доронин И.И., Вишнякова П.А., Холоденко Р.В.***

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва, Россия  
doroninii@gmail.com*

Моноклональные антитела, специфичные к опохлеассоциированному ганглиозиду GD2, являются перспективным инструментом в противоопухолевой иммунотерапии. Несмотря на многочисленные преимущества по сравнению с классическими методами лечения опухолей, использование моноклональных антител имеет ряд ограничений и побочных эффектов, связанных с Fc-фрагментом антител (гиперактивация иммунной системы). На клетках, экспрессирующих мембранный ганглиозид GD2 показано, что GD2-специфичные антитела обладают цитотоксическим эффектом, ключевую роль в котором играет взаимодействие с GD2. Тот факт, что данный эффект не связан с Fc-фрагментом антител открывает возможность использования в противоопухолевой терапии Fab-фрагментов GD2-специфичных антител. Однако Fab-фрагменты обладают коротким временем полужизни в организме, это ограничение может быть решено путем пегилирования данных молекул. В то же время, такая модификация может негативно отразиться на их способности связываться с антигеном. Целью данной работы являлось создание пегилированных Fab-фрагментов GD2-специфичных антител, сохраняющих высокую аффинность связывания с GD2.

Нами были получены и очищены Fab-фрагменты GD2-специфичных моноклональных антител ME361, изучены их связывающая способность и противоопухолевые эффекты. Затем была проведена ковалентная сайт-направленная пришивка (моно/дипегилирование) ПЭГ-малеимида к цистеинам, которые расположены в удалении от связывающего региона Fab-фрагмента. Этот метод позволил сохранить связывание фрагментов с GD2 при эффективном и детерминированном конъюгировании молекул ПЭГ, в отличие от "случайного" пегилирования, когда пришивка ПЭГ приводит к значительной потере аффинности за счет модификации белка в антиген-связывающем регионе.

Сайт-направленное пегилирование позволит усилить противоопухолевые эффекты Fab-фрагментов GD2-специфичных антител за счет снижения их иммуногенности и значительного повышения периода полужизни в организме.

*Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., государственный контракт №8165.*

## **Исследование влияния тиамин и куркумина на амилоидизацию овечьего приона**

**Заняткин Иван Андреевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*vanozanyatkin@mail.ru*

Прионы (PrP) — белки, способные при определенных условиях подвергаться амилоидному превращению, включающему изменение третичной структуры и образование крупных агрегатов, повреждающих клетки. Прионный белок с измененной конформацией обладает инфекционностью, т.е. способностью при встрече с гомологичными белками как в клетке, где он образовался, так и в других организмах, провоцировать их амилоидизацию. У млекопитающих подобный процесс приводит к разрушению нейронов — пораженный мозг на гистологических срезах становится похожим на губку, в связи с чем группу заболеваний прионной этиологии назвали губчатыми энцефалопатиями (болезнь Кройцфельда-Якобса человека, скрейпи овец и др.).

Показано, что с прионами способны связываться некоторые низкомолекулярные вещества, например, тиамин гидрохлорид (витамин B1); кроме того, ранее обнаружили, что куркумин, связываясь с PrP, способен препятствовать его амилоидизации. Куркумин обладает плохой биодоступностью, потому неприменим как лекарственный препарат. В данной работе планировали изучить изменения свойств приона в присутствии вышеназванных лигандов.

В экспериментах использовали рекомбинантный овечий прион скрейпи-чувствительной аллели VRQ. Изменения структуры белка определяли методами динамического лазерного светорассеяния, дифференциальной сканирующей калориметрии, изотермического калориметрического титрования, окраски препаратов специфическими к амилоидным структурам красителями Конго красный и тиофлавин T, протеолитическим расщеплением белка с анализом продуктов в электрофорезе. Растворы приона инкубировали в присутствии тиамин гидрохлорида и куркумина в условиях образования промежуточных олигомеров или амилоидных фибрилл.

В ходе работы обнаружили, что присутствие витамина B1 при олигомеризации PrP приводит к уменьшению содержания олигомеров приона с гидродинамическим радиусом около 40 нм и росту доли олигомеров с радиусом 16 нм. При этом повышение концентрации тиамин приводит к незначительному повышению количества амилоидных структур. При амилоидизации тиамин не оказывал серьезного влияния на PrP. Куркумин в тех же условиях приводил к снижению процента амилоидных структур.

Таким образом, было показано, что витамин B1, связываясь с прионом, увеличивает вероятность образования малых промежуточных олигомеров с повышенным содержанием амилоидных структур. Показано, что куркумин способен подавлять амилоидную агрегацию.

*Исследования поддержаны грантами РФФИ №12-08-33063 мол\_а\_вед, 12-04-31484 мол\_а и грантом Президента (МК-877.2012.4).*

## **Получение полноразмерного рекомбинантного химерного антитела 19С7**

**в экспрессионных системах эукариот**

**и исследование его иммунохимических и биохимических свойств**

**Козырева Ксения, Чалова Анна**

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*magnelia1@yandex.ru, ankachuligankac6h6@mail.ru*

Сердечная изоформа тропонина I (hcTnI) экспрессируется только в кардиомиоцитах, поэтому ее наличие в крови является важным диагностическим признаком инфаркта миокарда. Одним из методов детекции hcTnI в крови является иммунохимический анализ с использованием высокоспецифичных мышинных моноклональных антител (Mab) 19С7, полученных гибридомным способом. Однако диагностика осложнена тем, что у многих людей в крови присутствуют антитела к мышинным иммуноглобулинам, что может давать ложноположительный ответ при детекции hcTnI методом флуороиммунного анализа (ФИА) «сэндвич» типа с использованием мышинных антител. Одним из подходов к решению подобных

проблем является создание рекомбинантных антител, не содержащих мышинные константные домены. В связи с этим, в нашей работе были сконструированы рекомбинантные химерные антитела gес19С7, несущие мышинные переменные домены и человеческие константные домены.

Трансфекцию клеток линий CHO-S и HEK293F проводили с помощью реагента PEIpro плазмидами на основе экспрессионного вектора pСЕР4. Плазмиды содержали оптимизированные кДНК лёгких и тяжёлых цепей химерного антитела gес19С7. Наличие антител в кондиционированных средах выявляли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Очистку антител из кондиционированных сред проводили методом аффинной хроматографии на сефарозе, ковалентно сшитой с поликлональными anti-Human IgG или protein A, а также на Sulfolink с TnI-88 (эпитоп Mab19С7). Анализировали полученные в ходе хроматографии фракции методами прямого ИФА, электрофореза по Лэммли (ЭФ) и Вестерн-блоттинга. Методом «сэндвич»-ФИА сравнивали иммунохимические свойства рекомбинантных химерных антител и антител, полученных гибридомным способом.

Были получены генетические конструкции тяжёлой и лёгкой цепей химерного антитела gес19С7, специфичного к сердечной изоформе тропонина I, предназначенные для экспрессии в культуре клеток млекопитающих. В кондиционированных средах культур клеток CHO-S и HEK293F, трансфицированных данной конструкцией, показано наличие иммунохимически активных антител gес19С7, несущих человеческие константные домены. Были подобраны оптимальные условия аффинной очистки gес19С7 из культуральных жидкостей: сефароза с protein A для CHO-S, Sulfolink-TnI88 для HEK293F, нанесение в 0,1 М Na-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 0,15 М NaCl; элюция 0,1 М глициновым буфером (рН 2,0). При сравнении калибровочных графиков в ФИА, было показано, что gес19С7 и Mab19С7 обладают сходной иммунохимической активностью.

## **Идентификация белков, взаимодействующих с апуриновыми/апиримидиновыми сайтами в составе кластерных повреждений ДНК**

*Косова Анастасия Андреевна*

*Новосибирский государственный университет,*

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

*anastasia-kosova@yandex.ru*

Апуриновые/апиримидиновые сайты (АР-сайты), возникающие в клетках млекопитающих с частотой  $10^4$  в сутки, являются одним из наиболее часто встречающихся типов нарушений в структуре ДНК. Нерепарированные АР-сайты мутагенны и цитотоксичны. Особый интерес представляет репарация кластерных повреждений, состоящих из комбинации АР-сайтов, окисленных оснований и разрывов цепи в пределах 1—2 витков спирали ДНК. Такие повреждения возникают в ДНК под действием ионизирующего излучения и лекарственных препаратов-радиомиметиков.

В работе использовали метод аффинной модификации белков АР-ДНК. Некоторые белки прокариот и эукариот взаимодействуют с дезоксирибозой АР-сайта с образованием основания Шиффа, восстановление которого борогидридом натрия приводит к образованию стабильных ковалентных аддуктов белок-ДНК.

Для поиска и идентификации белков человека, взаимодействующих с АР-сайтами в составе кластерных повреждений определенного типа, были созданы ДНК, содержащие АР-сайт и флуоресцентные и/или радиоактивные метки в различных положениях, и оптимизированы условия модификации белков клеточных экстрактов HeLa и HEK 293. С целью уменьшения вероятности неспецифического связывания/сшивки ДНК с белками и получения дополнительной информации о природе белков были подобраны условия хроматографического фракционирования клеточных экстрактов.

Частичный ДНК-дуплекс, содержащий АР-сайт и свисающие одноцепочечные участки в той же цепи, образовывал два мажорных ковалентных аддукта с белками экстракта. Белки в составе этих продуктов были идентифицированы методом пептидного картирования на основе данных MALDI-TOF-MS анализа. Белки в составе ковалентного аддукта с кажущейся

молекулярной массой около 100 кДа представлены изоформами Ku80-полипептида (82 или 93 кДа), белок в составе 45-кДа-аддукта идентифицирован как глицеральдегидфосфат-дегидрогеназа. Идентичность белков подтверждена иммуноферментными методами.

*Работа поддержана Минобрнауки (соглашение № 14.В37.21.0188) и Программой РАН «Молекулярная и клеточная биология».*

## **Влияние стабилизирующих аминокислотных замен в центральной части $\alpha$ -тропомиозина скелетных мышц на его структурные и функциональные свойства**

**Матюшенко Александр Михайлович**

*Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва, Россия*

*ammatyushenko@mail.ru*

Тропомиозин (Tm) — это широко распространенный белок, принимающий важную роль в регуляции клеточной подвижности. Это димер, имеющий характерную структуру coiled-coil, строго детерминированную его первичной последовательностью. Однако в структуре Tm есть участки, не соответствующие этой модели. Наиболее протяженным и наименее изученным участком является центральная часть Tm. Ранее в этой части молекулы были выявлены два неканонических остатка, Asp137 и Gly126, нарушающих структуру в этой области; при этом было показано, что замены этих остатков на канонические остатки Leu или Arg (D137L и G126R) стабилизируют молекулу Tm, предотвращая ее протеолиз трипсином, и оказывают заметное влияние на регуляторные свойства Tm. Используя метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и метод ограниченного трипсинолиза, мы сравнили влияние мутаций G126R и D137L на стабильность  $\alpha$ -изоформы Tm, используя препараты тропомиозина, несущего эти мутации как по отдельности, так и две мутации одновременно. Изменения в функциональных свойствах Tm оценивали с помощью следующих подходов: соосаждения актина с Tm, регистрации температурных зависимостей диссоциации комплексов Tm и F-актина и исследованию подвижности актинового филамента в системе *in vitro motility*. В ходе работы было выявлено, что при тепловой денатурации молекулы Tm препараты, несущие мутации, приводили к стабилизации структуры белка и перераспределению его доменной структуры, охватывающей всю молекулу Tm. Аналогичный стабилизирующий эффект наблюдался при проведении трипсинолиза. В работе также показано, что внесение мутаций не влияет на аффинность взаимодействия Tm с F-актином, однако приводит к стабилизации их комплекса, а также изменению кальциевой чувствительности и скорости перемещения актинового филамента в системе *in vitro motility*. Сделан вывод, что стабилизация центральной части Tm не влияет на его взаимодействие с F-актином, но увеличивает стабильности комплексов  $\alpha$ -Tm с актином и изменяет ряд функциональных свойств  $\alpha$ -Tm в системе *in vitro motility*.

## **Структура и свойства мутантов R140G и K141Q малого белка теплового шока HspB1, экспрессируемых при различных формах нейропатий человека**

**Нефёдова Виктория Викторовна, Судницына Мария Викторовна,**

**Дацкевич Петр Николаевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*viktoriya-neff@mail.ru*

Малый белок теплового шока HspB1 играет важную роль в поддержании клеточного гомеостаза. Вероятно, именно поэтому мутации HspB1 коррелируют с развитием некоторых нейропатий человека. Молекулярные механизмы, лежащие в основе этих нейропатий, остаются мало исследованными. По этой причине представляется важным сравнить структуру и свойства HspB1 дикого типа и его мутантов. В данной работе были исследованы некоторые свойства двух точечных мутантов HspB1, R140G и K141Q, экспрессируемых при дистальной моторной нейропатии человека.

Измеренная с помощью флуоресцентного зонда bis-ANS гидрофобность мутанта R140G меньше гидрофобности белка дикого типа и мутанта K141Q. Собственная триптофановая

флуоресценция белка R140G также меньше, чем у белка дикого типа, что указывает на изменение окружения остатков триптофанов в белке. Обе мутантные формы приводят к снижению термостабильности белка, при этом «плавление» белка дикого типа происходит при ~70 °С, а мутантов — около ~64 °С. Мутант R140G более чувствителен к протеолизу, чем K141Q мутант и белок дикого типа. Установлено, что олигомеры K141Q с молекулярной массой ~560 кДа, коэффициентом седиментации (19,9–20,6 s) и диаметром частиц (~19,85 нм) не отличаются от белка дикого типа. Мутация R140G приводит к образованию двух типов олигомеров: крупных, склонных к агрегации олигомеров с коэффициентом седиментации 32 s и диаметром 28 нм и малых олигомеров с кажущейся молекулярной массой 70 кДа. Шаперонная активность K141Q мутанта сопоставима, а R140G мутанта — много меньше активности белка дикого типа. Высказано предположение, что возникновение нейропатии может быть связано с изменением олигомерного состояния (склонностью к агрегации) и уменьшением шаперонной активности мутанта R140G или с изменением стабильности и способности взаимодействовать с другими малыми белками теплового шока в случае мутанта K141Q.

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований.*

### **Внутриклеточная локализация рекомбинантного сердечного тропонина I в культуре клеток млекопитающих**

***Носов Георгий Андреевич, Мамонтова Анастасия Вячеславовна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*[nosov-georgy@rambler.ru](mailto:nosov-georgy@rambler.ru)*

Тропонин I — белок, входящий в состав тропонинового комплекса, основной функцией которого является регуляция мышечного сокращения. В последнее время появились данные о том, что белки тропонинового комплекса могут иметь в клетке дополнительные функции. В частности, локализация тропонина I в ядрах мезенхимных стволовых клеток крысы, ядрах стареющих кардиомиоцитов крысы и человека, а также его участие в поддержании стабильности хромосом у *Drosophila* свидетельствуют в пользу того, что белки тропонинового комплекса наряду с цитоплазматическими, имеют ряд важных ядерных функций.

В данной работе последовательности гена человеческого сердечного тропонина I (hcTnI) были клонированы в плазмиду pсDNA6mусHysA с целью последующей экспрессии в разных линиях эукариотических клеток. Полученной конструкцией трансфицировали следующие типы клеток: неммышечные клетки НЕК 293 F, CHO, HeLa и клетки линии c2c12, способных к спонтанной дифференцировке в миоциты.

Определение экспрессии и локализации hcTnI проводили в клеточных фракциях методом флуороиммунного анализа сэндвич-типа, а также на фиксированных клеточных препаратах с использованием флуоресцентно меченых антител, специфичных к этому белку. В ходе экспрессии hcTnI в недифференцированных клетках c2c12, а также неммышечных клетках (HeLa, CHO, НЕК 293 F), сигнал был обнаружен в ядре. При экспрессии hcTnI в дифференцированных миоцитах изменялась локализация белка: происходило включение тропонина в состав микрофиламентов. Встраивание hcTnI в тропониновый комплекс мышцы было подтверждено сборкой рекомбинантного комплекса *in vitro*. Предполагается, что TnI в отсутствие белков сократительного аппарата отправляется в ядро.

Таким образом, в данной работе получена конструкция для экспрессии hcTnI в клетках эукариот; показана ядерная локализация рекомбинантного hcTnI в неммышечных клетках и недифференцированных мышечных клетках; показано встраивание hcTnI в тропониновый комплекс мышцы в ходе дифференциации миоцитов.

## Однореакторный синтез 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфатов

*Рымко Александр Николаевич*

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*ingear@mail.ru*

2'-Дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (дНТФ) представляют собой трифосфорные эфиры 2'-дезоксинуклеозидов, которые являются производными пуринового или пиримидинового основания и 2'-дезоксирибозы. Эти соединения являются биологически активными и широко используются в области молекулярной биологии, биохимии и медицины, в том числе при диагностике инфекционных заболеваний методом полимеразной цепной реакции.

В настоящей работе мы предлагаем новый метод однореакторного получения дНТФ. Он характеризуется следующими особенностями:

- в качестве донора фосфатной группы используется сравнительно доступный ацетилфосфат;

- биосинтез дНТФ начинается с дезоксинуклеозида;

- для синтеза всех четырех дНТФ используются неспецифические киназы.

Синтез дНТФ из дезоксинуклеозидов состоит из трех этапов фосфорилирования. Первая стадия фосфорилирования осуществляется дезоксинуклеозидкиназой *Drosophila melanogaster*. Вторая стадия фосфорилирования катализируется дезоксинуклеозидмонофосфаткиназой бактериофага T5. Третья стадия фосфорилирования осуществляется нуклеозиддифосфаткиназой *Escherichia coli*. В регенеративной системе используются дАТФ (в качестве кофактора), ацетилфосфат (в качестве донора фосфатной группы) и ацетаткиназа *E. coli*, осуществляющая реакцию переноса фосфатной группы с донора на кофактор.

Используя методы генной инженерии, созданы штаммы *E. coli*, продуцирующие дезоксинуклеозидкиназу *D. melanogaster* (*E. coli* КНК-12/3), дезоксинуклеозидкиназу бактериофага T5 (*E. coli* pdnkT5), нуклеозиддифосфаткиназу *E. coli* (*E. coli* pndkEc) и ацетаткиназу *E. coli* (*E. coli* pacaEc). Уровень продукции целевых белков в полученных штаммах составляет от 25 до 67 % от суммарного клеточного белка.

Рекомбинантные белки очищали до гомогенного состояния и использовали для синтеза всех канонических дНТФ в одном реакционном сосуде без выделения промежуточных продуктов. Выход всех четырех реакций достигает 97–99 % в расчете на исходный дезоксинуклеозид. Время достижения максимального выхода варьирует в диапазоне 3–4 ч в зависимости от субстрата.

Таким образом, в результате выполнения работы создана новая эффективная и доступная схема биокаталитического синтеза препаративных количеств дНТФ.

## Зависимость активности мАспАТ от условий адсорбции на наночастицах Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

*Салем Абдулати Эльсануси*

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*ankel2008@gmail.com*

Известно, что наночастицы способны взаимодействовать с белками, нуклеиновыми кислотами, клеточными мембранами, проникать внутрь клетки и оказывать влияние на некоторые биокаталитические процессы. Вместе с тем, сведения о действии наночастиц на ферменты носят ограниченный характер. Принимая во внимание важную роль изоферментов аспартатаминотрансферазы (АспАТ) в сопряжении углеводного, энергетического и азотистого обменов, а также выполняемую митохондриальным изоферментом (мАспАТ) функцию переносчика жирных кислот, в данной работе была поставлена цель изучить зависимость активности мАспАТ от условий адсорбции на наночастицах магнетита.

мАспАТ выделяли из сердца свиньи и очищали до гомогенного состояния. К раствору изофермента, разведённого до концентрации 5 мкг/мл, добавляли наночастицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> и подвергали ультразвуковой обработке. Для изучения влияния условий адсорбции на активность мАспАТ наночастицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> модифицировали декстраном или детергентом твин-20. Контролем служил аналогичный препарат мАспАТ, обработанного ультразвуком в том же режиме, но без наночастиц. Активность мАспАТ определяли спектрофотометрическим методом по А. Карпен.

Установлено, что ультразвуковое воздействие практически не оказало какого-либо заметного влияния на активность мАспАТ, в то время как обработка ультразвуком смеси фермента и наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> вызывала снижение активности изофермента на 45 % при концентрации наночастиц магнетита в среде инкубации 1мг/мл. Увеличение концентрации наночастиц до 5мг/мл приводила к снижению активности более чем на 80 %. Этот эффект может быть обусловлен по всей вероятности «многоточечным» связыванием мАспАТ с поверхностью наночастицы, приводящим к глубоким структурным перестройкам молекулы фермента затрагивающим его активный центр. Высказывается предположение о важной роли электростатических и гидрофобных взаимодействий в адсорбции мАспАТ на поверхности наночастиц. С целью проверки данного предположения в отношении мАспАТ и наночастиц магнетита, в систему были введены декстран Т-500 или детергент твин-20. Декстран полностью предотвращал потерю активности мАспАТ, вызываемую ультразвуковым воздействием на мАспАТ в присутствии наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. По всей видимости, во время ультразвуковой обработки декстран покрывает наночастицы магнетита препятствуя их контакту с ферментом. Адсорбция мАспАТ на декстране, покрывающем наночастицы магнетита, не приводила к регистрируемым изменениям активности изофермента. После ультразвуковой обработки раствора содержащего наночастицы магнетита, мАспАТ и твин-20, активность фермента, как и в случае с декстраном, сохранилась на уровне контрольных значений.

Адсорбция мАспАТ на немодифицированных наночастицах Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> является необратимой и приводит практически к полной потере активности фермента, обусловленной глубокими структурными перестройками, произошедшими с ферментом и его активным центром в процессе образования "многоточечных" контактов белка с поверхностью наночастицы. Покрытие наночастиц декстраном сохраняет способность белка связываться с наночастицами и полностью предотвращает потерю активности фермента. По всей видимости, гидрофобные взаимодействия являются одними из определяющих характер взаимодействия между мАспАТ и наночастицами магнетита.

*Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ-РФФИ № Б10Р-249.*

#### **Взаимозависимость возникновения амилоидов:**

##### **биологическое значение и роль в патогенезе заболеваний**

*Серпионов Генрих Владимирович<sup>1</sup>, Дергалёв Александр Андреевич<sup>1</sup>,  
Нижников Антон Александрович<sup>2,3</sup>, Александров Александр Иванович<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Институт Биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва*

*<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,*

*<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*fr33zzz@mail.ru*

Амилоиды — это фибриллярные белковые полимеры со специфической кросс-бета структурой, которые накапливаются внутри и вне клеток, поскольку они устойчивы к протеолизу. Амилоиды играют роль в патогенезе ряда неизлечимых заболеваний, однако молекулярный механизм их токсического действия неясен. Известно, что амилоиды одного белка могут индуцировать амилоидную полимеризацию других белков. Используя дрожжевую модель болезни Гентингтона, было показано, что токсичность полимеров гентингтина в клетках дрожжей связана с инактивацией жизненно-важных факторов терминации трансляции Sup35 (eRF3) и Sup45 (eRF1). Инактивация Sup35 происходила за счет его полимеризации в присутствии амилоидов гентингтина. Возможно, инактивация жизненно-важных белков играет роль в патогенезе амилоидов в клетках млекопитающих. Основываясь на этих данных, был изучен спектр белков, которые переходят в полимерную форму в присутствии амилоидов гентингтина. Для этого из дрожжей, содержащих амилоиды гентингтина, с помощью ультрацентрифугирования была выделена фракция амилоидных полимеров, которую анализировали с помощью двумерного электрофореза и масс-спектрометрии. Был выявлен ряд глутамин-богатых белков, для некоторых из которых ранее была показана генетическая связь с токсичностью гентингтина.

Поскольку полученные данные доказывают, что полимеризация некоторых клеточных белков может быть причиной токсичности гентингина, мы предположили, что взаимодействие амилоидов гентингина с другими белками может снижать токсичность, например, за счет предотвращения полимеризации жизненно-важных белков. Мы проверили влияние ряда модельных полиглутаминовых белков на токсичность гентингина в клетках дрожжей и выяснили, что белок с полиглутаминовым трактом, в который введены остатки аланина, может снижать токсичность гентингина с протяженным полиглутаминовым трактом. Ряд других белков вызывал токсичность в клетках, где продуцировался гентингин с коротким полиглутаминовым трактом, который обычно не полимеризуется и не вызывает токсичности.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-32080.*

### **Уабаин индуцирует экспрессию про-апоптотического белка Вах в тимоцитах**

***Смолянинова Лариса Викторовна, Дергалёв Александр Андреевич,***

***Кулебякин Константин Юрьевич***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
smolyaninovalarisa1@gmail.com, alexanderdergalioff@gmail.com, konstantin-kuleb@mail.ru*

Известно, что уабаин, селективный ингибитор Na,K-АТРазы, может вызывать в клетках как накопление свободнорадикальных молекул, вводящее клетку в состояние окислительного стресса, так и активацию сигнальных каскадов, управляющих жизнеспособностью клетки. Ранее нами было показано, что уабаин вызывает увеличение уровня свободнорадикальных соединений в тимоцитах, которые выступают в клеточном сигналинге в роли вторичных мессенджеров, и индуцирует как апоптотическую, так и некротическую смерть тимоцитов. Действие природного антиоксиданта карнозина снижало уровень клеточной смертности обоих типов. Исследование влияния разных концентраций уабаина на экспрессию анти- и про-апоптотических белков Bcl-2 и Вах показало, что как низкая (100 нМ), так и высокая (1 мМ) концентрация не влияет на уровень белка Bcl-2, и вместе с тем вызывает существенное увеличение уровня экспрессии белка Вах в тимоцитах. Совместная инкубация уабаина (100 нМ либо 1 мМ) с карнозином (1 мМ) не оказывает влияние на уровень Bcl-2, но повышает уровень экспрессии белка Вах. Действие карнозина (1 мМ) на тимоциты само по себе вызывает выраженное увеличение уровня Bcl-2, не меняя уровень Вах. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в ответ на ингибирование Na,K-АТРазы уабаином в тимоцитах происходит повышение уровня про-апоптотического белка Вах, и не изменяется уровень анти-апоптотического белка Bcl-2, способствуя вступлению клеток на путь апоптотической гибели. Карнозин в исследованных условиях не снижает уровень про-апоптотического белка Вах, но влияет на уровень анти-апоптотического белка Bcl-2 в интактных клетках, что говорит о его потенциальном анти-апоптотическом действии, что согласуется с полученными ранее данными. Конкретный механизм защитного действия карнозина при ингибировании Na,K-АТРазы уабаином в тимоцитах требует дальнейшего исследования.

### **Изучение нейротоксина ВеМ9 из яда скорпиона *Mesobuthus eupeus***

***Устинов Никита Борисович<sup>1,2</sup>, Беркут Антонина Анатольевна<sup>1,3</sup>,***

***Василевский Александр Александрович<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

<sup>3</sup>*Московский физико-технический институт, Москва, Россия*

*NikUstinov@yandex.ru*

Изучение нейротоксинов из яда скорпионов, в частности, модуляторов потенциал-чувствительных натриевых каналов, представляет собой значительный интерес с точки зрения поиска новых инсектицидов и лекарственных препаратов. Основной проблемой, ограничивающей возможности исследований в этой области, является трудность получения токсинов в препаративных количествах. Одним из путей решения данной проблемы является использование бактериальных систем экспрессии.

Яд среднеазиатского скорпиона *Mesobuthus eupeus* из семейства *Buthidae* представляет собой многокомпонентную смесь сложного состава. Среди обнаруженных в этом яде нейротоксинов большой интерес представляют  $\alpha$ -токсины — ингибиторы инактивации натриевых каналов. Данная работа была посвящена разработке методики получения рекомбинантного аналога одного из них — токсина ВеМ9 (66 аминокислотных остатков, 4 дисульфидные связи). Ген пептида синтезировали из олигонуклеотидных праймеров, после чего встраивали в бактериальный экспрессионный вектор. Экспрессию целевого гена осуществляли в клетках *Escherichia coli* различных штаммов. Токсин получали в виде химеры с белком-помощником — тиоредоксином. Химерный белок выделяли с помощью металл-хелатной хроматографии на кобальтовой смоле; для его расщепления по остаткам метионина использовался бромциан. Выделение фрагмента, соответствующего целевому токсину, проводили методом обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Измерение молекулярной массы проводилось с помощью матрично-активированной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии. Максимальный выход рекомбинантного аналога ВеМ9 (~3 мг с 1 л культуры) был получен для штамма *E. coli* Origami B. Активность токсина тестировали на натриевых каналах млекопитающих и насекомых в сотрудничестве с лабораторией токсикологии Католического университета г. Лёвен, Бельгия (благодарность С. Пеньёру и Я. Титгату). Было показано, что ВеМ9 ингибирует инактивацию каналов в обоих случаях, то есть относится к группе так называемых  $\alpha$ -подобных токсинов.

*Выражаем благодарность заместителю директора ИБХ РАН академику Е.В. Гришину, под руководством которого была выполнена работа.*

### **Кинетика термоинактивации связанной с клеточной стенкой $\beta$ -глюкозидазы растений гороха**

***Фатуллаева Айнур Садуллакызы, Ершова Антонина Николаевна***

*Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Россия*

*Aynur\_Fatullaeva@mail.ru*

Механизм действия многих бактериальных и грибных  $\beta$ -глюкозидаз (КФ 3.2.1. 21) достаточно хорошо изучен, в отличие от растительных ферментов. В растениях гороха наряду с цитоплазматической были обнаружены адсорбированная и ионосвязанная с клеточной стенкой молекулярные формы  $\beta$ -глюкозидазы. Ионосвязанную с клеточной стенкой  $\beta$ -глюкозидазу выделяли из фракции клеточных стенок 1 М NaCl и очищали гелехроматографией на G-25 и G-100. Электрофоретическую гомогенность выделенного фермента определяли в 7,5 % ПААГ. В качестве субстрата использовали р-НФГ. В работе использовались ферментные препараты со степенью очистки 73,9 и удельной активностью 283,41 Е мг<sup>-1</sup>. Установлено, что при +45 °С  $\beta$ -глюкозидаза достаточно стабильна и только через 3 часа активность фермента падала на 80 %. Это указывает на более высокую термостабильность связанной с клеточной стенкой  $\beta$ -глюкозидазы в отличие от цитоплазматической формы. Была исследована зависимость скорости реакции этого фермента от концентрации субстрата и показано, что реакция протекала как типичная реакция первого порядка. Кинетика термической инактивации  $\beta$ -глюкозидазы исследовалась в интервалах рН 3,0–7,0 и температур +30–70 °С. Были построены графики зависимости констант скорости инактивации  $\beta$ -глюкозидазы в координатах Аррениуса и на их основании рассчитаны параметры термической инактивации. Наличие излома на этих графиках показывает, что термическая инактивация фермента протекает как минимум в две стадии и это подтверждается значениями величин  $E_{\text{акт}}$ ,  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$  и  $\Delta G^\ddagger$ . Установлено, что при повышении температуры от +30–50 °С до +50–70 °С (рН 5,0) увеличивалась величина  $E_{\text{акт}}$  до 267,04 кДж·моль<sup>-1</sup> и энтропии  $\Delta S$  до 536,13 Дж/(К·моль), что предполагает многостадийность последовательных реакций катализа для данного фермента.

Впервые на высокоочищенных ферментных препаратах связанной с клеточной стенкой  $\beta$ -глюкозидазы растений гороха показано, что он более термостабилен, чем цитоплазматическая его форма. Изучены основные характеристики термической инактивации этого растительного фермента. Отмечено, что они значительно отличаются от бактериальных  $\beta$ -глюкозидаз, которые характеризуются значительно более высокой термо- и кислотоустойчивостью.

**Получение рекомбинантного N-концевого фрагмента предшественника  
натрийуретического пептида В-типа кошек (FNT-proBNP)  
и исследование его иммунохимических свойств**

**Шохина Арина Геннадиевна, Ефремова Ирина Александровна**

*Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*shag.biochem@yandex.ru*

Натрийуретический пептид В-типа (BNP) образуется путем протеолиза молекулы-предшественника (proBNP) с образованием 2 фрагментов: С-концевого (собственно BNP) и N-концевого (NT-proBNP). Увеличение содержания данных фрагментов в крови свидетельствует о сердечной недостаточности. Определение концентрации NT-proBNP в крови человека с помощью сэндвич-иммуоферментного анализа используется для оценки степени тяжести данного патологического состояния. Для создания аналогичных систем для домашних животных в качестве стандарта необходим препарат NT-proBNP соответствующей видовой принадлежности.

Целью работы было получение рекомбинантного FNT-proBNP с дополнительной пептидной последовательностью (тагом/аффинной SE-меткой) на N-конце молекулы и исследование иммунохимических свойств данного белка.

Нуклеотидную последовательность SE-FNT-proBNP из плазмиды pUC57-SE-FNT-proBNP встраивали в вектор pET23a(+). Полученной конструкцией трансформировали клетки *E. coli* штамма BL21(DE3)pLysS. Анализ клеточного лизата методом ДСН-электрофореза показал наличие экспрессии FNT-proBNP.

Для получения препарата FNT-proBNP из клеточного лизата был использован метод аффинной хроматографии, где носителем служила сефароза с иммобилизованными таг-специфичными антителами. Концентрацию аффинно-очищенного FNT-proBNP определяли, используя метод Лоури и сэндвич-ФИА, а его чистоту — методом ДСН-электрофореза.

Использование тага позволило получить гомогенный препарат FNT-proBNP за одну стадию очистки. Концентрация аффинно-очищенного FNT-proBNP, измеренная в сэндвич-ФИА, совпала с концентрацией, полученной при использовании метода Лоури — SE-метка не препятствовала определению концентрации FNT-proBNP. Полученный очищенный белковый препарат может быть использован как в качестве стандарта, так и для получения антител, специфичных к FNT-proBNP.

**Разработка новых противоопухолевых композиций  
на основе доксорубина и производного пиридина**

**Юсупова Эльвина Робертовна, Штырлин Никита Валерьевич, Пугачев Михаил  
Владимирович, Абдуллин Тимур Илдарович, Иксанова Альфия Габдуллахатовна,  
Штырлин Юрий Григорьевич**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия*

*yusupova.elvina@gmail.com*

На сегодняшний день одной из наиболее актуальных проблем в лечении злокачественных новообразований является низкая эффективность противоопухолевых препаратов наряду с их высокой токсичностью.

Целью данного исследования явилась разработка противоопухолевых композиций на основе известных фармсубстанций и производного пиридина (ПП). Эксперименты *in vitro* проводились на клетках аденокарциномы молочной железы MCF-7. Чувствительность клеток к ПП и Dox анализировали с помощью МТТ-теста. Выявлено, что IC<sub>50</sub> для ПП составило  $2 \times 10^{-4}$  М, что на 3 порядка превышает IC<sub>50</sub> известного цитостатика доксорубина (Dox) (IC<sub>50</sub>= $2 \times 10^{-7}$  М). Так, ПП не может быть рекомендовано в качестве самостоятельного противоопухолевого препарата. Однако лекарственные композиции, включающие Dox в концентрации IC<sub>25</sub> ( $6,8 \times 10^{-7}$  М) и ПП ( $2,38 \times 10^{-9}$ – $1,25 \times 10^{-3}$  М), показали большую эффективность в отношении клеток MCF-7. Показано, что уже при концентрации ПП

$2,38 \times 10^{-9}$  М токсичность лекарственной композиции увеличивается на 43 %. Известно, что опухолевые клетки чувствительны к Dox в S- и G2-фазах клеточного цикла. Анализ клеточного цикла MCF-7, синхронизированных в фазе G1/G0, показал, что IC25 Dox уменьшает количество клеток в S-фазе на 32 % и увеличивает в G2/M на 18 %. Выявлено, что ПП самостоятельно не влияет на распределение количества клеток по фазам клеточного цикла. Для оценки влияния ПП на данный процесс синхронизированные клетки MCF-7 были проинкубированы со смесью ПП и Dox (в концентрации каждого вещества IC25 для MCF-7). В сочетании с Dox, распределение клеток по фазам клеточного цикла также остается на уровне значений для Dox. При оценке влияния ПП на внутриклеточный уровень АТФ в опухолевых клетках CaCo-2 выявлено, что ПП значительно понижает данный показатель.

Результаты экспериментов позволяют утверждать, что ПП в составе лекарственной смеси увеличивает цитотоксические свойства Dox, проявляя синергизм действия. Предположительно, ПП усиливает эффективность Dox за счет снижения внутриклеточного уровня АТФ, необходимого для активности обратных транспортеров, осуществляющих выброс лекарственных препаратов. Таким образом, проведенные исследования позволяют предложить способ усиления противоопухолевой активности Dox при отсутствии токсичного действия на нормальные клетки человека с учетом снижения концентрации используемого цитостатика, что позволит уменьшить проявления побочных действий.

## Подсекция «БОТАНИКА (ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ)»

### Что может быть принято за границу между видами?

**Борисюк Алексей Анатольевич**

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

*galium@yandex.ru*

Разрыв в морфологической изменчивости часто служит основанием для деления группы исследуемых организмов на части. Если удастся указать соответствующие ареалы, то велик соблазн интерпретировать их как самостоятельные виды или подвиды. Далеко не всегда такая интерпретация удовлетворительна. Примером может служить пара видов подмаренников из группы *Galium glaucum* L.: *G. hexanarium* Knjazev и *G. octonarium* (Klokov) Pobed. Первый из них распространен на Кавказе и в Заволжье, второй — в степной и лесостепной зонах Европейской России. В Предкавказье ареалы этих видов не соприкасаются. Габитус кавказских растений заметно отличается от ближайших к ним растений из Ростовской области. Все это делало очевидной трактовку их в качестве самостоятельных видов.

Изучение морфологической изменчивости представителей обоих видов было проведено на территории от Рязанской области до Северного Кавказа. Материалом для исследования послужили гербарные коллекции (MW, MHA, LE) и выборки из природных популяций. Проанализированы признаки, упомянутые при описании этих видов, а также признаки, использованные в определителях.

Изучение этих материалов показало высокую изменчивость морфологических признаков. Дискриминантный анализ показал, что большая часть традиционно используемых в систематике этой группы признаков не вносит существенного вклада в разделение представителей изучаемых видов. По большей части изученных признаков растения из Рязанской области и с Кавказа — территорий со сходными значениями гидротермического коэффициента Селянинова — оказываются близки. Сопоставление климатической и морфологической изменчивости в пределах общего ареала показывает высокий уровень корреляции между ними. Учет климатических данных позволяет увеличить процент объясненной дисперсии значений морфологических признаков по сравнению с моделями, учитывающими только географическое положение точек сбора или принадлежность к названным выше видам.

Существует общая для обоих видов клинальная изменчивость вдоль климатического градиента. Разрыв в морфологической изменчивости в Предкавказье является артефактом, вызванным неравномерным географическим распределением точек сбора гербарных коллекций и изменением направления климатического градиента в этом регионе. При такой экологической интерпретации разрыв в изменчивости признаков не может быть доказательством границы между видами.

### Изменчивость *Juncus bufonius* L. s.l. (Juncaceae)

в окрестностях Звенигородской биологической станции МГУ (Московская область)

**Волкова Светлана Валерьевна**

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

*svetlanavolkova.v@gmail.com*

Вопрос об объеме вида *Juncus bufonius*, для которого характерна большая морфологическая изменчивость, давно служит предметом дискуссий. В частности, есть разные точки зрения о возможности выделения из состава *J. bufonius* вида *J. minutulus*. Традиционно эти виды предлагали различать на основании таких размерных показателей, как высота растения, число цветков, длина листочков околоцветника и число хромосом. Позже была высказана точка зрения, что важнейшим различием является число тычинок в цветке (6 у *J. bufonius* и 3 у *J. minutulus*). Однако недавно были получены данные о варьировании числа тычинок даже в пределах одного растения на материале из Воронежской области. Мы изучили изменчивость *J. bufonius* s.l. на материале из окрестностей Звенигородской биостанции МГУ

(163 растения из 5 популяций). На каждом растении было определено число и положение листочков околоцветника, тычинок и плодolistиков в цветке на оси первого порядка и в цветках на осях более высоких порядков, если они имелись. Также учитывали высоту растения, число цветков, длину листочков околоцветника. Полученные данные обработаны методами одномерной и многомерной статистики. Для анализа молекулярной изменчивости отобрано 47 из 163 растений, представляющих все популяции и важнейшие морфотипы. Проведен анализ ISSR-маркеров, полученных с использованием трех праймеров (UBC868, HB10, HB11). Мы подтвердили данные о варьировании числа тычинок в пределах одного растения и о существовании цветков с 4 и 5 тычинками. Впервые показано, что цветки на осях 1 порядка имеют в среднем меньше тычинок, чем цветки на осях 2 и 3 порядков. Цветки с 3 тычинками часто встречались у мелких растений, но они отмечены и у самых крупных экземпляров. ISSR анализ позволил выделить две группы образцов, одна из которых по небольшим размерам растений и частой встречаемости у них цветков с 3 тычинками в основном соответствовала представлениям о виде *J. minutulus*. Однако несколько растений с такими же признаками по молекулярным данным относятся ко второй группе, куда также вошли образцы, соответствующие представлениям о *J. bufonius* s.str. и растения с промежуточными признаками. Наши данные указывают на невозможность разделения видов *J. bufonius* и *J. minutulus* на морфологическом уровне. Вопрос о существовании двух видов, надежно различимых только по молекулярным и, возможно, кариологическим признакам, требует дальнейшего изучения с привлечением более обширного материала.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 12-04-33050.*

### **Молекулярная филогения рода *Alopecurus* L. (Poaceae) флоры России**

***Гнутиков Александр Александрович, Коцинян Армен Размикевич***

*Ботанический институт им. В. Л. Комарова российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия  
alexandr2911@yandex.ru*

Род *Alopecurus* L. содержит около 50 видов, распространенных почти во всех внетропических странах обоих полушарий, а также в высокогорьях тропиков. Из них 20 видов встречаются на территории России. Молекулярно-филогенетически род почти не исследован. Между тем, естественность рода в его современном объеме и принятые взгляды на положение рода в системе злаков могут быть поставлены под сомнение.

Из всего разнообразия молекулярных маркеров при исследовании геномов злаков наиболее часто применяются последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров *ITS1* — ген *5.8S pPHK* — *ITS2* и последовательности хлоропластной ДНК.

Нами секвенированы ядерные фрагменты *ITS1* — ген *5.8S pPHK* — *ITS2*, фрагменты хлоропластных генов *ndhF*, *matK*, и хлоропластного межгенного спейсера *trnK-rps16* для 15 видов рода. Статистический анализ полученных данных проводился при помощи 3-х методов: ML (максимальное правдоподобие), MP (максимальная парсимония) и байесовский анализ.

По всем исследованным фрагментам последовательности распределились на две группы. Видовой состав групп неизменен за некоторыми исключениями. Каждая из групп входит в состав одной из двух сестринских клад, полученных при статистической обработке данных. Кроме последовательностей рода *Alopecurus* L. в состав одной клады вошли последовательности родов: *Dupontia* R. Br., *Hookerchloa* E.B. Alexeev, *Beckmannia* Host, *Aniselytron* Merr., *Arctophila* (Rupr.) Rupr. ex Andersson, *Ventenata* Koeler, другой — последовательности родов: *Apera* Adans., *Nephelochloa* Boiss., *Bellardiochloa* Chiov., *Cinna* L.

Полученные данные противоречат морфологическим представлениям о структуре рода, и позволяют сделать предположение о возможности разделения рода.

*Работа выполнена в лаборатории биосистематики и цитологии БИН РАН при поддержке РФФИ (12-04-01586-а; 12-04-31524) и программы «Динамика генофондов».*

## ***Papaver caucasicum* M. Bieberstein и *Papaver persicum* Lindley во флоре Ирана**

### **Гран Афсанех**

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия  
afsaaneh.graan@gmail.com

Во «Флоре СССР» *Papaver persicum* приводится как синоним *P. caucasicum*. В большинстве же других сводок указано, что это два самостоятельных вида. Наше исследование посвящено изучению систематического положения этих двух видов.

Изучены морфология и анатомия вегетативных и репродуктивных органов образцов *P. caucasicum* и *P. persicum*, хранящихся в гербариях им. Д.П. Сырейщикова (МГУ — МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва), Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА — Москва), гербарии Института защиты растений в Тегеране (IRAN), гербариев кафедры ботаники университетов Азад-Тегеран (IAUNT) и Горган (IAUG) в Иране.

Анатомические срезы вегетативных и репродуктивных органов растения (стебель, лист, цветоножка, чашелистик и завязь) последовательно помещали в 30 % растворы белизны (на 15 мин), 10 % уксуса (на 10 мин), красного кармина (на 10 мин) и в метиловый зеленый (на 1 мин). После каждого погружения срезы отмывали в дистиллированной воде. Срезы помещали в глицерин. Для микроскопирования использовали микроскоп Primo star — ZEISS.

Были получены следующие результаты.

Морфологические признаки:

- у *P. caucasicum*: высота растения 15–40 см, форма побега прямостоячая, трихомы на коробочках отсутствуют, форма коробочки овально-удлиненная, число лучей на диске 3–6 или реже 7–8;

- у *P. persicum*: высота растения 30–40 см, форма побега пирамидальная, трихомы на коробочках присутствуют, форма коробочки веретеновидная или яйцевидная, число лучей на диске 5–6.

Анатомические признаки:

- у *P. caucasicum*: форма поперечного среза цветоножки не округлая, волокна склеренхимы отсутствуют, трихомы на поверхности цветоножки отсутствуют; угол между средней жилкой и пластинкой чашелистика не развернутый; форма завязи на поперечном срезе округлая или эллиптическая, трихомы на поверхности завязи отсутствуют; трихомы на поверхности листа отсутствуют; в стебле проводящие пучки расположены более, чем в два ряда, трихомы на поверхности стебля отсутствуют;

- у *P. persicum*: форма поперечного среза цветоножки округлая, волокна склеренхимы имеются, трихомы на поверхности цветоножки присутствуют; угол между средней жилкой и пластинкой чашелистика развернутый; форма завязи на поперечном срезе многоугольная, трихомы на поверхности завязи присутствуют; трихомы на поверхности листа присутствуют; в стебле проводящие пучки расположены в два ряда, трихомы на поверхности стебля присутствуют.

На основании морфологических и анатомических исследований вегетативных и репродуктивных органов *Papaver caucasicum* и *Papaver persicum* мы пришли к выводу, что они являются самостоятельными видами.

## **Особенности ценофлоры мхов каменистых местообитаний, сформированных разными горными породами Южного и Среднего Урала**

**Ибатуллин Александр Анатольевич**

Уральский государственный педагогический университет, Екатеринбург, Россия

My\_orchis@mail.ru

Горные экосистемы, к которым относится Урал, являются зонами повышенного биологического разнообразия растений; это справедливо и для мхов. Наличие разнообразных абиотических факторов на достаточно ограниченной территории, особые интразональные условия, а также выходы формаций широчайшего возрастного диапазона, от архея до современности, и различного геолого-минералогического состава приводят к формированию высоко специфических комплексов видов растений и уникальных растительных сообществ.

Обработан материал, собранный в 2009–2012 гг. на скальных обнажениях Южного и Среднего Урала (известняки, доломиты, граниты, амфиболиты, мрамора, кварциты, тальк-карбонатные, филлитовые и прочие сланцы и др.).

Составлен список видов мохообразных с учетом их ценотической значимости в сообществах и экологической приуроченности. В результате проведенных исследований, а также учета литературных данных впервые обобщен и проанализирован видовой состав петрофитных мхов Среднего и Южного Урала. Выявлено распределение видов по 19 основным типам горных пород. Составлен конспект, включающий 385 видов и 5 внутривидовых таксонов листостебельных мхов, относящихся к 139 родам и 48 семействам, 14 порядкам и 5 классам. Выявлены 8 новых для Урала видов (*Didymodon validus*, *Grimmia unicolor*, *Seligeria calcarea*, *Encalypta spathulata*, *Schistidium robustum*, *Stereodon holmenii*, *Syntrichia sinensis* и *Tortella bambergeri*); 1 новый вид для Южного Урала (*Schistostega pennata*), 32 новых вида для Челябинской области (*Tortella alpicola*, *Tayloria splachnoides*, *Brachythecium erythrorrhizon*, *Brachythecium glareosum*, *Didymodon vinealis*, *Fabronia ciliaris*, *Schistidium lancifolium*, *Seligeria campylopoda*, *Myurella sibirica* и др.) и 2 вида новых для Свердловской области (*Hymenoloma crispulum*, *Grimmia tergestina*). Собрано 116 редких для Урала видов и получены дополнительные данные по их распространению и репродуктивной биологии.

Проведен анализ распределения мхов по типам микроместообитаний (для факультативных и облигатных литофитов). Рассмотрены закономерности распределения видов на уровне более крупных структурных частей ландшафта. Были использованы статистические методы для анализа петрофитной бриофлоры, показавшие достоверные различия в распределении видов по группам горных пород и роль таких факторов, как кислотность, химический состав, текстура субстрата. Нами поставлен вопрос о влиянии свойств карбонатов на разнообразие и обилие скальных мхов.

Выявлена зависимость видового богатства от степени трещиноватости горной породы, на основе подробной характеристики состава изученных карбонатных пород. Известняки, на которых имелись влагоемкие вторичные карбонатные корочки, которые появляются в результате деятельности бактерий и сине-зеленых водорослей на поверхности карбонатов, отличались значительным биоразнообразием мохообразных. Выявлены виды, тяготеющие к доломитам: *Grimmia teretinervis*, *Didymodon validus*, *D. vinealis*, *Entodon concinnus*.

Выявлена связь между богатством петрофитных мхов и содержанием органического вещества в карбонатсодержащих горных породах. В связи с этим особо значимым в дальнейшей работе будет изучение кальцийсодержащих пород осадочного (известняки, доломиты), метаморфического (мрамора) и магматического (карбонатиты) происхождения. Именно в этой серии ожидаются наиболее интересные результаты.

Выражаю искренние слова благодарности М.С. Игнатову и Е.А. Игнатовой за помощь в подтверждении и определении наиболее сложных таксонов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 12-04-31742-«мол\_а»).

**Становление листового аппарата бровника одноклубневого  
*Herminium monorchis* (L.) R. Br. (Orchidaceae) в онтогенезе  
Колесникова Анастасия Юрьевна, Байкач Анна Сергеевна  
Пензенский государственный университет, Пенза, Россия  
istudiante@mail.ru; cat6-94@mail.ru**

Бровник одноклубневой *Herminium monorchis* (L.) R. Br. — редкий вид орхидей в Поволжье, в том числе в Пензенской области, где ему присвоена категория I — вид, находящийся под угрозой исчезновения. Для эффективной охраны необходимо изучение его биологии и экологии. В связи с этим цель работы — исследовать в онтогенезе механизмы адаптации этой орхидеи к условиям обитания на уровне листа — одного из самых пластичных органов растений.

Материал собирали в августе 2012 года вблизи села Ольшанка Пензенской области на солонцеватом лугу с содержанием легкорастворимых солей в верхнем корнеобитаемом слое влажно-луговых почв 1,0–1,2 %. Брали по одному листу у 5 растений каждого возрастного состояния.

У ювенильных (j) особей образуется 1 лист продолговатой или обратно-узкойцевидной формы, у имматурных (im) — 2, у виргинильных (v) и генеративных (g) — 2, редко 3 листа. Максимальных размеров (40–45 мм в длину, 9–12 мм в ширину, 405–420 мкм в толщину) листовая пластинка достигает у v- и g-растений. Установлена связь между возрастным состоянием и числом жилок в листе (5–8 у j- и im-, 13–15 у v- и g-особей), что в дальнейшем будет использовано в популяционных исследованиях.

Для анатомии листа бровника характерно своеобразное сочетание черт гелиофитов, гигрофитов и галофитов. Весной почвы Ольшанского солонца избыточно увлажнены за счёт стекания сюда талых вод. Летом, несмотря на близкое залегание грунтовых вод, растения испытывают дефицит влаги, так как корневая система расположена в поверхностном легко иссушаемом и обогащённом солями слое. Защитным механизмом от обезвоживания является мощная верхняя эпидерма (109–175 мкм), составляющая 42–48 % толщины листа. Мезофилл не дифференцирован на столбчатый и губчатый и у растений всех возрастных состояний состоит из 4-х слоёв клеток. В мезофилле обнаружены крупные бесцветные клетки, в вакуолях которых локализованы кристаллы оксалата кальция в виде рафид. С помощью этого механизма растение выводит лишние соли из активного метаболизма. Также кристаллы отражают свет, препятствуя избыточному нагреванию листа.

Зависимость количества устьиц (23–30 шт/мм<sup>2</sup>) и их размеров (61–66 × 53–55 мкм) от возрастного состояния не установлена.

### **Морфологическая изменчивость цветка у двудомного вида *Antennaria dioica* (L.) Gaertn.**

***Котельникова Ксения Вячеславовна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*cerya-laguna@yandex.ru*

Согласно большинству литературных источников, двудомное травянистое растение *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. имеет два морфологических типа цветков. Один из них — функционально и морфологически женский (тычинки отсутствуют). Другой — морфологически обоеполый, традиционно предполагаемый функционально мужским (со стерильной завязью). В литературе содержатся только отдельные указания на то, что морфология цветков данного вида варьирует существенно сильнее. Соцветия для анализа были собраны в Болгарии (альпийские сообщества, южная часть ареала вида), Тверской области (сухие сосняки) и Мурманской области (приморские луга на скалах, северная область ареала). Выборка была взята из 6000 цветков (по 1000 цветков каждого пола из каждой точки сбора). В ходе работы были выделены отдельные морфологические типы каждого из элементов цветка, которые для всех цветков был внесены в электронную таблицу. Далее была проведена статистическая обработка информации. Для женского цветка обнаружено: четыре типа рылец и восемь вариантов соотношения длин трубки венчика и столбика пестика. Для мужского цветка выделено четыре типа морфологии венчика (причем один из них имеет сильный разброс линейных размеров), пять — тычинок и четырнадцать — пестика (с учетом соотношения длин тычинок, пестика и венчика). Встреченных типов женских цветков в итоге можно выделить 18, мужских — более 150. Закономерности распределения встречаемости выделенных морфологических типов по выборке зависят от времени и места сбора: при просмотре материала, зафиксированного в разные промежутки времени, одни и те же типы цветков сильно варьировали по размеру, оставаясь сходными по всем остальным рассматриваемым признакам. Таким образом, анализ показал, что разнообразие цветков у рассматриваемого вида значительно выше, нежели это описывается в литературе. Дополнительно, среди обоеполых цветков были обнаружены цветки с пестиком, морфологически подобным фертильному у женских цветков. Исходя из этого, можно ставить вопрос о корректности применения термина «двудомный» к данному виду, поскольку популяцию, в которой на одних растениях находятся только функционально женские цветки, а на других — имеются функционально обоеполые, было бы правильным назвать гинодиэцичной.

## Жизненные формы *Scutellaria baicalensis* Georgi

Небайкина Мария Алексеевна

Ботанический сад-институт ДВО РАН, Владивосток, Россия

nebaykina-marya@yandex.ru

Жизненная форма представляет собой определенный тип адаптационной структуры растения, исторически развившейся в соответствии с экологическими условиями местообитания. Жизненная форма *S. baicalensis* Georgi определена ранее как многолетний летнезеленый травянистый короткокорневищно-кистекокорневой симподиально нарастающий поликарпик с удлинённым прямостоячим побегом. Полевые сборы особей *S. baicalensis* позволили выявить несколько дополнительных биоморф.

Материалом для исследования послужили собранные в природе в течение 2008–2012 гг. генеративные особи *S. baicalensis* (Приморский край, Октябрьский район), гербарные образцы Биолого-почвенного института ДВО РАН, литературные источники. Использовались сравнительный и биоморфологический методы.

*S. baicalensis* является многолетним летнезеленым травянистым симподиально нарастающим поликарпиком с удлинённым побегом. Надземная сфера особей, достигших дефинитивного возрастного состояния представлена вегетативно-генеративными побегами высотой до 58 см. Побеги удлинённые, разветвлённые до 2–3 порядков, открытые, монокарпические, моноциклические. Листья ланцетные, сидячие или почти сидячие, цельнокрайные. Цветки сидят по одному в пазухах листьев и формируют соцветие — простую кисть. Венчик сине-фиолетовой окраски. В зависимости от ветрового режима и степени сомкнутости травяного покрова направление роста побегов с прямостоячего сменяется на лежащий или приподнимающийся. В подземной сфере формируется 3 морфоструктуры. По совокупности надземных и подземных систем нами выделены следующие биоморфы: первая — стержнекорневая с многоглавым каудексом с прямостоячим побегом; вторая — стержнекорневая с многоглавым каудексом с приподнимающимся побегом; третья — стержнекорневая с многоглавым каудексом с лежащим побегом; четвертая — стержнепридаточнокорневая с многоглавым каудексом с прямостоячим побегом; пятая — короткокорневищно-кистекокорневая с прямостоячим побегом.

Исследование показало, что *S. baicalensis* обладает широкой поливариантностью подземной сферы и формирует 5 биоморф (проявляет полиморфизм). Разнообразие жизненных форм у одного и того же вида является свидетельством его высокой адаптации и конкурентоспособности.

## Ультроструктурные особенности поверхности экзины пыльцевых зерен некоторых видов и гибридов рода *Lilium*

Оспищева Наталия Васильевна

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

ospisheva@bsu.edu.ru

Морфологические особенности пыльцевых зерен часто используются в качестве систематических признаков. Цель работы — изучить и проанализировать ультроструктуру пыльцевых зерен видов лилий. На электронном сканирующем микроскопе (Quanta 200) исследованы размеры и структура экзины пыльцевых зерен 9 видов и 2 гибридов лилий различного эколого-географического происхождения, представленных в коллекции Ботанического сада НИУ «БелГУ». Изученные виды лилий относятся к 6 ботаническим секциям: *Lilium lancifolium* Thunb, *L. davidii* Duchartre, *L. pumilum* Delile, *L. cernuum* Komarov (секция *Sinomartagon* Comber); *L. henryi* Beker (секция *Arhelirion* (Baker) Wils.), *L. buschianum* Lodd. (секция *Sinolirium* Vriehsz), *L. regale* Wils. (секция *Regalia* M. Baranova), *Lilium pennsylvanicum* Ker-Gawl. (секция *Pseudolirium* Wils.), *L. candidum* (секция *Lilium* M. Baranova) и гибридов 'Marco Polo', 'Bright Star'.

По размеру пыльцевые зерна видов и гибридов варьировали от 75,42 мкм у *L. buschianum* до 133,44 мкм у гибрида 'Marco Polo'. Коэффициент отношения длины полярной оси и экваториального диаметра пыльцевых зерен варьирует от 2,3 до 2,8. Лишь у *L. lancifolium* это

отношение составило 3,09. Толщина стенок ячеек варьировала от 1,15 до 1,89 мкм. Для видов секции *Sinomartagon* (*L. pumilum*, *L. davidii*, *L. cernuum*, *L. lancifolium*) характерно четкое различие головок столбиков, слагающих стенку ячеек. Головки имеют очертание неправильных многоугольников, чаще прямоугольников, и расположены, как правило, плотно друг к другу. Пыльца *Lilium buschianum* имела строение ячеек, сходное с *L. lancifolium*, хотя вид относится к другой ботанической секции (*Sinolirium*). Пыльцевые зерна *L. pensilvanicum* (секция *Pseudolirium*) имели плотно расположенные головки столбиков стенок ячеек, сами головки прямоугольно-сплюснутые, как у представителей секции *Sinomartagon*. Строение экзины *L. candidum* отличается от остальных исследованных видов; головки столбиков выражены менее четко и стенки ячеек имеют почти гладкое строение.

У всех исследованных видов обнаружены различия в строении стенок ячеек экзины. Более выражены они между представителями секций *Sinomartagon*, *Lilium* и *Archelirion*. Ультраструктура экзины пыльцевых зерен отражает экологическое приспособление в процессе развития растений к условиям ареалов их произрастания и может служить дополнительным систематическим признаком.

### **Т-ДНК - подобные последовательности в филогении рода *Linaria***

***Павлова Ольга Андреевна***

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*olgunja\_@mail.ru*

Агробактерии вызывают развитие заболевания «корончатый галл» или «бородатый корень». За развитие заболевания отвечает передаваемый растению в ходе инфекции фрагмент агробактериальной плазмиды (Т-ДНК). В норме привнесенные последовательности не наследуются растением. Однако в литературе описаны примеры, когда в геноме растения, не имевшего контакта с агробактериями, были выявлены последовательности, гомологичные Т-ДНК *Agrobacterium rhizogenes*: у представителей рода *Nicotiana* и у *Linaria vulgaris*. Нами было показано, что в геноме *Linaria dalmatica* содержатся последовательности, гомологичные *rolB*, *rolC*, ORF13, ORF14 и *mis* *Agrobacterium rhizogenes*. Среди изученных генов выявлен один сохранившийся практически без изменений — *rolC*, что может указывать на его потенциальную функциональность. У остальных рамка считывания нарушена, и они, по-видимому, не функционируют. Также нами определено место интеграции Т-ДНК в растительный геном. Ранее нашей группой на виде *L. vulgaris* было показано, что приграничная область Т-ДНК существует в двух вариантах. Определено, что точка интеграции у видов *L. dalmatica* и *L. vulgaris* совпадают, что указывает на монофилетичность происхождения секций *Speciosa* и *Linaria*, к которым относятся изучаемые виды. На основе полученных данных разработан молекулярный маркер, представляющий собой фрагмент гена опинового синтеза *mis* и вариативную последовательность прилегающего межгенного спейсера. С использованием данного маркера наряду с традиционными маркерами (ITS) ведутся работы по детализации филогенетических отношений видов рода *Linaria*.

*Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высокоинтегрированного биосферного «интерфейса» с использованием оборудования Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий». Автор приносит искреннюю благодарность Матвеевой Т.В., Богомазу Д.И. и проф. Лутовой Л.А. за помощь и поддержку при выполнении работы и критическое обсуждение результатов.*

### **Строение эпидермы листьев *Gnetum gnemon* L. (Gnetaceae)**

***Пагода Янина Олеговна***

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*ianinapagoda@gmail.com*

Интерес к порядку Gnetales обусловлен наличием у его представителей особенностей, сходных с таковыми у цветковых растений, в число которых входит наличие листа с широкой пластинкой и сетчатым жилкованием. Актуальность изучения эпидермы листа

у представителей рода *Gnetum* обусловлена наличием большого числа аномальных устьиц, а также нарушениями в распределении одиночных устьиц. Методами световой и сканирующей электронной микроскопии изучено строение эпидермы разных участков пластинки закончивших рост листьев *Gnetum gnemon*, с помощью метода главных компонент выявлены корреляции между ее признаками.

Листья *G. gnemon* обычно гипостоматные. На единице поверхности нижней эпидермы насчитывается среднее число устьиц (~ 200 на 1 мм<sup>2</sup>). Устьичный индекс малый (~ 6 %). Устьица расположены ниже поверхности эпидермы. Изучение спектров стоматотипов в разных частях листовой пластинки *G. gnemon* показало преобладание парацитного типа в каждой из них (65–78 %). Остальные типы представлены значительно реже: латероцитный (4–7 %), переходный (2–4 %), аномоцитный (0,25–1 %), энциклоцитный (0–0,3 %). Встречаются также двойные устьица, замыкающие клетки которых непосредственно примыкают друг к другу. Обнаружено большое число абортированных устьиц, на долю которых приходится 13,4–24 % всех устьиц покровной ткани. Сопоставление различных участков пластинки показало, что они сходны по спектрам стоматотипов и соотношению в ткани дифференцированных и абортированных устьиц. По взаимному расположению клеток большая часть абортированных устьиц близка к парацитному типу, и вероятно, закладываются в одно время с ними. Плотность размещения дифференцированных устьиц в покровных тканях зависит от величины основных клеток, а также устьичного индекса и коррелирует со степенью развития ксилемы в черешке.

## **Морфология и анатомия зеленых листьев брахибластов сосны Кремпфа (*Pinus krempfi* Lecomte)**

**Платонова Анна Глебовна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*platon-anna@yandex.ru*

Уязвимость сосны Кремпфа (статус VU A1 в IUCN Red list) и склонность некоторых авторов рассматривать ее в качестве представителя монотипного рода *Dacrydium* диктуют необходимость всестороннего изучения этого обитающего в горах Южного Вьетнама растения, а имеющиеся в литературе противоречия относительно расположения устьиц и строения мезофилла привлекают внимание к изучению строения листьев этой сосны.

Брахибласты сосны Кремпфа несут два зеленых листа, которые расходятся относительно друг друга подобно лезвиям ножниц. Листья молодых, обитающих под пологом леса растений серповидные, до 15 см длиной и до 6 мм шириной и относительно тонкие. Листья взрослых деревьев, крона которых возвышается над пологом леса, по облику напоминают хвоинки других сосен (их размеры достигают длины 4–5 см и ширины 3–4 мм). Устьица на листьях теневого брахибласта располагаются в 5–7 рядов по обе стороны от жилки на адаксиальной поверхности адаксиального и на абаксиальной поверхности абаксиального листа, а так как листовые пластинки ориентированы горизонтально, устьица оказываются на топографически нижней стороне обоих листьев. У ауксипластов, расположенных по периферии кроны взрослых деревьев ориентированные косо вверх листья брахибласта амфистоматические, но устьица, будучи многочисленными (в 10–15 рядах по обе стороны от жилки) на обеих сторонах абаксиального и на адаксиальной стороне адаксиального листа, на абаксиальной стороне адаксиального листа расположены всего лишь в 1–2 ряда над средней жилкой. Резкой границы между этими двумя типами листьев нет; обнаружены брахибласты с листьями промежуточного типа. Такие брахибласты, очевидно, образуются не на периферии, а внутри кроны взрослого растения, и их наличие не позволяет относить сосну Кремпфа к растениям с диморфными листьями, но свидетельствует о том, что, как и многим древесным растениям, ей свойственны теневые и световые листья и листья переходного между ними типа.

Хлоренхима листьев состоит из субэпидермальных дланевидно-столбчатых клеток и клеток, вытянутых под прямым углом к средней жилке. Отдельные клетки хлоренхимы, оставаясь живыми, обладают сильно утолщенными и лигнифицированными стенками, и это не позволяет согласиться с некоторыми авторами в том, что эти клетки, выполняющие в первую очередь механическую функцию, проводят воду от средней жилки к мезофиллу, подобно трахеидам добавочной трансфузионной ткани.

## Особенности строения пыльника у *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae)

в период формирования пыльцевого зерна

*Попков Николай Борисович*

*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

*nikoropkov@yandex.ru*

Порядок Paeoniales относится к двудольным растениям, представлен единственным монотипным семейством Paeoniaceae и включает 40–45 видов, относящихся к роду *Paeonia*. Это многолетние корневищные травы, реже полукустарники или небольшие кустарники с очередными тройчатыми листьями. Цветки крупные, обоеполые, правильные, обычно одиночные.

Для исследования был взят вид *Paeonia lactiflora*. Андроцей образован многочисленными тычинками, расположенными на выпуклом цветоложе. Тычинки имеют тонкие тычиночные нити. Нами изучено строение пыльника внутренних тычинок у этого вида в постмейотический период. Материал для исследования собран летом 2011 г. на территории Ботанического сада Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН и обработан по общепринятой цитозембриологической методике.

Пыльники 4-гнездные (2 теки, каждая состоит из 2 микроспорангиев, объединенных тканями связника).

На стадии вакуолизированных микроспор (в микроспоре сформирована крупная центральная вакуоль, а ядро занимает пристенное положение) стенка микроспорангия состоит из 4–5 слоев: эпидермы, 1–2 слоев эндотеция, среднего слоя и тапетума. Клетки эпидермы, среднего слоя и тапетума вытянуты в продольном направлении, тогда как клетки эндотеция — в радиальном направлении. В клетках эндотеция начинают формироваться фиброзные утолщения, удлинённые ядра располагаются в постенном слое цитоплазмы вблизи антиклинальной стенки. Тапетум клеточный секреторный.

На стадии формирующихся пыльцевых зерен (пыльцевые зерна состоят из вегетативной и генеративной клеток, в цитоплазме вегетативной клетки начинается отложение крахмала) ядра в клетках эпидермы, эндотеция и среднего слоя почти разрушились. Тапетум уже не выявляется. Микроспорангии внутри одной теки еще не объединены.

На стадии зрелых пыльцевых зерен (2-клеточные 3-бороздные пыльцевые зерна, в цитоплазме вегетативной клетки многочисленные крахмальные зерна) клетки эпидермы сильно вытянуты, средний слой разрушился. В теках произошло объединение микроспорангиев. Пыльники латрорзные, вскрываются боковыми продольными щелями.

В ходе развития выявлены аномалии в развитии микроспор и пыльцевых зерен. На всех изученных стадиях обнаружены мелкие и крупные пыльцевые зерна с признаками дегенерации ядер и цитоплазмы.

## Интенсивность семенного размножения *Symphytum asperum* Lerech. и *Centaurea montana* L.

в условиях Южной Карелии и проблема потенциальной инвазионности

*Рохлова Елена Леонидовна*

*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

*rokhlova@gmail.com*

Изучение семенного размножения культивируемых растений необходимо для прогнозирования возможности перехода интродуцированного вида в категорию дичающего и даже инвазионного, а выявление потенциальных инвазионных видов является важным вопросом не только ботаники, но и экологии северных регионов. Нами выполнено исследование семенного размножения дичающих из культуры декоративных видов *Symphytum asperum* Lerech. (окопник жестковолосистый, семейство Boraginaceae) и *Centaurea montana* L. (василек горный, семейство Asteraceae), на основании которого дана оценка их потенциальной инвазионности в условиях Южной Карелии.

В местах массового произрастания видов были заложены 6 пробных площадей 10×10 м, на каждой из которых выделено по 10 учетных площадок 1×1 м. Для изучения семенной

продуктивности на каждой пробной площади выбирали 10 генеративных побегов исследуемых видов.

В условиях региона один побег окопника жестковолосистого потенциально способен образовать около 4000 семян, но фактическая интенсивность семенного размножения значительно ниже — около 107 семян со всхожестью 25 %. Один побег василька горного потенциально способен образовать около 40 семян, фактическая интенсивность семенного размножения ниже — около 14 семян со всхожестью 40 %.

Для оценки интенсивности семенного размножения исследованных видов проведено сравнение их показателей с показателями инвазионного для региона вида *Impatiens glandulifera* Royle (недотрога железистая, семейство Balsaminaceae). В селитебных местообитаниях фактическая семенная продуктивность одного побега недотроги составляет около 300 семян со всхожестью 57 %. Количество семян, формирующееся на одном побеге окопника и василька, и их всхожесть достоверно ниже аналогичных показателей недотроги железистой.

Семенная продуктивность исследованных видов, несмотря на их продолжительное и интенсивное цветение, недостаточна для успешного возобновления и широкого распространения из мест возделывания. Неблагоприятными для растений факторами являются короткий вегетационный период, поздние весенние и ранние осенние заморозки, характерные для северного региона. Таким образом, интенсивность семенного возобновления исследованных видов в регионе недостаточна для их внедрения в полуестественные или естественные сообщества и, следовательно, перехода в категорию инвазионных видов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Программы стратегического развития ПетрГУ в рамках реализации комплекса мероприятий по развитию научно-исследовательской деятельности.*

### **К вопросу о типе гинецея у *Stellaria media* L. (Caryophyllaceae)**

***Рыбина Екатерина Александровна***

*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*  
*katyusha-rybina@mail.ru*

Благодаря молекулярно-филогенетическим данным в современной систематике многих таксонов произошла ревизия родов и видов, входящих в ранг подсемейств. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение развития гинецея *Stellaria media* для объяснения его положения в системе подсемейства Alsinoideae. В ходе нашего исследования было установлено, что гинецей *Stellaria media* состоит из трех сросшихся плодолистиков, гнезда которых формируются в ходе развития ассинхронно, и характеризуется структурной зональностью. Строение и степень развития зон изменяется в ходе морфогенеза. На ранних стадиях развития гинецей является преимущественно синкарпным. При этом в верхней части завязи начинают закладываться механизмы лизикарпии: отложение в клетках септ друз оксалата кальция и дальнейшая их дегенерация в базипетальном направлении. Все это приводит к тому, что на стадии сформированных семязачатков гинецей можно типизировать как лизикарпно-синкарпный.

В литературе в качестве примитивных признаков строения гинецея рассматриваются: наличие ножки у плодолистика, разомкнутость его вентральных краев, свободное расположение элементов гинецея и, разумеется, его апокарпное состояние. К продвинутым относят: отсутствие ножки в одиночном плодолистике или срастание ножек отдельных плодолистиков в одну общую структуру, объединение вентральных краев плодолистиков, ценокарпное состояние гинецея. Кроме прочих могут быть предложены следующие признаки: соотношение пельтатного и кондупликатного фрагментов в организации завязи, время становления лизикарпии, наличие перегородок в зрелой лизикарпной коробочке и др.

Наши результаты отчасти согласуются с молекулярно-филогенетическими данными по подсемейству Alsinoideae. У *Stellaria media* в завязи (гинецей из 3 плодолистиков) обнаружено наличие продолжительного кондупликатного фрагмента (сформированного, вероятно, конгенитально) и лизикарпной зоны за счет разрушения клеток с разнообразными кристаллами оксалата кальция, начиная со средней стадии развития.

## Цветорасположение и морфогенез цветка у *Nuphar lutea* (Nymphaeaceae)

Садовникова Елена Сергеевна

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

interossi@gmail.com

Семейство Nymphaeaceae относится к группе рано дивергировавших покрытосеменных растений. Его представители привлекали большое внимание различных исследователей в связи с изучением происхождения однодольных растений и ранней эволюции покрытосеменных. В то же время, ряд вопросов остаются дискуссионными, в том числе — морфологическая интерпретация характера цветорасположения и порядок заложения элементов околоцветника у некоторых кувшинковых. Род *Nuphar*, занимающий сестринское положение по отношению к прочим кувшинковым, обладает рядом архаичных признаков, в том числе цветками с верхней завязью. Цветки и листья срединной формации расположены на корневище, причем цветки не находятся в пазухах листьев, а занимают часть положений в единой генетической спирали наряду с листьями. В литературе отмечено наличие при основании цветоножки небольшой чешуйки, которую разные авторы считали принадлежащей либо главной, либо боковой оси; обсуждается вопрос о возможности ее интерпретации как кроющего листа цветка. Мы изучили цветорасположение и морфогенез цветка *Nuphar lutea* на материале из Средней России. Наши данные подтверждают представления о моноподиальном характере нарастания корневищ кубышки и невозможности трактовки цветков как морфологически терминальных. Чешуйка на цветоножке и примордий цветка закладываются одновременно соответственно на абаксиальной и адаксиальной стороне единого примордия, возникающего на апексе корневища. 5 чашелистиков закладываются по спирали  $2/5$ , причем во всех кроме одного из изученных цветков абаксиальное положение занимал четвертый чашелистик. Чешуйка никогда не укладывается в спираль расположения чашелистиков и соответственно, по нашему мнению, не расположена на оси цветка. Лепестки имеют узкие основания, на ранних стадиях развития расположены практически на одном уровне, почти не заходя друг за друга краями, и закладываются в очень быстрой последовательности. Первые 5 лепестков появляются на радиусах между чашелистиками. Затем напротив чашелистиков 1 и 2 появляется по одному лепестку, а напротив прочих чашелистиков — по 1–3 лепестка (данные по разным цветкам различаются). Тычинки обычно образуют выраженные ортостихи как на радиусах лепестков, так и на радиусах между лепестками, а иногда и в дополнительных позициях. Число ортостих может быть нечетным, что нетипично для циклического органотаксиса. Число тычинок в ортостихе составляет от 4 до 6 и может различаться в разных частях цветка. Наблюдали также случаи неупорядоченного расположения тычинок. Плодолистики формируют один круг. Мы подтверждаем данные о том, что они, как правило, чередуются с внутренними тычинками.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 12-04-33050 и 12-04-01070).

## Адаптационные возможности *Zizyphus jujuba* Mill. по анатомическим структурам листа

в условиях засухи

Семенютина Виктория Алексеевна

Всероссийский НИИ агролесомелиорации РАСХН, Волгоград, Россия

VSem89@mail.ru

Изучение процессов адаптации и выявление закономерностей структурных приспособлений к неблагоприятным условиям среды представляют теоретический и практический интерес для защитного лесоразведения и озеленения в условиях светлокаштановых почв Нижнего Поволжья.

Исследования по выявлению ксероморфности листьев древесных видов по их анатомическим структурам проводились параллельно в различных географических пунктах (Волгоградская область, Краснодарский край). Объектом исследований являлись листья *Zizyphus jujuba*, взятые с растений одного возраста.

Выявлено, что при интродукции растений в аридную зону наблюдается утолщение листовых пластинок и клеточных оболочек эпидермиса, развивается более мощная кутикула, наблюдается удлинение клеток палисадной ткани. В засушливых условиях палисадная ткань

преобладает над губчатой. Под действием сухости воздуха и высокой температуры степень ксероморфности растений усиливается, что является важным показателем приспособления к аридным условиям. В условиях Волгоградской области площадь листовой пластинки уменьшается в 1,5 раза, снижается индекс поверхность/объем. Покровные ткани составляют 10 %, палисадная паренхима — 50–60 %, отношение палисадной ткани к губчатой — 2.

Исследованиями по водному режиму методом изменения проницаемости протоплазмы по относительному выходу электролитов доказано, что структурные приспособления носят защитный характер, направленный на сокращение расходов воды путем сокращения транспирирующей поверхности за счет уменьшения листовой поверхности и развития механической ткани. Оценка адаптационных возможностей по анатомическим структурам листа позволяет выявить перспективные растения к неблагоприятным условиям среды и служит мерой успешности введения хозяйственно-ценных растений в аридные условия.

## Строение гинецея у *Myosoton aquaticum* (Caryophyllaceae)

Сушкевич Борис Михайлович

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

*bob-jn@mail.ru*

Проблемы типизации гинецея находятся в центре внимания ученых с XVIII века и по сей день. Наиболее дискуссионным остается лизикарпный тип, отмеченный у представителей таких семейств как Lentibulariaceae, Caryophyllaceae, Portulacaceae, Primulaceae. В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение строения гинецея *Myosoton aquaticum* (L.) Moench (Мягковолосник водный) из семейства Caryophyllaceae (гвоздичные).

Объект был собран в местах естественного произрастания Г.Ю. Конечной в 2011 году и обработан по общепринятой цитоэмбриологической методике.

Цветок мягковолосника пятичленный, пестик представлен 5 сросшимися плодолистиками. Завязь верхняя, расширенная в средней части на ранних стадиях. В ходе развития она вытягивается и ее диаметр становится почти одинаковым по всей длине.

В гинецее изученного нами вида наблюдается зональность. На ранних этапах развития гинецей можно типизировать как синкарпно-паракарпный, поскольку доля синкарпной зоны составляет  $\frac{2}{3}$ , а паракарпной —  $\frac{1}{3}$ . Начиная со средних стадий, зональность изменяется, что связано с деструкцией септ как в синкарпной (значительная часть), так и паракарпной (почти вся) зон. Завязь становится лизикарпно-синкарпной, при этом доля лизикарпии составляет до  $\frac{3}{5}$ . После опыления процессы дегенерации затрагивают клетки септ на всем протяжении завязи, и гинецей становится преимущественно лизикарпным.

В завязи за счет интрузивного разрастания выделяются 3 вида центрально-угловых плацент: внутренние фертильны на всем протяжении завязи; наружные стерильные и выполняют функцию обтураторов, а на поздних стадиях становятся фертильными в верхней части лизикарпной зоны; медианные фертильны в средней части завязи.

Семязачатки расположены в 5 ярусах: в 3 нижних ярусах по 2 в каждом гнезде на внутренних плацентах, при этом изменяется их размер и положение (нижние семязачатки мелкие, а средние и верхние крупнее, располагающиеся не поперечно, а наклонно относительно плацентарной колонки); в 4-ом и 5-ом ярусах семязачатки становятся крупнее почти в 2 раза, при этом их число сокращается вдвое, и они располагаются по 1 в каждом гнезде на медианных плацентах (в 4-ом ярусе) и на наружных плацентах (в 5-ом ярусе).

Таким образом, в ходе морфогенеза завязь изменяет свою форму и строение. Это связано с созданием пространства для размещения всех заложившихся семязачатков за счет лизикарпии на базе синкарпно-паракарпного гинецея.

## Влияние связи с грибным симбионтом на биоморфу особей представителей подсемейства

### *Pyroloideae* Fers

Тонкова Надежда Александровна

Ботанический сад-институт ДВО РАН, Владивосток, Россия

tonkova-n@rambler.ru

Изучая биоморфологические особенности растений, некоторые специалисты утверждают, что связь травянистых растений с грибным симбионтом не зависит от их принадлежности к морфолого-биологическому типу жизненных форм. *Pyroloideae* Fers (грушанковые) семейства *Ericaceae* Juss. — один из наиболее благоприятных объектов для изучения влияния паразитизма на эволюцию морфогенеза высшего растения.

Цель работы — проследить влияние связи с грибным симбионтом на разных этапах онтогенеза у некоторых представителей *Pyroloideae*.

Материал — особи всех возрастных состояний некоторых представителей грушанковых на российском Дальнем Востоке. Анализ жизненных форм был проведен по методике И.Г. Серебрякова (1964), описание возрастных состояний — по методике Т.А. Работнова (1950), грибные гифы в придаточных корнях выявляли методом первичной люминисценции, степень микотрофности растений (или количества гриба в корне) определялась по 3-х бальной системе.

Анализ литературных источников и проведенных анатомических исследований показал, что в течение онтогенеза грушанковых сначала гриб атакует семя или проросток, затем их отношения переходят в фазу взаимного паразитизма, приводящего к общей выгоде, в сенильном возрастном состоянии наблюдается паразитизм гриба на растении. В зависимости от экологических условий произрастания меняется степень микотрофности и спектр трофического питания внутри подсемейства и внутри одного вида: от автотрофного к полной мико-гетеротрофии. Процентное соотношение мицелия к общему диаметру корня самое высокое (более 30 %) в придаточных корнях 2-го и n-го порядка у *Pyrola rotundifolia* subsp. *rotundifolia* var. *incarnata* DC и *Chimaphila japonica* Miq. Для видов с высокой степенью микотрофности характерно увеличение генеративной части, что связано с меньшим потреблением пластических веществ протосомной частью, и уменьшение площади корневой системы (функцию питания растения выполняет гриб). У *P. japonica* var. *subaphylla* (Maxim.) Andres отмечается редукция листьев до чешуй, в результате побег становится безрозеточным, а растение приобретает явно паразитический облик.

В ряду *Orthilia secunda* (L.) House → *Pirola rotundifolia* L., *P. renifolia* Maxim. → *P. japonica* Klenze ex Alef → *P. rotundifolia* subsp. *rotundifolia* var. *incarnata* → *Chimaphila japonica* → *Pirola japonica* subsp. *subaphylla* происходит возрастание связи с грибным симбионтом, изменение побеговой системы и ускоряется прохождение фаз онтогенеза.

## Апоспория у видов рода *Salix* L. (Salicaceae) Саратовской области

Угольникова Екатерина Владимировна

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,

Учебно-научный центр «Ботанический сад», Саратов, Россия

cat.ugolnikova@yandex.ru

В 2010–2012 гг. проведено цитоэмбриологическое исследование женской генеративной сферы у растений 17 популяций 10 видов рода *Salix* L., произрастающих в Саратовской области. Основным цитоэмбриологическим признаком гаметофитного апомиксиса у растений исследованных видов была апоспория, т.е. развитие нередуцированного зародышевого мешка из соматической клетки семязачатка. Анализ результатов показал, что апоспория свойственна практически всем исследованным видам ив. Она не выявлена только у растений 3 из 10 исследованных видов: *S. dasyclados*, *S. alba*, *S. caprea*.

Всего исследовано 9665 семязачатков растений. В 461 из них обнаружены клетки, морфологически подобные апоспорическим инициальным клеткам. Максимальная частота встречаемости апоспорических инициальных клеток отмечена у *Salix acutifolia* (21 %). Частота

встречаемости апоспорических инициалей в большинстве популяций и в различные годы наблюдений была относительно стабильной и составила 6–8 %.

По месту локализации в семязачатках клетки, подобные апоспорическим инициалам, распределялись следующим образом. Более половины апоспорических инициалей (53,15 %) обнаружены в районе халазального полюса эуспорического зародышевого мешка, 14,75 % — вблизи микропиллярного полюса. 26,03 % апоспорических клеток отмечено в прилегающем к центральной клетке зародышевого мешка слое соматических клеток, 6,07 % — в глубинных слоях нуцеллуса.

Различной у растений различных видов *Salix* была и частота встречаемости апоспорических инициалей на разных стадиях развития эуспорического зародышевого мешка. Апоспорические клетки отмечены как в присутствии тетрады мегаспор или мегагаметофитов, находящихся на ранних стадиях развития, так и в присутствии дифференцированного эуспорического зародышевого мешка. Чаще всего апоспорические инициали в семязачатках обнаруживались в присутствии 1-ядерного зародышевого мешка (с частотой от 50 до 100 % в популяциях различных видов). Минимальная частота встречаемости апоспорических клеток отмечена в семязачатках в присутствии недифференцированного 8-ядерного эуспорического мегагаметофита (0–7 %).

Частота встречаемости семязачатков с апоспорическими инициалами в присутствии мегагаметофитов, находящихся на тех или иных стадиях развития, и характер локализации этих инициалей в них отличается ярко выраженной видоспецифичностью.

### **Основные черты сорной флоры лесных питомников**

*Ушакова Светлана Николаевна*

*Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,*

*Лесотехнический институт, Архангельск, Россия*

*ushakovasvetlana@inbox.ru*

На сегодняшний день на территории России заложены и успешно функционируют постоянные и временные лесные питомники общей площадью около 24,0 тыс. га, на долю постоянных приходится 21,5 тыс. га. Значительным препятствием при выращивании посадочного материала древесно-кустарниковых пород является сорная растительность, при этом ущерб, причиняемый сорными растениями, с учетом затрат на борьбу с ними, превышает потери от вредителей и болезней растений. Данная работа позволит выявить полный список сорной растительности питомников, что для Вологодской области приводится впервые.

В качестве объектов исследования были выбраны постоянные питомники: Кадниковский (площадь 54 га, 1967 г. закладки), Тотемский (15 га, 1985 г.), Устюженский (8,3 га, 1968 г.) и Шухтовский (21,0 га, 1986 г.). Обследовали продуцирующую и вспомогательную площади питомников по общепринятой методике геоботанического описания.

Сорная ценофлора лесных питомников южной подзоны тайги Вологодской области отличается большим разнообразием видового состава и насчитывает 167 видов сосудистых растений, относящихся к 30 семействам. При анализе жизненных форм установили, что в составе флоры лесных питомников преобладают виды травянистых растений (96,4 % от состава флоры), из них многолетних трав — 110 видов. На долю однолетних и двулетних трав приходится 34 %. Доминирующими в группе многолетников являются короткокорневищные (19,7 %), стержнекорневые (19,2 %) и длиннокорневищные (16,8 %) виды. Отмечено 6 видов древесных растений. Общий географический характер флоры определяет бореальный евразийский (Б-ЕА) элемент (43,2 %). Довольно велико присутствие плюризональной евразийской (ПЛ-ЕА) и бореальной европейской (Б-Е) групп (10,2 и 7,8 % соответственно).

Сорный ценотип питомников представлен преимущественно неактивными (56,8 %) и малоактивными (30,9%) видами, значительно меньшую роль в образовании ценозов играют среднеактивные, высокоактивные и особоактивные виды (5,6, 4,2 и 2,5 % соответственно). Видами, проявляющими наибольшую ценотическую активность на полях питомников и

требующими особого контроля, являются: *Achillea millefolium* L., *Chenopodium album* L., *Elytrigia repens* L., *Rumex acetosella* L. и *Taraxacum officinale* Wigg.

Характеристика засоренности, биологическое разнообразие и встречаемость видов являются теоретической основой при выборе комплекса мероприятий для контроля над сорной растительностью лесных питомников.

### **Особенности развития особей вегетативного происхождения *Chamaecyparis pisifera* (кипарисовика горохоплодного) в условиях ботанического сада имени С.И. Ростовцева**

**Фролова Александра Валерьевна**

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия*

*Aleks-Sanechka@mail.ru*

Изучение развития форм хвойных при вегетативном размножении имеет теоретическое и практическое значение. Теоретическое значение заключается в том, что морфологические признаки некоторых форм могут сохраняться только при вегетативном размножении, а из семян вырастают произвольные формы вида. Практическое же значение заключается в том, что технология вегетативного размножения позволяет получать качественный посадочный материал быстрее, что особенно актуально, учитывая перспективы использования хвойных растений в городском озеленении и озеленении частных территорий.

Были изучены 4 формы кипарисовика горохоплодного (*Chamaecyparis pisifera*): типовая форма и культивируемые формы — 'Plumosa Aurea', 'Squarrosa', 'Squarrosa Intermedia'. Маточки произрастают в дендрарии имени Шредера.

Цель: установить особенности развития полученных вегетативно растений разных форм *Chamaecyparis pisifera*. Задачи: выяснить структурные отличия изучаемых форм; выяснить сохраняется ли форма кроны при вегетативном размножении и на каком этапе развития она восстанавливается; рассмотреть различия в лидирующих побегах разных форм.

Изученные растения кипарисовика горохоплодного были начернованы в 2008 году Н.А. Крупочкиной. После значительного выпада при черенковании осталось 116 растений, которые с 2008 по 2011 год находились в оранжерее. В апреле 2011 года в открытый грунт были высажены: 24 растения типовой формы, 24 растения формы 'Plumosa Aurea', 50 растений формы 'Squarrosa' и 18 растений формы 'Squarrosa Intermedia'. На каждое растение приходилось приблизительно 450 см<sup>2</sup> площади питания. Растения находились в ослабленном состоянии в виду того, что долгое время находились в горшках малого объёма. Вследствие указанных условий в первый же год погибло 34 растения. Успешно перезимовало 61 растение. Проанализировав выживаемость, можно сделать вывод о том, что наибольшую устойчивость к стрессу (пересадке) проявляет типовая форма *Ch. pisifera* (выживаемость в первый год 79,2%), а наибольшей зимостойкостью обладает форма 'Plumosa Aurea' (выживаемость во второй год 100%). У ювенильных форм дифференциация побегов невелика. Вероятно, из-за этого направление роста и формирование кроны происходит более быстро, чем у типовой формы, у которой побеговая система более дифференцирована на ростовые и трофические побеги. Для ювенильных форм, как и для типовой, характерны листья, типичные для данной формы. Годичные приросты побегов у типовой формы представляют собой продолжение основной оси, а боковые побеги ветвятся до второго порядка. У ювенильных же форм годичные приросты также представляют собой продолжение оси, но боковые силлептические побеги не ветвятся. Форма кроны на данном этапе развития не восстанавливается. Кроме того, можно отметить морфологические различия в строении системы побегов форм 'Plumosa Aurea' и 'Squarrosa Intermedia', формы кроны которых на данном этапе развития наиболее близки к формам крон взрослых растений. Боковые веточки формы 'Plumosa Aurea' ветвятся в одной плоскости, а формы 'Squarrosa Intermedia' — в разных.

## Подсекция «ВИРУСОЛОГИЯ»

### Создание экспериментальной системы для изучения трансляционной активации РНК X-вируса картофеля в составе транспортной формы Клинк Галина Викторовна, Смирнов Александр Алексеевич

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
galkaklink@gmail.com

Изучение межклеточного транспорта растительных вирусов является одним из приоритетных направлений современной вирусологии растений. Ранее в нашей лаборатории было установлено, что РНК X-вируса картофеля (ХВК) в составе вириона недоступна для трансляции *in vitro*. Активация трансляции инкапсидированной РНК может происходить, либо за счет фосфорилирования белка оболочки (БО) в составе вириона, либо в результате связывания вириона с транспортным белком 1 (ТБ1) ХВК. Имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют предположить, что РНК ХВК транспортируется из клетки в клетку в составе полностью или частично собранного вириона, находящегося в комплексе с ТБ1. Соответственно, одна из возможных функций ТБ1 — активация трансляции РНК ХВК в составе транспортной формы после ее перехода в соседнюю клетку. Для изучения роли ТБ1 в этом процессе необходимо создать экспериментальную систему, позволяющую независимо детектировать транспорт вирусной РНК в соседнюю клетку и активацию её трансляции. Для обеспечения межклеточного транспорта ХВК необходима активность трёх транспортных белков (ТБ1-3) и БО. Ранее в нашей лаборатории был получен вирусный вектор на основе кДНК копии геномной РНК ХВК, лишенный генов транспортных белков и БО и содержащий ген зелёного флуоресцентного белка под контролем субгеномного промотора (PVXdTGFP). Также была получена конструкция, содержащая ген БО ХВК, слитый с геном красного флуоресцентного белка (RFP) под контролем 35S промотора вируса мозаики цветной капусты (БО-RFP). В данной работе были получены аналогичные конструкции, содержащие гены ТБ1, ТБ2 и ТБ3. Методом флуоресцентной конфокальной микроскопии было показано, что при совместной баллистической трансформации листьев *Nicotiana benthamiana* конструкциями БО-RFP, ТБ1-3 и PVXdTGFP происходит межклеточный транспорт вектора и экспрессия GFP в соседних с первично зараженной клетках. Транспорт БО-RFP в соседние клетки детектировался значительно чаще, чем в контроле без PVXdTGFP, где свечение RFP в соседних клетках практически не наблюдалось. Таким образом, межклеточный транспорт БО-RFP преимущественно сопряжён с транспортом РНК вируса. Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная нами система позволяет независимо детектировать межклеточный транспорт и активацию трансляции инкапсидированной РНК ХВК.

### Исследование патоморфологических изменений в органах экспериментальных мышей, инфицированных адаптированным вариантом пандемического вируса гриппа А/Н1N1

Кузьмина Ирина Сергеевна<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Новосибирский государственный университет,

<sup>2</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, Россия  
irins.kuzmina@gmail.com

В апреле 2009 г. новый вирус гриппа А(Н1N1) был впервые обнаружен в организме человека и вызвал первую пандемию гриппа за последние полвека. Механизмы адаптации вируса к организму человека до сих пор неизвестны, но предполагается, что адаптация к организму мышей может дать представление о развитии инфекции в организме человека. Известно, что легочная патология, индуцированная с помощью адаптированного вируса, обладает значительным сходством с человеческой гриппозной вирусной пневмонией. Учитывая это, целью данной работы стало проведение анализа морфофункциональных изменений в тканевых структурах легкого, головного мозга, кишечника, почки и печени мышей линии BALB/c, вызванных адаптацией вируса А/Tomsk/13/2010pdm09 в лабораторных условиях ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Для этого, данный вирус, выделенный от человека, изначально

не летальный для мышей, был адаптирован к их организму путем последовательных пассажей («lung to lung»). Патологические изменения в органах зараженных животных оценивались с помощью световой микроскопии. В результате, мы получили вирус, обладающий 100 % летальностью для мышей к 7 пассажиру. Было показано, что адаптированный вариант вируса A/Tomsk/13/2010pdm09-MA вызывает значительные патоморфологические изменения в органах инфицированных мышей. В ткани легкого наблюдаются кровоизлияния, инфильтрация, снижение воздушности легочной ткани. В головном мозге зараженных животных зарегистрированы периваскулярные отеки, кровоизлияния, полнокровие сосудов. Наблюдаются разрушение эпителиального слоя, отек и инфильтрация в ворсинах кишечника. В почках наблюдаются деформация почечных клубочков и канальцевый некроз. Таким образом, было показано, что адаптация вируса влияет на повышение его вирулентности, и способствует не только развитию легочных патологий, но и влиянию вируса на другие системы организма. По данным ВОЗ на 15 февраля 2013г. пандемичный вирус A(H1N1) вновь несет угрозу для мира, преобладая среди других вирусов гриппа как в Европе, так и в России.

## **Структурный анализ вируса штриховатой мозаики ячменя (ВШМЯ)**

**по данным электронной крио-микроскопии**

***Печникова Евгения Викторовна<sup>1</sup>, Clare Daniel<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>*Институт кристаллографии им. Шубникова, Москва, Россия,*

<sup>2</sup>*Birkbeck, University of London, London, UK*

*eugenia.pechnikova@gmail.com*

Вирус Штриховатой Мозаики Ячменя (ВШМЯ) принадлежит к роду *Hordeivirus* (семейство *Virgaviridae*) и представляет собой растительный вирус с +смысловым РНК-геномом, его вирион имеет форму жесткой палочки со спиральной организацией белка оболочки. Вирус передается при контакте между растениями, через семена и пыльцу и вызывает заболевания от легкой мозаики до летального некроза. Вирусная инфекция приводит к потере до 20 % урожая ячменя.

О структуре представителей рода *Hordeivirus* известно мало, хотя близкий род *Tobamovirus* (семейство *Virgaviridae*) описан очень хорошо и в PDB содержатся структуры 4 представителей этого рода. Таким образом, данные о структуре вируса из еще одного рода из семейства *Virgaviridae* будут очень полезны для понимания сходства и различий представителей этого семейства.

Целью данной работы является исследование структуры ВШМЯ, установление наличия структурной гетерогенности и получение 3D модели «широких» частиц.

Для исследования структуры ВШМЯ был использован метод электронной крио-микроскопии и компьютерной обработкой изображений.

При применении мультистатистического анализа к изображениям частиц ВШМЯ была выявлена структурная гетерогенность этого набора данных: частицы различались по ширине. Диаметр более широких частиц составлял ~222 Å, а более узких — ~213 Å. Были отобраны все более широкие частицы из набора данных и использованы для построения 3D модели, при этом использовались найденные ранее параметры спирали. Разрешение полученной карты составило 7,5 Å. Диаметр внутреннего канала составил 81 Å. На срезе модели видна борозда между белковыми субъединицами, в который уложена вирусная РНК. Также хорошо видны  $\alpha$ -спирали, идущие от внутреннего канала к поверхности частицы.

Таким образом, методом электронной крио-микроскопии была обнаружена структурная гетерогенность вирионов ВШМЯ и получена 3-х мерная модель его вириона. Эта модель будет использована для получения реконструкции с более высоким разрешением и дальнейшего определения характера сворачивания вирусного белка оболочки.

**Молекулярно-генетическая характеристика вирусов гриппа А(Н3N2),  
циркулировавших в России в 2007–2012 гг.**

**Силуянова Элина Владимировна, Альховский Сергей Владимирович**  
НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России, Москва, Россия  
*sil-elia@rambler.ru, salkh@yandex.ru*

Вирусы гриппа А подвержены эволюционной изменчивости, что является причиной появления новых вариантов вирусов и ежегодных эпидемий гриппа. В настоящей работе были изучены молекулярно-генетические характеристики вирусов гриппа А(Н3N2), циркулировавших в России в 2007–2012 гг. Проведен филогенетический анализ и определены генетические маркеры чувствительности вирусов гриппа А к противовирусным препаратам.

Эпидемические штаммы вируса гриппа А(Н3N2) были изолированы из носоглоточных смывов на культуре клеток MDCK (всего 34 штамма). Полные последовательности генов гемагглютинина (НА), матриксного белка (М) и нейраминидазы (NA) были получены методом ПЦР и секвенированы.

В результате филогенетического анализа показано, что в период 2007–2012 гг. происходила смена циркулирующих вирусов А(Н3N2) от генетической группы вакцинного штамма (клайда) А/Brisbane/10/2007 (2007–2008 гг.) к клайдам А/Perth/16/2009 (2009–2010 гг.) и А/Victoria/208/2009 (2011–2012 гг.), соответственно. В структуре НА изученных штаммов выявлялись аминокислотные замены во всех пяти антигенных сайтах (А, В, С, D, E). Также выявлены специфические замены, характерные только для российских изолятов. Для всех штаммов были характерны мутации в М и NA, определявшие резистентность к препаратам адамантанового ряда (ремантадин) и чувствительность к ингибиторам нейраминидазы (озельтамивир), соответственно.

Полученные данные отражают постоянные эволюционные изменения в популяции циркулирующих вирусов гриппа А(Н3N2). Молекулярно — генетический анализ вирусов гриппа А позволяет прогнозировать эффективность применяемых вакцин и определять чувствительность вирусов к противовирусным препаратам.

**Создание рекомбинантного аденовируса, кодирующего кодон-оптимизированный ген дисферлина,  
и анализ экспрессии рекомбинантного белка в культуре клеток**

**Старостина Ирина Георгиевна, Соловьева В.В.**

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

Дисферлинопатии человека относят к нейромышечным заболеваниям, связанным с нарушением экспрессии и/или функции белка дисферлина (DYSF) в скелетной мышце, что обусловлено мутациями в гене *dysf*. Вследствие большого размера гена *dysf* (6243 п.н.), для создания генотерапевтических конструкций подходят аденовирусные векторы, способные доставлять большой объем рекомбинантной генетической информации как в делящиеся, так и в неделящиеся клетки.

Целью работы явилось создание рекомбинантного аденовируса, кодирующего кодон-оптимизированный ген дисферлина человека, и анализ экспрессии рекомбинантного белка в культуре клеток *in vitro*.

Для оптимизации кодонного состава гена *dysf* использовали алгоритм OptimumGene. В качестве матрицы для кодонной оптимизации была взята нуклеотидная последовательность мРНК гена *dysf* (GeneBank #NM\_003494). Синтез *de novo* оптимизированной нуклеотидной последовательности гена *dysf* осуществляла фирма GenScript (США). Экспрессионную аденовирусную плазмиду рAd-Dysf получали субклонированием гена *dysf* из вектора-донора рDONR221-DYSF в вектор-реципиент рAd/CMV/V5-DEST по технологии Gateway® (Invitrogen, США) с помощью LR-рекомбинации. После трансфекции клеток линии HEK-293T полученной генетической конструкцией рAd-Dysf анализ экспрессии рекомбинантного белка проводили с помощью иммунофлуоресцентного и вестерн-блот анализов.

Для получения рекомбинантного аденовируса Ad5-Dysf плазмиду pAd-Dysf переводили из кольцевой в линейную форму с помощью рестрикционного расщепления и трансфецировали ей клетки линии HEK-293A (Invitrogen, США), в которых происходит сборка и репликация рекомбинантного аденовируса. Это иммортализованная линия первичных человеческих эмбриональных клеток почки, трансформированных фрагментами ДНК аденовируса серотипа 5. Клеточная линия содержит стабильно интегрированную в геном копию гена *e1*, который экспрессирует белки E1, необходимые для получения рекомбинантного аденовируса.

Вирусный сток был получен путем криолиза (2–3 циклов замораживания/оттаивания) клеточной суспензии, с последующим центрифугированием для удаления обломков клеток. После получения неочищенного вирусного лизата для повышения вирусного титра проводили амплификацию аденовируса pAd5-Dysf в клетках HEK-293A. Через 2 дня после заражения в культуре клеток наблюдался цитопатический эффект, что указывает на то, что клетки продуцируют вирусные частицы.

Таким образом, нами получена экспрессионная аденовирусная плазмидная конструкция, содержащая ген дисферлина человека. Иммунофлуоресцентный анализ трансфецированных клеток HEK-293T полученной плазмидой pAd5-Dysf выявил положительную реакцию с поликлональными антителами кролика к дисферлину. Вестерн-блот анализ белковых лизатов клеток HEK-293T показал наличие выраженной специфичной полосы иммуопреципитата, соответствующей ожидаемой молекулярной массе белка дисферлина (231 кДа). Нами получен рекомбинантный аденовирус серотипа 5, кодирующий кодон-оптимизированный ген дисферлина человека (Ad5-Dysf). Полученные плазмидные и вирусные конструкции будут использованы в дальнейших исследованиях по разработке методов генной терапии дисферлинопатии человека.

**Изучение сферических частиц, полученных при термической денатурации  
вируса табачной мозаики, и их комплексов с антигенами  
с помощью метода анализа траекторий наночастиц**

*Трифорова Екатерина Алексеевна, Никитин Николай Александрович*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*trifonova@mail.bio.msu.ru*

Ранее в нашей лаборатории было показано, что при термической обработке вируса табачной мозаики (ВТМ) происходит образование сферических частиц (СЧ) контролируемого размера. СЧ не содержат РНК, биodeградируемы, высокостабильны, иммуногенны, обладают уникальными адсорбционными свойствами. Были получены антигенно активные комплексы на основе СЧ и целевых антигенов различной природы с молекулярной массой от 16 до 66 кДа. Подобные комплексы могут быть использованы в качестве модельных кандидатных вакцин и для получения дешевых диагностических антител. Как правило, при исследовании образцов с помощью микроскопических методов анализа, в результате высушивания происходит деформация и агрегация объекта, что может привести к неверной трактовке результата. Тогда как при разработке фармацевтических препаратов, в частности, кандидатных вакцин, необходимо иметь четкие представления об агрегационном состоянии и количественной характеристике отдельных компонентов исследуемого препарата в жидкости. Метод анализа траекторий наночастиц (Nanoparticle tracking analysis (NTA)) позволяет визуализировать и изучать наночастицы в жидкости. NTA предоставляет возможность одновременно получить данные о распределении размеров, характере агрегации и концентрации наночастиц в исследуемом образце. Получены сведения о количестве СЧ со средним значением диаметра 70 и 300 нм. NTA позволяет дискриминировать наночастицы по их материалу за счет различий в интенсивности рассеяния, а также позволяет детектировать флуоресцирующие частицы. Были получены комплексы на основе СЧ и тетраэптопа антигенной детерминанты А гликопротеина E1 вируса краснухи (тетраэптоп), в качестве чужеродного антигена. Образование комплекса детектировалось при использовании NTA с помощью специфичных к вирусу краснухи первичных антител и вторичных антител, конъюгированных с коллоидным золотом или флуорофором. Было продемонстрировано, что все СЧ в препарате были связаны

с молекулами тетраэпитопа, который сохранял свою антигенную активность в составе полученных комплексов. Таким образом, метод НТА позволил качественно и количественно охарактеризовать состояние СЧ и комплексов «СЧ-тетраэпитоп» в жидкости.

## Подсекция «ГЕНЕТИКА»

### **MTHFR C677T mutation is not a cause of coronary heart disease or thrombotic stroke**

*Emene C.C., Solovyova V.V.*

*Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

*emene.charles@gmail.com*

Since the identification of a C677T transition mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR), which causes a substitution of Valine with Alanin, many research have been done to find out if this substitution is a risk factor for the development of diseases such as coronary heart disease, myocardial infraction and venous thrombosis. This Valine to Alanin substitution results into formation of a thermolabile form of the 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase enzyme. This thermolabile form was found in the blood of patients with coronary heart disease and has a 50 % lower activity than the normal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase is responsible for the reduction of homocystine in the blood.

This experiment was carried out to find out if there is a potential association between the C677T mutation of the *mthfr* gene, coronary heart disease and thrombotic stroke among mature Russian and Tatar patients in Tatarstan Republic. Using PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) and statically based analysis on 186 samples, it was found that there are no direct associations between the C677T mutation of the *mthfr* gene and coronary heart disease or thrombotic stroke in these patients. Thus, I could conclude that C677T mutation is not a factor for coronary heart disease and thrombotic stroke among residents of Tatarstan republic.

### **The role of the Armenian Highland in the spread of human Y chromosome haplogroup J2**

*Hovhannisyan Anahit, Margaryan Ashot*

*Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan, Armenia*

*hovhannisyananahit19@gmail.com*

Being at the crossroad of Europe and the Near East, the Armenian Highland has served as principal transition corridor for many prehistoric and historic migrations. Despite its pivotal location, this region is still little-studied genetically. At present, much debate have been focused on the reconstructing the routes of Neolithic migrations from the Near East. It has been presumed that haplogroup J2 was originated in the Fertile Crescent and the main spread of the lineage into the Mediterranean area and further is thought to represent a genetic signature of Neolithic demic diffusion associated with the advance of the first agriculturists.

We used a total of 253 Y-chromosomal genotyping results of two Armenian geographic groups from eastern (the region of Syunik) and western (north of Levant) parts of the Armenian Highland and various comparative datasets to assess the genetic contribution of the indigenous populations of the region to the spread of haplogroup J2 north- and westward.

The results of frequency analysis show that the haplogroup J2 is the most frequently encountered lineage in the western parts of the Armenian plateau (27.7%), while being the second highest (after haplogroup R1b1a2) in its eastern part (23.8%). The rate of the variance and the age (based on the evolutionary mutation rates) of J2 lineage in the eastern Armenian population (17.4±5 ky) is the highest in the Middle East area except Levant. Relying on these estimates we can reconstruct the most plausible itinerary of prehistoric migrations of humans carrying the J2 lineage.

The main conclusion of the study is that the Armenian Highland had a key role in the Neolithic and pre-Neolithic expansion of modern humans beyond the Levant.

## Ассоциативное исследование генов MAOA, CCK, COMT, TPH1, SERT, PDE4B

у больных с паническим расстройством

*Афончикова Елена Вячеславовна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*alenaafonchikova@gmail.com*

Паническое расстройство (ПР) — заболевание, характеризующееся спонтанным возникновением панических атак (ПА) от нескольких раз в год, до нескольких раз в день и страха ожидания их возникновения. Литературные данные свидетельствуют о том, что в развитии ПР определенную роль играют полиморфные варианты генов, кодирующих основные ферменты и рецепторы нейромедиаторных систем. Ранее нами были отобраны основные гены-кандидаты, которые по литературным данным могут быть ассоциированы в ПР: ген кодирующий нейропептид холецистинкинин (CCK); ген, кодирующий фермент моноаминоксидазу А (MAOA); ген, кодирующий фермент катехол-О-метилтрансферазу (COMT); ген, кодирующий белок-переносчик серотонина (5-HTT); ген, кодирующий фермент триптофангидроксилазу (TPH1); ген, кодирующий фермент фосфодиэстеразу 4В (PDE4B).

Целью данной работы была оценка вклада в развитие ПР аллелей STR гена CCK, VNTR гена MAOA, SNP полиморфизмов генов COMT (rs4680), 5-HTT (rs3813034), TPH1 (rs1800532), PDE4B (rs502958 и rs1040716), как каждого по отдельности, так и в комплексе.

В работе использованы образцы крови пациентов с диагнозом ПР, предоставленные лабораторией клинической неврологии ММА им. И.М. Сеченова (n=74) и контрольной выборке необследованных жителей Москвы и Московской области (n=155).

В результате работы нами выявлены частоты аллелей и генотипов указанных генов в группе больных и условно-здоровых жителей Москвы. Оценен вклад в развитие ПР полиморфных вариантов данных генов, а также комплексных гаплотипов. Комбинация аллелей (S/M) STR перед геном CCK и VNTR в промоторе гена MAOA чаще встречается в выборке больных ПР по сравнению с контрольной выборкой.

*Исследование поддержано стипендией Президента РФ СП-6919.2013.4.*

*Выражаю признательность своему научному руководителю д.б.н. Климову Е.А. за помощь в подготовке работы.*

## Лунник и его межвидовые гибриды

*Бойкая Елена Анатольевна*

*Запорожский национальный университет, Запорожье, Украина*

*malaja24@gmail.com*

Лунник (*Lunaria* L.) — реликтовый род третичной флоры Европы. Он включает всего два вида — лунник однолетний (*Lunaria annua* L.) и лунник оживающий (*Lunaria rediviva* L.), являющийся многолетним растением. Эти виды имеют одинаковое количество хромосом, что позволило предположить проведение удачного межвидового скрещивания. Лунник относится к масличным культурам. Ценным является жирнокислотный состав его масла, с высоким содержанием нервоновой кислоты. Кроме того, данная культура является декоративной.

Материалом для гибридизации выступили цветущие растения однолетнего и многолетнего видов лунника. Скрещивания осуществляли путем кастрации бутонов и опылением пылью другого вида в реципрокных комбинациях.

В результате гибридизации в обеих комбинациях скрещивания было получено по несколько гибридных семян, которые развились во взрослые растения, были фертильными и способными к самоопылению. Получение межвидовых гибридов позволило сделать определенные выводы о характере наследования отдельных признаков (морфологических, анатомических, признаков биологии видов). Несмотря на то, что растения первого поколения проявили эффект гибридной мощности, многие признаки наследовались гибридами промежуточно, по типу неполного доминирования.

В дальнейшем потомства гибридов первого поколения высевались и анализировались по ряду параметров. Выявлен ряд признаков, по которым гибриды реципрокных комбинаций несут отличия, что указывает на возможное наличие цитоплазматического эффекта и влияние

материнского организма (окраска листьев, тип развития растения). В F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> выделены образцы, объединяющие в одном генотипе ценные в хозяйственном отношении признаки исходных родительских форм, а также комбинации признаков для декоративных целей. Планируется продолжить анализ последующих поколений межвидовых гибридов с целью изучения наследования других признаков и выделения новых хозяйственно ценных образцов данного рода.

*Работа выполнена под руководством д.б.н., профессора Ляха Виктора Алексеевича на кафедре садово-паркового хозяйства и генетики растений.*

### **Влияние генов MC4R, POU1F1, PRLR, ESR на продуктивные качества свиней**

**Бублик Екатерина Михайловна, Стетюха Анатолий Алексеевич**

*Донской Государственный Аграрный Университет, п. Персиановский, Россия*

*bobrouogik@gmail.com*

В настоящее время у свиней известен целый ряд генов-маркеров, представляющих интерес при селекции на воспроизводительные, откормочные и мясные качества. Перспективными генами-маркерами воспроизводительной продуктивности являются гены рецептора эстрогена (ESR) и рецептора пролактина (PRLR), откормочной продуктивности — гены меланокортинового рецептора 4 (MC4R) и гипофизарного фактора транскрипции (POU1F1).

Цель данной работы определить генетическую структуру по генам MC4R, POU1F1, ESR и PRLR у свиноматок крупной белой породы (КБ), оценить степень влияния полиморфизма генов PRLR и ESR на воспроизводительные и генов MC4R, POU1F1 на откормочные качества. На основании полученных результатов выявить «желательные» генотипы для их дальнейшего закрепления в линии.

Исследования выполнялись на свиноматках КБ линии Го в ЗАО «Племзавод Юбилейный» Тюменской области. Генетический анализ проводился методом ПЦР-ПДРФ. После амплификации генов MC4R, POU1F1, PRLR и ESR в полученный продукт вносили рестриктазы TaqI, MspI, AluI и PvuII соответственно.

По результатам молекулярно-генетического исследования определяли наличие и частоту встречаемости аллелей и генотипов по генам MC4R, POU1F1, PRLR и ESR.

Влияние генотипов на воспроизводительные качества определяли по количеству поросят при рождении (гол.) и многоплодию (гол.) у свиноматок (n=53). Влияние генотипов по генам MC4R и POU1F1 на откормочную продуктивность определяли по результатам контрольного выращивания ремонтных свинок (n=50) до живой массы 100 кг. Учитывался возраст достижения живой массы 100 кг (дн.), средний суточный прирост (г), затраты корма на 1 кг прироста (к. ед.), толщина шпика на пояснице (мм) и длина туловища (см). Для измерения статистического влияния полиморфизма генов на признак ( $\eta^2$ ) использовали дисперсионный анализ.

В результате проведенных исследований выявлено статистически значимое влияние генотипов гена PRLR на воспроизводительные и генотипов генов MC4R и POU1F1 на откормочные качества свиней КБ.

В качестве «желательных» генотипов установлены по гену PRLR генотип ВВ, наличие которого у свиноматок связано с большим количеством поросят при рождении на 1,7 и многоплодием на 2,05 гол.; по гену MC4R генотип АG, связан с лучшей скороспелостью на 5,4 дн. (3,16 %), среднесуточным приростом на 82,3г (9,9 %) и меньшими затратами корма на 0,13 к.ед. (4,16 %); по гену POU1F1 генотип СС, связан с лучшей скороспелостью на 8,86 дн. (5,2 %), среднесуточным приростом на 150,7 г (17,7 %), меньшими затратами корма на 0,24 к.ед. (8,2 %).

Результаты проведенного генотипирования позволили скорректировать систему внутрилинейного подбора в ЗАО «Племзавод Юбилейный».

*Выражаем огромную благодарность профессору, докт. с.-х. наук, зав лаборатории теоретических основ селекции животных ДГАУ Н.В. Михайлову, генеральному директору*

Н.Т. Мамонтову и главному зоотехнику Д.В.Чикотину ЗАО «Поемзавод Юбилейный» за оказание помощи в проведении исследования.

**Кариотип и С-дифференциальная окраска хромосом эмбрионов палочника *Sungaya inexpectata* (Zompro, 1996) (Phasmida, Heteropterygidae)**

**Булзу Олеся Георгиевна<sup>1</sup>, Бугров Александр Геннадьевич<sup>2</sup>, Лукьянцев Сергей Владимирович<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Томский государственный университет, Томск, Россия

<sup>2</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

*buley olesya @ mail. ru*

Палочники — одна из наименее изученных групп насекомых в цитогенетическом отношении. Описаны кариотипы около 50 видов палочников с использованием преимущественно рутинных методов окраски хромосом. Сведения об особенностях количества и локализации С-гетерохроматинных районов приводятся лишь для нескольких видов партеногенетических палочников рода *Bacillus* (Bacillidae), и для обоеполого вида *Acrophylla wuelfingi* (Phasmatidae). Слабая изученность кариотипов Phasmida, по сравнению с другими ортоптероидными насекомыми обусловлена тем, что многие виды представлены только партеногенетическими самками, а методики приготовления хромосомных препаратов разработаны с использованием семенных фолликулов самцов.

Для преодоления этой проблемы мы использовали эмбрионов палочника *Sungaya inexpectata* из партеногенетической лабораторной популяции. Разработанная нами методика приготовления клеточной суспензии эмбриональных клеток на предметном стекле оказалась эффективной и позволила выявить ранее не известные особенности хромосомного набора *S. inexpectata*. Кариотип самок этого вида состоит из 22 пар хромосом ( $2n = 44$ ). Две пары самых крупных хромосом в кариотипе — метацентрические, остальные — акроцентрические, мало различимые по величине друг от друга. С-метод дифференциального окрашивания выявил С-позитивные районы в прицентромерных районах всех хромосом набора. Короткое плечо самой крупной, предположительно половой хромосомы, полностью гетерохроматиновое.

Сведения о кариотипах палочников из семейства Heteropterygidae, к которому относится *S. inexpectata*, ранее не приводились. Сравнение кариотипа изученного нами вида с ранее описанными кариотипами других видов из других семейств палочников показывает отличие как по числу и морфологии хромосом в кариотипе, так и по локализации и величине С-гетерохроматинных районов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование эмбрионов как материала для цитогенетического анализа партеногенетических палочников позволит расширить спектр исследуемых видов с целью познания путей эволюции хромосомных наборов у Phasmida.

**Получение трансгенных растений *Arabidopsis thaliana*, несущих ген внеклеточной фитазы *phyCg* из почвенной бактерии *Bacillus ginsengihumi***

**Валева Лия Рашитовна, Нямсүрэн Ч.**

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Техасский аграрно-технический университет, г. Колледж-Стейшен, США

*lia2107@yandex.ru*

Растения, в отличие от почвенных микроорганизмов, часто испытывают недостаток в неорганическом фосфоре, так как большая часть его связана в труднодоступной органической форме. Дефицит фосфора является значительной проблемой для роста и продуктивности культурных растений, которая может быть решена в биотехнологическом производстве с помощью современных методов генетической инженерии. Перспективным направлением является использование фитаз - специфических фосфатаз, высвобождающих неорганический фосфат из труднодоступного почвенного соединения мио-инозитол гексаakisфосфата (фита), являющегося основным хранилищем органического фосфора в почве. Экспрессия трансгенных фитаз в корнях растений и последующая их секреция в ризосферу являются перспективным методом повышения доступности фосфора для роста и жизнедеятельности растений.

Целью данной работы является получение модельных трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* с интегрированным геном фитазы *Bacillus ginsengihumi phyCg*.

Была осуществлена трансформация растений *Arabidopsis thaliana* бактериями *Agrobacterium tumefaciens GV3101*. В качестве вектора использовалась плазмида pСВК05 с химерной последовательностью *ex::phyCg*, состоящей из гена фитазы *phyCg* и сигнальной последовательности гена экстенсина *AtExt3*, находящиеся в одной рамке считывания под контролем специфического для корней *A. thaliana* промотора. Кроме того, вектор содержал ген устойчивости к гербициду BASTA. Трансформацию проводили методом макания цветов в суспензию бактерий. От трансформированных растений были получены семена, проведена их селекция на среде MS (Murashige-Skoog) с добавлением селективного гербицида BASTA, в результате чего были отобраны трансгенные растения первого поколения. Наличие трансгенной вставки в геноме растений было также подтверждено с помощью ПЦР с использованием праймеров к гену фитазы и последовательности экстенсина. Мы предполагаем, что дальнейшее изучение полученных нами трансгенных растений позволит разработать новые методы эффективного использования микробных фитаз для улучшения роста и урожайности сельскохозяйственных растений, выращиваемых на обедненных фосфором почвах.

*Работа поддержана Грантом № 14.А18.21.0849.*

### **Изучение роли белка CHD1 во встраивании вариантного гистона H3.3 в хроматин у *Drosophila melanogaster***

***Игнатьева Мария Александровна***

*Петербургский институт ядерной физики им.Б.П.Константинова, Санкт-Петербург, Россия  
ignatyeva.maria@yandex.ru*

Все процессы метаболизма ДНК, такие как репликация, транскрипция, рекомбинация и репарация происходят в составе хроматина, и все они требуют разборки и последующей его сборки. При активной транскрипции происходит интенсивный обмен гистонов, в ходе которого нуклеосомы, содержащие коровый гистон H3 заменяются на нуклеосомы, содержащие вариантный гистон H3.3.

Белок CHD1 является важнейшим регулятором различий между плюрипотентным и мультипотентным состоянием эмбриональных стволовых клеток млекопитающих. Гены CHD1 и CHD2 человека гомологичные CHD1 *Drosophila melanogaster*, являются онкогенами. Изучение генов семейства CHD является важным направлением в онкогенетике в связи с их участием в формировании патологических состояний организма, связанных с раком.

В данной работе была исследована роль белка CHD1 во включении вариантного гистона H3.3 в хроматин в ходе транскрипции. В качестве модельного вариантного гистона использовался кодируемый трансгенной конструкцией укороченный гистон H3.3-core, который, в отличие от H3.3 может встраиваться только в процессе нерепликативной сборки хроматина, при транскрипции.

В работе был применен метод иммуофлюоресцентного окрашивания политенных хромосом желез личинок *Drosophila melanogaster* с помощью антител на белок CHD1 и на GFP, маркирующий вариантный гистон H3.3-core. Были получены две линии экспрессирующие H3.3-core-GFP, одна из которых несла конструкцию, кодирующую доминант-негативную форму белка CHD1, а вторая — нативную форму белка CHD1. Гиперэкспрессия как доминант-негативной, так и нативной форм CHD1 в слюнных железах личинок приводила к появлению деформированных, деконденсированных участков политенных хромосом в местах связывания CHD1. Распределение H3.3-core-GFP в политенных хромосомах этих двух линий сравнивалось с распределением в контрольной линии, экспрессирующей только гистон H3.3-core-GFP. При нарушении нормального функционирования CHD1, гистон H3.3-core не встраивался в некоторые участки хромосом, в которых выявлялось повышенное количество белка CHD1 и элонгирующая форма РНК-полимеразы II. Эти данные позволили сделать вывод о вовлеченности CHD1 в независимую от репликации сборку хроматина, связанную с транскрипцией, а именно во встраивание вариантного гистона H3.3.

## Исследование роли Alu-элементов в старении человека

Каримов Денис Дмитриевич

Институт биохимии и генетики Уфимского Научного Центра РАН, Уфа, Россия

karriden@gmail.com

На данный момент предложено множество гипотез старения и определений самого феномена. Среди них особое внимание привлекает гипотеза, рассматривающая в качестве одной из основных причин старения нестабильность генома в течение хронологического возраста. Одной из основных причин нестабильности генома является активность мобильных элементов, в частности элементов Alu. В связи с этим возникают два основных вопроса: могут ли Alu-элементы в геноме человека способствовать старению организма, и связана ли продолжительность жизни человека с полиморфизмом Alu-элементов?

В работе была использована выборка из 1611 человек, возрастом 20–109 лет, этнических татар, проживающих в республике Башкортостан. Выделение ДНК из цельной венозной крови осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции; генотипирование по полиморфным Alu-инсерционным локусам Ya5ac1986 гена *COL13A1* (10q21.3), Ya5-MLS19 гена *LAMA2* (6q22.33), Ya5ACE гена *ACE* (17q23.3), Ya5ac2013 гена *TEAD1* (11p15.2), TRA25 гена *PLAT* (8p11.21), проводилось методом ПЦР; статистический анализ полученных результатов производился с использованием программного обеспечения SPSS V. 13.0. Для сравнения частот аллелей и генотипов в разных возрастных группах использовался точный двусторонний тест Фишера.

В выборке женщин группа долгожительниц отличалась от групп старческого возраста по частоте генотипа *COL13A1*\*I/\*D (10.14 % против 22.05 %,  $p=0.002$ ), пожилого возраста по частотам генотипов *COL13A1*\*I/\*I (51.35 % против 25.36 %,  $p<0.001$ ) и *COL13A1*\*I/\*D (10.14 % против 37.80 %,  $p<0.001$ ), зрелого второго возраста по частоте генотипа *COL13A1*\*I/\*D (10.14 % против 26.53 %,  $p=0.008$ ). В тоже время были не схожи между собой и группы женщин старческого и пожилого возраста по частотам генотипов *COL13A1*\*I/\*I (43.81 % против 25.36 %,  $p<0.001$ ) и *COL13A1*\*I/\*D (22.05 % против 37.80 %,  $p<0.001$ ). В группе женщин в возрасте 90 лет и старше понижена частота генотипа *LAMA2*\*D/\*D относительно таковой среди женщин старческого (40.74 % против 55.86 %,  $p=0.002$ ) и второго зрелого возраста (40.74% против 70.77 %,  $p<0.001$ ); соответственно в возрасте долголетия наблюдается снижение частоты аллеля *LAMA2*\*D (63.89 % против 72.75% в группе лиц старческого,  $p=0.004$ ; 63.89 % против 81.54 % в группе лиц второго зрелого возраста,  $p<0.001$ ). Обнаружено снижение частоты носителей генотипа *ACE*\*D/\*D среди долгожителей; генотип выявлен в меньшем числе случаев (20.00 %), чем среди лиц пожилого (28.99 %,  $p=0.036$ ), и старческого (30.77 %,  $p=0.007$ ) возраста.

Охарактеризовано распределение частот генотипов и аллелей по Alu-элементам Ya5ac2013 и TRA25. При подразделении общей выборки по гендерным и возрастным особенностям индивидов не было выявлено статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей между отдельными группами.

Таким образом, выявлены ассоциации аллелей *COL13A1*\*I, *LAMA2*\*I и *ACE*\*I с долгожительством, что свидетельствует о значительной роли вставок Alu-элементов в процессах старения.

## Изучение генома *Allium fistulosum* L. с использованием ВАС библиотеки

Киселева Анна Витальевна, Киров Илья Владимирович, Романов Дмитрий Владимирович,  
Будылин Михаил Вячеславович, Хрусталева Людмила Ивановна

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

sanyutabe@gmail.com

Несмотря на широкое использование луков в питании людей и фармацевтике, их геном до сих пор остается слабо изученным из-за целого ряда причин, в числе которых: большой размер генома, высокая частота дупликаций и повышенная гетерозиготность. В современной селекции лука репчатого (*Allium cepa* L.) близкородственный вид лук батун (*Allium fistulosum* L.) является уникальным источником многих ценных признаков, которые могли бы быть использованы для

создания новых сортов лука репчатого. Сегодня, на сервере международного центра биотехнологической информации (NCBI) опубликовано более 5 млн. нуклеотидных последовательностей, принадлежащих *A. cepa*, в то же время для *A. fistulosum* известно лишь 746.

Упорядоченные библиотеки ДНК с большими вставками являются незаменимым инструментом для геномных исследований, особенно при широкомасштабном физическом картировании и секвенировании. Целью нашего исследования было создание ВАС библиотеки *A. fistulosum* и ее характеристика. Всего было получено около 1000 ВАС клонов. В результате скрининга были отобраны ВАС клоны, несущие субтеломерный повтор, ретротранспозоны Tu3 с локализацией в центромерном регионе, и гены аллиазы, слезотечения фактора синтазы и гистона H3/H4. С помощью FISH был выявлен хромосом-специфичный ВАС клон, который был локализован интерстициально на длинном плече 4 хромосомы и в центромерном регионе 5 и 6 хромосом. Дальнейшее секвенирование отобранных ВАС клонов ускорит изучение структуры и организации генома лука батуна и близких видов.

### **Филогенетические взаимоотношения байкальских гастропод эндемичного семейства Baicaliidae (Clessin, 1878)**

***Коваленкова Мария Владимировна***

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*

*kovalenkovam@mail.ru*

Эндемичное семейство брюхоногих моллюсков Baicaliidae — наиболее многочисленное в видовом отношении семейство моллюсков оз. Байкал. Ранее было показано, что видообразование в рамках этого достаточно молодого семейства происходило благодаря быстрой адаптивной радиации, поэтому филогенетические отношения внутри семейства остаются не вполне ясными. Для получения максимально полной картины эволюции байкалий необходимо объединение морфологических и молекулярных сведений.

В качестве достаточно вариабельного ядерного маркера эволюции нами был использован интрон  $\alpha$ -субъединицы АТФ-синтазы. Были определены нуклеотидные последовательности этого интрона для представителей одиннадцати видов эндемичных байкальских моллюсков сем. Baicaliidae. Филогенетическое древо полученное на основании только интронной последовательности  $\alpha$ -субъединицы АТФ-синтазы байкалий содержит меньше политомий по сравнению с деревом, полученным ранее по последовательности фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохром-с оксидазы (CO1). Интронный маркер позволяет получить статистически достоверные клады не только на внутри- и межродовом таксономическом уровне, но и на популяционном уровне, в частности для полиморфного вида *Baicalia carinata*.

Объединение данных о полиморфизме последовательностей интрона  $\alpha$ -субъединицы АТФ-синтазы, ранее опубликованных нуклеотидных последовательностей митохондриального гена CO1, и морфологических описаний соответствующих видов, основанное на едином байесовском подходе, впервые позволило получить полностью разрешенное древо видов для представителей этого семейства. Представители разных родов на полученном древе видов образуют статистически достоверные клады, что соответствует основанной на морфологии систематике. Однако виды родов *Korotnewia*, *Parabaikalia* и *Pseudobaikalia* кластеризуются вместе, и если роды *Korotnewia* и *Parabaikalia* достаточно близки экологически и морфологически, то род *Pseudobaikalia* имеет ряд морфологических признаков значительно отличающих его от других родов сем. Baicaliidae. Возможно, данные несоответствия морфологических и молекулярных данных связаны с быстрой морфологической эволюцией родов *Korotnewia*, *Parabaikalia* и *Pseudobaikalia*.

*Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Щербакову Дмитрию Юрьевичу, а также д.б.н. Ситниковой Татьяне Яковлевне за помощь, оказанную в ходе выполнения данной работы.*

## Исследования полиморфизма гена, кодирующего рецептор холецистокинина 1-го типа у жителей Москвы

**Кондратьева Н.С., Кочеткова Т.О.**

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
natalia\_kondratieva@mail.ru

В 2010 году мигрень была включена в список заболеваний, представляющих глобальное значение и бремя для человечества (Global Burden of Disease Study 2010). Диагностика и лечение мигрени является актуальной медицинской и социальной задачей. Одним из генов-кандидатов, предположительно вовлеченных в процесс развития мигрени, является ген, кодирующий рецептор холецистокинина 1-го типа (*ССК1R*). Локализованные в центральных областях мозга человека *ССК1R* рецепторы регулируют выброс бета-эндорфина и дофамина. У человека ген *ССК1R* локализован на хромосоме 4 и состоит из 5 экзонов. Полиморфные варианты гена *ССК1R* (-81A/G) и (-128G/T) обнаружены в промоторной области, а замена 984 T/C на границе интрона 1 и экзона 2. Однонуклеотидные замены в гене *ССК1R* ассоциированы с шизофренией, паническим расстройством, алкогольной зависимостью, и снижением показателя IQ.

Целью данного исследования явилось изучение частот встречаемости трёх однонуклеотидных замен в гене *ССК1R* на выборке пациентов из Москвы и Московской области, страдающих мигренью ( $n = 144$ , образцы предоставлены отделом клинической неврологии ММА им. И.М. Сеченова) и случайной выборке ( $n = 198$ , образцы с московской станции переливания крови). Работа проведена с использованием стандартных молекулярно-биологических методов (ПЦР, ПДРФ, электрофорез) и популяционно-статистических методов обсчета полученных данных.

В ходе исследования были получены следующие частоты аллелей у пациентов с мигренью: 984C —  $0,472 \pm 0,042$ , 984T —  $0,528 \pm 0,042$ ; -81A —  $0,951 \pm 0,018$ , -81G —  $0,049 \pm 0,018$ ; -128G —  $0,955 \pm 0,017$ , -128T —  $0,045 \pm 0,017$ ; для образцов случайной выборки: 984C —  $0,846 \pm 0,026$ , 984T —  $0,154 \pm 0,026$ ; -81A —  $0,955 \pm 0,015$ , -81G —  $0,045 \pm 0,015$ ; -128G —  $0,975 \pm 0,011$ , -128T —  $0,025 \pm 0,011$ . Сравнение частот аллелей в выборке больных и условно-здоровых позволило выявить статистически достоверное увеличение частоты 984C аллеля у пациентов, страдающих мигренью ( $\chi^2 = 144,27$  при  $p \leq 0,05$ ). Таким образом, можно предположить участие рецепторов холецистокинина 1-го типа в патогенезе мигрени, однако молекулярные и клеточные механизмы его действия требуют дальнейшего изучения.

## Изучение роли гена *CHB3/BRA* в регуляции развития *Arabidopsis thaliana* с использованием методов высокопроизводительного секвенирования (RNA-seq)

**Коровкина Алина Владимовна, Клепикова Анна Владимировна**

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
alinakorovkina@gmail.com

Анализ функций отдельных генов является важным этапом на пути понимания структуры генетической сети контролирующей развитие организма. В большинстве случаев основой такого анализа служит сравнение дикого типа с мутантом по изучаемому гену. Мутант *bractea* (*bra*) модельного объекта *A. thaliana* характеризуется комплексным нарушением развития ряда морфологических признаков, а так же изменением динамики роста. Ранее было показано, что мутация *bra* затрагивает ген *CHB3* (AT4G34430), кодирующий один из белков комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF (chromatin remodeling factors). Этот комплекс регулирует экспрессию генов, изменяя доступность хроматина для белков, участвующих в процессах транскрипции.

Нами было проведено сравнение мутанта *bra* и растений дикого типа. Было показано, что мутант *bra* характеризуется существенным уменьшением длины вегетативной и генеративной частей, отсутствием розеточных побегов. Помимо этого, растения мутантные по гену *BRA* зацветают позже растений дикого типа: на 4 суток в условиях 16 ч. дня, и

на 6 суток в условиях 8 ч. дня. Это указывает на участие гена *BRA* в регуляции таких процессов как клеточные деления и дифференцировка и в переходе к цветению.

Для уточнения роли гена в регуляции развития было проведено сравнение экспрессии генов в верхушках соцветий дикого типа и мутанта *bra* (при высоте цветоноса 5 см у дикого типа и 1,5 см у мутанта *bra*) методом RNA-seq. Для анализа были собраны пулы меристем из 30–35 растений в трех повторностях. Для каждого образца было получено от 18 млн. до 38 млн. фрагментов кДНК длиной 50 пн. с использованием платформы Illumina. Анализ полученных данных показал, что 2817 генов изменяет уровень экспрессии более чем в 2 раза, при этом 2186 уменьшают, а 634 увеличивают уровень экспрессии. Проведённый анализ обогащения терминов Gene Ontology для дифференциально экспрессирующихся генов показал участие их продуктов в регуляции гормональных сигнальных путей. В числе этих генов находятся такие регуляторы перехода к цветению, как *ABI5*, *ORP2A*, *ELF4*, а так же гены, регулирующие клеточные деления, такие как *PLT2*, *PFS2*, *ASI* и др.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-01599-а.*

### **Анализ антибиотикорезистентности казахстанских штаммов *Helicobacter pylori* молекулярно-генетическими методами**

**Кулмамбетова Гульмира Нигметжановна<sup>1</sup>, Туякова Алтынай Камедолаевна<sup>2</sup>,  
Бекенова Эленора Ербубековна<sup>2</sup>, Карменова Жулдыз Кайратовна<sup>2</sup>,  
Логвиненко Андрей Алексеевич<sup>3</sup>, Сукашев Адильбек Темиржанович<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

<sup>2</sup>РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Астана, Казахстан

<sup>3</sup>Национальный научный медицинский центр, Астана, Казахстан

*gulmira\_k@list.ru*

*Helicobacter pylori*, обитающий в желудочно-кишечном тракте человека, этиологически связан с развитием гастрита, язвы и др. заболеваниями. При заболеваниях желудочно-кишечного тракта в большинстве случаев назначают препараты для эрадикации хеликобактера. *Helicobacter pylori* способен проявлять свойства антибиотикорезистентности к назначаемым препаратам; кларитромицину, тетрациклину, рифампицину и др.

*Helicobacter pylori* высевали на селективной среде, колонии генетически идентифицировали с помощью расшифровки нуклеотидной последовательности гена 16S rRNA. Антибиотикорезистентность бактерии определяли с помощью ПЦР с дальнейшим анализом нуклеотидной последовательности генов-кандидатов с полиморфизмами к устойчивости.

В результате были генетически типированы штаммы хеликобактера и изучена резистентность к некоторым антибиотикам. По результатам анализа устойчивости к кларитромицину 90 % штаммов *H. pylori* имели полиморфизмы в гене 23S rRNA, из них 60 % в позиции T2182C, 20 % A2142G и 10 % A2143G. Кларитромицин связывает 23S рибосомальную субъединицу, ингибируя в результате синтез белков. Точечные мутации в гене 23S приводит к резистентности бактерии к кларитромицину (5–30 % частота резистентности). Уровень резистентности к тетрациклину не выявлен, в положении AGA965-967TTC происходит замена А на G в 40 %. Тетрациклин, связывая рибосому, предотвращает соединение с аминоацил-тРНК и последующий синтез белков. Частота резистентности ≤ 1 %, за счёт точечных мутаций в гене 16S рРНК, *glnA* и *glnB*. В нашей работе резистентность к рифампицину не выявлена. В естественных условиях, рифабутин резистентность встречается редко, и только один природный устойчивый клинический изолят имел развитую резистентность во время терапии путем приобретения groV генной мутации описанной в Германии. Рифампицин связывает РНК полимеразу, ингибируя в результате транскрипцию. Частота резистентности <1%, за счёт точечных мутаций в гене РНК полимеразы, groV.

Распространенность хеликобактерной устойчивости к препаратам колеблется с географическим расположением. По нашим результатам резистентность к тетрациклину и рифампицину не была выявлена, уровень кларитромицин резистентности составил 22 %.

## Конструирование векторов для исследования транспозиционной активности ретротранспозонов группы *gypsy in vivo* у *Drosophila melanogaster*

Лавренов Антон Русланович

Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН,

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

*overtaki@mail.ru*

Мобильные генетические элементы (МГЭ) составляют значительную часть генома эукариот. Особый интерес для исследования представляет класс ретротранспозонов с длинными концевыми повторами, так как по своей структуре эти МГЭ схожи с ретровирусами. У *Drosophila melanogaster* этот класс представлен группой *gypsy*.

Для изучения транспозиционной активности ретротранспозонов *gypsy in vivo* мы разработали схемы векторных конструкций, содержащих длинные концевые повторы (ДКП) элементов группы *gypsy*, слитые с репортерным геном *GFP*. Известно, что ДКП элементов группы *gypsy* содержат не только промотор, но и 5'-нетранслируемые области элементов, регулирующие экспрессию генов ретротранспозонов. Поэтому для слияния с *GFP* были выбраны последовательности ДКП, которые содержат исключительно промотор, и последовательности, которые содержат промотор с прилегающей к нему с 3'-конца нетранслируемой областью. По экспрессии гена *GFP*, слитого с такими последовательностями, можно судить о специфике генетического контроля активности исследуемого элемента.

Нами были клонированы 5'-ДКП шести элементов группы *gypsy* (по два элемента из трех подгрупп, представляющих собой различные эволюционные ветви группы *gypsy*): *rover* и *17,6*, *gypsy* и *Springer*, *ZAM* и *Tirant*. Фрагменты ДКП, слитые с геном *GFP* из плазмиды pEGFP, клонировали в плазмиду pCaSpeR. Полученные конструкции можно использовать для инъекции эмбрионов *D. melanogaster*.

При инъекции этих конструкций в эмбрионы *D. melanogaster* предполагается получить линии мух, несущие ген *GFP*, слитый с промоторной областью ретротранспозонов. Станет возможным проследить за активностью элементов группы *gypsy in vivo* на разных стадиях онтогенеза, а также позволит оценить их экспрессию в различных тканях и органах мух.

Особо интересными будут данные, полученные после микроинъекций генетических конструкций в эмбрионы линий SS и MS, мутантных по локусу *flamenco*, контролирующему транспозиции элементов группы *gypsy*. Для данных линий ранее была показана повышенная частота транспозиции элементов группы *gypsy* по сравнению с диким типом. Это в свою очередь поможет лучше изучить механизмы генетического контроля ретротранспозонов группы *gypsy*.

## Влияние мутации *ig* на строение пыльцевых зерен кукурузы

Леданова Ксения Александровна

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

*ledanova.ksusha91@yandex.ru*

Нарушения программы гаметофитогенеза могут вызывать изменения в осуществлении цитологических событий при формировании как женского, так и мужского гаметофитов, приводящих в конечном итоге к возникновению растений с нетипичной генетической конституцией, например, гаплоидов, анеуплоидов, полиплоидов или гомозиготных диплоидов. Таким образом, существует принципиальная возможность реконструкции геномов путем специфического изменения гаметофитогенеза. А это означает, что некоторые гаметофитные мутации могут рассматриваться как инструменты для осуществления генетической инженерии.

Материалом исследования послужили зрелые пыльцевые зерна растений кукурузы линии Зародышевый маркер, гетерозиготных по гену *ig* (indeterminate gametophyte). Актуальность исследования была обусловлена отсутствием данных о фенотипическом проявлении мутации в микрогаметофите. Поскольку у гетерозиготных растений *Igig* в ходе микроспорогенеза формируется 50 % гаплоидных микроспор, содержащих мутантный ген *ig*, а 50 % — доминантный аллель *Ig*, то нарушения развития в случае действия этой мутации должны

наблюдаться не более чем у половины пыльцевых зерен. Анализ показал, что структурные нарушения в строении зрелой пыльцы у разных растений встречаются с частотой 7–32 %. Среди них доминируют двоядерные пыльцевые зерна, содержащие вегетативную и генеративную клетку. То есть мутация с высокой частотой вызывала блокировку деления генеративной клетки и образования спермиев. С частотой от 0,5 до 3,5 % встречались пыльцевые зерна с дополнительными клеточными элементами: тремя-пятью ядрами вегетативного типа или дополнительными спермиями, что указывает на возможность индукции дополнительных митозов в микрогаметогенезе и нарушение дифференцировки клеток. Обнаруженные различия по количеству аномальной пыльцы возможно обусловлены различной экспрессивностью проявления данной мутации в ходе формирования микрогаметофита у разных растений. Таким образом, на основании проведенного сравнительного анализа аномалий пыльцы выявлено, что мутация *ig* может иметь разную степень проявления и затрагивать разные цитологические процессы в ходе развития мужского гаметофита.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания министерства образования и науки на выполнение НИР № 4.303.2011.*

**Создание изогенной линии *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. по дуплицированным генам анионной пероксидазы *AtPrx53* и *AtPrx54* для анализа их функции**

**Мамошина Полина Олеговна, Куприянова Евгения Владимировна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*ekupriyanova@gmail.com*

Изогенные линии, отличающиеся друг от друга по отдельным локусам, являются ценным материалом для изучения функции генов. Ранее было установлено, что пероксидазные гены *AtPrx53* и *AtPrx54* модельного растения *A.thaliana* представлены 2 гаплогруппами, причем гаплогруппы гена *AtPrx53* кодируют белки, отличающиеся двумя значимыми аминокислотами. Для того, чтобы доказать, что эти формы белка отличаются свойствами, необходимо получить изогенные линии, отличающиеся по аллелям гена *AtPrx53*, принадлежащим к разным гаплогруппам. Получен растительный материал F<sub>2</sub> поколения 8-го возвратного скрещивания мутанта *pxd* (содержит аллель гена *AtPrx53*, идентичную аллели расы Col) с растениями расы Dj-M, которые имеют аллель, принадлежащую другой гаплогруппе. Для генотипирования полученной выборки были созданы CAPS-маркеры, расположенные в генах *AtPrx53*, *AtPrx54* (тандемно-дуплицированные), и *PP2C* (расположен правее гена *AtPrx53* на расстоянии 2сМ). В ходе работы отбирались растения, гомозиготные по CAPS-маркерам *PP2C* и *AtPrx54*, а также по маркеру *AtPrx53*, по которому растения должны быть гомозиготами по аллели *pxd/Col*, т.е. показывать маркеры, типичные для расы Col. С использованием этих маркеров нами проведен анализ генотипа 52 растений F<sub>2</sub>. Выявлены растения, которые по CAPS маркерам *AtPrx53* и *AtPrx54* имели генотип Col/*pxd*, а по маркеру *PP2C* - генотип Dj-M. Эти растения и растения расы Dj-M представляют собой изогенные линии, отличающиеся по аллелям 2 выявленных гаплогрупп пероксидазных генов, и позволят исследовать роль этих гаплогрупп в контроле развития и устойчивости растений к стрессовым факторам.

*Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ № 11-04-01306-а.*

**Исследование экспрессии гена *Iris*, гомолога гена *env* ДКП-ретротранспозона *gypsy* у *Drosophila melanogaster***

**Махновский Павел Александрович**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*maxpavel@gmail.com*

Гены ретровирусов и ретротранспозонов, интегрированных в эукариотический геном, претерпевая отбор, могут подвергаться молекулярной доместикации. Геном *D. melanogaster* содержит ген *Iris*, гомологичный гену *env* ретровируса/ретротранспозона *gypsy*. Функция *Iris* не известна, предполагается его участие в противовирусной защите, например против ретровирусов, подобных *gypsy*.

Мы оценивали уровень транскрипции гена *Iris* на различных стадиях онтогенеза *D. melanogaster* (эмбрионы, личинки возрастом 1, 2, 3, 4 и 5 суток, куколки двух возрастов и имаго), а также в различных органах имаго (корпус, голова, кишка, гонады) с помощью количественной ПЦР. Исследованы две изогенные линии: 145 и SS-7K, мутантные по гену *flamenco*, который контролирует активность ретротранспозона *gypsy*. Линия 145 имеет активно перемещающуюся копию ретротранспозона *gypsy*.

Установлено, что ген *Iris* экспрессируется на очень низком уровне на эмбриональной и личиночной стадии, при этом у личинок третьего возраста происходит увеличение экспрессии примерно в 10 раз. Уровень экспрессии в куколках сравним с таковым у личинок третьего возраста. Экспрессия *Iris* у взрослых особей намного выше, чем на любой другой стадии. Установлено, что у имаго *Iris* экспрессируется в корпусе и яичниках, тогда как экспрессия в семенниках и кишке практически не выявляется. Для линий 145 и SS-7K значительных различий ни в онтогенетической, ни в тканеспецифичной экспрессии *Iris* не выявлено, таким образом, наличие активного вируса *gypsy*, по-видимому, не влияет на экспрессию *Iris*.

Биоинформатический анализ аминокислотной последовательности продукта гена *Iris* предсказывает наличие трансмембранного домена. Учитывая этот факт и полученные нами результаты по характеру экспрессии *Iris*, можно предполагать, что исследуемый ген играет роль в восприятии внешних сигналов в тканях корпуса и яичников имаго *D. melanogaster* или сигналов из внутренних структур, таких как эндосомы. Можно предполагать участие белка *Iris* в распознавании патогенов с последующей активацией сигнальных путей иммунитета.

*Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-31457 мол\_а.*

## **Трансформация рапса с целью изучения безопасности его возделывания для экосистем Республики Башкортостан**

***Михайлова Елена Владимировна***

*Башкирский Государственный Университет, Уфа, Россия*

*mikhele@list.ru*

Генная инженерия стремительно развивается, однако появление гибридов трансгенных растений с дикорастущими родственниками является актуальной проблемой современности и становится одной из причин, препятствующих повсеместному распространению ГМ-культур. На протяжении последних лет наиболее распространенными биотехнологическими культурами являются соя, кукуруза, хлопок и рапс.

При возделывании рапса вероятность перекрестного опыления в среднем составляет 30 %. Рапс также представляет особенный интерес в связи с тем, что интенсивно возделывается и имеет дикорастущих родственников на территории России.

Трансформация рапса по-прежнему сосредоточена на придании ему устойчивости к гербицидам, что не всегда актуально на территории России. В частности, в Республике Башкортостан посевы рапса гербицидами не обрабатываются. Одним из перспективных направлений трансформации рапса могло бы стать повышение продуктивности за счет увеличения размеров органов, которого можно достигнуть путем повышения экспрессии гена *AINTEGUMENTA*, который кодирует транскрипционный фактор, принимающий участие в регуляции роста и развития как генеративных, так и вегетативных органов растений. Для обеспечения наибольшей безопасности нами был выбран ген *AINTEGUMENTA* рапса, выделенный в ИБГ УНЦ РАН.

В эксперименте использовался яровой рапс сорта «Ратник», широко распространенный в сельском хозяйстве Республики Башкортостан. Всхожесть семян составила 76 %. Методом агробактериальной трансформации семядольных черешков целевым геном *AINTEGUMENTA* и селективным геном устойчивости к гигромицину были трансформированы 60 растений. Через 7 дней регенерации на среде, содержащей 0,3 мг/л тидиазулона и 0,03 мг/л НУК, были получены первые каллусы, из которых регенерировали новые побеги. На данный момент ведется отбор растений, устойчивых к антибиотикам.

После получения взрослых растений планируется их проверка на способность к переопылению с дикими и культурными родственниками на территории Республики

Башкортостан.

**Создание системы для исправления мутантного генотипа крыс линии Brattleboro с использованием искусственных нуклеаз TALENs**

**Немудрый Артем Александрович<sup>1,2,3</sup>, Стекленева Анастасия Евгеньевна<sup>2,3</sup>,  
Васькова Евгения Андреевна<sup>2,3</sup>, Медведев Сергей Петрович<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, <sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН,

<sup>3</sup>Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения  
им. академика Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия

asahiro2@yandex.com

Перспективным направлением современной биомедицины является клеточная терапия заболеваний, вызванных генетическими нарушениями. Благодаря развитию технологии репрограммирования соматических клеток к плюрипотентному состоянию, стало возможным получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) при жизни пациента. С помощью гомологичной рекомбинации, основным недостатком которой является низкая эффективность, возможно произвести исправление мутации, вызывающей болезнь, заменив мутантный аллель на «здоровый». Существенно повысить эффективность гомологичной рекомбинации позволяет внесение дуплетных разрывов в последовательность ДНК целевого гена.

В качестве объекта для разработки технологии исправления генетических мутаций в данной работе использованы крысы линии Brattleboro. Делеция одного азотистого основания в кодирующей части гена гормона аргинин-вазопрессина (AVP) вызывает у крыс данной линии наследственное заболевание — несахарный гипоталамический диабет. Получены и полностью охарактеризованы линии ИПСК крыс Brattleboro. Эти линии будут использованы в исследованиях по исправлению мутантного генотипа. Для увеличения эффективности гомологичной рекомбинации будут использованы искусственные нуклеазы TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases), специфически узнающие и вносящие дуплетные разрывы в определенные нуклеотидные последовательности.

В результате анализа последовательности гена AVP были выбраны сайты узнавания нуклеаз TALENs, по которым будут внесены дуплетные разрывы. Для каждого из сайтов получены конструкции, экспрессирующие нуклеазы TALENs. Проведено секвенирование конструкций, изучена ферментативная активность полученных нуклеаз.

На следующем этапе работы в ИПСК крыс Brattleboro будет проведена гомологичная рекомбинация, с использованием нуклеаз TALENs. Клетки с исправленным генотипом будут введены в организм животных для изучения возможностей клеточной терапии заболеваний, вызванных генетическими нарушениями. Данная технология обладает перспективой для лечения наследственных заболеваний человека.

**Генетическое разнообразие клинических штаммов *Burkholderia cepacia* complex в Российской Федерации**

**Орлова А. А., Кунда М.С.**

*НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия*

annaf-orlova@yandex.ru

Муковисцидоз — одно из наиболее распространенных моногенных наследственных заболеваний, характеризующееся полиорганным поражением, и требующее лечения в течение всей жизни больного. До 80 % летальных исходов при муковисцидозе связано с инфицированием легких больных людей микроорганизмами, прежде всего бактериями, входящими в *Burkholderia cepacia* complex (Bcc). Задачей данного исследования было изучение генетического разнообразия клинических штаммов Bcc, установление взаимосвязи между их генотипами и эпидемической значимостью.

Проанализировано 88 культур микроорганизмов из коллекции лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекции НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Генотипирование штаммов проводили на основе схемы MLST (Multilocus Sequence Typing), позволяющей различать

19 видов буркхолдерий, входящих в Всс. Для обработки данных MLST использовали пакеты программ BURST, PHYLIP, MEGA 5.

В выборке выявлено 13 генотипов (sequence type, ST), 9 из них идентифицировано впервые. Установлено, что большинство штаммов, представляющих 8 генотипов, относятся к виду *B. cenocepacia*. 5 ST видов *B. multivorans*, *B. contaminans*, *B. stabilis*, *B. vietnamiensis* характеризуют небольшое количество штаммов. Ведущими внутрибольничными генотипами штаммов Всс являются 728 и 708. У больных муковисцидозом преобладают Всс ST709.

Анализ данных, размещенных в PubMLST по Всс, выполненный с помощью программы BURST, показал, что 729 известных генотипов формируют 94 группы. Самую большую группу ST234, образуют штаммы вида *B. cenocepacia*, представляющие наибольшую опасность для больных муковисцидозом. К этой группе относятся идентифицированные нами генотипы 708, 709, 714, 728.

На основе анализа данных аллельного профиля штаммов показано, что от клонообразующего генотипа 234 штаммы ST708 и 728 отличаются по двум из семи мишеней, ST709 — по трем мишеням.

Таким образом, к близкородственным и часто встречающимся генотипам клинических штаммов Всс в РФ относятся ST708, 728 и 709. Данные генотипы генетически близки эпидемическим линиям глобального распространения, что подчеркивает их опасность для больных муковисцидозом. Дальнейший полногеномный анализ штаммов *B. cenocepacia* ST709 станет основой для выяснения причин вирулентности этих штаммов и их широкого распространения среди больных муковисцидозом.

## **Исследование специфичности интегразы ретротранспозона *gypsy in vitro***

**Радион Елизавета Ивановна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*radion-radion.90@mail.ru*

Одним из наиболее изученных ретротранспозонов с длинными концевыми повторами является ретротранспозон *gypsy*, имеющий три открытых рамки считывания — gag, pol и env. Ретротранспозоны группы *gypsy* имеют много общих черт с ретровирусами, в том числе сходный цикл репликации — репликация ретровирусов и ретротранспозонов осуществляется посредством обратной транскрипции их РНК и интеграции ДНК-копии в геном хозяина. Интеграция является важным этапом транспозиции ретроэлементов и осуществляется с помощью интегразы, которая распознает сайт-мишень в геномной ДНК, расщепляет его и производит интеграцию ДНК-копии ретроэлемента.

Было показано, что ДНК-копии ретротранспозонов *gypsy* способны вырезаться с точным восстановлением исходной последовательности *in vivo*. Предполагается, что эксцизию ДНК-копий *gypsy* осуществляет интеграза.

Целью настоящей работы являлось исследование специфичности разрезания интегразой *gypsy* плазмиды, содержащей полноразмерную копию ретротранспозона *gypsy* и его геномное окружение, а также изучение возможности точного вырезания копии *gypsy* интегразой из геномной ДНК *in vitro*.

Фрагмент рамки pol ретротранспозона *gypsy*, кодирующий интегразу, был клонирован в экспрессионном векторе pET30. Рекомбинантная интеграза была очищена с помощью His-trap колонок; препарат белка был диализован против раствора PBS с добавлением ионов Mg и Zn. Плазмида, содержащая полноразмерную копию ретротранспозона *gypsy* и его геномное окружение, была обработана интегразой, после чего производилось определение сайта разрезания плазмиды интегразой. Было обнаружено, что интеграза вносит двунитевой разрыв в плазмиду, содержащую полноразмерную копию *gypsy*, на расстоянии 96 нуклеотидов от 5'-конца ДКП *gypsy*, то есть в геномном окружении. Таким образом, помимо точного вырезания копии *gypsy*, интеграза способна узнавать другие последовательности-мишени, осуществляя неточное вырезание *gypsy in vitro*, при этом точное вырезание *gypsy in vitro*, по-видимому, является достаточно редким событием.

## Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов факторов воспаления с инфарктом миокарда

*Садикова Регина Ильгизовна*

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*regina281210@yandex.ru*

Инфаркт миокарда (ИМ) — один из наиболее тяжёлых клинических вариантов ишемической болезни сердца (ИБС), в основе которого лежит некроз сердечной мышцы, развивающийся в результате острой недостаточности коронарного кровообращения. Ключевым этапом патогенеза ИБС в целом и ИМ в частности является атеросклеротическое повреждение коронарных сосудов, в развитии которого важную роль играет локальное и системное воспаление. Начальным этапом развития этого процесса является адгезия лейкоцитов к повреждённой сосудистой стенке и их миграция из сосудистого русла в формирующийся очаг воспаления. В связи с вышеизложенным цель настоящего исследования состояла в изучении полиморфных маркеров rs2076059 (3832T>C ген *SELE*), rs6131 (S290N ген *SELP*), rs1131498 (F193L ген *SELL*), rs5498 (K469E ген *ICAM1*), rs35569394 (-2549(18)I/D ген *VEGFA*), rs1024611 (-2518A>G ген *CCL2*) как потенциальных предикторов ИМ.

Материалом исследования стали образцы ДНК 268 больных, перенёсших ИМ в возрасте до 55 лет (средний возраст ± стандартное отклонение 44,39±5,63). Диагноз ИМ устанавливался на базе Республиканского кардиологического диспансера г. Уфа. Группу сравнения составили 292 человека, лица в возрасте от 30 до 60 лет (42,54±6,69) без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники исследования были мужчинами, татарами по этнической принадлежности.

Генотипирование проводили методом ПЦР с последующим ПДРФ анализом. Для попарного сравнения частот генотипов использовали двухсторонний тест Фишера. При анализе ассоциаций сочетаний аллелей/генотипов с ИМ применялась программа APSampler 3.6.0. Выявленные различия считались значимыми при значении FDR <0,005 (FDR — False Discovery Rate).

Среди полученных результатов, следует отметить, что в группе больных, в отличие от контрольной группы, значительно снижены частоты генотипов *ICAM1*\*K/K (P=0,027), *VEGFA*\*D/D (P=0,013), *SELP*\*S/S (P=0,002), *CCL2*\*A/A (P=0,045) и повышены частоты генотипов *SELP*\*N/N (P=0,011), *CCL2*\*G/G (P=0,005). С помощью алгоритма APSampler, нами проведён поиск сочетаний аллелей значимо ассоциированных с ИМ. Большинство полученных результатов, ассоциированы с повышенным риском развития ИМ. Наиболее значимыми из них оказались два — *SELL*\*F+*VEGFA*\*I+*CCL2*\*G/G и *VEGFA*\*I+*CCL2*\*G/G (OR=4,61 и 4,05 соответственно). Три варианта могут рассматриваться в качестве протективных: это сочетания *SELP*\*S+*CCL2*\*A и *SELE*\*C+*SELP*\*S и аллель *CCL2*\*A. В целом, по результатам анализа с помощью программы APSampler с повышенным риском ИМ в различных сочетаниях стали аллели *CCL2*\*G, *SELP*\*N, *SELL*\*F, *VEGFA*\*I и *ICAM1*\*E. Таким образом, полученные результаты укладываются в общую картину представлений об этиологии и патогенезе ИМ и свидетельствуют о существенном вкладе проанализированных нами полиморфных локусов генов *SELP*, *SELE*, *SELL*, *CCL2*, *VEGFA* и *ICAM1* в формирование предрасположенности к развитию ИМ.

## Анализ ассоциации T165M полиморфизма гена F2 с риском развития инфаркта миокарда

*Сарварова Е.Р.<sup>1</sup>, Насибуллин Т.Р.<sup>2</sup>, Мустафина О.Е.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акумуллы, Уфа, Россия*

<sup>2</sup> *Институт биологии и генетики, Уфимский научный центр РАН, Уфа, Россия*

*sarvarova\_lena@mail.ru*

Одним из наиболее перспективных направлений в изучении наследственной предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям является анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов, продукты экспрессии которых так или иначе связаны с патогенезом изучаемой патологии. Среди таких генов-кандидатов ИБС особого внимания заслуживают гены системы гемостаза, играющие важную роль в развитии данной патологии. Принципиально важным при этом является учет этнической принадлежности обследуемых лиц.

Обследовано 489 неродственных пациентов мужского пола (русских 274, татар 215) с инфарктом миокарда, находившихся на лечении в республиканском кардиологическом диспансере (средний возраст  $47,96 \pm 5,2$ ).

Выделение ДНК производили методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификацию изученного локуса проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Для определения нуклеотидных замен использовали метод анализа ПЦР-ПДРФ. Разделение фрагментов ДНК проводили при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном гелях. Статистическую обработку полученных данных проводили, используя пакет компьютерных программ SPSS v.13.0.

При анализе ассоциаций полиморфизма *T165M* гена *FII* с инфарктом миокарда статистически значимых результатов не выявлено в обеих этнических группах. Анализ распределения частот генотипов с учётом возраста манифестации заболевания показал, что в этнической группе татар у больных, перенёвших инфаркт миокарда в возрасте до 42 лет, в отличие от больных, перенёвших инфаркт миокарда в более позднем возрасте, существенно снижена частота генотипа *\*T/\*T* и повышена частота генотипа *\*M/\*M*. Анализ ассоциаций полиморфного *T165M* гена *F2* с инфарктом миокарда в выделенных возрастных группах показал, что в группе больных, перенёвших инфаркт до 42 лет в отличие от соответствующей контрольной группы повышена частота генотипа *\*M/\*M* (12,28% и 3,17% соответственно,  $P=0,037$ ). В этнической группе русских анализ распределения частот генотипов гена *FII* с учётом возраста манифестации заболевания статистически значимых результатов не дал.

Таким образом, для татар Башкортостана в возрасте до 42 лет маркером повышенного риска инфаркта миокарда является генотип *\*M/\*M* ( $OR=4,27$ ), для русских достоверных различий не выявлено.

#### **Исследование транскриптомов плюрипотентных клеток крысы с помощью метода RNA-seq**

**Стеклёва Анастасия Евгеньевна<sup>1,2</sup>, Васькова Е.А.<sup>1,2</sup>, Немудрый А.А.<sup>1,2</sup>,**

**Евшин И.С.<sup>3</sup>, Шарипов Р.Н.<sup>3</sup>, Колпаков Ф.А.<sup>3,4</sup>, Медведев С.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН,*

<sup>2</sup>*ФГУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России,*

<sup>3</sup>*ООО «Институт системной биологии»,*

<sup>4</sup>*Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
stekleneva@bionet.nsc.ru*

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) являются перспективным объектом для заместительной терапии и моделирования заболеваний человека. Исследование эффективности и безопасности новых методов терапии заболеваний требует создания новых модельных систем, например, ИПСК лабораторных животных. Полученные модельные системы должны быть детально охарактеризованы с помощью современных цитогенетических и молекулярно-генетических методов.

В ходе выполнения работы была получена панель линий клеток крыс Brattleboro и WAG, содержащая эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), эмбриональные фибробласты (ЭФ) и полученные из них линии ИПСК. Крысы Brattleboro являются моделью наследственного гипоталамического несахарного диабета, крысы WAG были выбраны в качестве условно «здорового» контроля.

Полученные линии ИПСК и ЭСК крыс экспрессируют маркеры плюрипотентных клеток (OCT4, NANOG, SSEA1 и щелочную фосфатазу), в них деметилированы промоторы генов *Oct4* и *Nanog*, дифференцируются в производные всех трех первичных зародышевых листков и имеют нормальный кариотип.

С использованием высокопроизводительного секвенирования мРНК (RNA-seq) (платформа Illumina) был проведен анализ транскриптомов 2 линий ЭСК, 4 линий ИПСК и 2 линий ЭФ крыс. Было обнаружено, что ЭФ заметно отличаются от стволовых клеток по

экспрессии генов. Линии ИПСК образуют четкий кластер, демонстрируя высокую корреляцию экспрессии между собой (порядка 95 %), и отличаются от двух линий ЭСК экспрессией 15 и 23 генов. Исследование экспрессии 11 генов-регуляторов плюрипотентности клеток в целом показало сходство профилей экспрессии ИПСК и ЭСК. Однако одним из наиболее интересных результатов при сравнении экспрессионных профилей оказалось выявление гиперэкспрессии гена *Sid1*, которая четко отличает линии ЭСК от линий ИПСК, несмотря на то, что клетки были получены от разных линий крыс.

Таким образом, анализ транскриптомов ЭСК и ИПСК крысы показал глобальное сходство этих клеток и выявил гены, уровень экспрессии которых их отличает.

**Вклад генов оксидативного ответа и генов репарации  
в этиологию невынашивания беременности на ранних сроках**

*Хаджиева Марьям Борисовна*

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

*m.had@mail.ru*

Этиология невынашивания беременности (НБ) крайне разнообразна и в 26–66 % случаев прервавшихся на ранних сроках беременностей остается невыясненной. Наиболее часто в связи с риском идиопатического НБ анализируются гены гемостаза, метаболизма гормонов, дисфункции эндотелия, гены иммунной системы и ответа на воспаление, в то время как гены репарации и оксидативного ответа остаются неизученными в контексте их роли в патологии первого триместра беременности. Методом тетра-праймерной аллель-специфической ПЦР реакции нами было исследовано распределение частот полиморфных вариантов генов оксидативного ответа (*GPX1*, *GPX4*, *CAT*, *COMT*, *GCLC*, *SOD2*) и генов репарации (*APEX1*, *OGG1*, *XRCC1*, *ERCC2*) среди 299 женщин, страдающих НБ (от двух и более случаев), и 186 женщин с реализованной репродуктивной функцией и отсутствием НБ в анамнезе.

В контрольной группе ни по одному из изученных локусов не было зарегистрировано отклонения от распределения по Харди-Вайнбергу. В группе женщин, страдающих НБ, выявлено достоверное увеличение частоты мутантного генотипа гена эксцизионной репарации оснований 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы1 *OGG1* 977G/G ( $P = 0,019$ ,  $OR = 1,57$ , 95 % C.I. = 1,06–2,31) по сравнению с женщинами из контрольной группы. Еще один рискованный генотип, установленный в ходе исследования, — 599C/T-T/T (*rs1050450*) гена глутатионпероксидазы *GPX1*, который был статистически значимо выше у женщин с НБ по сравнению с контрольной группой ( $P = 0,027$ ,  $OR = 1,66$ , 95 % C.I. 1,06–2,59). По остальным генам ассоциаций с НБ выявлено не было. Глутатионпероксидаза — один из ключевых ферментов антиоксидантной системы организма, функцией которого является разрушение и инактивация перекиси водорода и гидроперекисей (пероксидных радикалов). Фермент 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза1 осуществляет репарацию 8-оксогуанина, одного из самых распространенных окисленных оснований ДНК (8-охоGua). Пониженная репарационная способность минорного варианта фермента *OGG1* (Ser326Cys) наблюдается в условиях оксидативного стресса и может быть связана с изменением статуса фосфорилирования фермента при аминокислотной замене 326Cys.

Полученные результаты позволяют предположить, что минорные аллели гена оксидативного ответа *GPX1* и гена эксцизионной репарации *OGG1* могут быть ассоциированы с риском развития НБ на ранних сроках.

## Эпигенетическая характеристика сайтов связывания комплекса белков распознавания ориджинов репликации в центре инактивации X-хромосомы полевки *Microtus levis*

Шерстюк Владимир Владимирович<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН,

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

<sup>3</sup>ФГУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития РФ, Новосибирск, Россия

*vsherstyuk89@gmail.com*

Основным процессом S-фазы клеточного цикла является репликация ДНК. Инициация репликации происходит в определенных районах генома, называемых ориджинами репликации. Основным комплексом белков, маркирующим ориджины репликации в геноме эукариот, является комплекс распознавания ориджинов (ORC). Расположение ORC и, соответственно, ориджинов репликации у млекопитающих не зависит от последовательности ДНК и регулируется эпигенетически. Однако точные механизмы связывания ORC с определенными районами ДНК не известны.

Для исследования районов связывания ORC в нашей работе был выбран центр инактивации X-хромосомы (ХИС) полевки *Microtus levis*. Локус ХИС имеет размер около 60 т. п. н. и содержит четыре гена. Ранее при анализе количества новосинтезированных нитей ДНК в локусе ХИС полевки нами было выявлено пять активных ориджинов репликации. В данной работе был проведен анализ расположения ORC и модификаций хроматина, таких как ацетилованный гистон H3 по лизину 9 (H3K9ac), моно- и триметилованный гистон H4 по лизину 20 (H4K20me, H4K20me3), в локусе ХИС методом иммунопреципитации хроматина с последующим ПЦР анализом в реальном времени.

В результате выявлено связывание ORC в районах предполагаемых ориджинов. Показано, что ORC в локусе ХИС преимущественно располагается вблизи CpG островков. Сайты связывания ORC проанализированы на наличие модификаций хроматина H3K9ac, H4K20me, H4K20me3.

### Структурно-функциональный анализ

последовательности мобильного генетического элемента *Tirant*

Шмелькова Анна Олеговна, Урусов Феликс Анатольевич

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

*msshmelkova@gmail.com*

Ретротранспозоны — мобильные генетические элементы (МГЭ), способные перемещаться по геному хозяина посредством механизма обратной транскрипции. Классификация ретротранспозонов основана на наличии (отсутствии) длинных концевых повторов (ДКП), фланкирующих кодирующую последовательность элемента. ДКП-ретротранспозоны имеют высокую степень сходства с ретровирусами, интегрированными в геном: в их структуре есть три открытые рамки считывания (ОРС) — gag, pol, env. Предметом данного исследования стал МГЭ *Tirant*, относящийся к ДКП-ретротранспозонам группы *Gypsy D.melanogaster*.

Ранее было показано, что МГЭ *Tirant* транскрибируется в лабораторных линиях *D.melanogaster* Г32, 7kw1, 7kss, 145, С3, но не в 7k1 и 7k, и способен к транспозиции. Чтобы выяснить, происходит ли в линиях, в которых была выявлена транскрипция *Tirant*, образование сплайсированной формы РНК, кодирующей белок Env *Tirant*, мы провели ОТ-ПЦР с праймерами, локализованными в районах биоинформатически предсказанных экзонов. В результате амплификации во всех образцах присутствовал ПЦР-фрагмент (333 пн) кДНК сплайсированной формы, для которого был определен нуклеотидный состав и подтвержден ранее предсказанный сайт сплайсинга. Полученные результаты могут свидетельствовать о возможной способности МГЭ *Tirant* к формированию вирусных частиц.

Известно, что на транскрипцию МГЭ может влиять структура его 5'-нетранслируемой области (5'-НТО), расположенной сразу за ДКП. Согласно данным биоинформатического анализа копии *Tirant*, в структуре 5'-НТО *Tirant* имеются тандемные повторы длиной 102 пн.

Число повторов может быть различным у разных копий элемента (от 1 до 6). С использованием праймеров, фланкирующих данную область, мы выполнили амплификацию фрагментов *Tirant*, используя в качестве матрицы геномную ДНК изучаемых линий. В каждой линии было выявлено по 6 ПЦР продуктов, различающихся по длине примерно на 100 пн. Таким образом, в геномах изучаемых нами линий мух присутствуют все полиморфные копии элемента, и вероятно, что различия в экспрессии *Tirant* между линиями никак не связаны с данным полиморфизмом.

**Популяционно-генетическая структура сахалинского тайменя *Parahucho perryi* Brevoort, 1856 по 19 микросателлитным локусам ДНК**

**и выводы для сохранения популяционных генофондов вида**

**Юрченко Андрей Александрович, Шитова М.В.**

*Институт Общей Генетики им. Вавилова РАН, Москва, Россия*

*andreyurch@gmail.com*

Сахалинский таймень — уникальный эндемичный узкоареальный вид семейства лососевых Дальнего Востока России, занесенный в Красную Книгу России и красный лист Международного Союза Охраны Природы. С середины 20 века таймень подвержен сильному антропогенному воздействию на большей части ареала, включающему в себя вылов и деградацию мест обитания, что привело к катастрофическому падению численности вида и поставило вопрос разработки мер по сохранению его популяционных генофондов.

Целью данной работы является описание современной популяционно-генетической организации вида и выработка научно-обоснованных рекомендаций по сохранению генофонда вида на основе популяционно-генетических и экологических данных. Генетические пробы тайменя собраны авторами работы в ходе 11 полевых экспедиций, всего проанализировано 508 генетических образцов сахалинского тайменя из 29 водоемов, с использованием 19 микросателлитных локусов ДНК.

Серьезных отличий по показателю генетического разнообразия на ареале вида не выявлено, хотя периферийные популяции Итурупа показывают сниженный уровень ( $0,308 \pm 0,056$ ;  $0,371 \pm 0,067$ ), а популяции крупных рек юга Хабаровского края напротив имеют повышенные значения ожидаемой гетерозиготности ( $0,620 \pm 0,059$ ;  $0,627 \pm 0,057$ ;  $0,606 \pm 0,059$ ), что может говорить как о высокой численности, так и более стабильной послеледниковой истории этих популяций. Среднее значение уровня генетической дифференциации между выборками ( $F_{st}$ ) = 12,4%. Даже между притоками одного водоема (р. Поронай, Сахалин) наблюдается значимая и высокая межпопуляционная дифференциация ( $F_{st} = 8,2$ ). Несмотря на это, анализ в пространстве главных компонент и программе STRUCTURE уверенно выделяет популяционные группировки в пределах крупных географических экорегионов (Северо-Восточный Сахалин, сахалинское и материковое побережье Татарского пролива, Южный Сахалин), и бассейна реки Поронай. Тест Мэнтеля показывает положительную и статистически значимую корреляцию ( $R^2 = 20-45$ ,  $p < 0,05$ ) между попарными географическими и генетическими расстояниями в этих районах, подтверждая наличие миграций вида.

Таким образом, популяционно-генетическая структура *P. perryi* характеризуется высоким уровнем генетической дифференциации между популяциями при одновременном наличии уровня более высокой иерархии, по-видимому, в связи с практически полной изоляцией между отдаленными водоемами и миграциями между соседними. С этой точки зрения можно рекомендовать двухуровневое выделение единиц сохранения *P. perryi*: в пределах отдельных водоемов и в пределах географических экорегионов на основе 1–2 базовых (имеющих наибольшую численность особей) водоемов.

*Работа отчасти финансировалась грантами Программ Президиума РАН "Живая природа: Динамика генофондов" и "Молекулярная и клеточная биология".*

**Построение пахитенной карты хромосомы 7 хмеля японского  
(*H. japonicus* Siebold & Zucc.)**

**Яковин Н.А., Шведова А.Е., Карлов Г.И.**

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия*  
*daiske3@gmail.com*

Хмель японский (*H. japonicus* Siebold & Zucc.) — двудомное однолетнее растение с гетероморфной системой половых хромосом (XY1Y2), является интересным и удобным объектом для изучения эволюции пола растений. Анализ хромосом в стадии пахитены позволяет с высоким разрешением провести локализацию тех или иных последовательностей ДНК на хромосомах методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). В связи с тем, что не для всех видов растений возможно построение пахитенной карты и с целью показать возможность такого картирования на хмеле японском, нами была использована хромосома 7 несущая по литературным данным удобный цитогенетический маркер 5S рДНК.

Отбор пыльников в стадии пахитены и приготовление цитологических препаратов осуществляли по протоколу Divashuk et al., 2011. Флуоресцентную гибридизацию *in situ* проводили по методике Karlov et al., 2003, контрокрасивание проводили с помощью красителя DAPI. Обработку данных проводили с помощью программ AxioVision (Zeiss), ImageJ и Adobe Photoshop CS3.

В результате работы было проведено картирование хромосомы 7 с локализацией на ней 5S рДНК. Показано наличие и воспроизводимость DAPI бэндинга изучаемой хромосомы в стадии пахитены, что свидетельствует о возможности создания пахитенной карты хромосом хмеля японского. Изучаемая хромосома имеет характерный бэндинг на концах бивалента, а также три ярко выраженных гетерохроматиновых блока в центре, на среднем из которых располагается 5S рДНК. Показано принципиальное сходство между DAPI-бэндингом на пахитенных и митотических хромосомах, а также похожесть рисунка хромосом при DAPI-окрашивании и при фазовоконтрастной микроскопии. Отработана методика физической локализации последовательностей на пахитенных хромосомах с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*.

## Подсекция «ГИДРОБИОЛОГИЯ И ОБЩАЯ ЭКОЛОГИЯ»

### Современное состояние гетеротрофного бактериопланктона Косинского Трехозерья

*Акулова Анастасия Юрьевна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*anastasiabio@mail.ru*

Косинские озёра расположены в районе Косино-Ухтомское г. Москвы недалеко друг от друга, однако различаются уровнем трофности, гидрохимическим режимом и историей развития. С декабря 2009 по декабрь 2010 г. исследовали общую численность бактерий (ОЧБ), численность бактерий с активной электронно-транспортной цепью (СТС+ бактерий), а также количество жизнеспособных сапротрофных бактерий (СБ) в пробах из поверхностного слоя воды озера Святое, Белое и Черное.

Пробы воды отбирали ежемесячно на расстоянии 5-10 м от береговой линии с глубины 0,5 м. Для определения ОЧБ использовали метод эпифлуоресцентной микроскопии (Nikon Eclipse E200F, 1000x) с окраской клеток акридиновым оранжевым. Для учета численности СТС+ бактерий применяли 5-циано 2,3-дигидро-1,4-дигидрокси-тетразолиум хлорид (СТС). Численность СБ определяли с помощью метода предельных разведений с использованием жидкой модифицированной (без NaCl) среды Зобелла 2216Е.

За период наблюдений в оз. Святое значения ОЧБ варьировали от 1,67 млн. кл/мл в марте 2010 г. до 5,53 млн. кл/мл в августе (среднее — 3,6); в оз. Белое — от 1,61 в сентябре 2010 г. до 6,71 млн. кл/мл в апреле (среднее — 3,09); в оз. Черное — от 1,24 в декабре 2010 г. до 7,08 млн. кл/мл в апреле (среднее — 2,9). Численность СБ на оз. Святом составила от 600 (январь) до 250 000 кл/мл (март); на оз. Белом от 950 (декабрь 2010 г.) до 60 000 кл/мл (декабрь 2009 г.); на оз. Черном от 250 (сентябрь-октябрь) до 250 000 кл/мл в январе. Численность СТС+ бактерий на оз. Святом колебалась от 0,07 млн. кл/мл (ноябрь) до 0,75 млн. кл/мл (сентябрь) (среднее — 0,31); на оз. Белом от 0,02 (август) до 0,82 млн. кл/мл (октябрь) (среднее — 0,38); на оз. Черном от 0,02 (сентябрь-ноябрь) до 0,49 млн. кл/мл (декабрь) (среднее — 0,2). Доля численности СТС+ бактерий от ОЧБ в оз. Святом колебалась от 2,4 % (ноябрь) до 19,2 % (сентябрь); в озере Белом — от 1,8 % (декабрь) до 63 % (сентябрь), максимальная её величина в обоих озерах наблюдалась в сентябре. Доля численности СТС+ бактерий в оз. Черном была наивысшей в декабре 2009 г. — 22,54 %, а минимальна (0,96 %) — в октябре 2010 г.

Наши результаты показывают, что в лимнологическом комплексе «Косинское Трехозерье» в течение всего года присутствует развитый и активно функционирующий гетеротрофный бактериоценоз.

*Приношу благодарность своему научному руководителю д.б.н, проф. Ильинскому В. В. и к. б. н., с. н. с. Мошаровой И. В. за помощь в сборе и анализе материала.*

### Подледные альго-бактериальные сообщества Южного Байкала:

**динамика развития и пространственное распределение**

***Башенхаева Мария Викторовна***

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*

*maria.bashenkhayeva@gmail.com*

Озеро Байкал — самое древнее и глубокое пресноводное озеро в мире. С января по май оно полностью покрыто льдом. Настоящая работа посвящена изучению динамики развития и пространственного распределения альго-бактериальных подледных сообществ.

Отбор подледных проб проводила группа аквалангистов ЛИН СО РАН на трех станциях в литоральной и пелагической зонах Южного Байкала, полуразрез Варначка-Танхой, в марте и апреле 2010–2012 гг. Анализировали пробы методами световой, эпифлуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии. Проводили подсчет численности и биомассы водорослей, а также общей численности бактерий (ОЧБ).

В 2010 г. развивалось альго-бактериальное сообщество на основе диатомовых водорослей *Aulacoseira islandica* (4431 тыс. кл/л), ОЧБ составила  $71 \times 10^6$  кл/мл. В 2011 году формировалось сообщество на основе динофитовых водорослей *Gymnodinium baicalense* (760 тыс. кл/л) и *Peridinium baicalense* (990 тыс. кл/л), ОЧБ —  $1,3 \times 10^6$  кл/мл. В 2012 г. в марте доминировали динофитовые *G. baicalense* (2060 тыс. кл/л), в апреле — диатомеи рода *Synedra* (249 тыс. кл/л), ОЧБ —  $86 \times 10^6$  кл/мл. Бактерии преимущественно ассоциировали с клетками диатомеи рода *Aulacoseira* (до 165 бактерий на клетку диатомеи). В подледный период в 2010–2012 гг. обнаружено четыре типа сообществ: на основе динофитовых водорослей *G. baicalense* и *P. baicalense*, и на основе диатомеи рода *Synedra* и *A. islandica*. ОЧБ зависела от развивающихся в сообществе видов водорослей.

Таким образом, впервые проведенный анализ подледных альго-бактериальных сообществ пресноводного водоема показал, что видовой состав микроводорослей варьирует, и от него зависит обилие бактерий.

### **Влияние светодиодного облучения на плодовитость рачка *Daphnia magna***

**Воробьева Ольга Владимировна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*olvorobieva@rambler.ru*

Одним из информативных показателей состояния организма является его плодовитость и качество рожденного потомства. Регистрация этих показателей может использоваться для оценки эффекта от электромагнитных излучений.

Целью исследования служило установление влияния низкоинтенсивного светодиодного облучения на рачков *Daphnia magna* Straus, 1820.

Рачков в возрасте до 24 часов однократно облучали с использованием красной светодиодной матрицы ( $\lambda = 650$  нм, интенсивность облучения 0,04–0,91 мВт/см<sup>2</sup>), с экспозициями 0,1с, 1с, 60с и 300 с. Наблюдения за исходными и дочерними генерациями, облучение которых не проводилось, продолжались до 21 суток. Исследовались плодовитость и качество рожденного потомства.

В разные сезоны года было проведено 10 серий опытов. Выявлено, что суммарная плодовитость в пересчете на одну самку в контроле менялась в течение года от 30,25 до 78,58. Минимальная плодовитость наблюдалась в летне-осенний период. Облучение оказывало как стимулирующее, так и подавляющее действие. Максимальное увеличение плодовитости (204 % от контроля) наблюдалось во втором поколении после облучения с экспозицией 300 с в июле. Наименьшая плодовитость наблюдалась после облучения 0,1 с (59,11 % от контроля) во втором поколении в апреле. В среднем по всем экспериментам облучение с экспозицией 0,1 с снижало плодовитость на 0,7 %, а с экспозициями 1 с, 60 с и 300 с увеличивало плодовитость на 7 %, 21 % и 27 % соответственно. Это может свидетельствовать о тенденции к стимуляции плодовитости при увеличении времени воздействия. После облучения, среди рожденной молодежи, встречались аномальные особи. Их численность в помете не зависела от экспозиции, что может свидетельствовать о пороговом эффекте облучения.

Таким образом, светодиодное облучение с длиной волны 650 нм способно оказывать влияние на плодовитость дафний и качество рожденного потомства. Наблюдается тенденция к стимуляции плодовитости при увеличении экспозиции. При этом стимуляция проявляется в течение всего года независимо от сезона. С другой стороны, облучение сказывается на качестве рожденной молодежи вплоть до третьего поколения, причем дозовой зависимости не наблюдается.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-02-31782.*

## **Зоопланктон биотопов с разной плотностью макрофитов**

**(на примере Лозского озера Вологодской области)**

*Зайцева Вера Леонидовна*

*Государственный НИИ озерного и речного рыбного хозяйства, Вологда, Россия*

*zayceva\_v@inbox.ru*

Лозское озеро представляет собой северную часть Лозско-Азатского озера, расположенного на западе Вологодской области и принадлежащего к бассейну Каспийского моря. Его площадь составляет порядка 15 км<sup>2</sup>, средняя глубина — 5 м. К берегам примыкает полоса мелководья шириной 100–150 м с глубинами до 2 м, где интенсивно развиваются заросли высшей водной растительности.

Проведены исследования таксономической структуры, численности и биомассы зоопланктона в типичных для Лозского озера зарослях горца земноводного и кубышки желтой с разной степенью плотности. Сбор материала проводился на участках с разной плотностью макрофитов (от 20 экз/м<sup>2</sup> до 30 экз/м<sup>2</sup>) и близлежащем участке озера, незанятого растениями.

Исследования показали, что по мере увеличения плотности растений увеличивается видовое богатство планктона. Так, в фитоценозах с максимальной плотностью растений было обнаружено 27 видов зоопланктеров, тогда как в менее заросшей лишь 19, а в открытой части водоема этот показатель составлял всего 17 видов. В пелагиали по числу видов преобладали копеподы, на всех участках зарослей наибольшее видовое богатство отмечалось для кладоцер. Видовое богатство коловраток снижалось по мере увеличения плотности растений.

Зоопланктон изученных биотопов характеризовался высоким уровнем развития. Средние численность и биомасса составили 108 тыс. экз/м<sup>3</sup> и 8 г/м<sup>3</sup> соответственно. Наибольшей численностью и биомассой отличалась группа ветвистоусых ракообразных. По мере увеличения плотности зарослей численность зоопланктонных организмов снижалась, а биомасса несколько увеличивалась. Наиболее высокая биомасса наблюдалась в разреженных зарослях, с увеличением плотности растений этот показатель выравнивался. Это подтверждает, что для большинства планктонных ракообразных важным фактором, влияющим на их уровень развития, является не плотность растений, а их наличие.

Таким образом, благоприятные условия для развития низших ракообразных складываются именно в зарослевых сообществах, граничащих с участками открытой воды. Растения являются необходимым для многих организмов укрытием. Кроме того, именно в этой части литорали складываются наиболее оптимальные абиотические и кормовые условия для зоопланктеров.

## **Количественная оценка роли водосборов в формировании качества вод**

*Ивичева Ксения Николаевна*

*Государственный НИИ озерного и речного рыбного хозяйства, Вологда, Россия*

*ksenya.ivicheva@gmail.com*

Характер водосборной площади бассейна в пределах Вологодской области играет важную роль в формировании качества вод в отдельные сезоны года. Мы провели количественную оценку влияния освоенности водосбора на качество поверхностных вод.

В своих исследованиях мы использовали данные по гидрохимии Вологодского ЦГМС (16 створов на 13 водотоках), данные собственных гидробиологических исследований (14 створов на 12 водотоках). Для каждого из водотоков с помощью модуля ArcGIS 10 Spatial Analyst инструментом Hydrology был построен участок водосбора (от истока до точки отбора гидробиологических или гидрохимических проб). Далее в рамках векторной основы участков водосборов каждой реки путем классификация снимков Landsat в приложении ScanEx Image Processor методом ISODATA была произведена оценка доли малоосвоенных территорий (леса, болота), сельскохозяйственных угодий и населенных пунктов.

На заключительном этапе была установлена корреляционная зависимость между представленностью на участках водосборов территорий различной освоенности с индексами качества вод (ИЗВ, УКИЗВ, индексы Гуднайта-Уитли, Пареле, Вудивиса, Майера и др.), а также с содержанием в поверхностных водах отдельных элементов.

Индекс ИЗВ демонстрирует слабую корреляционную зависимость (коэффициент корреляции 0,5–0,7), применяемый с 2005 г. УКИЗВ — сильную (0,6–0,9). Индексы Гуднайта-Уитли и Пареле также показали сильную корреляцию (0,7–0,97), чуть меньшая зависимость наблюдается для индексов Вудивиса и Майера (0,6–0,78). Та же зависимость наблюдается и для одного водотока при увеличении антропогенной нагрузки (р. Вологда). Для всех индексов коэффициент корреляции с долей на участке водосбора сельскохозяйственных угодий несколько ниже, чем малоосвоенных территорий и населенных пунктов. Причинами этого могут являться объединение в процессе анализа участков пашен и выпасов, а также деградация сельского хозяйства в последние десятилетия. Высокие коэффициенты корреляции также отмечены для региональных фоновых концентраций по ряду элементов (БПК<sub>5</sub>, Азот, Фосфор).

Таким образом, анализ данных дистанционного зонирования Земли позволил количественно выразить зависимость качества поверхностных вод от доли на водосборе территорий с разной степенью освоенности.

### **Таксономическая структура планктоценоза олиготрофного голарктического озера Большое черливое (северная Карелия)**

**Каримуллина Гульназ Фаргатовна, Сабиров Р.М.**

*Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

*carimullina-g@yandex.ru*

Озеро Большое Черливое в северной части Карельского берега Белого моря сформировалось около 9 тыс. лет назад в начале голоцена вследствие трансгрессии Балтийского кристаллического щита. Цель исследования — изучение количественного и качественного состава зоопланктона озера как водоема с низким уровнем антропогенного воздействия. Пробы отбирались в июне — июле 2010–2011 годов. Всего из 10 станций при помощи вертикальной сети Джели (газ №49) в поверхностном слое воды 0–20 м было собрано 16 проб. Исследовано 11494 экземпляров зоопланктёров, относящихся к 33 таксонам. Представлены тип Rotifera (3 вида), п/отр. Cladocera (20 видов), отр. Calanoida (7 таксонов) и Cyclopoidea (3 таксона). На отдельных станциях было отмечено от 8 до 14 видов, причем таксономический состав по индексу Жаккара совпадает на 0,08. В основном это формы, типичные для олиготрофных озёр. Основу составляет рачковый планктон — почти на всех станциях отмечены *Daphnia cucullata*, *D. cristata*, *D. longiresmis*, *D. galeata*, *D. longispina*, *Holopedium gibberum*, *Bosmina kessleri*, *B. longirostris*, *B. obtusirostris*, а также коловратка *Kellicottia longispina*. Редкими видами оказались коловратка *Keratella cochlearis*, кладоцеры *Podon leuckarti*, *Ceriodaphnia megops*, *C. laticaudata*, *Leptodora kindti*, *Polyphemus pediculus*, *Bythotrephes longimanus*, *D. longispina*, *B. longispina*. Общая численность зоопланктона в 2011 г. была 107563 экз/м<sup>3</sup>, что вдвое выше, чем в 2010 г. (470–46000 экз/м<sup>3</sup>). Как и в 2010 г., основную роль в сообществе играют копеподитные стадии и *D. cristata*. Общая биомасса в 2011 г. — 84670 мг/м<sup>3</sup>. Максимальная плотность наблюдается в июле — 16996 мг/м<sup>3</sup>. Что касается массовых представителей, то плотность *D. cristata* в период с 14 июня до 15 июля изменилась от 0,041 до 2,787 мг/м<sup>3</sup>, а у *B. kessleri* — от 0,038 до 0,701 мг/м<sup>3</sup>. Таким образом, высокие показатели численности и биомассы зоопланктона в 2011 году, связанные с массовым развитием *K. longispina* и *D. cristata*, говорят о возможном развитии процесса эвтрофирования. Помимо этого, снижение обилия наиболее чувствительных представителей (*L. kindti*, *B. longimanus*) также подтверждает изменение параметров среды в озере.

### **Анализ динамики рождаемости планктонного рачка *Bosmina longirostris***

**в условиях пищевого лимитирования**

**Каспарсон Анна Андреевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*annakasparson@gmail.com*

В настоящее время является общепризнанным, что численность популяции, входящей в состав сообщества, может определяться воздействием как со стороны ресурса, так и со

стороны хищника (или растительного животного). При этом относительная сила этих воздействий меняется в зависимости от характера трофических связей, пространственно-временного масштаба исследования, выбора зависимых переменных, характеризующих эти воздействия. В данной работе в качестве зависимой переменной использовали важнейшую характеристику популяционной динамики — удельную рождаемость. В качестве независимых переменных использовали вклад плодовитости и доли взрослых особей в изменения рождаемости. Первый вклад отражает воздействие со стороны ресурса, а второй — со стороны размерно-избирательного хищника. Материал по динамике популяции босмины *Bosmina longirostris* был собран на Водопроводном озере в окрестностях Беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова в июне-августе 2012 г. При сборе материала также брали пробы фитопланктона и измеряли температуру воды в озере. На протяжении всех 6 недель наблюдений численность популяции босмины демонстрировала почти идеальный экспоненциальный рост. Это косвенно свидетельствует о том, что воздействие со стороны потенциального хищника — девятииглой колюшки — отсутствовало или было незначительным. По полученным данным был рассчитан предложенный ранее показатель — отношение  $R$  вклада доли взрослых к вкладу плодовитости в наблюдаемые изменения рождаемости босмины. На основании ранее опубликованных экспериментальных данных мы считали, что в тех случаях, когда  $R < 1$ , определяющим для динамики популяции является лимитирование со стороны ресурса (фитопланктона), тогда как при значении  $R > 1$  — контроль со стороны хищника. Для 9 из 12 интервалов между пробами значение  $R$  было меньше 1, что свидетельствует о ведущей роли трофических условий в динамике рассматриваемой популяции. Более того, при последовательном объединении интервалов, начиная с конца периода наблюдений, характерная величина  $R$  (рассчитанная как отношение медианных значений вкладов на соответствующих интервалах) почти монотонно убывает от начала к концу периода. Это свидетельствует о нарастании пищевого лимитирования к концу периода наблюдений и согласуется с непрерывным ростом численности *B. longirostris*.

Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю профессору Леонарду Владимировичу Полищуку.

## Показатели фитопланктона озёр Славянского курорта (Украина)

Климюк Валентина Николаевна

Донецкий национальный университет, Донецк, Украина

valentina\_k@i.ua

На территории Славянского курорта расположены 4 непересыхающих солёных озера — Репное, Слепное, Вейсовое, Горячее. По своей природе они являются карстовыми, бессточными, минерализованными с обильной примесью сернокислых соединений. Степень их минерализации колеблется в течение года и в среднем составляет: для Слепного — 6 мг/дм<sup>3</sup>, Горячего — 17,5 мг/дм<sup>3</sup>, Репного — 21 мг/дм<sup>3</sup>, Вейсового — 57 мг/дм<sup>3</sup>. Озера являются источниками лечебных грязей и рапы, используемых санаториями Украины. Озера Репное и Слепное находятся под охраной как памятники природы государственного значения.

Материалом для работы послужили 109 проб воды, отобранные в период 2007–2013 гг. В фитопланктоне озёр за период исследования было определено 234 вида (252 видов и внутривидовых таксонов (ввт)) водорослей, относящихся к 7 отделам (*Cyanoprocaryota*, *Euglenophyta*, *Chrysophyta*, *Dinophyta*, *Xanthophyta*, *Bacillariophyta*, *Chlorophyta*), 32 порядкам, 56 семействам, 107 родам. Наиболее представленным в видовом отношении был отдел *Bacillariophyta* (46,8 % от общего числа видов и ввт), меньше были представлены отделы *Cyanoprocaryota* и *Chlorophyta* (22,6 % и 18,7 % от общего числа видов и ввт соответственно). Отдел *Euglenophyta* насчитывал 15 видов и ввт, а отделы *Chrysophyta*, *Dinophyta* и *Xanthophyta* были представлены 4–6 видами и ввт. Наиболее представленным в родовом отношении было семейство *Fragilariaceae* Grev. (7,5 % от общего количества родов); в видовом отношении — семейство *Oscillatoriaceae* (Kirchn.) Elenkin s. str. — 13,9 % от общего числа видов и ввт. Видовое богатство водорослей в разных озёрах было неодинаковым. Так в озере Слепное нами

было определено 150 видов и ввт, в озере Репное — 114 видов и ввт, в озере Вейсовое — 113 видов и ввт, в озере Горячее — 112 видов и ввт.

При исследовании озер был проведен количественный анализ фитопланктона. Средняя численность водорослей планктона озёр (в тыс. кл/дм<sup>3</sup>) была следующая: Горячее — 39895, Слепное — 13742, Вейсовое — 6985, Репное — 232. Наибольшая биомасса водорослей была зарегистрирована для оз. Слепное (10995 мкг/дм<sup>3</sup>), второе место занимало оз. Горячее (2246 мкг/дм<sup>3</sup>), третье — оз. Вейсовое (1809 мкг/дм<sup>3</sup>), четвертое — оз. Репное (1483 мкг/дм<sup>3</sup>).

### **Размерно-возрастная структура и линейный рост европейского хариуса (*Thymallus thymallus* L., 1758) в некоторых водотоках Вологодской области**

**Комарова Александра Сергеевна**

*Государственный НИИ озерного и речного рыбного хозяйства, Вологда, Россия*

*komarowa.aleks@yandex.ru*

Хариус европейский (*Thymallus thymallus* L., 1758) относится к широко распространенным, но малочисленным представителям рыбного населения водотоков Вологодской области. Разнообразие условий среды создает предпосылки для формирования различий в популяциях хариуса, которые проявляются через размерно-возрастную структуру, а также темпы линейного роста рыб.

Целью данного исследования являлось изучение размерно-возрастной структуры и линейного роста европейского хариуса в некоторых водотоках Вологодской области. Материалом для работы послужили сборы хариуса европейского, проведенные в реках Вага, Костюга, Еденьга, Каменка и Вожега. Всего было выловлено и проанализировано 110 разновозрастных экземпляров рыб. Биологический анализ проводился по общепринятым методикам.

В целом в водотоках отмечались особи с длиной тела от 10,5 до 37,5 см, массой от 12,6 до 582,0 г и возрастом от 1+ до 6+ лет. Средняя длина рыб в уловах отличалась незначительно и составляла в Ваге — 25,1 см, Костюге — 20,2 см, Еденьге — 16,9 см, Каменке — 16,4 см, Вожеге — 13,6 см. В то же время, средняя масса особей отловленных в Ваге была 210,5 г, Костюге — 94,9 г, Еденьге — 59,8 г, Каменке — 50,1 г, Вожеге — 34,2 г. В структуре уловов во всех исследованных водотоках большую часть составляли особи хариуса двух размерных групп — 11–12 см и 17–18 см в возрасте 3+–4+.

Темп линейного роста хариуса в разных реках практически не отличался. Это, по-видимому, свидетельствует о схожести условий обитания рыб и, в особенности, обеспеченности их кормовыми ресурсами. Так, в пищевом спектре хариуса исследованных популяций насчитывалось от 16 (Каменка) до 19 (Вага) компонентов разных систематических групп. Следует отметить, что более высокий темп линейного роста отмечался для хариуса р. Вага, а более низкий — для хариуса р. Каменка. Так, хариус из р. Вага в возрасте 3+ достигал длины 19,4 см, из р. Каменка — 17,2 см, а в возрасте 5+ — 24,8 и 20,5 см, соответственно.

Таким образом, условия обитания рыб определяют специфику основных популяционных характеристик хариуса, в особенности, размерно-возрастную структуру и темп линейного роста.

### **Современное состояние фитопланктонного сообщества в озере Светлояр (Нижегородская область)**

**Костерина Людмила Ивановна**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

*Lyudmila.kosterina@mail.ru*

Фитопланктон, как автотрофный компонент водных экосистем, первым реагирует на различные виды воздействий путём изменения видового состава и структурно-функциональных характеристик, что и определяет его важную роль в системе экологического мониторинга. В Нижегородской области к числу уникальных озерных экосистем карстового происхождения относится оз. Светлояр. Озеро является памятником природы федерального

значения и в последние годы испытывает сильную антропогенную нагрузку, что в свою очередь указывает на необходимость мониторинга состояния водоема.

Материалом для данной работы послужили пробы фитопланктона, отобранные в 2010–2011 г. с пелагической части озера с 4-х горизонтов (в период летней стратификации — поверхность, половина прозрачности по диску Секки, прозрачность и удвоенная прозрачность), а также архивные данные за 2000–2002 гг. Отбор и обработка проводилась общепринятыми в гидробиологии методами.

По результатам многолетних исследований (2000–2011 гг.) в оз. Светлояр отмечено 206 видовых и внутривидовых таксонов водорослей с преобладанием зеленых (75), диатомовых (41) и синезеленых (31). В начале 2000-х годов показатели количественного развития фитопланктона в оз. Светлояр свидетельствовали о низком уровне трофии водоема (частота встречаемости значений биомассы, характерных для олиготрофных вод, составляла 77 %). Средневегетационные значения численности и биомассы фитопланктона в озере колебались от 0,25 до 1,37 млн кл./л. и от 0,30 до 0,58 г/м<sup>3</sup> соответственно. Доминантами по биомассе, благодаря большим размерам своих клеток, являлись динофитовые водоросли (*Ceratium hirundinella* (O.F.Mull) Dujardin, виды рода *Peridinium*), при сопутствии в разные годы зеленых, золотистых и диатомовых водорослей. В современный период отмечалось изменение состава доминирующих видов, а также заметное возрастание в отдельные годы уровня количественного развития фитопланктона. Так, в 2010 году впервые за весь период исследований отмечалось массовое развитие цианобактерий, а трофический статус озера оценивался как гипертрофный. Основным доминантом выступала *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Bréb. Численность и биомасса этого вида варьировали от 0,002 млн кл./л до 246,72 млн кл./л и от 0,004 до 31,364 г/м<sup>3</sup>, соответственно. Максимальные концентрации цианопрокариотных клеток были приурочены к поверхностным горизонтам. В 2011 г. обилие планктонных водорослей снижалось (средневегетационная биомасса по горизонтам изменялась от 0,021 до 0,792 г/м<sup>3</sup>), уменьшалась ценотическая роль цианобактерий, а основной вклад в биомассу давали диатомовые и эвгленовые водоросли.

Таким образом, возрастание антропогенной нагрузки на водоем явилось одним из факторов, вызвавшим «цветение» воды потенциально токсичными видами синезеленых водорослей, что может привести к значительному ухудшению экологического состояния озера.

## **Изменчивость параметров углеродного цикла темнохвойных лесов южнотаежной подзоны Средней Сибири**

***Кошурникова Наталья Николаевна***

*Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия*

*natank1980@mail.ru*

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.

Повторная инвентаризация изучаемых насаждений показала наиболее существенное изменение запасов, как в производных березняках, так и коренных пихтарниках (18–20 %), с их перераспределением между фитомассой и фитодетритом, в сторону увеличения последнего. Перестойный 170-летний пихтарник характеризуется относительной стабильностью запасов (221,3 т С/га), что соответствует состоянию климаксовой экосистемы.

Анализ соотношения входного (CNPP) и выходного ( $\Sigma$ ССО<sub>2</sub>) потоков углерода на 2012 год показал, что при восстановлении через смену породного состава экосистемы березняков до 100-летнего возраста служат стоком ССО<sub>2</sub>, удерживая 19 и 25 % углерода, аккумулированного в продукции. Чистая экосистемная продукция (NEP) в 60- и 65-летнем древостоях составляет 0,9 и 1,3 тС/га в год, что на 20 и 94 % меньше по отношению к данным измерений 2003 года. Коренной 50-летний пихтарник стал источником ССО<sub>2</sub>, возвращая в атмосферу углерода больше на 10–25 %, в свою очередь 90-летний служит стоком 1,1 и 0,5 т С/га в год. Таким образом, на период 2012 года в изучаемых экосистемах интенсивность затрат С атмосферы на продуцирование ОВ превышает выброс в атмосферу

(березняки 60- и 65-лет, пихтарник 50 лет) или находится в состоянии, близком к равновесию, являясь небольшим источником C-CO<sub>2</sub>.

**Видовой состав и обилие водорослей в прибрежном льду губы Чупа Белого моря**  
**Кудрявцева Василиса Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*white-out@yandex.ru*

Ледовые водоросли являются важнейшим компонентом морских экосистем Арктики. Вклад криофлоры в годовую суммарную первичную продукцию арктических морей составляет в среднем 26 %. Продукция ледовых сообществ используется в пищевых цепях и играет значительную роль в глобальном цикле углерода. Наблюдаемое в течение последних десятилетий потепление Арктики ведет к уменьшению общей площади ледового покрова, его толщины и увеличению доли однолетних льдов, что может привести к изменению состава и обилия ледовой биоты. Это определило цель настоящего исследования: изучение видового состава и оценка обилия водорослей сезонных льдов Белого моря в конце ледового сезона.

Пробы льда были отобраны 26 марта 2011 г. в губе Чупа Кандалакшского залива Белого моря в районе Беломорской биостанции «Картеш» ЗИН РАН на двух станциях, расположенных в 200 м друг от друга.

В составе криофлоры до вида определено 26 водорослей, до рода — 8 водорослей. Наибольшим числом таксонов представлены диатомовые. Отмечено 4 вида динофлагеллят, присутствовали также неидентифицированные жгутиковые и коккоидные водоросли. Интегральная биомасса водорослей во льду составляла 9,8 и 4,7 мг C/м<sup>2</sup>. Более высокая биомасса выявлена на станции с ледовым покровом меньшей толщины с преобладанием льда снежного генезиса. На этой станции в нижнем 2,5-см слое биомасса криофлоры была на порядок выше, чем в других слоях и достигала 175,4 мг C/м<sup>3</sup>, что соответствует уровню цветения. На другой станции биомасса водорослей в толще льда была распределена равномерно. Наибольший вклад в интегральную биомассу на обеих станциях давала водоросль *Entomoneis kjellmanii* (Cleve) Poulin et Cardinal. Она является характерным компонентом криофлоры в Белом море, однако её доминирование во льду отмечено впервые. Впервые для беломорских льдов показан значимый вклад в биомассу криофлоры водоросли *Tryblionella gracilis* W. Smith (до 16 %). Полученные результаты свидетельствуют о значительной мезомасштабной пространственной вариабельности состава, обилия и вертикального распределения ледовых водорослей, что отмечалось ранее в Белом море и в других арктических районах.

*Автор выражает глубокую благодарность Андрею Фёдоровичу Сажину (ИО РАН) за отбор проб для работы.*

**Бактериальный перифитон литорали Кольского залива Баренцева моря**  
**Луценко Екатерина Сергеевна**

*Мурманский государственный технический университет, Мурманск, Россия*  
*inerlim@gmail.com*

Исследования бактериоперифитона литорали в настоящее время являются актуальными в связи с усилением антропогенной нагрузки на морские акватории. Цель работы заключалась в изучении сезонной изменчивости общей численности бактерий и цианобактерий на каменистых субстратах литорали Кольского залива Баренцева моря.

Исследования проводили ежемесячно с ноября 2011 по апрель 2012 годов и с октября 2012 по январь 2013 годов на трех станциях, расположенных в южном (станции 1 и 2) и среднем (станция 3) коленах залива.

Для изучения бактериоперифитона отбирали небольшие камни с нижнего горизонта литорали. В лаборатории получали суспензию перифитонных микроорганизмов. Общую численность бактерий (ОЧБ) и цианобактерий (ОЧЦБ) определяли методом люминесцентной микроскопии.

Средняя температура воды за исследуемый период была минимальна в феврале 2012 г. ( $-0,3 \pm 0,5$  °С) и максимальна в ноябре 2012 годов ( $5,7 \pm 1,4$  °С) для всех станций. Соленость воды возрастала по направлению к выходу из залива: станция 1 имела сильно опресненные воды ( $11,1 \pm 4,1$  ‰), станция 2 — солоноватые ( $20,8 \pm 3,4$  ‰), станция 3 — соленые ( $26,7 \pm 3,2$  ‰).

Наибольшие значения ОЧБ и ОЧЦБ на всех станциях отмечены в зимние периоды, наименьшие — весной и осенью, что, вероятно, связано с «выеданием» бактериальной части эпиплтона личинками обрастателей. Максимальные значения ОЧБ в перифитоне зарегистрированы на станции 2 ( $46,2 \pm 19,7$  млн. кл/см<sup>2</sup>), средние на станции 1 ( $40,4 \pm 25,9$  млн. кл/см<sup>2</sup>), минимальные на станции 3 ( $27,1 \pm 11,6$  млн. кл/см<sup>2</sup>). ОЧЦБ была наибольшей на станции 1 —  $1,5 \pm 0,9$  млн кл/см<sup>2</sup>, на станции 2 —  $0,9 \pm 0,5$  млн кл/см<sup>2</sup>, и наименьшей на станции 3 —  $0,7 \pm 0,4$  млн кл/см<sup>2</sup>.

Впервые для Кольского залива получены количественные данные о численности эпиплтонных бактерий и цианобактерий. Межсезонные колебания ОЧБ и ОЧЦБ на станции 3 не показывают таких больших разбросов изученных параметров, как на других станциях. По-видимому, это обусловлено меньшим антропогенным воздействием на данную станцию, что способствует стабильности функционирования ее сообщества бактериального эпиплтона.

### **Первые сведения о состоянии фитопланктона водоемов района Атлеки**

***Макаренкова Надежда Николаевна***

*Вологодский государственный педагогический университет, Вологда, Россия*

*makarenkova@yandex.ru*

На северо-западе Вологодской области находится место, где встречаются три мировых бассейна стока — Атлека (АТлантико-ЛЕдовитоморско-Каспийский водороздел). Это малоизученная территория. В ходе комплексных исследований района Атлеки, начавшихся с 2010 года, одной из задач стало получение сведений о состоянии гидробионтов, в том числе и фитопланктонных организмов.

Альгоценозы озер Атлеки (Купецкого, Круглого и Лайнозера) изучали на основе проб, отобранных во второй половине лета 2010 г. из поверхностного горизонта. Полученный материал фиксировали раствором Люголя. Камеральная обработка производили на базе Вологодской лаборатории ФГБНУ «ГосНИОРХ» с помощью светового микроскопа МИКМЕД-6.

Величина биомассы в озере Круглом невысока ( $0,31$  г/м<sup>3</sup>). Наибольшая доля принадлежит зеленым водорослям (представленным преимущественно колониальными формами) — 55,7 % всей биомассы, численность их заметна по сравнению с остальными группами (3,99 %), но все же значительно уступает цианобактериям (95 %). Цианобактерии, явные доминанты по численности, дают в этом озере относительно высокую численность (30050 тыс. кл/л). В основном они представлены колониями мелкогабаритного *Microcystis* P.Richt., поэтому существенной роли в биомассе не играют (10,4 %). В Лайнозере биомасса несколько выше, чем в Круглом —  $1,49$  г/м<sup>3</sup>. Здесь велика роль колониальных центрических диатомовых (28,4 % от общей биомассы), доминантной группой остаются зеленые водоросли (53,7 %). По численности эти две группы также выходят на первый план (зеленые — 48,3 %, диатомовые — 23%), немалую долю имеют и цианобактерии — 20 %. В целом численность фитопланктонных организмов в этом озере самая низкая — 17700 тыс. кл/л. Наиболее сложная структура и сравнительно высокие количественные характеристики фитопланктонного сообщества отмечены в Купецком озере. Так, средняя биомасса составляет  $5,79$  г/м<sup>3</sup>, при численности — 28500 тыс. кл/л. Основу биомассы (более 70 %) формирует комплекс зеленых водорослей, среди которых преобладают монадные формы. По численности они уступают цианобактериям, доля которых составляет 55 %. Последние представлены преимущественно нитчатными формами из рода *Anabaena* Vorn. ex Vorn. et Flah.

По предварительным данным, в исследуемых озерах Атлеки наибольшее развитие получили зеленые водоросли и цианобактерии.

## Мониторинг экологического состояния бентофауны притоков среднего и нижнего течения реки Чусовая

*Мелехин Максим Сергеевич*

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*  
*melehin-2010@yandex.ru*

Река Чусовая принимает 173 притока, в том числе и множество малых рек и ручьев. Но если большие и средние реки Пермского края изучены, то о реках длиной менее 10 км данных практически нет.

Цель работы — определить экологическое состояние притоков реки Чусовая по характеру развития бентофауны, и провести мониторинговый анализ на основе данных, полученных в предыдущие годы исследования, и материалов 2010 года.

В июле 2010 года были взяты пробы зообентоса из 23 притоков среднего и нижнего течения реки Чусовая.

В 2010 году доминирующий комплекс притоков реки Чусовая отличался большим разнообразием групп, среди которых лидируют личинки комаров-звонцов (во всех из исследуемых притоках) и подёнок различных морфологических типов (в 15 притоках).

Структура донных сообществ изменяется в зависимости от длины водотока. Доминантами в донных сообществах рек меньшей длины являются, как правило, личинки комаров-звонцов (сем. *Chironomidae*), а в реках большей длины — личинки ручейников (сем. *Hydropsychidae*).

Оценка качества воды по биологическим показателям свидетельствует об удовлетворительном экологическом состоянии большинства исследуемых притоков реки Чусовая в 2012 году.

## Микроорганизмы, ассоциированные с диатомовыми водорослями озера Байкал

*Михайлов Иван Сергеевич*

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*  
*mikhailov-89@mail.ru*

Альгобактериальные сообщества являются наиболее древними и экологически значимыми в водных экосистемах, в которых водоросли выполняют роль продуцентов органического вещества, бактерии — его потребителей, а также поставщиков в систему витаминов группы В и биодоступных комплексов железа. Для озера Байкал характерен весенний (май-июнь) максимум развития фитопланктона с доминированием диатомей — микроводорослей, синтезирующих 20 % первичной продукции органического вещества на Земле. Цель работы — исследовать численность, пространственное распределение и таксономический состав микроорганизмов, ассоциированных с диатомеями озера Байкал.

Пробы воды и фитопланктона отбирали в пелагиали озера в июне 2012 г и анализировали методами световой, эпифлюоресцентной, сканирующей электронной микроскопии. Диатомей культивировали в минеральной среде DM, бактерий на диатомовом (гидролизат диатомей) и рыбопептонном (разведенном десятикратно) агаре, идентификацию бактерий проводили секвенированием фрагментов гена 16S рРНК.

В результате исследований показано, что в составе фитопланктона Южного и Среднего Байкала доминирующим видом был *Synedra acus subsp. radians*, единично встречались *Aulacoseira baicalensis*, *A. islandica*, в Северном Байкале — *A. baicalensis*. Численность микроорганизмов, ассоциированных с диатомеями, в поверхностном слое воды (0 м) составляла 0,02–2,5×10<sup>3</sup> кл./мл, в слое воды 0–25 м — 0–3,8×10<sup>3</sup> кл./мл. В сравнении с Южной и Средней котловинами озера, в Северном Байкале выявлено наибольшее количество гетеротрофных бактерий и бактерий-спутников диатомей (40–2000 КОЕ/мл и 4–1250 КОЕ/мл, соответственно), с максимумами численности на глубинах 10 и 20 м. В Южном Байкале (0–230 КОЕ/мл и 0–46 КОЕ/мл, соответственно) и Среднем Байкале (13–520 КОЕ/мл и 2–108 КОЕ/мл, соответственно) максимумы численности бактерий отмечены в поверхностном слое воды (0 м), на некоторых станциях на глубине 10 м и 25 м. Выявлено, что с диатомеями *Achnantidium sibirica*, *Asterionella formosa*, *Fragillaria capucina* ассоциированы микроорганизмы, относящиеся к филотипам *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Cyanobacteria*, которые принадлежат

к родам *Pseudomonas*, *Janthinobacterium*, *Burkholderia*, *Hydrogenophaga*, *Flavobacterium*, *Pedobacter*, *Nocardioides*.

### **К изучению гидробионтов озера Большое Токо (юго-восток Республики Саха)**

***Нигаматзянова Гульнара Ришатовна<sup>1</sup>, Фролова Лариса Александровна<sup>1</sup>,***

***Пестрякова Людмила Агафьевна<sup>2</sup>***

<sup>1</sup> *Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия*

<sup>2</sup> *Северо-Восточный федеральный университет им. Аммосова, Якутск, Россия*

*gulnaraniga@mail.ru, larissa.frolova@mail.ru, lapest@mail.ru*

Изучение зоопланктона, одного из важнейших компонентов водных экосистем, необходимо для установления их уровня развития и функционирования в природной среде. Озеро Большое Токо — самое глубокое в Республике Саха (Якутия) — является огромным хранилищем питьевой воды. Озеро расположено в 15–30 км от Эльгинского угольного месторождения Южно-Якутского каменноугольного бассейна, одного из самых крупных месторождений угля в России. В связи с активным освоением залежей угля, увеличения техногенного и антропогенного воздействия на водные экосистемы, для гидрологов и гидробиологов наибольший интерес представляют уникальные и практически неизученные экосистемы данного озера. В 2011 г. в ходе рекогносцировочного исследования озера Большое Токо были впервые взяты пробы зоопланктона с поверхности водоема. В ходе исследований была выявлена группа доминантных видов из 6 видов организмов, из которой абсолютными доминантами были ветвистоусый рачок *Bosmina longispina* (Leydig, 1860) и коловратка *Kellicotia longispina* (Kellikot, 1879). Оба доминантных вида по зоогеографической классификации принадлежат к северным видам. Из ветвистоусых ракообразных обнаружены также: эвритермные *Daphnia longispina* (Muller, 1785), *Alona affinis* (Leydig, 1860) и широко распространенная *Syda crystallina* (Muller, 1776). Из веслоногих ракообразных доминировал обычный компонент зоопланктона озер рачок *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857), а также науплиальные и копеподитные стадии веслоногих ракообразных. Таким образом, по зоогеографической характеристике доминировали по численности, биомассе и встречаемости виды с голарктическим и палеарктическим распространением. Значение численности и биомассы зоопланктона были высокими и составили 155 тыс. экз./м<sup>3</sup> и 2,2 г/м<sup>3</sup> соответственно. По индексу сапробности Пантле и Букка в модификации Сладечека, водоем является олигосапробным (1,42); по индексу сапробности Зелинки и Марвана озеро относится к олигосапробной зоне с отклонением в β-мезосапробную зону.

В виду активного освоения Эльгинского каменноугольного месторождения и строительства объектов Эльгинского угольного комплекса, особенно остро встает вопрос изучения водных экосистем озера и прилегающих горно-таежных экосистем в целом.

### **Фауна низших ракообразных (Cladocera, Copepoda) внутренних водоёмов Исландии**

***Новичкова Анна Александровна***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*anna.hydro@gmail.com*

В Исландии исследования фауны пресноводных Cladocera и Copepoda охватывают, в основном, крупные озера и реки. Однако гидробионтам, населяющим многочисленные малые и временные водоемы острова, внимание практически не уделялось. В связи с этим, в настоящее время данные о составе низших ракообразных острова являются фрагментарными. Цель данной работы — анализ видового состава и структуры сообществ низших ракообразных малых водоёмов Исландии, а также подготовка общего видового списка Cladocera и Copepoda острова на основе литературных и оригинальных данных.

Материалом для работы послужили пробы, собранные в 12 водоёмах из различных частей Исландии в период с 12 по 28 июня 2012 года. Для всех водоёмов были составлены краткие описания. Пробы собирали по стандартным гидробиологическим методикам.

На данный момент, фауна Исландии представлена 35 видами Cladocera и 34 видами Copepoda. В материалах 2012 года найдено 28 видов, из них 6 обнаружены на острове впервые (*Daphnia cristata*, *Alona werestschagini*, *Heterocope appendiculata*, *Cyclops vicinus*, *Diacyclops abyssicola* и *Bryocamptus zschokkei*). Анализ полученных фаунистических списков позволил выделить характерные таксоны низших ракообразных. Из них три основных представлены в большинстве исследованных водоёмов и распределены в соответствии с типом донного субстрата (песчано-илистый: *Chydorus* cf. *sphaericus* — *Bosmina* cf. *longispina*, илистый: *Diaptomus rostripes*, каменистый: *Cyclops* sp.). Кроме того, выделены два уникальных таксона, встречающиеся только в единичных водоёмах. Специфика видовой структуры таксонов этих двух типов, по-видимому, вызвана составом водной растительности, высотой водоёма над уровнем моря, а также влиянием расположенных неподалеку гнездовых поморников.

Анализ биогеографической структуры фауны Исландии показал, что ее основную часть составляют голарктические виды и космополиты с большой площадью ареалов и обитающие в широком спектре биотопов, также многочисленны палеарктические виды. Кроме того, вследствие близкого положения к Неарктическому региону Исландия является западной границей распространения для некоторых неарктических видов, таких как *Leptodiptomus minutus* и *Erectophanes muscicola*.

### **Состав и структура фитопланктона малой реки урбанизированного ландшафта (г. Нижний Новгород)**

**Перминова Ольга Сергеевна**

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия  
olga-olga175@rambler.ru*

Для малых рек урбанизированных территорий характерна большая изменчивость гидрологических и гидрохимических характеристик, зависящих от климатических условий и хозяйственной деятельности человека. При оценке качества вод таких водотоков широко используются альгологические показатели.

Отбор проб осуществлялся с мая по октябрь 2011 г. на трех биотопически неоднородных станциях р. Левинки с разной скоростью течения. Обработка материала проводилась по общепринятым в альгологии методикам.

По результатам исследований 2011 г. в фитопланктоне р. Левинки было найдено 99 видовых и внутривидовых таксонов водорослей из 8 отделов, 10 классов, 17 порядков и 31 семейства. По числу таксонов лидировали зеленые (43,4 % от общего числа таксонов), диатомовые (25,3 %) и эвгленовые водоросли (12,1 %). Средние за вегетационный период показатели биомассы (1 ст. — 1,74 г/м<sup>3</sup>; 2 ст. — 1,12 г/м<sup>3</sup>; 3 ст. — 1,0 г/м<sup>3</sup>) характеризовали р. Левинку как слабопродуктивный мезотрофный водоток. Максимальные значения биомассы были зафиксированы на 1 станции (верховье, слабопроточный участок) в середине июля (4,19 г/м<sup>3</sup>) при доминировании *Trachelomonas volvocina* Ehr., и в середине октября (5,3 г/м<sup>3</sup>) с преобладанием *Synura sphagnicola* (Korsh.) Korsh. и *Synedra ulna* (Nitzsch.) Ehr., дававших 73,4 % и 17,4 % общей биомассы, соответственно. Высокая доля мелкоклеточных форм (80–86 %) в общей биомассе фитопланктона на всех станциях характеризовала данный водоток как нестабильную экосистему с преобладанием г-стратегов, имеющих небольшие размеры, короткий жизненный цикл и высокую скорость оборота биомассы. Доля колониальных форм на текучих участках реки (1 и 2 ст.) была низкой (4–6 %), тогда как в лимнических условиях запруженного участка (3 станция) достигала 11–14 %. Организмы с монадной организацией таллома (в основном — представители отдела *Euglenophyta*) присутствовали в большем количестве (23–35 %). Превалирование в течение всего периода исследований эвгленовых водорослей (*Trachelomonas intermedia* Dang., *T. volvocina*, *Euglena limnophila* Lemm) обусловлено природными особенностями территории водосбора (значительное увлажнение, заболоченность). Зелено-диатомово-эвгленовый характер альгофлоры р. Левинки свойственен большинству водотоков европейской части России, водосбор которых в значительной степени залесен и заболочен. Т.о., состав и структура фитопланктона реки определяется факторами

ландшафтной природы с заметным воздействием гидрологического режима (зарегулированные и проточные участки).

Поддержано грантом РФФИ, проект № 12-04-00-878/12.

## **Экологические особенности альгофлоры р. Северский Донец (Украина)**

**Петраева Марина Юрьевна**

Институт ботаники им. М.Г. Холодного НАН Украины, Украина, Киев  
mari\_om@land.ru

Река Северский Донец является самой крупной рекой восточной Украины и наиболее крупным притоком Дона. По течению реки располагаются многие промышленные предприятия, поэтому ее экосистема находится под непрерывным антропогенным прессингом. Целью работы было определение видового разнообразия альгофлоры р. Северский Донец, экологических особенностей и сезонной динамики видового состава водорослей, анализ уровня сапробности реки.

Материалом послужили более 160 альгологических проб, собранных в среднем течении реки в 2009–2012 гг. Сбор материала проводили общепринятыми методами. Пробы изучали в живом и фиксированном состоянии на световых (МБР-3, МБИ-3) и электронном микроскопах.

В результате альгологического анализа в сообществах фитопланктона р. Северский Донец определено 152 вида водорослей четырех отделов: *Cyanoprokaryota* (17 видов), *Euglenophyta* (3 вида), *Bacillariophyta* (83 вида), *Chlorophyta* (49 видов). Семейства *Oscillatoriceae* (Kirchn.) Elenkin, *Fragilariaceae* Grev, *Naviculaceae* Kutz., а также *Scenedesmaceae* Oltm. показывают наибольшее видовое разнообразие. Ведущий комплекс видов формировали *Merismopedia prunctata* Meyen in Wiegmann, *Fragilaria tenera* (W. Sm.) Lange-Bert., *Synedra acus* Kutz. В среднем течении р. Северский Донец формировался диатомово-протококковый комплекс. Полученные данные говорят о значительном участии сапрофитных организмов. Таким образом, можно предположить, что в реке усилены процессы эвтрофикации.

По результатам экологического анализа водорослей вода в р. Северский Донец имеет спокойный характер, является нейтрально-слабощелочной с умеренным температурным режимом. Результаты количественного анализа фитопланктона р. Северский Донец показали, что наибольшей численностью и биомассой характеризуется отдел *Chlorophyta* (38436,75 кл/дм<sup>3</sup>, 4,65868 мг/дм<sup>3</sup> соответственно). Второе место по численности занимает отдел *Cyanoprokaryota* (6149,88 кл/дм<sup>3</sup>, 0,2541 мг/дм<sup>3</sup>), а по биомассе — отдел *Bacillariophyta* (5124,9 кл/дм<sup>3</sup>, 1,2915 мг/дм<sup>3</sup>). Численность отдела *Euglenophyta* невысока.

Биоиндикационный анализ состава альгофлоры показал, что индекс сапробности составляет 2,06 и исследованная часть реки относится к β-мезосапробной зоне (зоне умеренного загрязнения), что соответствует III классу качества воды.

## **Индексы зараженности морских звезд *Asterias rubens* копеподами *Scottomyzon gibberum*, в условиях различной антропогенной нагрузки**

**Поромов Артем Андреевич**

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
aap1309@gmail.com

В условиях усиливающегося негативного воздействия на природные экосистемы особую актуальность приобретает проблема оценки состояния окружающей среды и его изменения во времени — экологическая диагностика. Теоретической основой экодиагностики служит совместный анализ состояния биотической и абиотической компонент экосистемы.

Цель работы — поиск биоиндикаторов, адекватно отражающих изменения в окружающей среде и отвечающих ряду выдвигаемых современной системой экологической диагностики требований: широкое распространение и достаточно высокая численность, высокая чувствительность, точность реакции, минимальные затраты на таксономическое определение и получение экологической информации. Одним из методов биоиндикации качества морской среды может служить симбиотический метод. Учет симбионтов позволяет получать достоверную информацию о качестве среды: так как многие симбионты более чувствительны

к изменениям внешней среды, то степень интенсивности и экстенсивность инвазий напрямую зависит от условий существования популяция хозяев.

Сбор материала производился в течение вегетационного периода с мая по октябрь 2012 года с 11 точек по акватории Кандалакшского залива Белого моря с глубин от 1 до 15 метров. На поверхности массового литорального вида морских звезд *Asterias rubens* производили подсчет численности самок третьей копеподитной стадии паразитирующих копепод рода *Scottomyzon*. Одновременно измерялась температура воды и воздуха, солёность, проводился химический анализ донный осадков.

Выявлены особенности размерной структуры морских звезд, особенности размерной, возрастной и репродуктивной структуры копепод. Показана зависимость заселенности копеподами от гидрохимических факторов среды.

По значениям индексов заселенности выделяются точки у Половых островов, в Бабьем море и в Черной речке. Можно предположить, что это связано со степенью антропогенного воздействия. Точка у Половых островов, наиболее приближенная к куту Ругозерской губы, и верховья Чернореченской губы характеризуются повышенной антропогенной нагрузкой за счет хозяйственной деятельности и использования маломерных судов. Бабье море за счет гидрологических особенностей и рельефа береговой линии характеризуется высокой интенсивностью аккумуляции веществ, в том числе и загрязняющих, поступающих сюда с одной стороны из пос. Пояконда, с другой из г. Кандалакша.

### **Развитие бактерий во льду и подледной воде в ранневесенний период**

***Романова Надежда Дмитриевна***

*Институт океанологии им. П.П.Шуринова РАН, Москва, Россия*

*Romanova-Nadya@yandex.ru*

В работе представлены результаты наблюдений за развитием бактериального населения льда и подледной воды в ранневесенний период. Исследования проводили в окрестностях Беломорской биологической станции ЗИН РАН (губа Чупа) с 27 марта по 6 апреля 2011 г. Обилие микроорганизмов во льду и подледной воде определяли с помощью люминесцентной микроскопии, используя краситель DAPI. Продукцию бактерий определяли прямым методом с использованием антибиотиков-ингибиторов бактериального роста.

Во льду максимальные колебания бактериального обилия (76–383 тыс.кл./мл) наблюдались в нижнем 2,5-сантиметровом слое, где средние значения концентрации клеток были в 2 раза больше, чем в других слоях льда. В воде максимальные значения численности были отмечены на горизонте 0,5 м:  $420 \pm 128$  тыс.кл./мл, они превышали значения этого показателя в нижележащих водах (1–10 м) более чем в 2 раза. Сходная картина наблюдалась и для распределения биомассы бактерий.

Динамику продукционных характеристик микроорганизмов мы исследовали 2–6 апреля — в период начала «цветения» ледовых водорослей. За эти несколько дней величина бактериальной продукции во льду в разных слоях выросла в 1,2–2,2 раза, при колебаниях от 1,5–10,8 мгС/м<sup>3</sup>сут. Активность бактерий (P/B-коэффициент) во льду в конце периода наблюдений увеличилась в два раза по сравнению с ее начальным значением (1,5 и 0,7 сут<sup>-1</sup> соответственно). В воде максимальные значения продукции микроорганизмов были отмечены в эвфотическом слое (3,8–17,7 мгС/(м<sup>3</sup>сут)), что более чем в 6 раз превышало значения, отмеченные в нижележащих водах. Несмотря на существенный рост продукции бактерий в период наблюдений, величина их активности в эвфотическом слое оставалась стабильной (1,1–1,2 сут<sup>-1</sup>).

Таким образом, в период развития «цветения» микроводорослей во льду и подледной воде наибольшая активность бактерий наблюдалась в областях интенсивного развития первичных продуцентов: на нижней кромке льда и в эвфотическом слое. Временные масштабы значительных колебаний продукционных характеристик микроорганизмов в этот период измерялись сутками.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-05-00360.*

**Зоопланктонные сообщества реликтовых озер в бассейне озера Кроноцкое**  
**Соколова Агния Михайловна, Абызова Галина Анатольевна, Лавров Андрей Игоревич**  
*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*enfado@ya.ru*

Озеро Кроноцкое находится в восточной части полуострова Камчатка, на территории Кроноцкого биосферного заповедника. Озеро относится к водоемам подпрудного типа, оно возникло в результате перекрытия русла реки Палеокроноцкая продуктами извержения вулканов Кроноцкий и Крашенинникова в конце позднего плейстоцена. В прибрежной части озера находится множество мелких реликтовых озер, которые образовались в результате постепенного понижения уровня воды в озере Кроноцкое.

Летом 2011 и 2012 годов нами были взяты качественные зоопланктонные пробы на четырех реликтовых озерах. Озера выбирались по результатам исследования спутниковых снимков. Среди исследованных озер были как полностью отделившиеся от основной акватории Кроноцкого озера водоемы, так и сообщающиеся с ним эпизодически (во время половодий). Каждое озеро имеет особый температурный режим и гидрохимический состав.

Реликтовые озёра, не связанные с Кроноцким озером даже в период половодий, обладают своей отличающейся от материнского водоёма структурой зоопланктонных сообществ. В них встречаются и довольно многочисленны виды, отсутствующие в озере Кроноцкое — *Chaoborus sp.* (Chaoboridae) и представители Ostracoda. Кроме того, эти озера отличаются доминирующим видом зоопланктона: им является *Leptodiptomus angustilobus*. В озере Кроноцкое доминирует *Cyclops scutifer* (в реликтовых озерах этот вид также встречается, но немногочисленен). Озера прилежащих территорий вокруг озера Кроноцкое, периодически сообщающиеся с основной акваторией, населены сходным с ним зоопланктоном.

Таким образом, особые гидрохимические условия и температурный режим в реликтовых озерах, полностью отделенных от материнского озера, повлиял на состав и соотношение видов в их зоопланктонных сообществах. С другой стороны, наличие даже эпизодической связи с основной акваторией нивелирует действие особых условий в реликтовом озере, и зоопланктонное сообщество имеет тот же состав, что и в озере Кроноцкое.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-31206 мол а «Роль ключевых факторов среды в микроэволюции внутривидовых группировок озерной нерки оз. Кроноцкое».*

**Закономерности влияния наночастиц серебра на рост микроводорослей**  
**Спиркина Наталья Евгеньевна**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*natus25@list.ru*

Благодаря хорошо известному антибактериальному эффекту серебра, его наночастицы широко используются, поэтому их попадание в водную среду неизбежно. Поэтому особенно важно обладать информацией о токсичности наночастиц серебра для гидробионтов и их поведении в водных экосистемах. Целью данной работы стало определение влияния коллоидного серебра на рост культур хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Monoraphidium arcuatum*.

Водоросли выращивали с соблюдением стандартных условий в пенициллиновых пузырьках с 10 мл среды и в колбах с 50 мл среды. В качестве токсиканта использовали коллоидное серебро с размером частиц 17–33 нм, которое однократно добавляли в культуры при постановке эксперимента в концентрации 0,1 мг/л. Численность клеток определяли в камере Горяева под световым микроскопом, соотношение живых и мертвых клеток оценивали с помощью метода люминесцентной микроскопии.

Коллоидное серебро вызывало быструю гибель основной части популяции у обоих видов водорослей (около 90 % за первые сутки), однако через определенное время численность клеток начинала восстанавливаться. Так, у *Sc. quadricauda* это происходило после 20 суток при росте в пенициллиновых пузырьках и после 40 при росте в колбах, в то время как у *M. arcuatum* восстановление численности было отмечено уже после 9 и 17 суток, соответственно.

Возможно, что восстановление культуры происходит в результате связывания и осаждения частиц серебра погибшими клетками. В пользу такого допущения свидетельствует начало восстановления культуры со временем, когда уровень серебра опустится до недействующего порога. Не исключена также возможность адаптации культуры за счет сохранившихся устойчивых особей. Оба допущения нуждаются в дальнейшей проверке.

Таким образом, утилизация коллоидного серебра в окружающей среде является достаточно длительным процессом и влияет на нормальное функционирование первичных продуцентов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-02-31782 мол\_а.*

### **Изучение донной фауны городских и пригородных озер Якутска Татаринова Айталиа Владимировна<sup>1</sup>, Салова Татьяна Александровна<sup>2</sup>**

*Академия наук Республики Саха (Якутия)<sup>1</sup>,*

*Якутский научный центр СО РАН<sup>2</sup>, Якутск, Россия*

*aita\_bgf@mail.ru<sup>1</sup>, t.a.salova@prez.ysn.ru<sup>2</sup>*

Мониторинговые наблюдения донной фауны городских и пригородных озер были начаты в 1985 году и продолжаются до настоящего времени. Наблюдения производились по фиксированной сетке станций на 6 городских (Ытык-Кель, Соленое, Белое, Сергелях, Хатынг-Юрях, Сайсары) и 4 пригородных озерах (Безымянное на 15 км Вилюйского тракта, оз. Безымянное на Покровском тракте, оз. Безымянное на 9 км Маганского тракта, оз. Безымянное на 12 км Маганского тракта).

Сбор материала проводился еженедельно в период открытой воды (июнь-сентябрь) (всего около 100 проб). При сборе и обработке проб использовались единые, общепринятые в гидробиологии методы.

В составе зообентоса исследованных озер выявлено 17 таксономических групп донных беспозвоночных. По численности доминировали личинки хирономид, олигохеты, бокоплавцы, моллюски — на их долю приходится 86,11 %. Второстепенное положение занимают пиявки, мокрицы, клопы, пауки, жуки, личинки стрекоз, личинки ручейников — на их долю приходится 12,96 %. Остальные представители донной фауны встречались единично, их доля составляет 0,93 %. Пик численности и биомассы приходится на сентябрь (показатели численности 892,73 экз/кв.м; биомасса 36,78 г/кв.м), минимальные показатели отмечены в июле (показатели численности 583,03 экз/кв.м; биомасса 16,78 г/кв.м). Это связано с особенностями жизненного цикла водных беспозвоночных — в июле происходит массовый вылет основного компонента донных биоценозов. В сентябре происходит увеличение численности и биомассы за счет появления новых поколений.

Видовой состав зообентоса озер, расположенных в черте города, беден: встречаются 2–3 таксономические группы беспозвоночных. Это наиболее адаптированные к загрязнению организмы (олигохеты, личинки хирономид и брюхоногие моллюски), которые способны выдерживать недостаток кислорода, большое количество сероводорода и высокие концентрации органических веществ. Богатое видовое разнообразие и высокие количественные показатели донной фауны отмечены в озерах, наиболее отдаленных от города, здесь отмечены наивысшие показатели численности.

Таким образом, озера, расположенные в черте города Якутска, относятся к классу загрязненных, пригородные водоемы — к классу условно чистых.

### **Влияние кратковременного облучения светодиодной матрицей красного света на *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb.**

*Тригуб Анатолий Григорьевич, Спиркина Наталья Евгеньевна*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*morflot9@rambler.ru*

Управление фотосинтезом является наиболее эффективным способом воздействия на продуктивность растительных организмов, как наземных, так и водных. Рядом

исследователей было показано, что растения способны нормально расти под воздействием светодиодного излучения, важной особенностью которого является распределение света в пределах 450–500 нм и 630–700 нм. Эти диапазоны имеют решающее значение для нормального роста растительных клеток, так как они попадают в длинноволновую (красную) область спектра, являющуюся основным источником энергии для фотосинтеза.

Целью настоящего исследования было определить воздействие кратковременного облучения красным светом на культуру хлорококковых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*. Водоросли выращивали на среде Успенского №1 с соблюдением стандартных условий. Испытания проводили в пенициллиновых пузырьках с 10 мл среды. В качестве источника света использовали светодиодную матрицу в режиме облучения:  $\lambda = 650$  нм, мощность 200 мВт, интенсивность 0,9 мВт/см<sup>2</sup>, ширина полосы спектра — 21 нм. Облучение проводили однократно при постановке эксперимента в течение 0,1, 1 и 60 секунд. Численность клеток определяли в камере Горяева под световым микроскопом с определенной периодичностью в течение 30 суток. Испытания проводили дважды, в осенний (12.11–12.12.2012) и зимний (16.01–16.02.2013) периоды.

На протяжении 11 суток первого эксперимента численность клеток во всех облученных культурах была достоверно выше, чем в контрольной, однако после 17 суток относительная численность клеток в этих культурах стала снижаться, и на 30 сутки была более чем на 25 % ниже, чем в контроле. Во втором эксперименте развитие облученных культур водорослей происходило в пределах контроля в течение 20 суток, после чего относительная численность в культурах, подвергшихся облучению в течение 1 и 60 секунд, возросла относительно контроля на 25 %. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что кратковременное облучение красным светом оказывает воздействие на развитие культуры *Sc. quadricauda*. В зависимости от сезонного состояния культуры, облучение может вызывать сначала стимуляцию роста, а потом угнетение, либо приводить к долговременному и стойкому увеличению численности клеток в культуре.

## **Синезеленые водоросли, вызывающие «цветение» воды в Куйбышевском водохранилище**

***Шагиева Дина Артуровна***

***Студент***

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*dina-shagieva91@mail.ru*

Проблема эвтрофирования водных экосистем, которая приводит к «цветению» воды, на сегодня чрезвычайно актуальна. Многолетний мониторинг и изучение закономерностей структурных флуктуаций синезеленых водорослей, вызывающих «цветение» воды, в условиях нестабильного уровня режима Куйбышевского водохранилища, позволяют выявить их причины и установить механизмы уменьшения их негативных последствий.

В данном сообщении приведены результаты исследований синезеленых водорослей Куйбышевского водохранилища в вегетационные периоды в 2010-2011 гг. Отбор и камеральную обработку проб фитопланктона проводили согласно общепринятым методам.

Как показали исследования, наибольшее видовое разнообразие характерно для летне-осеннего периода. Основной вклад в общую численность и биомассу во всех исследованных участках вносили синезеленые водоросли родов *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Microcystis* (от 71 до 88 %). В 2011 г. также довольно многочисленен был вид *Oscillatoria planctonica*. Во всех пробах количественно преобладали одни и те же виды синезеленых, менялись лишь соотношения между ними.

Также были получены средняя численность и биомасса синезеленых водорослей в вегетационный период, которые составляли в 2010 г. 89,39 млн кл/л и 7,41 мг/л, в 2011 г. 82,12 млн кл/л и 7,79 мг/л. Это очень высокие показатели для средних значений Куйбышевского водохранилища. Такие высокие показатели синезеленых водорослей в 2010 г. объясняются аномально теплыми погодными условиями и чрезвычайно низким уровнем воды со слабым течением. В 2011 г., сказывались последствия 2010 г., а также интенсивный и концентрированный смыв с берегов. В водохранилище в этом году поступало много стоков,

содержащие соединения азота и фосфора. В 2011 гг. наблюдались превышения ПДК по железу и марганцу (3–4 ПДК), никелю (1–2); цинку, свинцу, кадмию и ртути (1–1,5), фенолу (1,5–2 ПДК).

## **Современное состояние фитопланктонного сообщества правого волжского притока — р. Кудьмы**

***Шарагина Екатерина Михайловна***

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия  
ajugareptans@mail.ru*

Изучение альгоценозов малых рек бассейна р. Волги является актуальным, так как позволяет дать экспресс-оценку экологической ситуации в условиях увеличения степени антропогенного эвтрофирования при зарегулировании стока. Целью исследования стала оценка экологического состояния р. Кудьмы по основным структурным характеристикам фитопланктона. Материалом послужили сборы фитопланктона, отобранные в период 2009–2011 гг. Всего была собрана и проанализирована 71 проба. Также для анализа в работе были использованы литературные (1966–1975 гг.) и архивные (1985–2004 гг.) данные кафедры ботаники ННГУ. Качественная и количественная обработка материала проводилась на базе кафедры ботаники ННГУ. Концентрирование проб проводили седиментационным (осадочным) методом с последующей декантацией. Для количественной обработки фитопланктона использовалась счетная камера Нажотта объемом 0,01 см<sup>3</sup>.

По результатам исследований 1966–2011 гг. в общем составе фитопланктона р. Кудьма было обнаружено 544 видовых и внутривидовых таксона, а также определённые до рода водоросли из 9 отделов. В период до зарегулирования р. Волги в альгофлоре отмечалась пропорция “зелёные — диатомовые — эвгленовые”. В первое десятилетие после зарегулирования выявлено заметное снижение роли эвгленовых (с 7,6 до 3,8 %) и возрастание вклада цианобактерий (с 9,3 до 11,3 %). В современный период пропорция флоры растительного планктона р. Кудьмы остаётся схожей и характеризуется как “зелёные — диатомовые” с практически равным вкладом синезелёных и эвгленовых. В многолетней динамике биомассы наиболее высокие ее величины (до 45 г/м<sup>3</sup>), характерные для эвтрофных вод, отмечались в первое десятилетие после зарегулирования. В современный период отмечено снижение трофического статуса водотока до олиготрофного — слабomezотрофного уровня. Сапробиологический анализ характеризовал р. Кудьму как  $\beta$ - $\alpha$ -мезосапробный водоток с III-IV классом качества воды (умеренно-загрязнённые — грязные).

## Подсекция «ЗООЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ»

### Специфика таксоценов жужелиц на урбанизированной территории

(на примере города Калуги)

*Александр Виктор Валентинович*

*Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского*

*victor\_alex@list.ru*

Жужелицы являются одной из наиболее популярных модельных групп наземных беспозвоночных в экологических исследованиях. Немало публикаций посвящено жужелицам городов. Однако представление о структуре сообществ остается слабо сформированным.

Материалом послужили сборы 2003–2011 гг. при помощи ловушек Барбера. Обработано 40 выборок, собранных на пробных площадях с древесной растительностью (лесных биотопах), луговых биотопах, сельскохозяйственных участках (садах) и дворах. Городские карабидокомплексы сравнивались с таксоценоми коренных растительных сообществ Калужской области (лесов).

Видовое богатство жужелиц в городских биотопах значительно выше, чем во всех типах леса Калужской области (среднее число видов  $50,6 \pm 1,8$ , размах 24–72 вида). Самое высокое видовое богатство складывается в садах ( $59,3 \pm 2,9$ ). В лесных биотопах города видовое богатство находится на том же уровне, как в широколиственных лесах вне урбанизированных территорий, превосходя ельники, сосняки и березняки. Но в городских биотопах 24–60 % видов представлено единичными особями. По отношению числа единичных видов к общему числу видов городские таксоцены превосходят карабидокомплексы лесов Калужской области, кроме березняков. По исключению единичных видов видовое богатство городских таксоценов выходит на уровень широколиственных лесов.

Таксоцены садов обладают высокой выравненностью и полидоминантностью. В лесных и луговых биотопах города выравненность и полидоминантность находится на том же уровне, что в лиственных лесах вне урбанизированных территорий. В городских биотопах формальными доминантами являются 2–8 видов жужелиц, что сближает их как с широколиственными, так и с производными лесами.

Ранговые распределения видовых обилий в большинстве таксоценов Калуги приближаются к логнормальной модели с заметным (в 1,5–2,5 раза) отрывом нескольких доминантов от прочих членов таксоценона. При этом более крупные лесные и луговые сообщества лучше соответствуют логнормальной модели, чем дворы и газоны. Вне города такое распределение характерно для березняков, сосняков и ельников, хотя встречается и в широколиственных лесах. В большинстве таксоценов садов и некоторых дворов обнаруживается распределение без отрыва доминантов, близкое к геометрической, логарифмической или логнормальной модели, что неожиданно сближает сады с малонарушенными широколиственными лесами.

Наличие в каждом таксоцене зоофагов стратобионтов поверхностно-подстилочных, подстилочных и подстилочно-почвенных, эпигеобионтов ходящих сближает городские биотопы с широколиственными лесами, а наличие миксофитофагов — с березняками. Высокое обилие миксофитофагов, зоофагов геобионтов и эпигеобионтов бегающих делает спектр жизненных форм в городских биотопах более разнообразным. Вместе с тем в городских таксоценонах кодоминирование видов одной жизненной формы — стратобионтов зарывающихся — наблюдается чаще, чем в широколиственных лесах. Напротив, кодоминирование стратобионтов скважников в городе встречается реже, чем в лесах.

## **Иммунологическое распознавание в отторжении трансплантата у иглокожих на примере *Asterias rubens* L.**

**Алисейчик Мария Павловна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*takaia-ia@mail.ru*

Иглокожие в силу своего систематического положения представляют особый интерес в изучении эволюции иммунно-защитных реакций. Ключевой проблемой в характеристике их иммунитета является проблема специфичности ответа и распознавания «свой-чужой». Специфическое иммунное распознавание у млекопитающих происходит благодаря наличию молекул МНС и Т-клеток. У иглокожих не обнаружены МНС и аналоги Т-клеток, но основную роль в иммунно-защитных реакциях, как предполагается, играют лейкоциты (амебоциты, фагоциты), представленными достаточно полиморфной целомической популяцией. Реакции тканевого иммунитета иглокожих в литературе практически не охарактеризованы. В опыте представителям видов *Asterias rubens* и *Urasterias lincki* были произведены внутривидовые и межвидовые пересадки фрагментов стенки тела. Нами предпринято изучение реакции заживления сквозного повреждения стенки тела (в том числе, после автотомии) и отторжения её пересаженного фрагмента. Показано, что форма и расположение сквозных повреждений стенки тела *Asterias rubens*, помимо размера повреждений, определяют принципиальную возможность и скорость их заживления. С другой стороны, получены данные о наличии механизмов распознавания, проявляющихся в изменении скорости отторжения контрольного, алло- и ксенотрансплантатов. Полученные данные свидетельствуют о наличии у иглокожих системы иммунологического распознавания, однако реализована она может быть наиболее вероятно посредством целомоцитов.

## **Видовое разнообразие коротконадкрылых жуков (Coleoptera: Staphylinidae) в пойме реки Большая Кокшага**

**Бастраков Александр Иванович**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*  
*aibastrakov@gmail.com*

Целью данной работы является выявление видового разнообразия коротконадкрылых жуков в долине реки Большая Кокшага. Материалом послужили полевые сборы, проведенные с мая по сентябрь 2010–2012 гг в Республике Марий Эл на территории заповедника «Большая Кокшага». Выбранные пробные площади располагались вдоль профиля, пересекающего речную долину р. Б. Кокшага от песчаных пляжей до хорошо сформированных биоценозов центральной поймы и надпойменной террасы.

Основным методом сбора стафилинид были почвенные ловушки Барбера, в качестве которых были использованы пластиковые стаканчики емкостью 0,5 л, на 1/3 заполненные 4%-ным раствором формалина. Жуков также собирали вручную и с помощью энтомологического сита.

В результате проведенных исследований было собрано 8977 экземпляров стафилинид (207 видов).

Наиболее высокие показатели динамической плотности, а также видового богатства стафилинид зарегистрированы в прирусловой пойме р. Б. Кокшага. Во время весеннего половодья, когда пляжный участок был затоплен, максимум динамической плотности стафилинид отмечен на первом прирусловом валу. После спада половодья высокий показатель динамической плотности смещается в пляжную зону. На данных участках присутствуют, главным образом, гигрофильные виды.

На лесных пойменных участках (от второго прируслового вала до тыловой части поймы) были отмечены невысокие показатели динамической плотности стафилинид. Пик их активности приходился на конец мая – начало июня. К концу вегетационного сезона наблюдалось планомерное снижение обилия стафилинид. Видовой состав стафилинид и основные массовые виды на всех обследованных лесных пойменных участках мало отличались друг от друга, что говорит о сходстве экологических условий на этих участках.

На участках, расположенных на склоне террасы и на плакоре видовое богатство и динамическая плотность стафилинид были наименьшими среди всех обследованных участков. Большинство отмеченных здесь видов как и в лесных пойменных участках были представлены преимущественно лесными мезофилами.

### **Микроскопическое строение поверхности колониального гидроида**

#### ***Clava mulicornis* (Forsskål, 1775) (Hydrozoa, Anthomedusae)**

**Большаков Федор Васильевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*fedbolsh@mail.ru*

Характерной чертой гидроидных полипов (Cnidaria, Hydrozoa) является внешний скелет — внеклеточный матрикс. В зависимости от степени развития внешний скелет гидроидов имеет форму или жесткого перисарка, или эластичной перидермы, или внешне невидимой кутикулой. Целью настоящей работы было изучение ультраструктуры внеклеточного матрикса и эпидермальной поверхности полипоидной стадии колониального атекатного гидроида *Clava mulicornis* (Forsskål, 1775).

При исследовании на сканирующем электронном микроскопе видно, что вся поверхность гидранта покрыта тонким филаментозным внеклеточным матриксом, плотно прилегающим к поверхности мембраны эпидермальных клеток и покрывающим её микроворсинкам. Исследование с помощью ТЭМ показало, что сам внеклеточный матрикс имеет рыхлую двухслойную структуру. Внешний слой более плотный и в него погружены только концы микроворсинок. Внутренний слой, расположенный между микроворсинками, рыхлый.

В пределах одного гидранта микроворсинки могут отличаться друг от друга по размерам (при одинаковом диаметре имеют разную длину). Микроворсинки могут ветвиться. Внутри микроворсинок обнаружены структуры, похожие на цитоскелет. В ряде случаев он представляет собой микротрубочки, заполненные электронно-плотным веществом. Наличие внутри микроворсинок цитоскелета позволяет предположить, что они не являются временными. На щупальцах гидранта кроме микроворсинок располагается большое количество книдоцилей. Интересно то, что книдоцили не покрыты внеклеточным матриксом

Использование различных вариантов фиксации материала показало, что степень сохранности кутикулы зависит от применяемого фиксатора. Сравнительный анализ позволяет утверждать, что для изучения организации внеклеточного матрикса элементов колониальных гидроидов, не защищенной перисарком, лучше всего подходит фиксация 3,5 % ГА.

### **Заметки о фауне рода *Polietes* (Muscidae, Diptera) России**

**Гомыранов Илья Алексеевич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*gomuranov@yandex.ru*

*Polietes* — небольшой род мух семейства *Muscidae*, подсемейства *Muscini*, представленный на территории России 7 видами. От других представителей семейства хорошо отличается следующими признаками: прямая жилка  $M_1$ , 3+3 акростихальных и 3+4 дорзоцентральных щетинок на щитке, ариста с длинным опушением. Личинки у большинства видов сапрофаги.

Нами было изучено 235 экземпляров мух из коллекции Зоологического музея МГУ, принадлежащим к 7 видам: *Polietes domitor* (Harris, 1780), *P. lardarius* (Fabricius, 1781), *P. meridionalis* (Peris & Llorente, 1963), *P. steinii* (Ringdahl, 1913), *P. nigrolimbata* (Bonsdorff, 1866), *P. hirticrura* (Meade, 1887), *P. major* (Ringdahl, 1926).

Для определения первых двух видов традиционно используются несколько признаков, такие как антеровентральные щетинки на задней голени и цвет передней части головы. Однако, при детальном изучении всего коллекционного материала, выявлено, что предложенные признаки перекрываются у данных близких видов. Единственное достоверное отличие — это цвет околоротовых волосков, что не является достаточным для признания этих видов самостоятельными. Нами был произведен морфологический анализ гениталий самцов,

в результате которого были выявлены надежные различия в форме эпифаллуса, сурстилей и эпандрия. Полученные данные позволяют разделить эти виды.

На основании изучения коллекционных экземпляров было выявлено два вида, новых для различных регионов России: *P. steinii* – новый для Северного Кавказа и *P. hirticrura* — новый для республики Алтай.

По итогам работы впервые был составлен определительный ключ по самцам для видов рода *Polietes*, встречающихся на территории России.

### **Сравнение размера трофических ниш сапрофагов и хищников в детритных трофических сетях**

**Гончаров Антон Александрович**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

*antonio.goncharoff@gmail.com*

Сообщество почвенных беспозвоночных характеризуется «избыточным» видовым разнообразием. Одной из возможных причин данного явления может быть большое количество отмершего органического материала, поступающего в детритные пищевые сети. Стехиометрические характеристики содержания углерода и азота в значительной степени варьируют среди различных типов отмершего органического материала. Вследствие этого значительная часть поступающего в детритные сети органического материала может напрямую утилизироваться хищниками. Целью данного исследования стало выявление основных групп почвенных беспозвоночных, являющихся первичными акцепторами поступающего органического вещества.

Сбор представителей 27 семейств почвенных беспозвоночных был проведен в период с 2008 по 2012 год в ряде заповедников, расположенных в Европейской части России. Был исследован изотопный состав ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) около 3500 экземпляров животных и потенциальных пищевых субстратов.

Результаты анализа нормализованных по опадку средних значений содержания  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$  в тканях изученных образцов в высокой степени соответствуют традиционным представлениям о разделении почвенных беспозвоночных на сапрофагов и хищников. Обе эти трофические группы имеют обособленное положение в плоскости  $\delta^{13}\text{C}$ — $\delta^{15}\text{N}$ . Однако, геометрические характеристики поля изотопных значений, занимаемого сапрофагами, свидетельствуют о сильной степени трофической связи сапрофагов не только с опадом, но и с мицелием микоризных и сапротрофных грибов. Изотопные значения хищных беспозвоночных формируют значительно большее по площади поле, чем таковые сапрофагов. Этот факт в явной степени указывает на то, что почвенные хищники трофически связаны с более широким спектром энергетических потоков, чем сапрофаги. Например, у жуужелиц (*Carabidae*) около половины жертв были фитофагами. Хищные личинки щелкунов (*Elateridae*), собранные в почве, были полностью трофически связаны с почвенными сапрофагами, в то время собранные в древесине сильной степени деструкции проволочники питались мицелием сапротрофных грибов (до 70 % рациона).

Таким образом, в результате данного исследования показано, что в бореальных лесах лишь достаточно небольшая часть семейств хищных беспозвоночных полностью трофически связана с почвенными сапрофагами.

### **Влияние внешних факторов и экспериментальных манипуляций на концентрацию целомических амёбоцитов морских звезд *Asterias rubens***

**Дятлов Александр Валерьевич, Кисляков Илья Викторович, Корнеев Кирилл Викторович,  
Мешкова Татьяна Дмитриевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*dyatloff@gmail.com*

Основными клетками иглокожих, выполняющими иммунные функции, являются целомические амёбоциты (целомоциты). Их концентрация часто используется в качестве

показателя, характеризующего иммунозащитный статус животных. Однако, мы предположили, что, концентрация целомических амёбоцитов морских звезд может изменяться в зависимости от условий окружающей среды, а также в ответ на рутинные экспериментальные манипуляции (например, взятие целомической жидкости). В литературе нами не было обнаружено исследований на эту тему, поэтому мы решили заняться этой темой.

Мы изучали влияние повышенной и пониженной солености, повышения температуры и экспериментальных манипуляций — взятия целомической жидкости, на концентрацию целомических амёбоцитов морских звезд *Asterias rubens*. Измерения проводились через равные промежутки времени. Экспериментальные данные показывают, что концентрация целомоцитов увеличивается при содержании животных в аквариуме с повышенной соленостью. В свою очередь, понижение солености, вызывает снижение концентрации целомоцитов. Содержание морских звезд при повышенной температуре воды приводит к повышению концентрации целомоцитов. Экспериментальные манипуляции приводят к кратковременному повышению концентрации целомоцитов. Со временем эффекты воздействий, также как и эффекты вызванные изменениями в окружающей среде нивелируются.

Полученные данные демонстрируют значимую зависимость концентрации амёбоцитов от внешних факторов, не связанных с патогенами. Так же они подтверждают необходимость пересмотра существующей методологии оценки иммунологического статуса иглокожих. Возможными вариантами решения данной проблемы могут стать введение дополнительных контролей или переход на современные молекулярные методы оценки иммунологического статуса иглокожих.

## **Распределение дендрофильных минеров-филлобионтов Брестского Полесья по фенологическим группам**

**Евдошенко Сергей Иванович**

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*daph@list.ru*

Дендрофильные минеры-филлобионты являются одной из практически значимых групп вредителей зеленых насаждений населенных пунктов Республики Беларусь. Уровень их вредоносности зависит не только от распространенности и численности популяций, но и от количества генераций, развивающихся в течение вегетационного периода.

Исследования выполнялись нами в течение вегетационных сезонов 2010–2012 гг. в условиях разного типа зеленых насаждений юго-западной части Белорусского Полесья (Брестское Полесье). Определение таксономической принадлежности и изучение биоэкологических особенностей отдельных видов фитофагов осуществляли с использованием общепринятых в практике энтомологических исследований подходов и методов.

Минирующих насекомых Брестского Полесья можно отнести к пяти фенологическим группам. К весенней группе принадлежат лишь 2 вида — кленовый минирующий пилильщик (*Hinatara recta* Thomson, 1871) и первичная дубовая моль (*Eriocrania subpurpurella* Haworth, 1828), личинки которых минируют листья в апреле — начале мая. Весенне-летняя группа объединяет ряд видов чешуекрылых семейств *Eriocraniidae*, *Nepticulidae* и *Gracillariidae*, гусеницы которых повреждают листву в конце апреля — начале июня. Минеры-филлобионты летней фенологической группы повреждают деревья и кустарники с июня по август. К их числу принадлежат преимущественно представители рода *Phyllonorycter* Hübner, 1882 из семейства *Gracillariidae*, а также минирующие пилильщики и двукрылые, повреждающие березы. Летне-осенняя фенологическая группа объединяет в своем составе таких минирующих чешуекрылых, как *Macrosaccus robiniella* (Clemens, 1859), *Parectopa robiniella* (Clemens, 1859), *Tischeria dodonaea* (Stainton, 1858), *T.ekebladella* (Bjerkander, 1795). К полисезонной группе относятся виды, повреждающие древесные растения в зеленых насаждениях на протяжении более двух сезонов года либо характеризующиеся очень растянутым периодом развития, такие как каштановый минер (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) и моли-чехлоноски (*Coleophoridae*).

Всего на представителей весенней фенологической группы приходится 4,88 %, весенне-летней — 9,76 %, летней — 26,83 %, летне-осенней — 39,02 %, полисезонной — 19,51 % видового богатства минирующих филлобионтов, повреждающих древесные растения в условиях зеленых насаждений Брестского Полесья. Наибольший уровень вредоносности минеров-филлобионтов в декоративных насаждения региона исследований отмечается в летне-осенний период.

**Ревизия массового таксона моллюсков морей России:  
перспективы синтеза морфологических, онтогенетических и молекулярных данных**  
**Екимова Ирина Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*irenekimova@gmail.com*

Голожаберные моллюски рода *Dendronotus* (Nudibranchia: Dendronotacea) относятся к одним из самых массовых видов беспозвоночных морей России и являются характерным компонентом донных биоценозов. Несмотря на это, видовой состав рода *Dendronotus* в морях России до сих пор остается не изученным, а в широко распространенных определителях имеется большое число неточностей.

Был исследован обширный материал, основанный на собственных сборах и музейных коллекциях. Морфологические данные получены с применением сканирующего электронного микроскопа, молекулярно-генетический анализ осуществлен с использованием участков последовательностей митохондриальных и ядерных генов.

Сделано подробное описание 7 видов рода *Dendronotus*, обитающих в морях России (*D. frondosus* (Ascanius, 1774), *D. lacteus* (Thompson, 1840), *D. dalli* (Bergh, 1879), *D. robustus* (Verrill, 1870) и трех новых для науки видов). Показано, что, несмотря на значительный полиморфизм в окраске, в Белом море доминирует атлантический вид *D. frondosus*. В северной части Тихого океана *D. frondosus* не обнаружен, и замещается целым рядом внешне сходных с ним криптических видов, надежно выявляемых не только с помощью молекулярного анализа, но и строения радулы и спинных отростков. Два новых вида из этого комплекса обнаружены у побережья Камчатки и в Беринговом море. Полученные новые данные позволили полностью исключить тихоокеанский вид *D. dalli* из списков фауны Белого и Баренцева морей. В этих акваториях обнаружен новый вид рода *Dendronotus*, с одной стороны обладающий сходной с *D. dalli* радулой, однако резко отличающийся от него генетически. Впервые для фауны морей России в Баренцевом море зарегистрирован атлантический вид *Dendronotus lacteus*. Продемонстрировано, что онтогенетические гетерохронии в развитии радулы были одним из ключевых эволюционных эпизодов дифференциации ряда видов рода *Dendronotus*.

Основным выводом настоящего исследования является возможность получения согласованного результата между морфологическими, онтогенетическими и молекулярными данными. Проблема несогласованности между этими группами методов весьма остро стоит в современной систематике. Данное исследование массового таксона морских моллюсков можно рассматривать как важный проект для комплексного морфолого-молекулярного изучения не только голожаберных моллюсков, но и большинства беспозвоночных фауны России.

**Разведение махаона *Papilio machaon* L. (Lepidoptera, Papilionidae)**

**на искусственной питательной среде**

**Загоринский Андрей Александрович**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*  
*Zagorinsky@mail.ru*

Махаон — редкая и охраняемая в некоторых регионах России бабочка из семейства парусников. Введение этого вида в культуру с применением искусственных питательных сред (ИПС) представляет большой интерес с самых разнообразных точек зрения — для использования в качестве экспериментального объекта, в целях поддержания природных популяций, для использования на выставках бабочек и др.

Для поддержания культуры махаона мы использовали два варианта среды. В обоих случаях основу составляли зародыши пшеницы, соевый белок и сахар. Также в обе ИПС добавляли соли Вессона, витаминный премикс, кормовые дрожжи и консерванты. В первый вариант ИПС (ИПС №1) мы добавляли молотые семена укропа, а во второй (ИПС № 2) — молотые сушеные листья дягиля (*Archangélica officinalis*). Для контроля отдельная группа гусениц была выращена на живых листьях дягиля. Все стадии содержались при температуре 25-27 °С, влажности воздуха 50 % и 17-часовом фотопериоде. Спаривание имаго осуществлялось искусственно.

Выживаемость гусениц в контрольной группе составила 98 %, на ИПС №1 — 48 %, а на ИПС №2 — 61 %. При этом как на ИПС №1, так и на ИПС №2 из общего числа погибших более 90 % гусениц погибали на первом и втором возрастах, а достигшие третьего возраста, в большинстве случаев благополучно окукливались. Продолжительность развития гусениц на ИПС №1 составляла  $19,00 \pm 2,25$ , а на ИПС №2 —  $18,00 \pm 2,10$  суток, что немного больше, чем на кормовом растении ( $14,00 \pm 1,90$ )

Всего было получено 3 генерации этого вида. Бабочки на протяжении всех трех поколений имели нормальные размеры и были пригодны к размножению. В процессе разведения этого вида было замечено, что гусеницы, выращенные на ИПС, содержащей семена укропа, имели неестественную бледную окраску, однако бабочки, полученные из них, не отличались от таковых, выращенных на растении. Основную проблему при поддержании этого вида в культуре представляет высокая смертность гусениц первых возрастов, однако это компенсируется значительной плодовитостью самок.

### **Свидетельство кооперативной организации целомоцитов морской звезды *Asterias rubens* L.**

**Зезина Екатерина Алексеевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*katerina.zezina@gmail.com*

Иммунная система иглокожих достаточно сложна и представлена упрощённой системой комплемента, набором лектинов и антимикробных пептидов. Целомоциты — гетерогенная популяция клеток, обнаруживаемых в целомической жидкости иглокожих — принято считать ключевым компонентом их иммунной системы, выполняющим регуляторную функцию в ответе на целый набор раздражителей внешней среды. Несмотря на опыт гистологической характеристики популяции целомоцитов и использование тех или иных показателей этой популяции (прежде всего, численности) в эксперименте по изучению иммунно-защитных реакций, сама популяция клеток, особенно с точки зрения клеточной биологии, описана недостаточно.

В опыте отбор целомической жидкости был произведен с помощью шприца на 10 мл. Жидкость помещали в чашку Петри.

При изучении поведения целомоцитов в системе *in vitro* мы обнаружили, что клетки при инкубации в целомической жидкости способны к сложному упорядоченному поведению, выражающемуся в формировании структурированной сети конгломератов. Разведение целомической жидкости отфильтрованной морской водой приводит к ослаблению эффекта, а полная замена — к гибели клеток. Смешанная популяция целомоцитов двух животных одного вида формирует менее структурированную сеть, тогда как внутривидовая замена целомической жидкости не вызывает видимых изменений. Наблюдаемые эффекты позволяют предположить роль как гуморальных факторов, так и межклеточных контактов в организации популяций целомоцитов иглокожих, причём именно межклеточные контакты, по-видимому, могут отвечать за реакции иммунологического распознавания.

## **Морфология и микроскопическая анатомия представителей семейства Bonellidae (Annelida: Echiura)**

**Киселева Елизавета Алексеевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*lizhen.solnce@gmail.com*

Эхиуры (Echiura) — малоизученная группа морских беспозвоночных, положение которой на филогенетическом древе билатерально-симметричных животных до сих пор точно не определено. Согласно одним данным эхиуры входят в состав группы многощетинковых червей, тогда как другие данные свидетельствуют о сестринском положении эхиур по отношению ко всем другим представителям клады Annelida. Остается так же непонятной таксономия внутри группы, поскольку для видовой идентификации используются морфологически сильно варьируемые признаки. Эта ситуация, несомненно, связана с катастрофически плохой изученностью группы и отсутствием детальных морфологических описаний видов эхиур, принадлежащих разным семействам.

Задачей нашей работы являлось детальное морфологическое описание двух представителей семейства Bonellidae и сравнительный анализ морфологических признаков, используемых в таксономии группы. Материалом для работы послужили представители двух родов: *Bonellia viridis* Rolando, 1821 и *Protobonnelia zenkevitchi* Murina, 1976. Морфология обоих видов была изучена с применением методов световой и сканирующей электронной микроскопии. Микроскопическая анатомия была исследована стандартными гистологическими методами.

В ходе исследования было показано, что морфология двух исследованных видов эхиур существенно различается по следующим признакам: строение хобота, наличие / отсутствие генитального желобка, вентральное или терминальное положение ануса, морфология дистального конца вентральных щетинок. Анатомия обоих видов так же демонстрирует существенные различия в строении всех систем органов. Различия были обнаружены в организации эпидермиса, паренхиматозной и мышечной тканей хобота; строении кожно-мышечного мешка туловища; организации среднего отдела пищеварительной системы; строении анальных мешков; морфологии и гистологии женских половых органов. Большинство из перечисленных признаков (морфология хобота, организация мышечной системы, строение анальных мешков и половых органов) используются в таксономии эхиур и их существенные вариации у представителей одного семейства делают проблему таксономической идентификации этой группы еще более сложной. Отчасти выявленные различия связаны с разницей размеров тела обоих видов, однако зачастую более крупные и морфологически более сложные органы *B. viridis* демонстрируют более простую цитологическую организацию по сравнению с более мелкими органами *P. zenkevitchi*. Как показали наши данные, морфология и гистология большинства систем органов у двух видов, принадлежащих одному семейству, демонстрирует существенные различия, которые в том числе касаются строения органов, используемых в таксономии группы. Этот вывод делает актуальным дальнейшие морфологические исследования эхиур, которые позволят найти и оценить с позиции таксономической значимости морфологические признаки.

## **Процесс реагрегации клеток и формирования примморфов у двух видов губок Белого моря**

**Лавров Андрей Игоревич**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*gonoduct@gmail.com*

Губки (Porifera) — водные многоклеточные животные с фильтрационным питанием и дыханием. У губок отсутствуют органы, нервная и мышечная системы. Организация этих многоклеточных животных во взрослом состоянии крайне примитивна. Клетки губок обладают способностью к реагрегации после диссоциации тканей животного. В ходе этого процесса

формируются многоклеточные агрегаты разнообразного строения, а в некоторых случаях происходит восстановление исходной организации губки.

Процесс реагрегации клеток губок — удобная лабораторная модель, которая позволяет в контролируемых условиях изучать поведение отдельных типов, процессы восстановления исходных связей между клетками и формирования основных структурных элементов организма. Целью настоящего исследования было отработать методику и проанализировать последовательность стадий реагрегации клеток у двух видов губок Белого моря — *Halichondria panicea* (Pallas, 1766) и *Haliclona aquaeductus* (Schmidt, 1862). Работы были проведены на базе Беломорской биостанции им. Н.А. Перцова биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова.

Процесс реагрегации клеток у исследованных видов губок проходит сходно. В нем можно выделить несколько этапов. Через 24 часа формируются *клеточные агрегаты* размером 140–497 мкм. Клетки в их составе слабо упакованы, имеют округлую форму. На 3–4-е сутки начинается следующий этап реагрегации — *сортировка клеток* в составе клеточных агрегатов. У исследованных видов губок сортировка клеток приводит к образованию вокруг агрегатов оболочки из мертвых клеток и детрита. После освобождения агрегатов от оболочки (на 5–8-е сутки) они выглядят более плотными, приобретают правильную округлую форму, т.е. преобразуются в *ранние примморфы*. В течение следующих 2 суток ранние примморфы преобразуются в *настоящие примморфы*, имеющие гладкую поверхность. На гистологическом уровне формирование примморфов сопровождается уплотнением упаковки клеток, формированием межклеточных контактов. На поверхности примморфов появляются отдельные пинакоциты или слой гладкого внеклеточного матрикса. Примморфы были последней стадией реагрегации, полученной в ходе экспериментов. Они сохраняли жизнеспособность более месяца. К концу культивирования размеры примморфов достигали 600 мкм.

Работа позволила отработать методики получения клеточных агрегатов из суспензий клеток губок и определить основные этапы реагрегации клеток у двух видов губок. Это послужит основой для более детальных исследований данного процесса.

## Фауна пауков пёстро-кострового луга (Тебердинский заповедник)

*Мартыновченко Фёдор Александрович*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*pheel@rambler.ru*

Изучение фауны и составление баз данных для заповедников является важной научной задачей. Пёстро-костровый луг — биотоп с самой богатой фауной пауков в Тебердинском заповеднике по результатам наших исследований.

Материал был собран в Тебердинском государственном заповеднике на горе Малая Хатипара в периоды июль–август 2007 г., июнь–сентябрь 2008 г. и июль–август 2009 г. Пёстро-костровый луг находится на высоте 2400 м над уровнем моря и относится к субальпийскому поясу. Он сочетает в себе черты высокогорных и ксерофитных сообществ и отличается низкой растительностью.

В биотопе обнаружено 68 видов пауков, относящихся к 46 родам и 15 семействам, что составляет 30,9 % от общего числа видов пауков, обнаруженных в заповеднике. Из этих 68 видов 19 найдены только на пёстро-костровом лугу. Наибольшим видовым богатством отличаются семейства Linyphiidae (13 видов), Gnaphosidae (12 видов), Lycosidae и Thomisidae (по 8 видов). Следующие виды пауков характерны для пёстро-кострового луга (начиная с самых массовых): *Pardosa bifasciata*, *Tarentula pulverulenta*, *Pardosa buchari*, *Theridion impressum*, *Drassodes pubescens*, *Aculepeira ceropegia*, *Drassyllus pusillus*, *Haplodrassus signifer*, *Trochosa terricola*, *Araneus quadratus*, *Tarentula accentuata*, *Zelotes petrensis*, *Hypsosinga albobittata*, *Pireneitega spasskyi*, *Misumena vatia*, *Thanatus formicinus*, *Heliophanus flavipes*, *Ceratinella brevis*, *Xysticus robustus*, *Clubiona pseudosimilis*, *Gonatium rubens*, *Eresus kollari* и другие. Особенно интересно обнаружение на пёстро-костровом лугу популяции *Eresus kollari* — паука, характерного для степей Евразии. По-видимому, это первый случай обнаружения этого вида на такой большой высоте. Помимо богатой фауны, на пёстро-костровом лугу нами отмечено самая высокая численность герпетобионтных пауков в заповеднике. В 2008 г. средняя

численность за 3,5 месяца составила 15,6 экз./10 лов.-сут., максимум (30,1 экз./10 лов.-сут.) пришёлся на первую декаду июля.

Таким образом, пёстро-костровый луг является ненарушенным природным сообществом с хорошими условиями для самых разных видов пауков — как типично горных, так и луговых и степных. Очевидно, что такой богатый биотоп нуждается в охране.

### **3D реконструкция и микротомография в изучении строения циркуляторной системы хитонов (Mollusca, Polyplacophora)**

*Озеров Дмитрий Александрович*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*ozdm@yandex.ru*

Трёхмерная (3D) реконструкция и микротомография — перспективные методы в зоологии, позволяющие наиболее наглядно описать строение морфологически сложных структур таких, как циркуляторная система (система полостей, сосудов и лакун целомического и гемоцельного происхождения). Наша работа посвящена изучению строения циркуляторной системы хитона *Stenosemus albus* (Linnaeus, 1767) (Mollusca, Polyplacophora) данными методами с их последующим сравнением.

Материал был собран в районе ББС МГУ имени Н.А.Перцова. Были изучены ювенильные особи *Stenosemus albus* (4мм в длину). Все объекты были зафиксированы глутаровым альдегидом с последующим осмированием. Для получения полутонких срезов, объекты были декальцинированы и заключены в смолу. Трёхмерное изображение создано, используя фотографии серий срезов, в программе Imaris 7.0.0. Для изучения с помощью микротомографии, объекты были высушены в критической точке. Анализ данных осуществлен с помощью программ CTvox 2.4 и DataViewer 1.4.4.

По серии полутонких срезов была реконструирована передняя половина тела хитона. Особое внимание уделено циркуляторной системе. Также были реконструированы: внешний контур мягких тканей тела, пластинки раковины, вешний контур радулы и радулярных хрящей, пищеварительная, выделительная и нервная системы.

С помощью микротомографии были исследованы две особи *S. albus*. Видны основные части циркуляторной системы, но не различимы некоторые элементы строения. Хорошо различимы пищеварительная система и радула с радулярными хрящами. Основные нервные стволы видны очень хорошо, более мелкие элементы нервной системы — хуже. Нефридии не контрастны, но различимы.

Реконструкция по серии срезов дает надежные сведения о строении циркуляторной системы и других систем органов. Но этот метод требует больших затрат времени и трудоемок. Неизбежно разрушение объекта.

Микротомография — быстрый и удобный метод, не требующий разрушения объекта. Но при данном исполнении не пригоден для подробного анализа циркуляторной системы. Необходимо совершенствование метода.

### **Жуки пилоусы (Coleoptera: Heteroceridae), как представители энтомофауны маргинальных экотонов Саратовской области**

*Сажнев Алексей Сергеевич*

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия*

*sazh@list.ru*

Пилоусы (Heteroceridae MacLeay, 1825) — всеветно распространённое семейство околотовных жесткокрылых. На всех стадиях развития заселяют берега постоянных или временных водоемов с разной степенью солёности. Являются характерными интерстациальными обитателями маргинальных экотонов. Предпочитают незаросшие или малозаросшие участки берега с умеренным увлажнением. Заселяют дисперсные, часто заиленные, виды грунта: песчаные и/или глинистые. Имаго и личинки делают в субстрате разветвлённые сети тоннелей, которые различаются по строению и служат разным целям:

питание, откладка яиц, окукливание, зимовка. Часто образуют колонии, не редко разные виды обитают синтопно. Колонии весьма мобильны, т.к. тесно связаны с ритмами колебания воды, и в зависимости от степени увлажнения, меняют свое положение относительно уреза. При затоплении тоннелей имаго покидают их и быстро передвигаются по поверхности субстрата, могут совершать небольшие перелёты. При осушении временных водоёмов или длительном затоплении береговой линии жуки образуют временные колонии, где не размножаются, или же меняют место обитания. Имаго часто летят на искусственный свет, а также совершают вечерний лёт. Личинки и жуки — преимущественно альго- и фитодетритофаги. Активность имаго отмечалась нами с апреля по август.

В настоящее время для Саратовской области известно 9 видов семейства: *Augyles intermedius* (Kiesenwetter, 1843), *A. hispidulus* (Kiesenwetter, 1843), *Heterocerus parallelus* Gebler, 1830, *H. fossor* Kiesenwetter, 1843, *H. flexuosus* Stephens, 1828, *H. obsoletus* Curtis, 1828, *H. fenestratus* (Thunberg, 1784), *H. fuscus* Kiesenwetter, 1843, *H. marginatus* (Fabricius, 1787). Наиболее распространенным и обычным из них является *H. fenestratus* — эвритопный вид, заселяет берега различных водных объектов, встречается в области повсеместно, включая и антропогенные ландшафты. Совместно с предыдущим видом может встречаться близкий к нему *H. fuscus*. Эти виды часто смешиваются в сборах, определение лучше всего проводить по препаратам гениталий самцов. *H. fuscus* относительно более редок. *H. obsoletus* отмечен, как в Правобережье, так и в Заволжье, предпочитает глинистые берега, однако, в степных районах отмечался нами на влажных солончаках. На песчаных грунтах нами отмечены *A. hispidulus* и *H. marginatus*. Бионимия *Heterocerus parallelus* в области не совсем ясна, жуки собраны на свет, на сегодня материал известен только из Заволжья, однако, судя по сборам из других регионов можно предположить, что вид приурочен к песчаным почвам, может заселять солончаки. *H. fossor* для области известен по старым сборам из Саратова, современный фактический материал отсутствует. И два вида для Саратовской области приводятся нами по литературным данным, это *A. intermedius* и *H. flexuosus*.

### **Влияние солей тяжелых металлов на раннее развитие двустворчатых моллюсков (Mollusca, Bivalvia)**

**Саидов Даниял Магомедович**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*bibozik@gmail.com*

В настоящее время все большее значение приобретает проблема антропогенного загрязнения водоемов веществами различной природы. Немаловажную роль играет загрязнение акваторий тяжелыми металлами. В настоящее время для биоиндикации морской среды используют биссусный тест и анализ метаболизма мидий. Однако биссусный тест имеет довольно низкую чувствительность и допускает неоднозначную трактовку полученных данных.

Цель наших исследований — отработка новой системы биоиндикации загрязнения морской воды. Мы определяли влияние солей тяжелых металлов различной концентрации на раннее развитие *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758). Для достижения данной цели был поставлен многофакторный эксперимент с учетом трех концентраций каждого действующего вещества при разных температурных режимах (8°, 12° или 16 °С) и уровнях солености (60 %, 80 % или 100 %) воды. Работа была выполнена в июне-июле 2012 г. на Беломорской биологической станции МГУ имени Н.А. Перцова. Половые продукты получали путем ведения в мантийную полость раствора KCl. Гаметы смешивали и после начала развития помещали в экспериментальные плашки объемом 4 мл, в количестве 500 эмбрионов на 1 мл. Эксперимент проводили в течение 72 часов. Были испытаны соли следующих тяжелых металлов: Cu, Cd, Co. Влияние оценивали путем сравнения личинок, развивавшихся в экспериментальных условиях, с контрольными личинками, развивавшихся в фильтрованной морской воде при тех же, что и в эксперименте, комбинациях температуры и солености. Отбор проб для сравнения проводили каждые 24 часа. Наиболее характерной, в указанный срок развития, является стадия D-личинки, которая для *M. trossulus* (Gould, 1850) наблюдается на вторые сутки.

Предварительные данные свидетельствуют о том, что наиболее явный эффект проявляется на вторые сутки при температурах развития 12° и 16°. Наибольшее токсическое влияние оказывают соли меди. При понижении солёности до 80 % от естественной беломорской появляются D-личинки с немного измененной морфологией раковины и велюма, причем их количество превосходит количество нормальных D-личинок. При понижении солёности до 60 % количество D-личинок с измененной морфологией минимально, однако нормальные D-личинки не встречаются вовсе.

### **Инвазивные виды насекомых как компонент комплексов фитофагов-вредителей декоративных кустарниковых растений зеленых насаждений Беларуси**

**Сауткин Федор Викторович**

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*fvsautkin@gmail.com*

Мониторинг инвазивных видов животных, в том числе имеющих хозяйственное значение в качестве вредителей культивируемых растений, является одной из наиболее актуальных задач изучения региональных фаун. Постоянное расширение ассортимента декоративных древесных и кустарниковых растений, используемых в практике благоустройства населенных пунктов Беларуси, осуществляемое за счет интродукции новых видов и их форм, в совокупности с наблюдаемыми изменениями регионального климата, создает необходимые предпосылки для расселения на территории страны чужеродных видов членистоногих фитофагов-вредителей. В основу настоящей работы положены материалы исследований, выполнявшихся на протяжении полевых сезонов 2008–2012 гг. Сбор фактического материала осуществлялся с использованием общепринятых в энтомологической практике методик.

По результатам проведенных исследований можно констатировать наличие в составе комплексов фитофагов — вредителей декоративных кустарниковых растений, как минимум 26 видов чужеродных для фауны Беларуси насекомых. Наибольшим числом инвазивных видов (22) представлены равнокрылые хоботные. Среди чешуекрылых и двукрылых насекомых отмечено по 2 вида инвайдеров. По характеру наносимых повреждений 14 видов относятся к группе тератформирующих форм, 2 вида к облигатным минерам-филлобионтам. Наибольшее число инвазивных видов (7) трофически связано с широко представленными в условиях зеленых насаждений кустарниковыми растениями семейства Rosaceae. Так, на черемухе и спирее отмечено по 2 вида, на боярышнике, розе и декоративных формах алычи (*Prunus divaricata*) — по 1 виду. С представителями семейства Fabaceae караганой древовидной (*Caragana arborescens*) и робинией лжеакацией (*Robinia pseudoacacia*) связаны 3 и 4 вида инвайдеров, соответственно. По 1 виду отмечено на бирючине обыкновенной (*Ligustrum vulgare*), сирене и барбарисе, по 2 вида — на облепихе, жимолости и т.п. На долю специализированных фитофагов — вредителей кустарниковых растений приходится 92 % (24 вида) от общего числа инвазивных видов. Полученные результаты обуславливают необходимость дальнейших исследований инвазивных видов фитофагов — вредителей декоративных зеленых насаждений Беларуси.

### **Охраняемые дневные чешуекрылые надсемейства *Papilionoidea* (*Lepidoptera: Rhopalocera*)**

**Столбцовского района (Беларусь)**

**Сетракова Екатерина Михайловна**

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*katrinka\_sm3@mail.ru*

В результате хозяйственной деятельности человека в значительной степени нарушаются места обитания животных, в результате чего резко сокращается численность и встречаемость ряда видов животных. Чешуекрылые — одна из наиболее уязвимых групп насекомых, так как происходит не только разрушение их местообитаний, но и их сбор в большом количестве для украшений, коллекций, пособий и т.п. Некоторые из них в настоящее время находятся на грани полного исчезновения, что подчеркивает актуальность проблемы.

С этой целью было проанализировано распространение охраняемых видов дневных чешуекрылых надсемейства *Papilionoidea* (*Lepidoptera: Rhopalocera: Papilionoidea*), встречающихся на территории Столбцовского района (Минская область, Беларусь).

В результате были обнаружены виды, включенные в Красную книгу Республики Беларусь (3-е издание) — *Euphydryas maturna* (Linnaeus, 1758) (3 категория охраны), *Lycaena helle* ([Denis et Schiffermuler], 1775) (2 категория охраны), эти виды также находятся под охраной МСОП — 3 категория охраны и включены в "Красную книгу Европейских дневных бабочек" с категорией SPEC3. Ряд ранее известных мест обитания *L. helle* на данный момент не существует: заказник Оступ в Гродненской области (зарастание лугов), окрестности г. Минска (застройка территорий). Нами на территории Столбцовского района обнаружена устойчивая локальная популяция этого вида на пойменном лугу р. Нёман.

Среди видов находящихся в списке требующих внимания Красной книги Республики Беларусь отмечены *Papilio machaon* (Linnaeus, 1758) и *Maculinea arion* (Linnaeus, 1758), который также имеет 2 категорию МСОП.

Также нами были обнаружены *Lycaena dispar rutila* (Werneburg, 1864) и *Plebejus argyrognomon* (Bergstrasser, [1779]) — 4 категория МСОП и *Nymphalis xanthomelas* (Esper, [1781]) — 3 категория охраны МСОП, он также включен в "Красную книгу Европейских дневных бабочек" (категория SPEC3).

Таким образом, найденные на территории Столбцовского района виды охраняемых дневных чешуекрылых требуют более пристального внимания к данному региону природоохранных организаций.

### **Существование криптического вида тлей внутри *Macrosiphum gei* Koch, 1855 (*Rhynchotha: Homoptera: Aphididae*): результаты хромосомного анализа**

***Сикорская Екатерина Андреевна***

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*ekaterina\_119@mail.ru*

*M. gei* — голарктический вид тлей широко распространенный в Европе, где отмечается на гравилате *Geum urbanum*, бутене *Chaerophyllum aromaticum*, сныти *Aegopodium podagraria* и купыре *Anthriscus sylvestris*. Кариотип этого вида известен, однако в разных источниках существует противоречие. Поскольку ранее нами было показано, что существует ряд генетических и морфометрических различий между формами *M. gei* с гравилата и бутеня, было решено установить хромосомное число отдельных форм.

Сбор тлей *M. gei* был произведен на территории Беларуси, Минской области, с трех тестовых растений: гравилата городского, бутеня ароматного и купыря лесного. Хромосомы выделяли из эмбрионов партеногенетических самок тлей, окрашивали по Гимза и фотографировали с использованием микроскопа AxioImager, CarlZeiss ×1000/NA 1.3.

Всего было проанализировано 210 метафазных пластинок. Процент анеуплоидии составил: у форм с гравилата — 25 %, с купыря — 11 %, с бутеня — 31 %. В основном это связано с отсутствием в метафазной пластинке 1–2 хромосом, что нередко отмечается при работе с хромосомами эмбрионов тлей. Длина хромосом варьировала, в то время как общая их морфология оставалась сходной. При этом кариотип *M. gei* с бутеня был  $2n=10$ , с гравилата —  $2n=8$  и с купыря —  $2n=8$ .

Учитывая ранее опубликованные данные о генетических различиях между этими формами, можно заключить, что *M. gei*, вероятно, представляет собой комплекс криптических видов, один из которых ассоциирован с *G. urbanum* и *A. sylvestris* и имеет кариотип  $2n=8$ , другой — ассоциирован с *Ch. aromaticum* и имеет кариотип  $2n=10$ .

**Обзор разнообразия веслоногих ракообразных (Crustacea: Copepoda) — симбионтов морских лилий (Echinodermata: Crinoidea) Мирового океана**

**Синельникова Софья Вячеславовна**

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

*sofiatoudrova@mail.ru*

Веслоногие ракообразные — разнообразные и многочисленные обитатели морских беспозвоночных. Проведенный впервые анализ состояния изученности веслоногих ракообразных, обитающих на морских лилиях, выявил 36 видов и 162 находки копепод, представленных 10 родами, 6 семействами и 3 отрядами. Большинство видов копепод встречаются только на морских лилиях, проявляют специфичность к хозяину на разных таксономических уровнях и отмечены на поверхности, в кишечнике и галловых разрастаниях хозяев. Наиболее массовыми и распространенными родами копепод оказались 2 рода — *Collocheres* и *Pseudanthessius*. Основные глубины сбора — 0.5-40 метров, исключение — находка на глубине 775-787 метров галлообразующей копеподы из рода *Parenterognathus*. Основные районы сбора — север Мадагаскара (56 находок), Индонезия, Молуккские острова (42 находки), Новая Каледония (11 находок). Копеподы отмечены на 35 видах хозяев, относящихся к 22 родам и 8 семействам отряда бесстебельчатые лилии (*Comatulida*: *Antedonidae*, *Charitometridae*, *Colobometridae*, *Comasteridae*, *Himerometridae*, *Mariametridae*, *Tropiommetridae*, *Zygommetridae*). Сопоставление названий морских лилий — хозяев, указанных в первоисточниках, с современной номенклатурой выявило изменение в названии 4 родов и 13 видов. Копеподы — симбионты большинства видов морских лилий, насчитывающих около 650 видов, остаются слабо изученными.

**Сравнение длительности посещений тремя видами опылителей цветков герани болотной**

**Сычева Елизавета Олеговна**

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

*lizushik@gmail.com*

Результативность опыления энтомофильных растений напрямую связана с эффективностью сбора и переноса пыльцы разными видами опылителей. Одним из компонентов характеристики эффективного сбора пыльцы может служить время, проведенное опылителем на цветке. В данной работе изучалась длительность пребывания на пестичных и тычиночных цветках болотной герани *Geranium palustre* (Geraniaceae) тремя видами насекомых: крупной мухи-журчалки *Helophilus pendulus* (Diptera: Syrphidae), мелкой мухи-журчалки *Sphaerophoria menthastri* и дневной бабочки *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). Данные собирали в августе 2011 г. в пойме р. Москвы, на Звенигородской биостанции МГУ. Также было проведено исследование разницы в длительности посещения цветков между самцами и самками у данных видов журчалок. Время пребывания насекомых на цветках герани учитывали, анализируя видеозаписи посещений. В ходе работы было учтено 119 посещений у *H. pendulus*, 237 у *S. menthastri* и 125 у *P. napi*. Длительности посещений сравнивали с помощью дисперсионного анализа логарифмированных данных.

По времени пребывания на цветке значимо отличалась *S. menthastri*, между *H. pendulus* и *P. napi* различий не обнаружено. Самцы и самки мух-журчалок не отличались по длительности посещений. Различий в длительности посещений цветков в пестичной и тычиночной фазе также не обнаружено. Следует отметить, что *S. menthastri* сомнительна в качестве эффективного опылителя, несмотря на большую длительность пребывания на цветках, потому что из-за небольших размеров крайне редко контактирует с пыльниками и рыльцем.

**Функциональная морфология ротового аппарата *Sericoderus lateralis* (Coleoptera: Corylophidae)  
и ее особенности, связанные с миниатюризацией**

**Яворская Маргарита Игоревна**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
margojavor@gmail.com

Ротовой аппарат — чрезвычайно важная структура насекомого, определяющая его образ жизни и являющаяся одним из важнейших таксономических признаков. Несмотря на то, что уменьшение размеров ведет к ряду существенных морфологических и физиологических изменений многих структур, ротовой аппарат при этом сохраняет чрезвычайную сложность строения. *S. lateralis* — представитель семейства Corylophidae, включающего в себя одних из мельчайших жесткокрылых, поэтому детальное исследование ротового аппарата этого вида позволило выяснить, оказывает ли миниатюризация влияние на механику обработки пищи.

Строение ротового аппарата и мускулатуры личинок и имаго *S. lateralis* было изучено при помощи электронной и оптической микроскопии, серий гистологических срезов и с использованием методов компьютерного моделирования.

Несмотря на очень малые размеры (длина тела имаго около 1 мм), устройство ротового аппарата *S. lateralis* не подвергается сильному упрощению. В нем наблюдаются практически все структуры, встречаемые у более крупных родственников. Если и происходит ряд изменений (упрощение расчленения нижней губы, уменьшение числа члеников щупиков), то они не уменьшают функциональность ротового аппарата в целом. Ротовые части также сохраняют сложную микроструктуру, необходимую для обработки пищевых частиц. При этом внешние и внутренние скелетные структуры, напротив, подвергаются упрощению: головная капсула лишена швов, а тенториум — верхних и передних рук, у личинок уменьшено количество антенномеров и происходит слияние верхней губы с головной капсулой. Мускулатура ротовых частей также не подвержена сильной редукции. Наблюдается тенденция к компактизации и слияние некоторых мышц с максимальным сохранением их функциональности.

Полученные данные о строении ротовых частей подтверждают, что миниатюризация не вызывает существенного упрощения и редукции ротовых органов. Это связано с чрезвычайно важной ролью ротового аппарата в жизни насекомого. Изучение мускулатуры головы выявило склонность к слиянию и незначительной редукции мышц под влиянием миниатюризации.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (11-04-00496).*

**Злаковые мухи рода *Meromyza* Meigen, 1830 (Diptera, Chloropidae)  
центра европейской части России: систематика, морфология и экология**

**Яцук Александра Алексеевна**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
Sasha\_djedi@mail.ru

Мухи рода *Meromyza* имеют немаловажное значение как вредители сельскохозяйственных культур, однако их экология изучена недостаточно. Считается, что морфология этой группы изучена хорошо, однако из-за высокой изменчивости имеется хиатус по некоторым важнейшим определительным признакам. Исследований этой группы с помощью молекулярных методов не проводилось.

Целью нашей работы было изучение: 1) суточной и сезонной динамики активности меромиз; 2) изменения фауны меромиз за последние 50 лет в пределах Московской области; 3) морфологии и морфологической изменчивости и 4) филогении меромиз с помощью молекулярно-генетического метода (по гену COI).

Отлов мух проводился в 2011 и 2012 гг. в Московской, Тверской и Вологодской областях. Всего было поймано 2145 мух.

При изучении динамики мух в течение светлого времени суток было зарегистрировано два пика численности — утром и вечером, что характерно для многих дневных насекомых. Начало и конец сезонного лета мух *M. nigriseta* и *M. saltatrix* определяется суммой

положительных температур в период развития. Резкие колебания среднесуточной температуры значительно влияют на активность мух.

При изучении изменчивости некоторых морфологических признаков была установлена возможная синонимия видов: *M. laeta* и *M. variegata*; *M. rufa* и *M. femorata*; *M. pluriseta* и *M. nigriseta*. Нами были зафиксированы некоторые изменения видового состава фауны миромиз Московской области по сравнению с 1961 г. В частности, существенно снизилась численность *M. pratorum*. Впервые была установлена нуклеотидная последовательность 5'-концевого фрагмента гена COI протяженностью 574 п.н. у 12 экземпляров 7 видов меромиз, и по ним построены дендрограммы. При их изучении мы установили, что все исследованные меромизы образуют общий кластер, и имеют тенденцию к образованию двух четких групп, сильно отличающихся от групп, выделяемых по морфологическим признакам.

*Молекулярная часть работы выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00381а.*

## Подсекция «ЗООЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ»

### Морфобиологическая характеристика шемаи *Alburnus (Chalcalburnus) calcoides*

из Чардаринского водохранилища

*Амирбекова Фариза Талгатовна*

*НИИ проблем биологии и биотехнологии*

*Казахского национального университета имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*faryz-91@mail.ru*

Изучение разнообразия и оценка состояния рыб необходимы для организации устойчивого использования их ресурсов. Целью нашего исследования является морфобиологическая характеристика аральской шемаи *Alburnus (Chalcalburnus) chalcoides aralensis* (Berg, 1923) — ценного аборигенного вида рыб Арало-Сырдарьинского бассейна.

Материал собран весной и летом 2012 г. в Чардаринском водохранилище на р.Сырдарье. Морфобиологический анализ фиксированных в формалине рыб проводили в лаборатории по стандартной ихтиологической схеме, изучены 31 пластический и 14 счетных признаков. Для билатеральных счетных признаков учитывали коэффициент асимметрии (КА).

До катастрофического изменения уровня и солености Аральского моря шемая обитала в основном в море. В литературных источниках есть несколько упоминаний о нахождении этого вида в Чардаринском водохранилище, однако морфологические данные не приводятся. По полученным нами данным: D I-II 8-9,5; A I-III 13-18,5; V I-II 7-11; PI-II 10,5-18. Сильно варьируют число позвонков — от 34 до 53, и число чешуй в боковой линии — от 43 до 65. Глоточные зубы двухрядные, число зубов варьирует. У большинства рыб жаберные тычинки длинные, густые, на первой дуге до 29 тычинок, но также отмечены особи с короткими и редкими жаберными тычинками. Большие индивидуальные различия выявлены по форме тела, относительной длине челюстей, высоте анального и длине хвостового плавников. Пределы изменчивости большинства пластических признаков отличаются от известных для Аральского моря. Максимальные размеры и масса отловленных нами рыб мало отличаются от данных по рыбам Аральского моря. Упитанность и скорость линейного роста хорошие. Абсолютная индивидуальная плодовитость на уровне известных данных — около 37 тыс. икринок. Большие значения КА, также как и значительная морфологическая изменчивость, могут быть обусловлены неустойчивым гидрологическим режимом Чардаринского водохранилища.

Исследования проведены при поддержке гранта №0159 ГФ Министерства образования и науки Республики Казахстан.

### Полевка-экономка экосистемы Яно-Индибирской тундры

*Аргунов Петр Владимирович*

*Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия*

*dixcy@yandex.ru*

До настоящего времени экология полевки-экономки, одного из фоновых видов грызунов тундровой зоны Якутии, остается слабо изученной. Изучение экологии мелких млекопитающих в районах, слабо затронутых человеком, дает возможность получить данные, которые могут быть эталоном, контролем и основой сравнительных материалов при исследовании изменений тундровой экосистемы под воздействием физических и антропогенных факторов.

Материалы собраны в Яно-Индибирской тундре в 2008 и 2009 гг.; использованы материалы кафедры фундаментальной и прикладной зоологии (2003-2009 гг.). Обработаны 325 экземпляров полевки-экономки.

За период с 2003 г. по 2009 г. наблюдали колебание численности полевки-экономки с повышением численности в 2003 г. и резким снижением в 2008 г. Основная причина резкого снижения численности вида в пойме р. Индибирка — стихийные явления: выпадение глубокого снега с сильным похолоданием, резкие весенние и летние паводки. Так, в 2008 г. в мае установилась сухая теплая погода и популяции полевок начали размножаться. Однако 2-го июня выпал снег глубиной до 60 см и температура воздуха снизилась до -5 – -7 °С. Такая

погода простояла до 10-го июня. Как следствие, значительная часть мелких млекопитающих, в том числе полевки-экономки, погибла.

На открытых луговых участках в середине лета полевка-экономка питается осоками, злаками, полевым хвощом, поедая только зеленые части. В августе в связи с высыханием трав спектр кормовых растений полевки сокращается, она начинает поедать семена, корни и корневища. В зимний период зверьки продолжают питаться зелеными частями травянистых растений, сохранившимися в результате консервации низкой температурой. В условиях Яно-Индибирской тундры запасы корма нами не обнаружены.

После гибели весеннего приплода в 2008 г. оставшиеся особи размножались интенсивно, средняя плодовитость их увеличилась до 11,0 детёнышей в выводке. Однако численность популяции ко времени ухода под снег еще не достигла уровня 2007 г. В следующем, 2009 г. средняя плодовитость была меньше и составила 7,8 детёнышей в выводке.

Состояние и колебания численности полевки-экономки в пойменных стациях зависят от стихийных явлений — уровня паводковых вод, снижения температуры воздуха и выпадения снега.

### **Характеристика некоторых балиторных рыб (Balitoridae; Cypriniformes; Osteichthyes) из водоемов Южного Казахстана**

**Аубакирова Молдир Орныкбаевна**

*НИИ проблем биологии и биотехнологии*

*Казахского национального университета имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*Judo\_moldir@mail.ru*

В задачи исследования входило изучение состояния рыб сем. Balitoridae и их морфобиологии из водоемов Южного Казахстана.

В 2012 г. обследованы реки Арыстанды (бассейн р.Сырдарьи), Терс и Талас. Рыбу фиксировали в 4% формалине, проведён морфобиологический и морфопатологический анализ.

В р. Арыстанды из гольцов обнаружен только *Triplophysa strauchii*. Результаты измерения: максимальная длина тела (L) — 89,0 мм, масса (Q) — 5,30 г. Отношение наибольшей высоты тела к промысловой длине (H/l) — 18,0 %, наименьшей (h/l) — 7,01 %, длина хвостового стебля (pl) — 18,3 мм, наибольшая толщина (IH) — 15,3 мм, толщина хвостового стебля (ih) — 4,60 мм. D I 8-9, P I 10-13, V I-II, 6-8, A I 5-6. Печень зернистая, кровеносные сосуды крупные, у одной рыбы на брюшных плавниках и на хвостовом стебле обнаружены черные пятна неизвестного происхождения.

В р. Терс обнаружен 1 экз. *T. strauchii*, остальные были *T. coniptera*. Морфобиологическое описание *T. strauchii*: L — 62,8 мм, Q — 2,2 г. H/l — 17,7 %, h/l — 7,01 %, pl — 14,1 мм, IH — 17,3 мм, ih — 6,30 мм. D I 8, P I 10, V I 7, A I 5. Патология отсутствует. Для *T. coniptera*: L — 100 мм, Q — 6,40 г. H/l — 19,6 %, h/l — 7,70 %, pl — 20,7 мм, IH — 16,4 мм, ih — 5,70 мм. D I 8, P I-II 7-11, V I 6, A I 5-6. В брюшных, спинном и хвостовом плавниках обнаружены черные не характерные для них пятна.

В р. Талас нами обнаружены *Triplophysa stoliczkai* и *T. coniptera*. Описание *T. stoliczkai*: L — 95,1 мм, Q — 7,80 г. H/l — 26,6 %, h/l — 8,40 %, pl — 20,1 мм, IH — 26,6 мм, ih — 5,10 мм. D I-III 8-12, P I-II 8-12, V I-II 6-8, A I 5-7. При вскрытии обнаружены 3 экз. *Cistiopsis* sp. (Nematoda). Для *T. coniptera*: L — 97,3 мм, Q — 7,80 г. H/l — 19,5 %, h/l — 8,04, pl — 18,7 мм, IH — 17,5 мм, ih — 5,62 мм. D I 7-8, P I 8-10, V I-II 6-7, A I 5-7. Патологические изменения не обнаружены.

Таким образом, условия существования всех исследованных гольцов относятся к зонам относительного экологического благополучия.

*Исследования проведены при поддержке гранта ГФ 0159 КН МОН РК.*

## Разнообразие ихтиофауны среднего участка реки Чу

**Беккожаева Динара Кайыргалиевна**

*НИИ проблем биологии и биотехнологии*

*Казахского национального университета имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*dinarachka91\_91@mail.ru*

Река Чу является трансграничной рекой, протекающей по территории Киргизии и Казахстана. Средний участок реки испытывает высокий уровень антропогенной нагрузки. Цель работы заключается в изучении разнообразия и состояния ихтиофауны данного участка реки.

Исследовано 12 выборок рыб, отловленных в период с 2007 по 2012 гг. в различных участках бассейна. Для характеристики разнообразия сообществ рассчитывали показатели Симпсона и Шеннона.

Всего в бассейне р.Шу нами обнаружены 17 видов рыб: аборигенные — сазан (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), плотва (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)), елец (*Leuciscus leuciscus* (Linnaeus, 1758)), жерех (*Aspius aspius* (Linnaeus, 1758)), туркестанский пескарь (*Gobio gobio lepidolaemus* (Kessler, 1872)), полосатая быстрянка (*Alburnoides taeniatus* (Kessler, 1874)), тибетский голец (*Triplophysa stoliczkai* (Steindachner, 1866)), серый голец (*Triplophysa dorsalis* (Kessler, 1872)), аральская щиповка (*Sabanejewia aurata aralensis* (Kessler, 1877)), аральская колюшка (*Pungitius platigaster aralensis* (Kessler, 1877)), обыкновенный окунь (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) и чужеродные – абботтина (*Abbottina rivularis* (Basilewsky, 1855)), амурский чебачок (*Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel, 1846)), обыкновенный горчак (*Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776)), пятнистый губач (*Triplophysa strauchii strauchii* (Kessler, 1874)), одноцветный губач (*Triplophysa labiata* (Kessler, 1874)), амурский бычок (*Rhinogobius similis* Gill, 1859).

Наиболее широко распространены и многочисленны: плотва, елец, пескарь, серый голец. Полосатая быстрянка, аральская колюшка, обыкновенный окунь, аральская щиповка, абботтина, амурский чебачок, обыкновенный горчак, амурский бычок встречаются только в отдельных водоемах. Наибольшее разнообразие видов в реках Чу (выше Тасуткольского водохранилища), Кара–Балта, Колтоган и Курагаты. Бедный состав ихтиофауны в реках Киши–Колгуты, Ыргайты и Чу (ниже Тасуткольского водохранилища). Выраженным доминированием отмечены реки: Кара–Балта, Киши–Колгуты (2011 г.), Курагаты; в остальных выборках доминирование одного или двух видов не выражено. Таким образом, исследованные водоемы сильно различаются по составу ихтиофауны, что отражает неравномерную антропогенную нагрузку на них.

*Исследования проведены по гранту 0159ГФ Министерства образования и науки Республики Казахстан.*

## **Вкусовые предпочтения классических вкусовых веществ и свободных аминокислот жемчужным гурами (*Trichogaster leeri*)**

**Виноградская Мария Ильинична, Михайлова Елена Сергеевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*marefa@mail.ru*

За последние годы выяснены вкусовые предпочтения многих видов рыб, обитающих в средней полосе. Вкусовые предпочтения тропических видов рыб остаются практически не изученными. Для нашей работы мы выбрали широко используемый в аквариумистике вид — жемчужного гурами (*Trichogaster leeri*) (длина 50–55 мм, вес 1,6–1,7 г).

Опыты проводили на каф. Ихтиологии биологического факультета МГУ в 2012 году. Рыб содержали в отдельных аквариумах (10 л) при естественном режиме освещения, температура воды — 26 °С (терморегуляторы AquaEL EH-25W). Живой корм (личинки комаров сем. Chironomidae) давали *ad libitum* один раз в день.

В опытах регистрировали ответы рыб на агар-агаровые гранулы (2%), содержащие классические вкусовые вещества (сахарозу, лимонную кислоту, NaCl и CaCl<sub>2</sub>), и 21 аминокислоту (L-изомеры). В каждом опыте регистрировали потребление, число повторных

схватываний, длительность удержания рыбой гранулы после первого схватывания и суммарно за все время опыта. Всего выполнили 1471 опыт.

Экстракт Chironomidae и сахаразы оказывали стимулирующее действие на потребление гранул жемчужным гурами ( $p < 0,001$ ), остальные классические вкусовые вещества составили группу индифферентных вкусовых стимулов и не оказывали значимого эффекта на потребление гранул. Стимулирующее действие сахаразы можно объяснить значительной долей растительной компоненты в рационе гурами. 13 аминокислот достоверно снижали потребление гранул ( $p < 0,05$ ). Наиболее сильным детеррентным эффектом обладали глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аспарагин, гистидин и аргинин (0 % потребления). Аланин (78,3 %) и серин (59,1 %) достоверно повышали потребление гранул. Норвалин, глицин, пролин, цистеин, валин и тирозин значимого влияния на потребление гранул рыбами не оказывали. Рыбы дольше удерживали гранулы с привлекательными по вкусу стимулами как после первого схватывания, так и в течение всего опыта. Напротив, гранулы с детеррентными стимулами рыбы меньше удерживали как после первого схватывания, так и в течение всего опыта. Гурами обитают в сильно заросших водоемах со слабым течением. В таких условиях становится возможным многократное тестирование кормовых объектов, что и демонстрируют нам рыбы в эксперименте.

### **Динамика населения обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*, Linnaeus 1758) в мозаичном ландшафте средней Карелии с помощью ГИС-технологий**

**Гусева Татьяна Леонидовна**

*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

*tan86276066@yandex.ru*

Исследования проводили на территории средней тайги южной Карелии (Кондопожский р-н, окрестности д. Гомсельга). Обыкновенная бурозубка населяет многие местообитания изучаемой территории и является самым массовым видом землероек Северо-Запада России.

Динамика популяции бурозубки обыкновенной в различных типах биотопов зависит от множества факторов, из которых особенно важен характер территориального распределения мест обитания и необходимых ресурсов.

На исследуемой территории обнаружен широкий спектр биотопов, представляющих весь сукцессионный ряд — от полностью открытых до полностью облесенных. Это связано с сильным антропогенным прессом — использованием территории в сельскохозяйственных целях и постоянно идущими рубками леса.

С помощью ГИС-технологий и дистанционного зондирования произведена историческая реконструкция динамики местообитаний с использованием карт, фотоснимков и аэрофотоснимков территории. Построены карты местности для шести временных срезов (с 1962 по 2010 гг.) и десяти типов местообитаний.

С 1994 года изучали население мелких млекопитающих исследуемых биотопов. Отлов животных вели 4 раза в год. За 19 лет стационарных наблюдений отработано 41814 давилко-суток, отловлено 1077 особей обыкновенной бурозубки.

Выполнен анализ многолетней и сезонной зависимости распределения зверьков по различным типам биотопов.

Рассмотрена зависимость динамики популяции обыкновенной бурозубки не только от количества и площадей благоприятных местообитаний, но и от их взаимного расположения.

Выявлена многолетняя негативная тенденция изменения общей численности местного населения землероек в районе исследований.

На исследуемой территории фрагментация местообитаний (разобшение, уменьшение площади) приводит к снижению численности популяции обыкновенной бурозубки в целом.

## **Корреляционная оценка ядерно-цитоплазматического соотношения эритроцитов позвоночных**

*Дятлова Татьяна Дмитриевна<sup>1</sup>, Резяпкин Даниил Михайлович<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова*

*<sup>2</sup>Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,*

*Москва, Россия*

*tainiidrug94@gmail.com*

Морфометрический анализ позволяет количественно оценить клеточные структуры, в том числе пропорции размеров: ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦС). Приоритетной задачей является выявление корреляции значений морфометрических измерений с параметрами физиологических особенностей организмов, их организации и неисследованными линейными геномными параметрами, ставшими доступными в недавнее время, благодаря компьютерным базам. Удобными для таких исследований клетками у позвоночных животных (за исключением млекопитающих) являются эритроциты: они содержат неактивное ядро и дыхательный пигмент гемоглобин, находятся в фазе G0 клеточного цикла и потому отличаются стабильными метрическими характеристиками. Оценка графика значений относительных величин дает возможность судить о факторах варьирования параметров, что приобретает особый смысл при рассмотрении генетически неактивных ядерных эритроцитов.

Исследовали одиннадцать видов животных пяти классов позвоночных. С помощью метода световой микроскопии окрашенных препаратов мазков крови осуществили все необходимые морфометрические измерения клеток. С целью корреляционно-геномного сравнения использовали биоинформационные базы. Провели корреляционный анализ ЯЦС.

Относительно крупные размеры эритроцитов рассматриваемых классов позвоночных по сравнению с диаметром клеток млекопитающих, возможно, обусловлены необходимостью пространства для пигмента гемоглобина при условии наличия ядра. Полученные результаты делают спорным предположение о наличии зависимости значений ЯЦС от возрастающей степени организации групп животных. Форма и размер эритроцитов не демонстрируют корреляции с таксономическим положением объекта, являясь выраженными видоспецифичными признаками. Заметны более высокие показатели линейных размеров эритроцитов представителей наземной герпетофауны при умеренном уровне относительных показателей для тех же видов. Данный феномен может быть связан с большими размерами геномов и, предположительно, с адаптивным физиологическим эффектом перехода организмов к наземному образу жизни. При этом статистическая обработка результатов указывает на наличие положительной корреляции значений ЯЦС с протяженностью геномов видов. Показатель, вероятно, также зависит от физиологических особенностей, таких как интенсивность метаболизма и специфика кровеносной системы. Предположение подтверждается двумя выраженными отклонениями от общей корреляции. Так эритроциты речной миноги, ведущей образ жизни с небольшими энергетическими затратами, характеризуются высоким значением пропорции. У серой жабы наблюдается противоположная тенденция, возможно, являющаяся следствием перехода к наземному образу жизни и преимущественно легочному дыханию.

## **Молекулярная филогения и филогеография кротов трибы Talpini**

*Землемерова Елена Дмитриевна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*zemlemerovalena@ya.ru*

Все виды кротов трибы Talpini ведут подземно-роющий образ жизни, что не могло не наложить отпечатка не только на их морфологический облик, но и на структуру генетической изменчивости, и, следовательно, имеет прямое отношение к их филогении и филогеографии. Однако представления о филогении и систематике этой группы основаны преимущественно на морфологии черепа, зубов и посткраниального скелета. При этом неоднократно показано, что краниологические и зубные признаки у кротов очень изменчивы и поэтому недостаточно надежны при филогенетических реконструкциях, а посткраниальный

скелет далеко не всегда доступен при работе с коллекционным материалом. В этой связи молекулярная филогенетика кротов становится особенно актуальной.

Филогенетический анализ проводили по последовательностям митохондриального гена Cyt-b и ядерным экзонам RAG1 и BRCA1 с помощью трех разных алгоритмов (NJ — дистанционный анализ, MP — парсимониальный анализ, ML — метод максимального правдоподобия). Как по результатам анализа ядерных генов, так и по комбинированной последовательности из ядерных и митохондриальных генов, было показано, что *Talpini* (в составе: *Talpa*, *Mogera*, *Euroscaptor*, *Scaptochirus*) — группа монофилетическая. Род *Euroscaptor* оказался не монофилетическим в связи с положением *Scaptochirus moschatus* внутри кластера *Euroscaptor* и обособленным положением *E. mizura*. Гипотеза азиатского происхождения общего предка современных линий рода *Talpa*, выдвинутая ранее на основе анализа мтДНК, подтверждается анализом ядерных генов. Талышская популяция малого крота *T. levantis talyschensis* на основе достоверно обособленного положения на филогенетических митохондриальных и ядерных деревьях, больших генетических дистанций, и с учетом морфологических данных может рассматриваться как самостоятельный вид. Анализ митохондриальных и ядерных генов с учетом морфологических данных подтверждает видовой статус *Mogera latouchei*. Виды трибы *Talpini* характеризуются выраженной филогеографической структурой. Глубокая внутривидовая подразделенность кротов связана, по-видимому, с особенностями их биологии (быстрая генетическая эволюция при ограниченных возможностях расселения). Высокие митохондриальные дистанции, разделяющие внутривидовые группировки и нередко превышающие среднее значение для млекопитающих, можно, вероятно, расценивать как сигнал начинающегося видообразования.

### **Сравнительный анализ популяционно-географической дифференциации песни восточного (*Luscinia luscinia*) и южного (*L. megarhynchos*) соловьев**

*Ивлиева Александра Леонидовна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*turkishvan@li.ru*

Проблема сопряженности географических вариаций поведенческих и морфологических признаков представляет большой научный интерес. Мы провели сравнение изменчивости песни у двух близких видов соловьев с разным уровнем популяционно-географических морфологических различий: у восточного соловья *Luscinia luscinia* (L., 1758) подвидов не выделяют; у южного соловья *L. megarhynchos* (Brehm, 1831) известны три подвида (европейский, кавказский и туркестанский), хорошо различающиеся по окраске и размерам.

Записи пения самцов, полученные из различных источников, сведены в единую базу данных; затем для восточного соловья сформированы три выборки — из западной, центральной и восточной частей ареала вида; для южного соловья — из ареалов трех подвидов. Частотно-временные и структурные параметры песен измеряли в программе Syrinx. Для оценки достоверности различий между выборками использовали программу Statistica 8.

По результатам канонического дискриминантного анализа выборки двух видов четко разделяются: доля правильных причислений составила 96,7 % для восточного и 88,5 % для южного соловья. Статистически достоверны межвидовые различия по минимальной частоте песни ( $p < 0,001$ ); также наблюдается тенденция к различиям по длине песни ( $p = 0,057$ ). Между популяциями восточного соловья не найдено статистически значимых различий по отдельным параметрам, но доля правильной классификации по популяциям 76,7 %; расхождение по значениям канонической переменной нечеткое, но между группами с запада и востока ареала вида оно выражено сильнее, чем между ними и группой из центра ареала. Напротив, между подвидами южного соловья обнаружены значимые различия по числу типов нот ( $p < 0,001$ ) и по сумме серийных повторов первых четырех элементов песни ( $p = 0,02$ ); по значениям канонической переменной все подвиды четко обособляются, причем европейский подвид выделяется наиболее резко.

Таким образом, выявлены достоверные различия двух видов соловьев по биоакустическим признакам. Доказана возможность разделения подвидов южного соловья по параметрам песни,

выявлена тенденция к различению по песне популяций восточного соловья из разных частей ареала. Таким образом, морфологические и биоакустические различия положительно коррелируют друг с другом, причем различия в пении формируются в процессе эволюции быстрее, чем отличия по морфологии.

### **Выявление местообитаний мелких млекопитающих методом дистанционного зондирования**

***Коросов Сергей Алексеевич***

*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

*korosovcem7@ya.ru*

Современные методы дешифрирования космических снимков позволяют получать разнообразные характеристики исследуемого объекта.

Зная специфику зависимости того или иного комплекса видов от определённых условий, этим способом можно выделить области, где вероятность обнаружения интересующей группы животных будет наибольшей.

Объектом нашего исследования были мелкие млекопитающие (мышевидные грызуны и насекомоядные) Заонежского полуострова Онежского озера (Карелия, подзона средней тайги).

Цель работы — составить карту местообитаний этих животных методом дешифрирования спутниковых фотографий.

Анализ литературных данных по экологии изучаемых видов позволил выявить ряд характеристик, необходимых для их жизни, маркерами которых может являться растительность. Местообитанием для конкретной группы животных можно считать сходные по условиям обитания типы растительных сообществ. Биотопы, выделяемые при распознавании космоснимков, являются эквивалентом местообитаний изучаемой группы видов.

Источником информации для составления характеристик растительных сообществ служили карты лесхозов (схемы лесоустройства) и таксационные описания района. Кроме того, летом и осенью 2012 года в полевых условиях проводили описания количественных характеристик типов растительности в районе исследования (303 пробных площади). Эта информация послужила основой для составления критериев распознавания космоснимков.

Для дешифрирования за основу были использованы спутниковые фотографии с разрешением 30 метров на пиксель (Landsat, 6 каналов). Расшифровку изображений вели методом автоматической классификации с обучением, границы отдельных контуров уточняли вручную.

В конечном виде полученные карты представляют собой растровое изображение, на котором каждый тип местообитаний мелких млекопитающих обозначен определённым цветом. Всего выделено 10 доминирующих местообитаний (вырубки, луг, зрелые и перестойные ельники).

На карте хорошо просматриваются степень антропогенной трансформации естественных лесов, разорванность и фрагментированность ключевых местообитаний таежных видов.

Предлагаемый метод позволяет подойти к изучению связи между структурой местообитаний (фрагментированность, непрерывность, размерность и т.п.) и состоянием популяций животных. Он даёт возможность до начала полевого сезона наметить районы работ, наиболее соответствующих целям и задачам исследования.

### **Места остановок на пути к миграциям подковоносых летучих мышей (*Rhinolophidae*)**

**в Мегринском районе Армении**

***Мноян Ильич Тевосович***

*Российско-Армянский (Славянский) университет, Ереван, Армения*

*ilojan@mail.ru*

Сообщение посвящено исследованию двух видов подковоносых летучих мышей — большого подковоноса (*Rhinolophus ferrumequinum*) и подковоноса Мегели (*R. mehelyi*), и новых мест находок их кратковременных остановок на пути к миграциям на юге Мегринского района у побережья реки Аракс.

Наблюдения проводили во всех регионах Армении, где можно встретить подковоносов. Видовую принадлежность определяли генетическим анализом в Институте Зоологии Польской Академии Наук. Чаще эти зверьки предпочитают зимовать в глубоких пещерах с влажным, но стабильным микроклиматом (+12–14 °С). В теплое время года, после пробуждения из спячки, их можно наблюдать за десятки, а иногда и сотни километров от мест зимовки — в различных гротах, шахтах, чердаках и подвалах домов, где температура значительно колеблется.

В Мегринском районе, близ берега р. Аракс (граница с Ираном), у железнодорожной станции с. Шванидзор, обнаружены несколько групп *R. ferrumequinum* и *R. mehelyi*. Часть зверьков, смешанной межвидовой группой, в 6–15 особей, в разнополовом составе свисали с потолков тоннелей под железнодорожным полотном, а другая их часть забила в щели бетонного покрытия невысокого железнодорожного моста. Их вечерний лет, по сравнению с другими районами республики, начинался сравнительно рано, еще при неполных сумерках — к 18 часам, а утром их можно было видеть охотящимися за ночными бабочками, комарами и жуками не позднее 6:00–6:30, что объясняется приближением климата к тропическому типу с высоким уровнем сумеречной влаги, а позже и температуры, которая в летние часы может достигать до +48 °С. Упомянутый участок р. Аракс характерен обилием прибрежной растительности, пригодной для обитания богатой энтомофауны, являющейся пищей для рукокрылых.

Что же касается подковоносов, периодически появляющихся в исследуемой местности, то они регистрируются нами здесь на временном пребывании во время пролета в сторону Ирана и далее — к Северной Африке из Ворованской (Азохской) пещеры Арцаха. Об этом свидетельствуют пойманные в Мегринском районе ранее окольцованные, а затем и компостированные в Ворованской пещере как гладконосые (остроухие ночницы, обыкновенные длиннокрылы), так и подковоносые летучие мыши.

### **Особенности нижних челюстей куньих (Mustelidae)**

*Романюк Анна Вячеславовна*

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина*

*aromaniuka@gmail.com*

Нижняя челюсть является сильным индикатором для понимания пищевой адаптации у существующих и вымерших хищников. Метод геометрической морфометрии применен для изучения формы нижней челюсти и соотношения ее с пищевой специализацией. Он позволяет визуализировать пространственное изменение анатомических меток относительно друг друга. В исследовании использованы 153 образца нижних челюстей 11 видов куньих. 16 меток были оцифрованы и использованы как данные для анализа формы. На двумерных координатах меток был выполнен обобщенный анализ Прокруста (GPA). Относительные деформации (RW), канонический анализ (CVA), дискриминантный анализ (DFA) использовали для изучения различий между видами и трофическими группами. Виды также были отнесены к трофическим категориям классификации по размеру добычи и по типу пищевых объектов. Характерно отделение группы видов *Mustela* от *Martes*, наиболее обособливаются *Meles* и *Enhydra* (широкая и короткая ветвь нижней челюсти барсука и тонкая, вытянутая у калана). Отличия в основном связаны с длинной нижней челюстью, высотой тела нижней челюсти, расположением вершины венечного и углового отростка, переднего края массивной ямки. Плотоядные представители от более всеядных отличаются укорочением премолярного ряда, высоким телом нижней челюсти, особенно в передней части, увеличением диаметра клыка, увеличением длины  $m_1$  (в основном за счет разрезающей части), суставный отросток располагается несколько ниже зубного ряда, угловой отросток — более тупой, размещается ниже. Представители рыбоядной группы отличаются перемещением вершины венечного отростка вперед, края массивной ямки назад. У дурофагов увеличивается высота тела нижней челюсти под молярами и уменьшается в передней части, уменьшается высота венечного отростка, увеличивается длина жевательной части молярного комплекса. Таким образом, можно выделить особенности нижней челюсти трофических групп куньих.

## **Морфологическая изменчивость голого османа (*Gymnodiptychus dybowskii*) из притоков р. Или**

**Салимбаева Асем Сериковна**

*НИИ проблем биологии и биотехнологии*

*Казахского национального университета имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*asem\_salimbaeva@mail.ru*

Голый осман (*Gymnodiptychus dybowskii* Kessler, 1874) — аборигенный вид рыб бассейна р. Или. В результате акклиматизационных мероприятий, проведенных в бассейне этой реки во второй половине 1950-х годов, голый осман был вытеснен в придаточную систему и в настоящее время в самой р. Или не встречается. Целью проведенного нами исследования было изучение изменчивости и морфологических особенностей популяций голого османа из рек Чарын и Коктерен (притоки р. Или).

Отлов рыб проводили летом 2010–2012 гг. с помощью мелкоячеистого бредня и рыболовного сачка. Используются общепринятые в ихтиологии методики морфологического анализа. Для сравнения признаков использованы показатели «дивергенция» (Андреев, Решетников, 1977) и «коэффициент различия» (CD) (Майр, 1971).

Изменчивость пластических признаков между выборками разных лет и разных участков из р. Чарын не достигает условного подвидового уровня по критерию CD. Между выборками разных лет из р. Коктерен по длине хвостового стебля отмечены различия «подвидового» уровня. Сравнение выборок из разных рек выявило различие «подвидового» уровня по длине основания анального плавника, что, вероятнее всего, обусловлено гидрологическими различиями разных рек. Ни по одному из счетных признаков различий «подвидового» уровня между выборками не обнаружено.

По совокупности как пластических, так и счетных признаков наибольшее сходство (наименьшая суммарная дивергенция) наблюдается между выборками из р. Коктерен и верховий р. Чарын. Сходство выборок из верховий разных рек обусловлено относительным постоянством среды обитания в этом биотопе. Напротив, между выборками из разных участков р. Чарын отмечены большие различия, что указывает на существование внутривидовых группировок, приуроченных к различным биотопам.

В целом полученные результаты указывают на отсутствие обмена особями, обитающими в разных реках. Таким образом, в настоящее время реки Коктерен и Чарын населяют обособленные популяции. Кроме того, в р. Чарын наблюдается подразделение на несколько субпопуляций, различающихся по зонам обитания.

*Исследования выполнены при поддержке гранта 0159 ГФ Министерства образования и науки Республики Казахстан.*

## **Видовая идентификация различных представителей семейства куньих (Mustelidae)**

**таежных экосистем с использованием метода частичного секвенирования мт ДНК**

**Сенина Дарья Александровна, Быстровская Мария Олеговна**

*Череповецкий Государственный Университет, Череповец, Россия*

*satumta@mail.ru*

Одним из наиболее детально проработанных направлений атравматичных генетических методов стало видовое определение целевых объектов природопользования, как редких и требующих особых мер охраны, так и охотничье-промысловых, особенно видов из семейства куньих.

Мы провели идентификацию экскрементов, собранных на территории Вологодской области и Республики Коми, сохранённых в спирте или в замороженном состоянии. Вначале мы использовали метод частичного секвенирования мтДНК экскрементов куньих, рекомендованный В.В. Рожновым с соавторами (2008). Недостатком этой методики была низкая специфичность использовавшихся праймеров. Поэтому на следующем этапе видовую идентификацию экскрементов куньих проводили путем секвенирования маркерной последовательности участка мтДНК с использованием видоспецифичных праймеров, предложенных К. Фернандесом с соавторами (Fernandes et al., 2008). Этот способ позволил

повысить точность анализа, но оказался очень трудоемким. Поэтому мы остановились на методе частичного секвенирования мтДНК, но несколько модифицировали его. Нами были выбраны и собраны в ЦКП «Битехнологии» праймеры на консервативные для всех видов куньих участки D-петли, ограничивающие переменный участок 409 н.п., позволяющие провести видовую идентификацию куньих таежной зоны Евразии. В целом с использованием трех методик мы подвергли анализу 127 образцов, из 100 удалось выделить мтДНК. По первой методике процент удачных определений составил 43 %, по второй — 55 %, по нашей методике — 84 %, что на настоящий момент является наилучшим из достигнутых результатов.

Удалось выяснить, что на большей части Республики Коми и Вологодской области доминирует чужеродный нашей фауне вид — американская норка (*Neovison vison*), а находящаяся в наивысшей категории опасности Красной книги МСОП европейская норка (*Mustela lutreola*) стала исключительно редкой. Поскольку еще 10 лет назад ее популяции в Вологодской области считались самыми благополучными (Saveljev, Skumatov, 2001), наши данные указывают на необходимость осуществления незамедлительных действий по сохранению вида.

*Авторы благодарят своих руководителей Н.П. Коломийцева, Н.Я. Поддубную и О.С. Колобову за постоянную поддержку.*

### **Связанные с хоботом вокальные вариации у взрослых самок и детенышей**

#### **антилопы сайги *Saiga tatarica***

**Сибирякова Ольга Викторовна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*osibiryakova@bk.ru*

Сайга — единственная крупная антилопа, у которой сильно увеличенное преддверие носа образует хобот. Хобот, вероятнее всего развившийся как фильтр от пыли во вдыхаемом воздухе, используется также для вокальной продукции. В данном исследовании мы описали структуру криков сайги и сравнили структуру криков, производимых через нос и через рот. Звуки были записаны от 24 взрослых самок и 32 детенышей сайги в возрасте 0-10 дней в мае 2002 года в Центре разведения диких животных Республики Калмыкия. Анализ видеоклипов показал, что взрослые самки и детеныши издают крики и через нос, и через рот. Также они производят носоротовые крики, начинающиеся с закрытым ртом и продолжающиеся с открытым. Инновацией этого исследования стало сравнение основной частоты в одном крике при переключении с носовой на ротовую продукцию. Основные частоты носовой и ротовой части носоротового крика не различались ни у самок, ни у детенышей сайги, а в носовом крике основная частота была достоверно ниже, чем в ротовом. Детеныши имели в 2 раза более высокую основную частоту по сравнению с матерями и в носовых, и в ротовых криках. Значения первых четырех формант (резонансных частотных областей) у самок и у детенышей достоверно не различались между носовыми криками и носовой частью носоротовых, между ротовыми и ротовой частью носоротовых. Все четыре форманты носового крика и носовой части были достоверно ниже, чем четыре форманты ротового крика и ротовой части. Расстояние между соседними формантами не было одинаковым и в носовых, и в ротовых криках, что позволяет предположить неuniformность вокального тракта. При этом детеныши имели схожие формантные паттерны в носовых и ротовых криках, а у самок формантный паттерн носового крика сильно отличался от ротового. Таким образом, взрослые самки и детеныши сайги при продукции звука могут переключаться с носового вокального тракта на ротовой для активного изменения длины вокального тракта, что приводит к значительным вариациям в формантах и слабому изменению основной частоты.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 12-04-00260).*

## **Особенности трофических связей куньих (Mustelidae) на северо-западе Европейской России**

*Цветкова Юлия Николаевна, Быстровская Мария Олеговна,*

*Сенина Дарья Александровна, Гостица Алёна Вячеславовна*

*Череповецкий государственный университет, Череповец, Россия*

*biologiacher@yandex.ru*

К ключевым проблемам природопользования относятся те, которые связаны с управлением популяциями животных на основе знания динамики их популяций. Первостепенным в познании закономерностей движения численности экономически ценных или нуждающихся в специальных мерах охраны видов является исследование их трофических связей. С целью изучения особенностей питания куньих таежной зоны России нами собрано большое количество экскрементов в Пермском крае, Республике Коми, Вологодской и Ярославской областях, проанализированы остатки пищи в экскрементах. Установление видовой принадлежности экскрементов осуществляли по следам на субстрате и с использованием молекулярно-генетических методов; для чего нам пришлось модифицировать протокол сбора и анализа экскрементов, разработать собственные праймеры, позволившие существенно повысить точность анализа методом частичного секвенирования мтДНК. Мы установили, что в районе исследования определенные предпочтения у разных видов можно выразить убывающим рядом: у выдры «рыбы — амфибии — речные раки — беспозвоночные — птицы — млекопитающие», у американской норки «рыбы — беспозвоночные — амфибии — млекопитающие — птицы — речные раки», у лесной куницы «млекопитающие — ягоды — птицы — амфибии — беспозвоночные», у горностая «млекопитающие — птицы — амфибии — беспозвоночные» и у ласки «млекопитающие — птицы — беспозвоночные». Вместе с тем было найдено и общее почти для всех куньих высокое содержание остатков земноводных в экскрементах (как по массе, так и по встречаемости), как это было ранее установлено для барсука Дарвинского заповедника (Сидорчук, Рожнов, 2010). Такая особенность в питании связана не столько со специализацией видов, сколько с наличием в природе определённых пищевых объектов. Северо-запад России характеризуется густой гидрологической сетью и обширными болотами, где численность лягушек и жаб довольно высокая, и сами эти животные являются доступными для куньих жертвами. В разных районах Вологодской области встречаются особи, искусно извлекающие из шкуры тушки жаб. Это явление представляет интерес для изучения культурного наследования поведенческих особенностей питания.

*Выражаем искреннюю признательность нашим научным руководителям Н.Я. Поддубной и Н.П. Коломийцеву за терпеливое обучение и переданный опыт проведения научных исследований.*

## **Экологическая роль большого баклана (*Phalacrocorax carbo*) в экосистеме**

**Куршского залива**

*Чайка Кристина Витальевна*

*Балтийский федеральный университет им. И.Канта, Калининград, Россия*

*KCHaika@kantiana.ru*

Рост численности европейской популяции большого баклана, сопровождаемый возникновением крупных колоний, усиливающееся с течением времени его воздействие на водные и околоводные лесные биогеоценозы, а также конкурентные взаимоотношения с рыбным хозяйством и весьма значимая роль этих птиц в поддержании очагов и циркуляции эндопаразитов, определяют растущий интерес к изучению его биологии и оценке роли в экосистемах. Отсюда очевидна и актуальность исследования данного вида в Калининградской области, где большой баклан гнездится с 1980-х гг. В настоящее время гнездовая колония *Ph. carbo*, расположенная на южном побережье Куршского залива (лес «Северная грива»), является одной из крупнейших в Европе, однако экологическая роль большого баклана в экосистеме этого продуктивного водоема остается малоизученной и недооцененной.

Материал, послуживший основой для данной работы, собран на смешанной колонии бакланов и серых цапель в 2009–2012 гг. путем полного подсчета и описания гнезд.

Гельминтологические исследования проводили общепринятыми методами, обследовано 40 экз. птиц, определены 31219 экз. плоских червей.

В результате было установлено, что с 2009 по 2012 г. численность больших бакланов в колонии увеличилась с 6500 до 9075 пар, что обуславливает все возрастающее значение данного вида в экосистеме залива. В результате гельминтологических исследований было установлено, что *Ph. carbo* выполняет две важные роли: одного из обязательных звеньев в циркуляции аборигенных видов, а также роль вектора для интродукции неаборигенных видов в экосистему водоема. Два вида гельминтов успешно занесены большим бакланом в настоящее время — ленточный червь *Paradilepis scolecina* (Rudolphi, 1819) и трематода *Paryphostomum radiatum* (Dujardin, 1845).

Установлено, что в экосистеме залива большой баклан служит обязательным звеном в циркуляции аборигенных специфических видов паразитов, а также альтернативным хозяином для аборигенных видов с низкой видовой специфичностью, при этом являясь вектором для интродукции неаборигенных видов в водоем. Отмечена тенденция к увеличению численности вида и объема изъятия им рыбных ресурсов. Для комплексной оценки экологической роли большого баклана в экосистеме Куршского залива и оптимизации взаимоотношений с хозяйственной деятельностью человека необходимы дальнейшие системные многоплановые исследования.

### **Возможности использования спутниковых снимков высокого разрешения для мониторинга сайги (*Saiga tatarica*)**

**Ячменникова Анна Андреевна**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

*Инженерно-технологический центр «СКАНЭКС», Москва, Россия*

*felis@nightmail.ru*

В настоящее время метод дешифрирования космических снимков приобретает все большую актуальность в сфере зоологического мониторинга. Особенно важно, когда речь идет о животных в статусе «критически угрожаемый вид», таких как сайга. Длина тела особи *S. tatarica* от 1,04 до 1,46 м (Соколов, 1974). В данной работе дешифрировали высокодетальные снимки спутника EROS-B с разрешением 0,7 м в пикселе для обнаружения сайгаков на территории заказника «Степной» в Калмыкии. Сайга на снимке занимает от 2 до 3 пикселей. Съемки производили в конце ноября — в период, когда снег в степи еще не лег, а сайги уже перелиняли, и цвет их шерсти — светлый. Для анализа снимков использовали программу ScanEX IMAGE Processor; численные данные анализировались с использованием Statistics 8.0; дистанции между группами и между животными в группах вычислялись с помощью MapInfo Professional 8.0 SCP. В результате работы были обнаружены стада животных (сайги, овцы, коровы, лошади) и разработана система характеристик, позволяющая отличить скопления сайги от прочих. В систему характеристик входят: [1] цвет животных в стаде (сайги — только белые, тогда как овцы, схожие по размеру, могут быть цветными); [2] соотношения длины тела животного к ширине (для овец этот параметр близок к 1); [3] размеры животных (сайги короче и уже, чем коровы и лошади, занимают меньше пикселей); [4] высота животного (определяется через косинус угла падения солнечных лучей и расстояние от животного до его тени; сайги ниже, чем коровы и лошади). В процессе работы производили калибровку метода, через сотрудничество с персоналом заказника «Степной»; по GPS-координатам снимка шла проверка на месте, действительно ли анализируются стада *S. tatarica*. В итоге произвели подсчет среднего количества животных в стадах; среднего расстояния между агрегациями сайги, рассеянными по степи; среднего расстояния между животными, перемещающихся в стадах, и пасущихся. С помощью спутниковых снимков мы можем оценить одновременно распределение сайги на обширном участке степи. Метод не является стрессорирующим для редких животных.

*Автор благодарит Добрынина Д.В., Луцкекину А.А., Хлуднева А.В., Рожнова В.В.*

## Подсекция «КЛЕТочная Биология и Гистология»

### Comparative analysis of glycogen accumulation in hepatocytes of normal and cirrhotic rat liver

*Chestnova Anna Yurievna*

*Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint- Petersburg, Russia*

*chestnova.anna@gmail.com*

It is known that carbohydrate metabolism in the patients with liver cirrhosis (LC) is impaired. As far as the liver plays a key role in the maintenance balance of the blood glucose level by means of synthesis and degradation of glycogen. Purpose is to investigate the accumulation of glycogen in cirrhotic rat liver in some time intervals after *per os* administration of glucose to the starving animals. The LC was produced by inhalation of the hepatotropic poison CCl<sub>4</sub>. The glycogen concentration in liver was determined by biochemical method. The glycogen content in hepatocytes was measured cytofluorimetrically in the smears stained with a fluorescent PAS-reaction. Applying of the absorption cytophotometry the glycogen contents were determined in hepatocytes of portal (PZ) and central zones (CZ) of the liver lobule. The 6-month long intoxication with CCl<sub>4</sub> led to development of typical LC characterized by a 4-fold ( $P < 0.001$ ) increase of the connective tissue. In rats with cirrhosis after 48 h of fasting glycogen liver concentration as well as the content of glycogen in hepatocytes were lower as compared with control by 36 % and 27 % ( $P < 0.01$ ) respectively. According to obtained data, the glycogen accumulation by control animals occurred at a high rate. In particular, the glycogen content in hepatocytes after 10 minutes increased by 34 % ( $P < 0.01$ ). In rats with LC glycogen content continues to stay at the same level for 20 minutes. In both groups of animals hepatocytes of the PZ accumulated more glycogen than the cells of the CZ. The glycogen accumulation at LC is initiated after delay and proceeds with the lower rate than in norm that is attributed to the lower rate of the glycogen synthesis in the pathologic organ.

*I express gratitude to my scientific supervisor Bezborodkina Natalia Nikolaevna and laboratory chief Kudryavtsev Boris Nikolaevich.*

### Ультраструктура сетчатки глаз крыс линии WAG/Rij, имеющих различия генотипа по локусу Taq 1A DRD<sub>2</sub>

*Балхиева Лилия Ханифовна*

*Башкирский государственный университет, г.Уфа, Россия*

*Lilgu@mail.ru*

Сетчатка глаза крыс WAG/Rij — это новая уникальная система и потенциально полезная модель животного, как для фундаментальных исследований, так и в прикладном аспекте для разработки методов лечения. На основе поведенческих и электрофизиологических исследований рядом авторов сделан вывод о функциональной недостаточности дофаминэргической системы мозга крыс линии WAG/Rij. Вполне вероятно, что различные по выраженности нарушения в деятельности дофаминэргической системы у крыс, различающихся генотипом по двуаллельному локусу TAG 1A DRD<sub>2</sub>, могут отражаться и на структурной организации сетчатки глаза.

Целью исследования было изучение особенностей ультраструктурной организации сетчатки гомозиготных крыс линии WAG/Rij, различающихся генотипом по двуаллельному локусу TAG 1A DRD<sub>2</sub>. Исследования проводили на срезах сетчатки глаз крыс линии WAG/Rij с помощью электронного микроскопа JEM-CX II (Япония).

Результаты нашего исследования показали, что кроме признаков дегенерации клеток пигментного эпителия сетчатки глаза у крыс WAG/Rij обоих генотипов выявляются выраженные признаки деструктивных процессов нервных клеток и их отростков почти во всех внутренних слоях сетчатки. Патологическим изменениям подвергались фоторецепторные нейроны и большинство нейронов внутреннего ядерного слоя, изменялась структура глиальных клеток Мюллера. Анализируя ультраструктурную организацию сетчатки крыс WAG/Rij двух генотипов, мы пришли к выводу, что процессы деструкции клеток во всех слоях сетчатки более выражены у крыс с генотипом A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>. Хотя анализ полученных морфометрических показателей

особо выраженных различий между двумя аллелями не выявил. Достоверно значимо отличались только наружный сетчатый слой и слой внешних сегментов фоторецепторных клеток ( $p < 0,001$ ). Данные слои сетчатки глаза были шире у крыс с генотипом  $A_2A_2$ , возможно, за счет проявления признаков отечных процессов.

Таким образом, во всех слоях сетчатки крыс линии WAG/Rij с генотипом  $A_2A_2$  по локусу TAG 1A DRD<sub>2</sub> признаки деструктивных клеточных процессов более выражены, чем у крыс с генотипом  $A_1A_1$ . Это может быть связано с более выраженной функциональной недостаточностью дофаминэргической системы нервной ткани крыс генотипа  $A_2A_2$  по сравнению с крысами генотипа  $A_1A_1$ .

### **Онтогенетические особенности микроморфологии щитовидной железы свиней в региональных биогеохимических условиях**

*Блинова Алена Дмитриевна*

*Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева, Чебоксары, Россия*

*alen\_13@pochta.ru*

Разработка, апробация и внедрение биогенных соединений нового поколения, вызывающих иммунофизиологические и метаболические эффекты организма с учетом биогеохимического своеобразия регионов России, является актуальной проблемой современной биологии и биотехнологии. Цель — изучение динамики структурно-функционального состояния щитовидной железы у хрячков и боровков в постнатальном онтогенезе, содержащихся при использовании биопрепаратов «Трепел» и «Сувар» с учетом биогеохимической специфичности Центра и Юго-Востока Чувашской Республики.

Поросят обеих групп с 2- до 59-дневного возраста выращивали вместе с подсосными свиноматками, затем после кастрации боровков 1 группы (контроль) с 60- до 300-дневного возраста содержали на основном рационе (ОР). В I серии опытов (Чувашский Центр) животным 2 группы, начиная с 60-дневного возраста, на фоне ОР ежедневно скармливали «Трепел» в дозе 1,25 г/кг массы тела (м. т.) до 300-дневного возраста в комплексе с «Суваром» из расчета 25–50 мг/кг м. т. в течение каждых 20 дней с 10-дневными интервалами до 240-дневного возраста; во II серии (Чувашский Юго-Восток) — только «Трепел» в указанной выше дозе.

В ходе опытов у свиней 2-, 15-, 60-, 240- и 300-дневного возраста (соответственно периоды новорожденности, молочного типа кормления, полового созревания, физиологического созревания) изучали морфометрические показатели структур щитовидной железы по общепринятым в гистологии современным методам.

Выявлено, что у контрольных животных диаметр фолликулов за изучаемые возрастные периоды увеличивался в первой серии на 4,0, 86,8, 45,3 и 10,9 %, а во второй серии — на 7,7, 58,7, 47,9 и 9,7 % соответственно. Отсюда следует, что минимальное его увеличение имело место в фазу новорожденности, а максимальное — в период молочного типа кормления. Аналогичная закономерность выявлена в динамике толщины тироидного эпителия и индекса Брауна.

Установленная онтогенетическая специфичность была характерна и для свиней опытной группы, но на более высоком морфометрическом уровне.

Итак, в биогеохимических условиях Чувашского Центра и Юго-Востока выявлена причинно-следственная связь применения хрячкам и боровкам биогенных веществ «Трепел» и «Сувар» с онтогенетическими особенностями морфофизиологической реакции их щитовидной железы в разные периоды постнатального онтогенеза.

*Работа поддержана Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере № 14304-02 (конкурс «У.М.Н.И.К.»).*

## **Организация районов прикрепления XL и 3R хромосом в пространстве ядер клеток генеративной и соматической систем у *Anopheles messeae* Fall.**

**Бондаренко Семен Максимович, Артемов Глеб Николаевич**

*Томский государственный университет, Томск, Россия*

*center\_cu@res.tsu.ru*

Хромосомы в пространстве ядра расположены не хаотичным образом. В настоящее время показано, что ядерная архитектура тесно связана с функциональной активностью клетки, поскольку в клетках различных тканей пространственная организация хромосом отличается. Имеется также эволюционное значение, так как есть свидетельства о наличии межвидовых отличий пространственной организации хромосом в трофоцитах яичников комаров рода *Anopheles* комплекса «*macullipenis*».

Малярийный комар *Anopheles messeae* является удобным объектом для изучения ядерной архитектуры, поскольку политенные хромосомы в трофоцитах яичников этого комара имеют выраженные контакты с ядерной оболочкой (районы прикрепления, РП), что, определённо, может оказывать влияние на расположение хромосом в ядре. Кроме того, у этого объекта есть ещё ряд тканей, где также образуются политенные хромосомы предположительно с такими же РП.

Цель данной работы — определить, существуют ли различия клеток генеративной и соматических систем по пространственному расположению районов хромосом, которые в трофоцитах яичников *An. messeae* выполняют функцию РП. В качестве модели клеток соматической системы нами были выбраны клетки слюнных желез личинок, грудного нервного ганглия, имагинальных дисков и фолликулярного эпителия имаго, а модели клеток генеративной системы — трофоциты яичников самок малярийного комара. Ранее были получены ДНК-пробы из РП хромосом 3R (район 32d) и XL (район 2b-c). Для обнаружения РП использовался метод FISH ДНК-зондов из районов 32d и 2b-c с ядрами всех типов клеток. В ходе анализа определяли координаты точек прикрепления хромосом и центра каждого ядра. Были получены значения длин векторов XL (от центра ядра до района 2b-c), 3R1 и 3R2 (от центра до района 32d у обоих гомологов) и углов между ними.

На основании полученных в ходе нашей работы данных можно заключить, что существует значительная разница в пространственном расположении РП XL и 3R хромосом в ядрах клеток генеративной и соматических систем.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ для поддержки молодых ученых – кандидатов наук МК-4158.2012.4, Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.В37.21.1116 и гранта РФФИ №12-04-31201 мол\_а.*

## **Морфометрический анализ изменений митохондрий в мышечном волокне при митохондриальной миопатии**

**Виноградская Ирина Сергеевна, Шаталов Петр Алексеевич**

*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова*

*Минздравсоцразвития, Москва, Россия*

*Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздравсоцразвития, Москва, Россия*

*Irina\_www@mail.ru*

Среди большого количества исследованных болезней человека одной из наиболее распространенных групп являются нервно-мышечные болезни, среди которых особое место занимают митохондриальные миопатии. В наших предыдущих исследованиях было показано, что при определенных формах миопатии индивидуальные особенности морфофункционального состояния митохондрий в мышечной ткани могут влиять на клиническую картину заболевания. Для уточнения этих данных был проведен морфометрический анализ.

Было обследовано 18 больных в возрасте от 4 до 17 лет с болезнью митохондриальной миопатией. Группы обследованных больных были разделены по признаку наличия или отсутствия скоплений митохондрий (RRF- ragged red fibers, «рваные» красные волокна). Предварительный анализ выполнен с помощью световой и электронной микроскопии.

Морфометрический анализ митохондрий произведен с помощью программы Image J. Обработка полученных данных проводилась с использованием программы Statistica.

Морфометрический анализ митохондрий в мышечных волокнах у больных с митохондриальной миопатией показал, что размеры этих органелл существенно отличаются в зависимости от их расположения в центральных или периферических зонах: площадь митохондрий в центре волокна равнялась  $0,10 \text{ мкм}^2 \pm 0,002$ , на периферии —  $0,18 \text{ мкм}^2 \pm 0,007$ . При этом указанные параметры существенно различались в зависимости от наличия или отсутствия аномальных скоплений (RRF). Так, у больных с RRF площадь митохондрий в центре волокна составляет  $0,10 \text{ мкм}^2 \pm 0,002$ , на периферии —  $0,17 \text{ мкм}^2 \pm 0,006$ , а при отсутствии указанных скоплений площадь митохондрий в центре волокна —  $0,07 \text{ мкм}^2 \pm 0,003$ , на периферии —  $0,09 \text{ мкм}^2 \pm 0,007$ . Также, у всех больных наблюдаются увеличение количества митохондрий в периферических (субсарколеммальных) зонах, в результате чего эти участки обладают значительно большей энзиматической активностью по сравнению с центральными зонами. Таким образом, интермиофибрилярная и субсарколеммальная популяция митохондрий существенно различаются не только по количеству митохондрии, но и по размерам, что подтверждает данные о принципиальном различии этих двух групп органелл [Engel, Macdonald, 1970].

### **Изучение вклада ганглиозида GD2 в рецепцию цитотоксического сигнала в опухолевых клетках**

***Вишнякова Полина Александровна, Доронин Игорь Игоревич,  
Холоденко Роман Васильевич***

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва, Россия,  
vpa2002@mail.ru*

Мишенями моноклональных антител при иммунотерапии рака могут служить не только белки, но и гликофинголипиды, в частности, ганглиозиды. В результате злокачественной трансформации в некоторых видах клеток повышается экспрессия ряда ганглиозидов. Для ганглиозида GD2 это явление описано на примере клеток нейробластомы, глиомы, меланомы, лимфомы и мелкоклеточного рака легких. Поэтому ганглиозид GD2 является одним из наиболее интересных опухолеассоциированных ганглиозидов. Ранее нами было показано, что моноклональные антитела к GD2 (mAb-GD2) обладают способностью прямого цитотоксического действия на GD2-позитивные опухолевые клетки. Однако механизмы, лежащие в основе запуска клеточной гибели, и собственная роль ганглиозида GD2 в этом процессе не изучены.

Для определения роли GD2 в рецепции сигнала клеточной гибели был использован широкий спектр цитометрических, конфокальных и биохимических методов, позволивших определить вовлеченность каспаз, митохондрий и АТФ в индуцированную клеточную гибель. Было показано, что цитотоксические эффекты mAb-GD2 в опухолевых клетках имеет черты и апоптоза, и некроза.

Была изучена возможность кросс-реактивности различных mAb-GD2 к белкам клеточного лизата. Нами было показано, что GD2-специфичные антитела ME361 не имеют кросс-реактивности с белками клеточного лизата, а также, что их “ганглиозидной” мишенью на поверхности клеток EL-4 может выступать только GD2. Кроме того, мы сравнили цитотоксические эффекты антител с уровнем экспрессии GD2 на поверхности опухолевых клеток: в клетках с ингибированным синтезом GD2 наблюдались значительное снижение уровня апоптоза. Таким образом, молекула GD2 является единственной мишенью действия антител ME361. Цитотоксические эффекты mAb-GD2 находятся в прямой зависимости от уровня экспрессии GD2. Исходя из этого, GD2 является акцептором цитотоксического сигнала в опухолевых клетках.

Полученные результаты открывают новый подход к ганглиозиду GD2 не только как к адресной, но и как к эффекторной молекуле на поверхности опухолевых клеток.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №12-04-31511 мол\_а.*

**Характеристика синдрома удлиненного интервала QT  
при помощи пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток  
Вялкова Анна Викторовна<sup>1</sup>, Григорьева Е.В.<sup>1,2</sup>, Дементьева Е.В.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия  
*anna.vyalkova@gmail.com*

Одной из частых причин развития тяжелых сердечных нарушений ритма является синдром удлиненного интервала QT (LQTS). Как врожденные, так и приобретенные его формы характеризуются увеличением продолжительности интервала QT на ЭКГ и способны вызывать вентрикулярную тахикардию и внезапную смерть. Врожденная форма LQTS может обуславливаться генетическими мутациями в 13 генах. В результате развивается дисфункция ионных каналов, что приводит к увеличению времени реполяризации кардиомиоцитов желудочков. Однако, несмотря на достигнутый прогресс в понимании механизмов LQTS, говорить о существовании высокоэффективных методов лечения LQTS преждевременно. LQTS характеризуется большим разнообразием причин возникновения, а также значительной вариабельностью в степени проявления у пациентов. Более того, пациенты с одинаковым типом LQTS имеют различную чувствительность к одним и тем же лекарственным препаратам. В связи с этим все больше назревает необходимость поиска новых «персонализированных» подходов к терапии LQTS. Таким подходом может стать использование пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). При помощи их направленной дифференцировки в кардиомиоциты можно воспроизвести фенотип различных форм LQTS *in vitro*, что поможет пролить свет на механизм аритмогенеза и существенно повлиять на выбор лечебной тактики и ее эффективность, что, в свою очередь, позволит избежать тяжелых и прогностически неблагоприятных клинических состояний.

Были проанализированы нуклеотидные последовательности экзонов генов *KCNQ1* и *KCNH2*, кодирующих  $\alpha$ -субъединицы медленного и быстрого компонентов калиевого тока, у пяти пациентов с диагнозом LQTS. У двух пациентов были выявлены мутации в 5 и 7 экзонах гена *KCNQ1*, которые по литературным данным отвечают за развитие LQTS. От одного из этих пациентов была получена культура фибробластов. В результате трансдукции фибробластов пациента при помощи лентивирусов, несущих кДНК генов плюрипотентности, были получены ИПСК. Клетки демонстрируют экспрессию щелочной фосфатазы, транскрипционных факторов OCT4, NANOG, поверхностных антигенов SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81, что свидетельствует об их плюрипотентном состоянии. Далее планируется провести направленную дифференцировку полученных ИПСК в кардиомиоциты для более глубокого понимания механизмов, лежащих в основе патогенеза аритмии, а также для моделирования фенотипа наследственных форм сердечных расстройств.

**Выживаемость нейронов сетчатки в органотипической роллерной культуре  
заднего сектора глаза крысы: морфологический и функциональный анализ**

**Ганчарова Ольга Сергеевна**

*НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
olgancharova@gmail.com*

Среди большого разнообразия методов культивирования сетчатки позвоночных *in vitro* особого внимания заслуживают т.н. органотипические модели — способы культивирования сетчатки целиком отдельно или в составе заднего сектора глаза. В свою очередь, из них в последнее десятилетие стали популярными методы с использованием роллера.

Целью данной работы являлась подробная качественная и количественная оценка модели кратковременного роллерного органотипического культивирования нейральной сетчатки в составе заднего сектора глаза крысы. Особое внимание отводилось рассмотрению морфофункциональных характеристик ганглиозных клеток сетчатки.

Исследование проводилось путем морфологического изучения гистологических препаратов сетчатки, анализа синтетической активности ганглиозных нейронов с использованием реакции Браше и оценки выживаемости нейронов при помощи метода TUNEL.

Было показано, что сетчатка крысы демонстрирует морфофункциональные свойства, присущие этой ткани в норме, только в пределах первых суток культивирования. Начиная с 24 часов *in vitro* существенное число клеток ганглиозного слоя претерпевает пикноз ядра и прекращает синтеза РНК. К третьим-четвертым суткам культивирования практически все клетки ганглиозного слоя сетчатки находятся в состоянии олигонуклеосомной деградации хроматина. В ходе культивирования нейральная сетчатка отделяется от подлежащих слоев глаза и претерпевает макроскопические перестройки и изменение цитоархитектоники.

Основной причиной гибели ганглиозных нейронов сетчатки при кратковременном культивировании в течение одних-четырех суток полагается ишемия, а не пересечение аксонов зрительного нерва, поскольку в литературе указывается на иной временной период, необходимый для развития апоптоза в ганглиозном слое при перерезке зрительного нерва (5–7 дней).

Результаты оценки модели культивирования позволяют рекомендовать ее для поиска новых веществ, предохраняющих нейральную сетчатку от гибели при ишемии — для скрининга ретино- и нейропротекторов.

### **Особенности генеза тучных клеток тимуса мыши в условиях восстановления органа после акцидентальной трансформации**

**Гусельникова Валерия Владимировна**

*Санкт-Петербургский государственный университет, С.-Петербург, Россия*

*Guselnicova.Valeriia@yandex.ru*

Работы по изучению созревания тучных клеток (ТК) в тканях единичны и связаны с исследованием эмбриональных органов, в то время как процесс дифференцировки данных клеток в постэмбриональном онтогенезе детально не описан. Цель данного исследования — гистохимическое изучение различных аспектов генеза ТК в постнатальном тимусе мыши в условиях восстановления органа после акцидентальной трансформации. Для индукции акцидентальной трансформации мышам опытной группы однократно вводили 2,5 мг гидрокортизона. Через 48 ч после инъекции животных умерщвляли, тимус фиксировали смесью Карнуа и после стандартной гистологической проводки заливали в парафин. Срезы окрашивали раствором альцианового синего–сафранина с докраской ядер гематоксилином Майера. В данном исследовании показано, что через 48 ч после введения гидрокортизона ТК в тимусе формируют гетерогенную по гистохимическим характеристикам популяцию. Данная гетерогенность выражается в том, что гранулы одних ТК связывают сафранин и окрашены в красный цвет (Saf+гранулы), в то время как гранулы других ТК синие из-за сродства их компонентов к альциановому синему (Alc+гранулы); наконец, присутствуют ТК, гранулы которых связывают одновременно оба красителя, что придает цитоплазме сине-фиолетовый или красновато-фиолетовый оттенок. Локализация ТК в трансформированном тимусе оказывается нетипичной для постнатального тимуса мыши, но сходной с расположением ТК в эмбриональном органе. При этом ТК с преобладанием Alc+ гранул располагаются в мозговом и корковом веществе тимуса, а ТК с преобладанием Saf+ гранул преимущественно в составе капсулы и септ, а также субкапсулярно. По литературным данным можно предположить, что те ТК, которые характеризуются наличием Alc+ гранул, содержат предшественник гепарина, обедненный N-сульфатом или с полным его отсутствием. Те же клетки, которые имеют Saf+гранулы, содержат высокосульфатированный зрелый гепарин. Полученные результаты свидетельствуют, что при восстановлении после акцидентальной трансформации в тимусе взрослых животных, вероятно, идет процесс дифференцировки ТК из клеток-предшественников. Показанная принципиальная возможность такой дифференцировки может быть значима в рамках гипотезы тимического происхождения ТК, по которой именно тимус — главный орган мастоцитопоэза у взрослых животных.

Автор выражает благодарность научному руководителю, доктору биологических наук, профессору А.В. Полевщикову, за внимательное руководство и помощь на всех этапах выполнения работы.

Работа поддержана грантами СПбГУ № 1.38.80.2012 и ДВО РАН № 12-И-П7-05.

## **Морфофункциональные изменения интерстициальной ткани семенных желез белых крыс под воздействием ацетата свинца**

**Дуденкова Наталья Анатольевна**

*Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевьева, Саранск, Россия  
dudenkova\_nataly@mail.ru*

Среди токсических элементов, загрязняющих окружающую среду, всё более пристальное внимание привлекают тяжёлые металлы и, в первую очередь, свинец, по данным ВОЗ, отнесённый к группе токсических металлов I класса опасности. Свинец является вредным производственным и неблагоприятным экологическим фактором, отличается высокой токсичностью, способностью поражать жизненно важные органы и системы организма, в том числе и репродуктивную систему. Вместе с тем влияние свинца на морфофункциональные изменения мужских половых желез недостаточно изучено.

В данной работе с помощью гистологических методов исследования и морфометрического анализа изучены структурные изменения интерстициальной ткани между извитыми семенными канальцами семенных желез, а также находящиеся в ней клетки Лейдига после 7 дней воздействия ацетата свинца в дозе 45 мг/кг/сутки. В качестве биологического тест-объекта в работе использовали белых беспородных половозрелых крыс-самцов массой 200–250 г. Материалом исследования служили семенные железы.

Проведенное нами морфологическое и морфометрическое исследование показало, что после 7 дней воздействия ацетата свинца отмечается отек интерстициальной ткани семенника. В сосудах микроциркуляторного русла наблюдаются стазы и сладжки эритроцитов. Отмечено достоверное увеличение площади интерстициальной ткани между извитыми семенными канальцами на 23 %. Клетки Лейдига в участке интерстиция, по сравнению с контролем, располагаются преимущественно одиночно, лишь изредка встречаются небольшие группы по 2–3 клетки. Мелкодисперсный хроматин в ядрах практически не просматривается. Морфометрические исследования показали, что в опытной группе животных, по сравнению с контролем, происходит достоверное уменьшение площади клеток Лейдига и их ядер соответственно на 61,1 % и 69,7 %. Отмечено достоверное уменьшение клеток Лейдига в одном участке интерстиция на 32,6 %.

Результаты полученных исследований указывают на токсическое влияние ацетата на репродуктивную систему животных. Полученные данные свидетельствуют о возрастании дегенеративных процессов, происходящих в интерстициальной ткани семенных желез и находящихся в ней интерстициальных клеток Лейдига под воздействием ацетата свинца.

## **Возрастные изменения в клетках ретикулярного пигментного эпителия и миокарда японского перепела *Coturnix japonica***

**Духинова Марина Сергеевна, Серезникова Наталья Борисовна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
marina\_dukhinova@mail.ru, natalia.serj@yandex.ru*

Известно, что японский перепел *Coturnix japonica*, обладающий небольшой продолжительностью жизни, по целому ряду морфологических параметров сетчатки глаза близок к человеку и является перспективной экспериментальной моделью для исследования процессов старения сетчатки в ускоренном временном режиме. Вместе с тем на этой модели могут быть изучены возрастные изменения кардиомиоцитов (КМЦ), которые, как и клетки ретикулярного пигментного эпителия (РПЭ), наиболее подвержены окислительному стрессу, ведущему к развитию патологических изменений в ткани.

Материал был получен в лаборатории физико-химических основ рецепции Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН. Методом электронной микроскопии с применением морфометрического анализа исследован РПЭ центральных зон сетчатки и миокард левого желудочка молодых (9 недель) и старых (52 недели) японских перепелов. Наиболее заметным проявлением старения клеток РПЭ было накопление липофусцина — его количество возрастало в 3 раза, вместе с тем в КМЦ содержание липофусцина повышалось, но незначительно. При этом морфология липофусциновых гранул (ЛГ) была разной: в КМЦ наблюдались только ЛГ с электронно-плотными включениями, в то время как в РПЭ наряду с ними встречались ЛГ со светлой центральной частью. Характерным признаком старения как клеток РПЭ, так и КМЦ было изменение структуры хондриома. У 9-недельных птиц в РПЭ изредка встречались митохондрии необычной формы — в виде изогнутых гантелей или колец; с возрастом происходило двукратное повышение численной плотности и удельного объёма таких митохондрий. В КМЦ при старении увеличивалось число длинных (более 2 мкм) митохондрий — на 60 %, а максимальная длина органеллы возрастала в 2 раза.

Таким образом, скорость накопления возрастных изменений значительно выше в РПЭ по сравнению с миокардом, однако эти изменения принципиально сходны между собой. Признаки старения клеток РПЭ и миокарда, наблюдаемые нами у перепела, соответствуют описанным для человека, что позволяет использовать эту модель для сравнительного анализа возрастных структурно-функциональных изменений в разных типах клеток.

### **Морфологические изменения мышечной оболочки ободочной кишки при экспериментальном хроническом колите у мышей линии C57Bl/6**

*Кирюхин Сергей Олегович<sup>1,2</sup>, Хочанский Дмитрий Николаевич<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *НИИ морфологии человека РАМН, Москва, Россия*

*sergey.kirukhin@gmail.com*

Морфологические проявления индуцированного декстрансульфатом натрия (ДСН) экспериментального острого язвенного и хронического колита, описанные в литературе, касаются только слизистой оболочки, изменения мышечной оболочки ободочной кишки не изучены. Целью работы было исследование морфологических изменений мышечной оболочки ободочной кишки у мышей C57Bl/6 при хроническом колите, индуцированном ДСН. Исследование проводили на мышцах-самцах линии C57Bl/6. Хронический колит моделировали заменой питьевой воды 3 % водным раствором ДСН в течение 7 суток. Животных выводили из эксперимента на 8-е и 29-е сутки от начала потребления ДСН. Проводили гистологическое, иммуногистохимическое и электронномикроскопическое исследование ободочной кишки. На 8-е сутки эксперимента при гистологическом исследовании выявлен острый язвенный колит: эрозии и язвы, выраженная воспалительная инфильтрация, отек, расширение и полнокровие сосудов слизистой оболочки ободочной кишки. В мышечной оболочке была снижена иммунореактивность нейронов (PGP9.5) и клеток Кахаля (c-Kit), отмечались деструктивные изменения миоцитов, интерстициальных клеток и нейронов подслизистого и межмышечного сплетений. На 29-е сутки эксперимента происходило восстановление целостности эпителиальной выстилки, отмечались отек и воспалительная инфильтрация слизистой оболочки, которая была представлена лимфоцитами, плазмócитами и макрофагами. Увеличивалось число лимфоэпителиальных фолликулов. Мышечная оболочка утолщалась, в ней выявлялся диффузно-очаговый фиброз. Таким образом, потребление 3 % ДСН в течение 7 суток приводит к развитию в ободочной кишке острого воспалительного процесса с последующей его хронизацией. При остром и хроническом колите в процесс вовлекается не только слизистая, но и мышечная оболочка ободочной кишки, в которой наряду с фиброзом были выявлены деструктивные изменения гладкомышечных клеток, клеток Кахаля и нервных сплетений.

## Характеристика мейоза у тетраплоидной формы кукурузы КрП-1

**Кочкова Ирина Владимировна**

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия*  
*irinavk91@yandex.ru*

Полиплоидия является источником генетической изменчивости и широко используется в селекции, поэтому влияния геномной мутации на проявление генеративных признаков представляет значительный интерес. Тетраплоидная форма кукурузы КрП-1 используется в скрещиваниях для получения тетраплоидной кукурузы с признаками партеногенеза. Однако исследования мужской генеративной сферы тетраплоидных растений этой формы ранее не проводились. Поэтому задача работы заключалась в получении характеристик микроспорогенеза у растений КрП-1.

Полученные результаты свидетельствуют, что отклонения в мейозе у исследуемой тетраплоидной формы представлены тремя основными типами: аномалиями кариокинеза, нарушением цитокинеза и формированием микроспороцитов атипичной формы. Слипание хромосом, отставание хромосом и их разброс по веретену деления были обнаружены у микроспороцитов разных растений с частотой 4–12 %. Причиной, по крайней мере части аномалий, является унивалентное состояние хромосом в мейозе I. Во втором мейозе были зарегистрированы асинхронные деления ядер, нарушения ориентации веретен деления и их слияния, многополюсные веретена. Аномалии в заложении клеточной перегородки чаще наблюдались в микроспороцитах после первого мейотического деления (у разных растений от 9 до 52 %) и реже после второго (до 2 %). Все разнообразие вариантов нарушений цитокинеза можно свести к нескольким основным: заложению перегородок в виде одной или двух насечек с внешней стороны, заложению одного или двух фрагментов перегородки в центре, отсутствию цитокинеза после первого или второго мейотического деления. Результатом различных вариаций карио- и цитокинеза мейоза явилось образование монад, триад, тетрад и пентад микроспор. Особенностью микроспорогенеза у тетраплоидной формы было образование микроспороцитов атипичной формы (удлиненной, каплевидной, веретеновидной и др.), которые ранее не были описаны у кукурузы. Их частота варьировала от 0,8 до 1,5 %.

Таким образом, проведенное исследование обнаружило широкий спектр отклонений в мейозе. Они являются причиной частичной стерильности пыльцы у тетраплоидной формы КрП-1, которая не превышает, как ранее было показано, 32 %. Достаточно высокий процент фертильности позволяет использовать данную форму в селекции.

*Работа выполнена в рамках Государственного задания министерства образования и науки на выполнение НИР № 4.303.2011.*

## Активность флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного *in vitro*

**Полуконова Анна Владимировна<sup>1</sup>, Наволокин Н.А.<sup>2</sup>, Бибилова О.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,*

<sup>2</sup>*Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, г.Саратов, Россия*

*annypol@rambler.ru*

Аврэн лекарственный (*Gratiola officinalis* L.) — ядовитое растение за счет присутствия кукурбитацинового гликозида — элатерицида и алкалоидов (0,2 %). Экстракт аврана, полученный способом, позволяющим существенно снизить его токсичность за счет отсутствия гликозидов и алкалоидов, обогащен флавоноидами и обладает выраженной противоопухолевой, иммуномодулирующей и антиоксидантной активностью. Исследование активности экстракта аврана лекарственного, содержащего биофлавоноиды, *in vitro* актуально в модели опухолевых клеток, т.к. позволит определить цитоморфологические признаки, маркирующие процесс гибели опухолевых клеток под действием противоопухолевого лекарственного средства, что в дальнейшем позволит установить механизмы противоопухолевого действия.

В качестве модели опухолевых клеток использовали культуру клеток почек эмбрионов свиньи, зараженных онковирусом (SPEV-2). Сухой экстракт аврана растворяли в культуральной

среде RPMI 4. Используются концентрации раствора экстракта: 3,2 мкг/мл; 32 мкг/мл; 320 мкг/мл; 3,2 мг/мл и 32 мг/мл. Клетки культивировались в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C в течение 24 часов, после чего окрашивались йодистым пропидием и анализировались на световом микроскопе Leica DM 2500, конфокальном микроскопе Leica LSM SP-5 при комбинировании разных микроскопических режимов — регистрации светорассеяния и флуоресценции. Анализировались: среднее число мертвых клеток, среднее общее количество клеток в культуре, отношение числа мертвых клеток к общему количеству клеток в культуре, умноженное на 100 %.

Установлены цитоморфологические признаки, маркирующие процесс гибели клеток под действием противоопухолевого лекарственного средства. Выявлена минимальная концентрация раствора сухого экстракта аврана (32 мкг/мл), достоверно оказывающее цитотоксическое действие на клетки в культуре.

### **Изучение основных белков ядрышка в ооцитах и клетках гранулёзы яичников мышей с ртуть-индуцированным аутоиммунным процессом**

*Постовалова Екатерина Андреевна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
ekaterinapostovalova@gmail.com*

В индустриально развитых странах аутоиммунные заболевания относятся к наиболее распространенным болезням, доказана связь между развитием аутоиммунных патологий, бесплодием у женщин и невынашиванием беременности. Последние научные данные дают серьезные основания полагать, что развитию системных аутоиммунных болезней способствует регулярная подверженность животных организмов и человека сублетальным дозам соединений тяжелых металлов, и в первую очередь ртути. Сотрудниками нашей лаборатории в 2004 г. начата разработка первой отечественной модели индуцированного аутоиммунного процесса у лабораторных животных, являющаяся на сегодняшний день основной из наиболее адекватных моделей для оценки негативного воздействия тяжелых металлов на организм.

Для исследования на цитологическом уровне влияния аутоиммунных патологий на созревание ооцитов были получены криосрезы яичников от аутоиммунных мышей аутбредного стока CFW. С помощью метода непрямого иммуногистохимического анализа оценили состояние ядрышек ооцитов по характеру окрашивания антителами к маркерным белкам: фибрилларину (фактор раннего процессинга пре-рРНК), B23/нуклеофозмину (основной фактор сборки рибосом), SURF 6 (лабильный белок ядрышка, участвующий в биогенезе рибосом), Nobox (экспрессируется в ооцитах, важное значение для фолликулогенеза и регулирования ооцит-специфических генов).

Аутоиммунный процесс, индуцируемый сублетальными дозами хлорида ртути у лабораторных мышей, кроме появления аутоантител к ядрышковым антигенам, сопровождается также увеличением сывороточных иммуноглобулинов классов IgG и IgE, поликлональной активацией В- и Т- лимфоцитов и появлением иммунных отложений. Скопление иммуноглобулинов наблюдается в клетках гранулёзы, особенно в кумулюсных клетках, стромальных клетках, стенках сосудов. Появление иммунных отложений в ооцитах зависит от зрелости фолликула: ооциты на ранних стадиях развития фолликула активно включают иммуноглобулины, тогда как в ооците, окруженном блестящей оболочкой, включения не наблюдаются.

Возможное нарушение функционирования ядрышка, вызванное развитием системного аутоиммунного процесса, может быть одной из причин аномального созревания ооцитов на ранних стадиях фолликулогенеза у аутоиммунных животных. Сходство признаков аутоиммунных процессов, сопровождающих появление аутоантител к фибрилларину у больных людей и животных, позволяет рассматривать таких животных как лабораторную модель не только для изучения механизмов возникновения аутоиммунных заболеваний человека, но и тестирования новых лекарственных препаратов — потенциальных супрессоров аутоиммунного процесса.

**Активность депо-управляемого кальциевого канала Orai1 вовлечена в гибель клетки  
в результате окислительного стресса**

**Рязанцева Мария Андреевна**

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*mariaandreevna@gmail.com*

Клеточная линия HT22 полученная из гиппокампа мышей является удачной моделью для изучения последствий внутриклеточного окислительного стресса. Добавление глутамата во внеклеточную среду снижает уровень глутатиона в клетках HT22, блокируя антипортерную систему глутамат-цистеин. Глутатион является главным антиоксидантом в нейронах, и понижение его уровня приводит к активации пути гибели клетки, известного, как окситоз. Окситоз характеризуется увеличением продукции активных форм кислорода и сильным входом кальция из внеклеточной среды, который приводит к гибели клетки. Целью нашего исследования стало изучение роли активности депо-управляемого кальциевого канала Orai1 в процессе окситозиса.

С помощью метода локальной фиксации потенциала в конфигурации «целая клетка» и измерения внутриклеточной концентрации кальция с флуоресцентным зондом Fura2-AM была обнаружена существенная роль активности депо-управляемого кальциевого канала Orai1 в патологическом повышении концентрации кальция в результате окислительного стресса при аппликации глутамата в клетках линии HT22. Фармакологическое ингибирование канала Orai1 или использование трансфекции специфических shRNA защищали клетки от гибели в условиях индукции окислительного стресса. Изменения экспрессии каналообразующих белков проверялась с помощью вестерн-блота.

Таким образом, активность депо-управляемого кальциевого канала Orai1 вовлечена в процесс гибели клеток в результате окислительного стресса. Фармакологическое ингибирование депо-управляемого кальциевого канала Orai1 может быть использовано для разработки терапии для заболеваний нервной системы, вызванных окислительным стрессом.

*Работа поддержана грантами: РФФИ, Zeiss («ОПТЭК»), программы МКБ, Стипендия Президента РФ.*

**Межвидовые различия и тканеспецифичность локализации ламина  
на политенных хромосомах комаров р. Anopheles**

**Сапунов Глеб Александрович, Артемов Глеб Николаевич**

*НИИ Биологии и Биофизики*

*Национального исследовательского Томского государственного университета, Томск, Россия*

*glebsapunov@yandex.ru*

Пространственная организация ядра является видо- и тканеспецифичным признаком. Один из способов организации хромосом в ядре и регуляции активности генов осуществляется путем взаимодействия хромосом с ядерной оболочкой (ЯО).

Районы прикрепления (РП) хромосом к ЯО выявляли с помощью иммуноокрашивания. Использовали антитела к белку Dm0 ядерной ламина дрософилы. Материалом служили слюнные железы, трофоциты и мальпигиевые сосуды комаров *Anopheles messeae* Fall. и *Anopheles atroparvus* van Thiel.

Целью работы было выявить районы локализации ламина (маркера РП хромосом к ЯО), сравнить данные о РП с данными, полученными ранее методом световой микроскопии, выявить видо- и тканеспецифичные особенности локализации ламина на хромосомах. Межвидовые различия в локализации ламина проявляются отличиями в паттернах сайтов взаимодействия с ламином на хромосомах. На аутосомах локализация белка преимущественно совпадает с районами прикрепления хромосом, показанными с помощью световой микроскопии. Однако сигнал не был обнаружен в прицентромерном РП XL хромосомы трофоцитов *An. atroparvus*, но выявлялся в прицентромерном районе 2 хромосомы *An. messeae* и *An. atroparvus*, которые не имеют контактов с ЯО. Сигналы в виде тонких бэндов, распределенных по всей длине плеч, наблюдались во всех хромосомах. Большая часть сигналов локализовалась в междисках в

прицентромерных районах. Анализ сигналов ламина позволил выявить разные типы контактов хромосом с ЯО: латерально, только теми хроматиновыми фибриллами, которые прилегают к ЯО; деконъюгированными в области центромеры фибриллами; гетерохроматиновым блоком или междиском. Некоторые участки хромосом требуют более прочного контакта с ЯО в виде нескольких участков связывания с ламином, расположенных рядом друг с другом.

Полученные результаты могут служить доказательством видоспецифичности пространственной организации хромосом в ядре у комаров р. *Anopheles*. Хромосомы разных видов различаются паттерном сайтов взаимодействия с ламином, особенности локализации которого неодинаковы и в разных тканях в пределах вида.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ МК-4158.2012.4, Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.B37.21.1116 и гранта РФФИ № 12-04-31201 мол\_а.*

## **Половые различия уровня стероидных гормонов и морфофункционального состояния иммунной системы у новорожденных крыс Вистар**

***Симонова Евгения Юрьевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*evgenisimonova@mail.ru*

По данным литературы половые гистофизиологические различия иммунной системы определяются кариотипом и уровнем стероидных половых гормонов. В ряде клинических исследований выявлены половые различия субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и уровня продукции цитокинов у новорожденных детей, однако влияние уровня стероидных половых гормонов на возникновение этих различий авторами не обсуждается. У новорожденных самцов и самок крыс Вистар проводили забор тимуса, селезенки и периферической крови. В работе использовали гистологические, морфометрические, культуральные, статистические методы, метод проточной цитофлуориметрии и метод иммуноферментного анализа. При исследовании уровня стероидных гормонов у новорожденных крыс Вистар обнаружено, что у самок по сравнению с самцами выше уровень эстрадиола в сыворотке крови. По уровню прогестерона, тестостерона и кортикостерона статистически значимых различий между группами самцов и самок выявлено не было. По данным морфометрического исследования тимуса показатель объемной плотности коркового вещества у самок был статистически значимо выше, чем у самцов. При анализе цитокинового профиля у новорожденных крыс Вистар обнаружено, что по сравнению с самцами у самок выше уровень продукции клетками селезенки провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  и Тх1-цитокинов ИЛ-2 и ИНФ- $\gamma$ . При иммунофенотипическом анализе основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови у новорожденных крыс Вистар выявлено, что у самок по сравнению с самцами выше показатели абсолютного и относительного количества Т-хелперов, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, В-клеток, активированных и регуляторных Т-лимфоцитов, а также показатель иммунорегуляторного индекса (соотношения CD4/CD8). Полученные данные могут указывать на более интенсивное созревание клеток иммунной системы и активацию клеточного и гуморального иммунного ответа у новорожденных самок по сравнению с самцами. Половой диморфизм морфофункционального состояния иммунной системы у новорожденных крыс Вистар может быть обусловлен различиями уровня эстрадиола в сыворотке крови, а также действием генетических факторов, оказывающих влияние на процессы пролиферации, дифференцировки и миграции иммунокомпетентных клеток.

## **Анализ эндогенной и эктопической экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста в культуре мезенхимных стволовых клеток, выделенных из зачатков третьих моляров человека**

**Соловьева Валерия Владимировна, Блатт Н.Л., Салафутдинов И.И.**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*solovyovavv@gmail.com*

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) играют важную роль в самообновлении и регенерации органов и тканей, они способны к дифференцировке в различные клеточные типы. Одним из перспективных источников стволовых клеток являются зачатки и пульпа третьих моляров человека (МСК-3ТМ). Известно, что МСК секретируют множество трофических и протекторных факторов, что делает их перспективными для лечения различных заболеваний человека. Одним из наиболее перспективных для клинического применения факторов роста является сосудистый эндотелиальный фактор роста человека VEGF, обладающий нейротрофическими, нейротрофическими и про-ангиогенными свойствами.

Цель работы — определение эндогенного уровня экспрессии VEGF в культуре клеток МСК-3ТМ и анализ эктопической экспрессии этого фактора после генетической модификации клеток МСК-3ТМ генетической конструкцией, содержащей ген *vegf*.

Клетки культивировали в инкубаторе при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>. Генетическую модификацию клеток МСК-3ТМ плазмидой pBud-VEGF165-FGF2 проводили трансфекционным агентом Turbofect (Fermentas). Сбор культуральной среды из лунок с клетками МСК-3ТМ проводили на 1, 3 и 5 дни. Концентрацию VEGF в культуральной среде определяли с помощью набора VEGF-ИФА-БЕСТ (Вектор). Оптическую плотность растворов измеряли на многофункциональном микропланшетного ридере в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — 655 нм. Концентрацию VEGF определяли по стандартной кривой, построенной с использованием стандартных образцов с известным содержанием рекомбинантного белка.

Было установлено, что клетки МСК-3ТМ обладают высокой эндогенной экспрессией гена *vegf* и активно секретируют белок VEGF в культуральную среду: 1 день — 367 пг/мл, 3 день — 2247 пг/мл, 5 день — 2675 пг/мл. Генетически модифицированные клетки МСК-3ТМ показывали высокий уровень экспрессии VEGF на уже на 1 (2494 пг/мл) и 3 (2574 пг/мл) дни после трансфекции.

Таким образом, показано, что МСК-3ТМ способны секретировать высокие уровни VEGF при культивировании *in vitro*, что указывает на перспективность их применения для терапии различных дегенеративных заболеваний человека. Генетическая модификация этих клеток плазмидой, кодирующей ген *vegf*, может значительно повысить их терапевтическую эффективность за счет свехэкспрессии VEGF.

## **Роль канала Orai1 в изменении концентрации кальция в клетках линии C2C12 при их активации АТФ**

**Сурков Константин Викторович**

*Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*sur\_237@mail.ru*

Сравнительно недавно в электронеовозбудимых клетках открыт механизм так называемого депо-зависимого входа кальция в цитоплазму, который активируется опустошением внутриклеточных кальциевых депо. В 2006 году открыт белок Orai1, который является каналом, и участвует в депо-зависимом входе кальция в цитоплазму. Поскольку полный механизм регуляции и весь объем функций канала Orai1 еще недостаточно изучены, целью данной работы было исследовать вклад белка Orai1 в кинетику изменения концентрации кальция в цитоплазме мышечных клеток при их активации с помощью АТФ.

Исследования проводились на линии миобластов C2C12 скелетной мускулатуры мыши и дифференцирующихся миотубулах. В работе применяли методы трансфекции; избирательного подавления уровня мРНК белка Orai1 по механизму РНК-интерференции; ПЦР в реальном

времени, а также флуоресцентные кальциевые зонды и установки для детекции кальциевого сигнала.

В ходе экспериментов прежде всего было показано наличие белка Orai1 в миобластах и миотубулах линии C2C12. Были подобраны условия, позволяющие достичь высокого процента успешной трансфекции миотубул C2C12 малыми интерферирующими РНК (миРНК) при достаточной выживаемости клеток. Эти исследования показали принципиальную возможность избирательного подавления в изучаемых мышечных клетках уровня мРНК отдельных белков по механизму РНК-интерференции. С помощью специфической миРНК нами было доказано участие Orai1 в депо-зависимом входе кальция в скелетные миотубулы.

Известно, что при действии на исследуемые клетки АТФ в их цитоплазме возрастает концентрация ионов кальция, в том числе и вследствие депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$  из внеклеточной среды. Полученные нами результаты показали, что в клетках, где синтез белка Orai1 был ингибирован с помощью миРНК, концентрация ионов кальция при действии АТФ возрастает в меньшей степени по сравнению с контрольными клетками. Наблюдалось изменение значимых критериев кинетики кальциевого ответа — уменьшение амплитуды и сокращение времени полуспада.

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о наличии и функционировании в мышечных клетках и миобластах C2C12 канала Orai1. Показан его вклад в повышение концентрации кальция в цитоплазме в скелетных миотубулах C2C12 в ответ на активацию пуриnergических рецепторов под действием АТФ.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 08-04-01466-а) и Швейцарского национального научного фонда (программа SCOPES, грант IB74A0-110940).*

### **Разработка нового подхода к выделению чистой фракции неактивированных моноцитов человека**

***Тюменцев Михаил Алексеевич***

*Челябинская Государственная Медицинская Академия, Челябинск, Россия*

*ti\_-\_ray@mail.ru*

Дефект моноцитарно-макрофагального звена играет существенную роль в патогенезе большого числа заболеваний: бактериальных (туберкулез) и вирусных (грипп) инфекций, аутоиммунных заболеваний (СКВ, рассеянный склероз). В связи с этим изучение моноцитов и их функций представляет интерес как для фундаментальной иммунологии, так и для прикладной медицины, однако для проведения исследований важно получение фракции моноцитов вне их клеточного и молекулярного окружения и в неактивированном состоянии. Для разделения клеток использовали градиентные среды фиколл-урографин и Перколл<sup>®</sup>, представляющий собой взвесь частиц диоксида кремния, покрытых поливинилпирролидоном. Для проведения НСТ-теста использовали 0,2 % раствор нитросинего тетразолия. Проводили проточную цитофлюориметрию с использованием моноклональных антител к рецепторам CD14 и CD45. Для выделения моноцитов использовали двухэтапную процедуру: кольцо мононуклеаров (лимфоциты и моноциты) выделяли на градиенте фекол-урографина плотностью 1,077 г/мл. Фракцию мононуклеаров разделяли на линейном градиенте перколла. При приложении большого ускорения (10 000 g) перколл формирует линейный градиент плотности, обладающий высокой седиментационной устойчивостью, что позволяет хранить градиенты, полученные при одном центрифугировании, в течение нескольких недель, чем достигается высокая воспроизводимость опыта. При разведении раствора перколла до требуемой плотности и осмолярности важно контролировать эти показатели. Для обогащения клеточной взвеси моноцитами проводили наслаивание кольца на заранее сформированный при 12 000g линейный градиент перколла с начальной плотностью 1,065 г/моль, центрифугировали и аккуратно собирали верхнее кольцо, сформировавшееся в толще градиента. Первоначально клеточный состав оценивали при люминесцентной микроскопии. Дополнительно оценку чистоты полученной фракции и жизнеспособности клеток проводили при помощи проточного цитофлюориметра. Для подтверждения неактивного функционального состояния клеток проводили оценку внутриклеточного кислородзависимого метаболизма моноцитов с помощью

спонтанного НСТ-теста. Такой подход к выделению моноцитов позволяет получить обогащенную фракцию жизнеспособных, неактивированных клеток. Полученная клеточная взвесь содержала до 70 % жизнеспособных моноцитов.

### **Исследование регуляции способности аппарата Гольджи организовывать микротрубочки**

**Фокин Артём Игоревич**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*fktimofei@yandex.ru*

Свойство аппарата Гольджи (АГ) являться активным участником процесса организации микротрубочек (МТ) в клетке было обнаружено недавно. Менее чем за десять лет были охарактеризованы особенности организации МТ на АГ, а также найдены некоторые белки, необходимые для реализации данной функции АГ. Однако, регуляция активности второго центра организации микротрубочек (ЦОМТ) остаётся малоизученной.

Исследование проводили на 2-х линиях культивируемых клеток почечного эпителия зелёной мартышки Vero и BS-C-1. В экспериментах применяли микроскопию живых и фиксированных клеток, белковый электрофорез с иммуноблоттингом, а также молекулярно-биологические методы.

Ранее нами было показано, что в клетках Vero способность АГ служить ЦОМТ снижена по сравнению с клетками BS-C-1. На первом этапе работы проводили сравнительный анализ уровней экспрессии белков, являющихся основными участниками процесса организации МТ на АГ (AKAP450, GMAP210, p150, GCC185 и CLASP2). Как оказалось, только количество белка CLASP2 было снижено в клетках Vero. Однако, искусственная экспрессия данного белка в клетках Vero лишь нарушала систему МТ в клетке, не восстанавливая свойство АГ организовывать МТ. Экспрессия CLASP2 в клетках BS-C-1 не приводила к таким последствиям. Это привело к гипотезе о том, что активность CLASP2 может регулироваться фосфорилированием. И на самом деле, известно, что фосфорилирование CLASP2 протеинкиназой GSK-3 $\beta$  нарушает его связь с МТ. Экспрессия GSK-3 $\beta$  в обеих линиях клеток была одинакова, но в клетках Vero было меньше неактивной киназы. Кроме того, локализация неактивной GSK-3 $\beta$  в клетках BS-C-1 совпадала с локализацией АГ, а в клетках Vero имело место диффузное распределение.

Таким образом, результаты данной работы согласуются с данными других исследований и приводят к созданию рабочей модели, согласно которой для организации МТ на АГ необходимо повышенное количество нефосфорилированного белка CLASP2. Это может являться следствием его повышенной экспрессии, протекающей на фоне сниженной активности GSK-3 $\beta$ .

Далее в работе предполагается создание и экспрессия в клетках ДНК-конструкций с активными/неактивными CLASP2 и/или GSK-3 $\beta$ , для полной проверки данной модели.

### **Жизнеспособность клеток *in vitro* при изменении направления действия равнодействующей силы**

**Хотянович Маргарита Олеговна**

*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

*Pochta\_margo@mail.ru*

Известно, что физические, химические, биологические факторы внешней среды способны трансформировать функциональное состояние живых клеток, вплоть до их гибели.

Исходя из вышесказанного, целью работы явился анализ жизнеспособности клеток фибробластов человека и крысиной глиомы С6 после изменения направления действия равнодействующей силы. В экспериментах на культуре клеток крысиной глиомы С6 и фибробластов человека изменяли на  $\angle 60^\circ$  положение 96-луночных планшетов относительно горизонтальной плоскости. Поворот осуществляли через 40-48 часов после достижения конfluence в 70 %. Сопоставляли с помощью МТТ-теста результаты наблюдений пролиферативной активности клеток в планшетах, один из которых на протяжении всего эксперимента находился в горизонтальном положении (серия 1), другой располагался под углом  $\angle 60^\circ$  (серия 2). МТТ-метод определения жизнеспособности клеточных культур

заключается в способности живых клеток превращать растворимый желтый бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тетразолия (МТТ) в нерастворимые пурпурно-синие внутриклеточные кристаллы МТТ-формаза (МТТ-ф). Нежизнеспособные мертвые клетки такой способностью не обладают. Установлено, что функциональное состояние фибробластов, находящихся в течение всего эксперимента в горизонтальном положении, не отличалось от такового у клеток, культивируемых под углом  $\angle 60^\circ$ . Поворот планшетов с культурой клеток крысиной глиомы С6 сопровождался снижением жизнеспособности опухолевых клеток, в отличие от тех, которые в течение всего эксперимента располагались в горизонтальном положении.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при изменении направления действия равнодействующей силы наблюдается трансформация жизнеспособности клеток. В культуре опухолевых клеток жизнеспособность снижается, в отличие от нормальных немалигнизированных клеток.

**Различия в экспрессии ганглиозида GM1, маркера липидных рафтов, в субпопуляциях моноцитов крови человека может быть связано с развитием атеросклероза**  
*Челомбитько Мария Александровна, Шишкина Валентина Сергеевна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
atma69@yandex.ru*

Существуют данные о том, что моноциты в крови больных атеросклерозом находятся в преактивированном состоянии. Также известно, что мембранные липидные рафты играют важную роль в активации моноцитов. Мы сравнили экспрессию ганглиозида GM1, маркера липидных рафтов, в трех субпопуляциях моноцитов CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> у здоровых субъектов и пациентов с атеросклерозом.

Мононуклеарные лейкоциты выделили методом центрифугирования в градиенте плотности Ficoll Paque Plus из крови 16 здоровых субъектов и 16 пациентов с ангиографически подтвержденным атеросклерозом. Поверхностные маркеры CD14, CD16 и GM1 выявляли с помощью моноклональных антител, конъюгированных с флуоресцентными красителями (CD14-PC5, CD16-PE, Alexa Fluor 488-конъюгированный с B-субъединицей холерного токсина) и анализировали на FACSCalibur (Becton Dickinson).

Цитофлуориметрический анализ выявил одну мажорную субпопуляцию CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> — моноцитов и две минорных — CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>. Экспрессия (средняя интенсивность флуоресценции, MFI) GM1 на клетках минорных субпопуляций была в 3 раза выше, чем на моноцитах мажорной субпопуляции. Не было выявлено различий в экспрессии GM1 между различными субпопуляциями у здоровых субъектов и больных атеросклерозом. Однако между этими группами наблюдалось значительное (практически в 2 раза) достоверное различие в количестве CD16<sup>+</sup> — моноцитов (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>). Соответственно процент CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> — клеток был меньше. Таким образом, у пациентов с атеросклерозом наблюдается увеличение числа моноцитов с высокой экспрессией GM1 ( $p < 0,05$ ).

Полученные данные позволяют предположить, что моноциты минорных субпопуляций CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> содержат большее количество липидных рафтов, чем клетки мажорной. Это может быть отражением их более активного статуса. Полученные данные согласуются с предположениями ряда авторов о том, что минорные субпопуляции являются более зрелыми и больше сходны с макрофагами. Наблюдаемое увеличение процента этих субпопуляций у больных атеросклерозом может свидетельствовать о потенциальной роли GM1 в патогенезе атеросклероза.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №120431639.*

## **Изменения морфологии, цитоскелета и механизмов движения нормальных и опухолевых клеток при ингибировании различных путей полимеризации актина**

**Чикина Александра Сергеевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*aleksandrachikina@yandex.ru*

Движение клеток осуществляется за счет полимеризации и реорганизации сети актиновых филаментов, регулируемых различными механизмами. Существуют два принципиально различных способа движения индивидуальных клеток: мезенхимальное (за счет формирования плоских ламеллиподий и раффлов по Arp 2/3-зависимому механизму) и амебоидное (с образованием специфических выростов-блеббов, регулируемое форминами). При опухолевой прогрессии происходит так называемый мезенхимально-амебоидный переход, сопровождающийся сменой типа движения клеток с мезенхимального на амебоидный, что ведет к усилению метастазирования и, как следствие, ухудшению прогноза течения заболевания. Цель данной работы — изучение роли различных механизмов полимеризации актина и формирования сети микрофиламентов при движении нормальных и опухолевых клеток, и попытка моделирования мезенхимально-амебоидного перехода в лабораторных условиях. Были использованы: 1036- нетрансформированные подкожные фибробласты человека и HT1080 — фибросаркома человека. С помощью флуоресцентной и фазово-контрастной микроскопии анализировали изменение морфологии и подвижности клеток под действием ингибиторов, подавляющих основные пути полимеризации микрофиламентов: СК666 — ингибитор Arp 2/3 и SNIF — ингибитор форминов. Опухолевые клетки в отсутствие ингибиторов образовывали многочисленные ламеллиподии и раффлы, характерные для мезенхимального типа движения; под действием 100 мкМ СК666 наблюдалось образование множества филоподий; а при 200 мкМ СК666 — блеббинг (основная характеристика амебоидного типа движения). Т.о. ингибирование Arp2/3-зависимой полимеризации актина приводило к мезенхимально-амебоидному переходу, что можно рассматривать как компенсаторную реакцию клеток на подавление образования ламеллиподий. Обработка нормальных клеток СК666 привела к изменению формы ламелл, клетки стали более поджаты, но блеббинга не было. Т.е. мы наблюдали действие ингибитора, но компенсаторной реакции и последующей смены типа движения не происходило.

При действии SNIF наблюдалась деполяризация опухолевых клеток, потеря подвижности, хотя блеббинга не было, что объясняется непосредственной ролью форминов в формировании блеббов. Нормальные клетки практически не изменялись под действием SNIF и их миграция не была подавлена. Следовательно, для движения нетрансформированных фибробластов Arp2/3-зависимый механизм более важен, чем формин-зависимый. Для опухолевых клеток важны оба механизма. Опухолевые клетки демонстрируют высокую пластичность и способность использовать различные типы движений, включая амебоидное.

## **Изменение системы микротрубочек и положения centrosомы эндотелиальных клеток при формировании функционального монослоя *in vitro***

**Шахов Антон Сергеевич**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*antshakhov@gmail.com*

Эндотелиальный монослой (ЭМ) является полупроницаемым барьером на пути проникновения различных молекул и клеток иммунной системы. Выбранная для данной работы модельная система — монослой выделенных из сосудов эндотелиоцитов — позволяет исследовать взаимодействие микрофиламентов, микротрубочек (МТ) и адгезивных структур клетки при поддержании барьерной функции эндотелия. В настоящей работе была поставлена задача — исследовать реорганизацию системы МТ и изменение положения centrosомы в процессе формирования ЭМ.

В работе использовали две клеточные линии эндотелиоцитов человека — эндотелиальные клетки лёгочной артерии (HPAEC) и линию EA.hy926.

Анализ полученных иммунофлуоресцентных изображений клеток обеих линий показал, что при формировании ЭМ по мере формирования контактов с соседними клетками система МТ изменяется от радиальной системы до асимметричной — меняется количество концов МТ в районе клеточного края. При протяжённости контакта 1–10 % от периметра клетки среднее количество МТ в районе контактов клеток НРАЕС ( $9,70 \pm 0,16$ ) в полтора раза выше, чем в районе свободной ламеллы ( $6,96 \pm 0,15$ ). В процессе формирования ЭМ среднее количество МТ на краю клетки увеличивается, но выявленное различие сохраняется — для клеток с протяжённостью контакта 70–90 % среднее количество МТ в районе контакта составляет  $12,93 \pm 0,29$ , в области свободной ламеллы —  $8,20 \pm 0,22$ . По-видимому, симметричное расположение концов МТ достигается только в полностью сформированном ЭМ со зрелыми контактами.

Асимметрия системы МТ по мере формирования ЭМ вызвана также изменением положения центросомы — основного центра полимеризации микротрубочек. Анализ направления смещения центросомы относительно геометрического центра клетки показал, что в клетках, имеющих протяжённость контактов до 75 %, центросома всегда смещалась в сторону образования нового контакта. В клетках с протяжённостью контактов свыше 75 % центросома смещалась равновероятно в сторону свободной ламеллы или контактирующих с соседними клетками краев. Таким образом, положение центросомы определяет степень симметрии системы радиальных МТ, и, следовательно, центросома может влиять на количество динамичных концов МТ в зоне формирующихся межклеточных контактов.

### **Особенности продукции про- и противовоспалительных цитокинов макрофагами субпопуляций М1 и М2 при атерогенезе**

*Шишкина Валентина Сергеевна, Челомбитько Мария Александровна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
shishkinavalya@mail.ru*

В последние годы в атеросклеротических бляшках (АСБ) выявлены про- (М1) и противовоспалительные (М2) субпопуляции макрофагов, по-разному влияющие на развитие и патогенез атеросклероза. Но преобладание той или иной субпопуляции на разных стадиях атеросклероза остается малоизученным. Цель нашей работы - изучение характера продукции цитокинов макрофагами М1 и М2 в разных типах каротидных бляшек. Участки АСБ (n=51) биоптатов человека классифицировали по классификации ВОЗ. В каждом образце методом иммуноферментного анализа измерено содержание ССЛ3, ССЛ18, ССЛ24, МСР1, ИЛ-8. Значимые различия ( $P < 0,05$ ) уровней цитокинов между разными типами бляшек выявляли с помощью дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса. Поражения III типа имели наибольший уровень ССЛ3 и ССЛ18 и сравнительно высокий уровень МСР1, что указывает на активную клеточную инфильтрацию и воспалительный процесс с присутствием как М1, так и М2 макрофагов, что может привести к прогрессии бляшки. Поражения IV типа имели наибольший уровень ССЛ24, приводящий к активации гладкомышечных клеток, развитию фиброзной покрышки и стабилизации бляшки. Наличие в поражениях V типа высоких концентраций ССЛ3, МСР1, ИЛ-8 и низких концентраций ССЛ18 и ССЛ24 позволяет предположить протекание активных провоспалительных процессов и преобладание М1 макрофагов. Для поражений VI типа характерны высокий уровень провоспалительных цитокинов и ССЛ24, что может указывать на предполагаемое переключение активации с М1 на М2 макрофаги. Высокие концентрации провоспалительных цитокинов в поражениях V и VI типов могут означать и потенциальную нестабильность этих АСБ. Поражения VII и VIII типов имели наименьший уровень ССЛ3, ССЛ18, ССЛ24 и ИЛ-8, что означает низкую активность всех типов клеток и, таким образом, стабильность бляшек. Согласно полученным результатам, соотношение двух субпопуляций макрофагов а также интенсивность про- и противовоспалительных процессов различались между разными стадиями развития АСБ. Доминирование субпопуляции М1 в поражениях V и VI типов может быть клинически значимым, т. к. может вести к разрыву бляшки и/или тромбозу, а преобладание М2 — индуцировать репарацию и стабилизацию бляшек, как в поражениях VII и VIII типов. Контроль соотношений субпопуляций макрофагов

на поздних стадиях развития АСБ может лечь в основу новых терапевтических подходов к лечению атеросклероза.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №120431639.*

### **Разработка метода трёхмерного количественного анализа нейрогенеза в гиппокампе взрослых мышей**

**Шуваев Сергей Алексеевич, Барыкина Наталья Викторовна**

*НБИК факультет МФТИ, НБИКС-центр Курчатовского института, НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина, Россия, Москва  
sergey.shuvaev@phystech.edu*

Гиппокамп является функционально гетерогенной структурой: его дорсальная и вентральная части по разному вовлечены в поведение животных. Функциональная гетерогенность находит отражение в различиях во взрослом нейрогенезе в соответствующих частях зубчатой извилины. До сих пор количественная оценка нейрогенеза производилась на выборочных срезах мозга с последующей экстраполяцией данных на объем целого гиппокампа или единицу объема. В настоящей работе были созданы методики выявления стволовых и пролиферирующих клеток в целом гиппокампе взрослых мышей методами клик-реакции и иммуногистохимии. Визуализацию целых образцов гиппокампа осуществляли с помощью лазерного сканирующего микроскопа Olympus FV1000. Съемку производили на всю глубину (до 1мм) с шагом 5 мкм, сшивали 25–35 полей зрения, отснятых при 20х увеличении. На основе полученных изображений с помощью программного комплекса Bitplane Imaris строили трёхмерные реконструкции, в которых по морфологической окраске выделяли трёхмерные области субгранулярной зоны зубчатой извилины и осуществляли количественный подсчет флуоресцентных меток и их плотностей внутри этих областей. Полученные данные сопоставляли с результатами подсчета, выполненного по стандартной методике на срезах. Разработанные методы позволяют выявлять влияние широкого спектра факторов на процессы, протекающие в отдельных частях гиппокампа. В будущем планируется опробовать данную методику в экспериментах по влиянию малых доз ионизирующего облучения.

*Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ №11.G34.31.0071 от 21.10.2011 под руководством Ениколопова Г.Н. и Лазуткина А.А.*

### **Трёхмерные матрицы на основе ПГА для задач клеточной и тканевой инженерии**

**Шумилова Анна Алексеевна, Николаева Елена Дмитриевна**

*Сибирский Федеральный Университет, Красноярск, Россия  
shumilova.ann@mail.ru*

Исследования в области материалов медицинского назначения являются перспективным направлением молекулярной биологии, химии, биофизики и медицины. При разработке медицинских изделий используют широкий круг материалов естественного и искусственного происхождения, в том числе, синтетические полимеры, биополимеры, металлы, керамику, гидроксипатиты, основанные на комбинированном использовании биоматериалов и функционирующих клеток различных тканей и органов.

Среди материалов, разрабатываемых и исследуемых, применительно к этим задачам — полигидроксиалканоаты (ПГА), линейные полиэфиры микробиологического происхождения, являются одними из наиболее перспективных.

Для задач клеточной и тканевой инженерии сконструирована и исследована серия разных типов носителей в виде пористых трёхмерных матриц на основе резорбируемых полиэфиров.

Использованы высокоочищенные образцы гомогенного полимера 3-гидроксимасляной кислоты, измельченного до порошкообразного состояния. С использованием различных методов переработки получены твердые и мягкие объёмные матрицы для культивирования клеток с различной пористостью.

Проведено сопоставление свойств поверхности разработанных полимерных носителей для клеток, оценены суммарная пористость и влагопоглощение. Прочностные характеристики образцов исследованы с помощью универсальной электромеханической испытательной машины Instron 5565,5 KN. На примере культуры фибробластов линии NIH 3T3 и мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) крыс, показана способность носителей поддерживать рост и деление культивируемых клеток. Исследованы условия дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (ММСК) в клетки остеобластического ряда. Состоявшаяся дифференцировка ММСК подтверждена активностью щелочной фосфатазы и экспрессия генов остеоопонтина.

С использованием современных методов световой электронной микроскопии (СЭМ) отмечено активное разрастание клеток на поверхности и в порах, всех разработанных матриц, с учетом структуры их конструкции. Актуальность работы определяется потенциальной возможностью реконструкций как твердых тканей, таких как костная и хрящевая, так и мягких, как поперечнополосатая, мышечная с помощью разработанных 3D конструкций.

*Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ, Пост. Правительства РФ № 220 (проект «Биотехнологии новых биоматериалов») и программы Президента РФ для молодых докторов наук (грант № МД-3112.2012.4).*

## Подсекция «МИКОЛОГИЯ И АЛЬГОЛОГИЯ»

### Таксономическая и экологическая структура цианобактерий и водорослей на градиенте пастбищной дигрессии настоящих степей Башкирского Зауралья

Ахмедьянов Дим Исламович

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

dhws@mail.ru

Степень изученности биоразнообразия цианобактерий и водорослей недостаточна, что делает затруднительным оценку общего состояния экосистем, поскольку в некоторых из них они вносят существенный вклад в продукцию органического вещества. Территория Башкирского Зауралья слабо исследована в альгологическом отношении. Интерес представляет изучение степени влияния пастбищной дигрессии на цианобактериально-водорослевые ценозы (ЦВЦ) степных пастбищ с разной степенью деградации высшей растительности, поскольку их реакция на это воздействие может существенно отличаться.

Были исследованы степные фитоценозы Баймакского административного района Республики Башкортостан, разделенные на 5 стадий дигрессии: I стадия — ковыльная степь (*Stipa zalesskii*, *S. pennata*) с проективным покрытием 90%; II стадия — тырсовая степь (*S. capillata*, *Festuca pseudovina*) с проективным покрытием 80%; III стадия — типчаковая степь с проективным покрытием 60 % (*F. valesiaca*, *Artemisia commutata*); IV стадия — полынно-типчаковая степь с проективным покрытием 45 % (*A. austriaca*, *F. pseudovina*); V стадия — стадия однолетников (стадия сбоя) с проективным покрытием 35–40 % (*Polygonum aviculare*). Было отобрано 242 почвенных пробы на глубине 0–1 см в течение двух полевых сезонов с мая по сентябрь, анализ почвенных образцов проводили по общепринятой методике в чашках Петри со стеклами обрастания.

В результате исследований в составе ЦВЦ выявлено 88 видовых и внутривидовых таксонов цианобактерий и водорослей рангом ниже рода, относящихся к 4 отделам (*Cyanoprokaryota*, *Bacillariophyta*, *Xanthophyta*, *Chlorophyta*), 16 порядкам, 35 семействам и 56 родам. В исследованных ЦВЦ преобладают виды зеленых водорослей и цианобактерий. Вклад диатомовых и желтозеленых водорослей незначителен. Анализ таксономической структуры показывает, что, несмотря на некоторое преобладание зеленых водорослей на уровне отделов и порядков, на уровне семейств, родов, ведущих и константных видов, доминантную роль играют цианобактерии и диатомовые водоросли. Желтозеленые водоросли как виды, плохо переносящие антропогенный пресс и характеризующиеся низкой встречаемостью в степных почвах, слабо влияют на общую картину. Спектр жизненных форм —  $Ch_{16}B_{13}N_{12}P_{11}hydr_{11}X_{10}CF_7M_4C_3NF_1$  в целом характерен для степных экосистем и отличается преобладанием видов-убиквистов. Значительное число представителей В-формы можно объяснить заносом, так как большинство из них характеризуются низкими встречаемостью и обилием.

Анализ динамики изменения численности видового состава и суммы баллов обилия видов на градиенте пастбищной нагрузки показал, что максимум по этим показателям достигается на третьей стадии пастбищной дигрессии, а потом происходит снижение к пятой стадии. Это говорит о том, что умеренная пастбищная нагрузка стимулирует развитие ЦВЦ, а дальнейшее повышение нагрузки приводит к его подавлению. Такое увеличение видового разнообразия и суммы баллов обилия на третьей стадии можно объяснить снижением конкуренции с высшими растениями, а также освобождением пространства для развития ЦВЦ вследствие угнетения высшей растительности. Видовой состав ЦВЦ существенно изменяется только на последней стадии. Доминанты (*Hantzschia amphioxys* var. *amphioxys*, *Pinnularia borealis* var. *borealis*, *Bracteacoccus minor*, *Microcoleus vaginatus*) ЦВЦ являются константными видами и отмечены для степных экосистем на всех стадиях дигрессии. Виды с низким постоянством характеризуют определенную стадию пастбищной дигрессии.

## Морфолого-культуральные характеристики, плодообразование и антибиотическая активность ряда видов базидиальных макромицетов

**Ветрова Мария Алексеевна**

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

*cheetarki@mail.ru*

Высшие базидиальные грибы с макроскопическими плодовыми телами играют важную роль в природе и давно используются человеком. Многие из них употребляются в пищу и/или являются источниками биологически активных веществ. Целью данной работы было выявление способностей ряда базидиальных макромицетов, которые являются потенциальным источником биологически активных веществ или могут быть использованы в пищу, к плодоношению и синтезу антибиотиков.

Летом и осенью 2011 года была создана коллекция из 40 штаммов, относящихся к 28 родам и 34 видам. Сбор плодовых тел проводился в Москве и Подмосковье, также в коллекцию включен ряд штаммов, предоставленных коллегами из Китая. Изоляцию культур проводили тканевым методом из плодовых тел. Антибактериальную активность определяли с помощью тест-культур (*Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *B. pumilis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* 209P, клинический изолят *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Comamonas terrigena*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*) методом диффузии в агар. Исследование способности культур к плодоношению проводили на соломистом субстрате и смешанном субстрате, включающем опилки тополя, солому и лузгу подсолнечника. Маточную культуру готовили на зерновом носителе.

В результате было выявлено, что для 10 штаммов из 40 оптимальна стандартная методика получения зернового мицелия. Зачатки плодовых тел на зерновом носителе формируют 3 штамма (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers, *Marasmius scorodonius* (Fr.) Fr., *Pholiota aurivella* (Batsch) P. Kumm.), на соломистом субстрате формируют плодовые тела *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc., *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, а на смешанном субстрате — *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *F. velutipes*, *H. erinaceus*. У остальных штаммов плодовые тела получить не удалось.

У 23 штаммов (57,5 %) выявлена антибактериальная активность, наиболее ярко выраженная в отношении большинства тест-культур у *Pholiota alnicola* (Fr.) Singer, *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr., одного из штаммов *Macrolepiota procera* (Scop.) Singer, обоих штаммов *F. velutipes*.

Таким образом, отработана методика для получения плодовых тел на соломистом и смешанном субстрате. Исследованные культуры обладают потенциалом в качестве продуцентов антимикробных веществ, отобрано 5 штаммов с высокой антибактериальной активностью.

## Половое размножение и жизненный цикл водорослей рода *Trentepohlia* C.F.P. Martius (*Trentepohliaceae*, *Chlorophyta*)

**Войцехович Анна Александровна**

Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, Украина

*trebouxia@gmail.com*

Половой процесс, заключающийся в слиянии двужгутиковых изогамет, у видов рода *Trentepohlia* был описан 135 лет назад (Wille, 1878). С того времени и до нашей работы включительно копуляцию гамет у представителей данного рода наблюдали лишь трижды: *T. bleischii* var. *piceae* (Wille, 1878), *T. umbrina* (Kützinger) Bornet (Мейер, 1936) и *T. abietina* (Rindi, Guiry, 2002). В связи с крайней редкостью данного явления, существующая информация, касающаяся особенностей полового процесса и жизненного цикла трентеполиевых водорослей, сегодня требует детального пересмотра и анализа.

На протяжении 2005–2013 гг. мы исследовали 120 образцов 13 видов рода *Trentepohlia* из разных стран (США, Германия, Австрия, Швейцария, Таиланд, Шотландия, Чехия, Польша, Украина) с целью выявления особенностей полового процесса. Водоросли были исследованы

методом световой микроскопии непосредственно после сбора образцов и в условиях культуры. Свежесобранные образцы исследовали прямым микроскопированием в капле воды. Накопительные культуры получали путём нанесения фрагментов нитей на агаризованную среду в чашки Петри. Культуры водорослей выращивали на агаризованной среде 3NBBM (Bischoff, Bold, 1963) при интенсивности освещения 5–10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD, с 12-ти часовым чередованием световой фазы, при  $+18\pm 2$  °C.

Несмотря на то, что 79 проанализированных образцов несли гаметангии, выход гамет был отмечен лишь в 15 из них, а копуляция гамет с дальнейшим образованием четырёхжгутиковой планозиготы произошла у 5 образцов видов *T. umbrina* и *T. piceana* C. Meyer. В нескольких случаях происходило прорастание гамет в вегетативную клетку без копуляции и стадии покоя.

Согласно результатам наших исследований и анализу литературных данных, мы заключаем, что в условиях культуры и в природе половое размножение у *Trentepohlia* действительно является эпизодическим и даже массовый выход гамет редко сопровождается копуляцией последних. На основании прорастания гамет без копуляции, а также отсутствия периода покоя у зигот, образующихся вследствие копуляции, мы заключаем, что в жизненный цикл видов рода *Trentepohlia* является гаплодиплофазным со спорической редукцией, причем, так же как и у мохообразных, спорофит редуцирован и развивается на гаметофите.

### **Афиллофороидные грибы широколиственных лесов Орловской области**

**Волобуев Сергей Викторович**

*Ботанический институт имени В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*sergvolobuev@mail.ru*

Сведения о видовом составе и особенностях субстратной приуроченности афиллофороидных грибов (АфГ) в широколиственных лесах Южного Нечерноземья России до настоящего времени практически отсутствовали. Вместе с тем, данная территория имеет длительную историю хозяйственного освоения земель и антропогенного влияния на лесные экосистемы.

Микологические обследования лесных сообществ с доминированием *Quercus robur*, *Tilia cordata* и *Betula pendula* были проведены в 2008–2012 гг. в пределах Орловской области. Сбор образцов АфГ осуществляли маршрутным методом, преимущественно на особо охраняемых природных территориях — национальном парке «Орловское Полесье» и 5 региональных памятниках природы. В результате исследования в широколиственных лесах региона было выявлено 304 вида АфГ, относящихся к 106 родам, 39 семействам, 20 порядкам. Наибольшая встречаемость характерна для представителей родов *Antrodiella*, *Bjerkandera*, *Byssomerulius*, *Cerrena*, *Cylindrobasidium*, *Daedaleopsis*, *Fomes*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Hymenochaete*, *Oxyporus*, *Peniophora*, *Phellinus*, *Phlebia*, *Piptoporus*, *Polyporus*, *Radulomyces*, *Schizopora*, *Steccherinum*, *Stereum*, *Trametes*, *Xylodon* и других, доминирующих на всех обследованных территориях. Среди зарегистрированных видов редкими для Европы являются *Aporpium caryae*, *Crustomyces expallens*, *Gloiodon strigosus*, *Perenniporia narymica*, *Pseudocraterellus undulatus*, *Tomentella pilosa*.

Анализ субстратной приуроченности показал преобладание сапротрофов на крупномерной валежной и сухостойной древесине лиственных пород (219 видов, 72 %). Наибольшее число видов ассоциировано с дубом (45 видов), кленом (42), лещиной (40), березой и осинкой (по 39 видов), формирующими зональный тип растительности. На мелком растительном опаде найдено 42 вида (14 % выявленного видового состава) и 5 видов АфГ (менее 2 %) отмечено на почве. Участие интродуцированных древесных пород (*Larix sibirica*) в сложении растительного покрова обследованной территории обогатило выявленную микобиоту 16 видами АфГ (5 %), отмеченными исключительно на хвойном субстрате в условиях широколиственных лесов, из родов *Amylocorticium*, *Ganoderma*, *Leptosporomyces*, *Oligoporus*, *Phaeolus*, *Sarcoporia*, *Stereum*, *Vararia*.

*Исследование поддержано РФФИ (проект № 12-04-31867) и Министерством образования и науки РФ (соглашение 14.132.21.1328).*

## Выявление нового вида *Fusarium* на территории России

Гаврилова Ольга Павловна

Всероссийский НИИ защиты растений (ВИЗР), г. Санкт-Петербург – Пушкин, Россия

olgavrilova1@yandex.ru

Протяженная территория и различие эколого-географических условий нашей страны позволяют предполагать уникальное биоразнообразие микромицетов, в том числе такой гетерогенной группы грибов как род *Fusarium*. Корректная видовая идентификация грибов этой группы имеет существенное значение, учитывая их широкую распространенность, изменчивость, способность к продуцированию большого количества разнообразных метаболитов и, как следствие, высокую значимость в растениеводстве, животноводстве и медицине.

В коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР среди штаммов, не имеющих точной видовой принадлежности, на основании комплекса признаков (морфолого-культуральных и хемотаксономических), выявили группу “атипичных” штаммов рода *Fusarium*, имеющих происхождение с территории Дальнего Востока и Сибири. Секвенирование участка гена фактора элонгации 1 $\alpha$  этих штаммов и штаммов других видов секции *Sporotrichiella* с последующим конструированием филогенетического дерева показало их кластеризацию в отчетливые филогенетические группы. Топология дерева, построенного на анализе последовательностей нуклеотидов, выявила, что, несмотря на то, что по морфологическим признакам “атипичные” штаммы имели большее сходство со штаммами видов *F. langsethiae* и *F. roae*, наибольшее их филогенетическое родство наблюдалось с видом *F. sporotrichioides*. Дальнейший филогенетический анализ подтвердил четкую обособленность группы “атипичных” штаммов *Fusarium* из Сибири и Дальнего Востока, достоверно отличающуюся от групп, образованных штаммами других видов. Детальное исследование разнообразия морфологических признаков штаммов, видовая принадлежность которых была подтверждена молекулярными исследованиями, привело к выявлению и описанию нового для науки вида *Fusarium sibiricum* (Gagkaeva, Burkin, Kononenko, Gavrilova, O'Donnell, Aoki, et Yli-Mattila, 2011).

В дальнейшем планируется выявить ареал этого вида и провести ревизию штаммов видов секции *Sporotrichiella*, хранящихся в мировых коллекциях.

Автор выражает благодарность за помощь в проведенных исследованиях к.б.н. Гагкаевой Т.Ю., к.м.н. Буркину А.А., д.б.н. Кононенко Г.П. и Dr. T. Yli-Mattila.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 12-04-00927-а.

## Методические особенности сравнительной оценки дыхательной активности ксилотрофных базидиомицетов

Диярова Дарья Камилевна

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

dasha\_d@ipae.uran.ru

Основным механизмом по переводу древесного углерода в CO<sub>2</sub> является дыхательный процесс грибных организмов. Одна из методических проблем, возникающих при изучении конверсионной активности у разных видов грибов, связана с влиянием на газообмен диаметра образцов и степени их разложения.

Работы проводили в летний период 2012 года в сосново-березовых лесах Среднего Урала. Влияние степени разложения изучали на образцах древесины березы (*Betula pendula* Roth), разрушаемой *Fomes fomentarius* (L.) Fr. и *Trichaptum pargamentum* (Fr.) G. Cunn.; влияние диаметра разлагаемого субстрата оценивали так же на древесине березы, пораженной *Daedaleopsis tricolor* (Pers.) Bondartsev et Singer, *T. pargamentum* и *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr.) P. Karst. Измерение дыхательной активности проводили сразу после сбора и подготовки образцов (фрагментов стволов длиной 10–15 см, диаметром 5–9 см), которые помещали в герметичные камеры объемом 2,53 л при температуре +20 °С, и с интервалом 4 часа проводили оценку газов (CO<sub>2</sub> и O<sub>2</sub>) в камерах с использованием газоанализатора (Россия, «Микросенсорная техника»). Общая продолжительность эксперимента составила 13 часов, включая двукратную повторность для каждого образца. Степень разложения древесных

субстратов определяли по соотношению их объемной массы ( $\text{г/см}^3$ ) к объемной массе непораженной грибами древесины ( $\text{г/см}^3$ ).

Как показывают результаты, у образцов с примерно одинаковой относительной влажностью (27–39 %) дыхательная активность варьирует в зависимости от степени разложения субстрата. Эмиссия  $\text{CO}_2$  из образцов древесины, разрушаемой *T. parvum* и утратившей 40 % своей первоначальной массы, составляет 1,4, 60 % — 6,6, а 70 % — 2,1  $\text{мг CO}_2/(\text{дм}^2 \cdot \text{час})$ . Такая же зависимость и у *F. fomentarius*: при потере 35 % исходной массы эмиссия  $\text{CO}_2$  составляет 1,2, 45 % — 1,3, 50 % — 8,5 и 80 % — 1,5  $\text{мг}/(\text{дм}^2 \cdot \text{час})$ .

Установлено, что на интенсивность газообмена влияет размер разрушаемой древесины. У образцов, разлагаемых *D. tricolor*, *T. parvum* и *P. betulinus*, обнаружена обратная зависимость дыхательной активности с диаметром субстрата, которую можно продемонстрировать на примере березового трутовика: 5  $\text{мг CO}_2/(\text{дм}^2 \cdot \text{час})$  у образца с диаметром 6,5 см, 7,3 — 5 см и 8,1 — 3,6 см.

Таким образом, интенсивность конверсии грибами органического углерода древесины в диоксид зависит не только от гидротермического фактора, но и от характеристик субстратов — степени разложения и диаметра.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 12-04-00684).*

### **Влияние отходов производства фторопластов на почвенную альгофлору (модельные опыты)**

***Елькина Татьяна Сергеевна***

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия, Киров, Россия*

*tatyana\_1@inbox.ru*

В жизнь современного человека широко вошли изделия, произведённые из фторопластов. Так, например, фторопласт СКФ-26 используют для изготовления резинотехнических, кабельных и других изделий, работающих в различных средах (ГОСТ 18376-79 Фторкаучуки СКФ-26 и СКФ-32. Технические условия). Одним из отходов производства фторопласта СКФ-26 являются маточные растворы, попадающие в окружающую среду вместе со сточными водами. В них содержится от 0,02 до 0,05 % целевого продукта. До настоящего времени для данного соединения ПДК не установлена, так как его считают практически безопасными. Однако абсолютно инертных соединений для биоты, вероятно, не существует.

Цель работы — изучить действие возрастающих концентраций СКФ-26 на развитие альгоцианобактериальных комплексов почвы.

В опыте использовали образцы полевой дерново-подзолистой почвы. При подготовке к опыту почву высушивали, растирали в ступке до однородного состояния, готовили навески по 50 г, которые помещали в стерильные чашки Петри и увлажняли до 60 % от полной влагоёмкости испытуемыми концентрациями СКФ-26 — маточный раствор и его разведения 1:1, 1:50 и 1:100. В контрольном варианте использовали не стерильную артезианскую воду. После увлажнения почвы на гладко выровненную поверхность раскладывали покровные стёкла, на которых впоследствии проводили микроскопический количественный учёт клеток водорослей и цианобактерий. Время экспозиции 3 месяца.

Проведённые исследования показали, что во всех вариантах развиваются зелёные и диатомовые водоросли. При этом все концентрации СКФ-26 стимулируют размножение зелёных водорослей более чем в 3 раза. Наиболее ярко выраженный эффект отмечается при максимальном разведении СКФ-26 (1:100). Для диатомовых водорослей пик размножения выявлен в варианте с разведением 1:50 (также почти в 3 раза по сравнению с контролем). Кроме водорослей, в почвах постоянно присутствуют прокариотные фототрофные организмы — цианобактерии, развитие которых в ходе аутогенной сукцессии, как правило, идёт в последовательности: безгетероцистные формы → гетероцистные формы, размножением которых характеризуется климаксная стадия в сезонном ходе альгоцианобактериальной сукцессии. Безгетероцистные цианобактерии развиваются во всех вариантах. Как и в случае водорослей, все концентрации СКФ-26 приводят к ускоренному размножению этой

группы организмов. Максимум развития безгетероцистные цианобактерии достигли при разведении 1:100.

Известно, что внесение некоторых соединений в почву ускоряет ход аутогенных сукцессий микроорганизмов. Подобное явление наблюдается и при действии СКФ-26 на цианобактериальный комплекс. Так, разведение 1:50 провоцирует размножение азотфиксирующих цианобактерий. Именно эта группа организмов стала причиной появления пика численности альго-цианофлоры в варианте с разведением СКФ-26 1:50.

Следовательно, соединение СКФ-26 выступает как стимулятор размножения почвенной альгофлоры и инициатор ускоренного протекания альго-цианобактериальной сукцессии. Маточный раствор СКФ-26 в разведении 1:50 создаёт оптимальные условия для развития почвенных водорослей и цианобактерий и ускоряет ход аутогенной сукцессии в модельных опытах.

## **Модифицирующее действие биоцидов на митогенные свойства белков гриба**

*Aspergillus niger*

**Зелёный Юрий Михайлович**

*Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова,*

*Минск, Беларусь*

*zuma-vkl@mail.ru, stk71016@yandex.ru*

Целью работы было изучение модифицирующего действия биоцидов бензалкониум хлорида (КатАБ) и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ) на митогенные свойства белков гриба *Aspergillus niger*.

В работе использовались методы глубинного культивирования, избирательной экстракции белков клеточной стенки с использованием ионных и неионных денатурирующих детергентов, спектрофотометрического определения концентрации белков в полученных экстрактах, диализа, а также постановки реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) *in vitro*, состоящей в оценке эффективности превращения малых лимфоцитов под влиянием изучаемого фактора в бласты, способные к пролиферации. Результаты РБТЛ учитывались микроскопически.

Выраженность митогенных свойств белков, экстрагированных из пеллет гриба *A. niger*, в контроле была различна. Белки с наиболее выраженными митогенными свойствами были получены с применением неионного детергента. Они проявляли митогенные свойства в отношении лимфоцитов человека *in vitro* в диапазоне концентраций 0,15–0,29 мг/мл.

При культивировании гриба *A. niger* в присутствии КатАБ происходило достоверное увеличение митогенных свойств его белков в 3,2 раза ( $p < 0,05$ ), а при культивировании гриба в присутствии ПГМГ происходило достоверное снижение митогенных свойств белков в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Разнонаправленные изменения митогенных свойств могут быть связаны с различными механизмами действия биоцидов.

Было также отмечено, что митогенные свойства белков, экстрагированных с применением Tween 60 из пеллет гриба, полученных при его культивировании в присутствии 0,0005 % КатАБ, приближаются к эффекту классического митогена – фитогемагглютинина.

Анализируя концентрационные зависимости наблюдаемых митогенных эффектов, можно заключить, что все полученные экстракты гриба *A. niger* в зависимости от концентрации в них белка могут индуцировать иммунный ответ или ингибировать его. Куполообразная форма зависимости «доза — эффект» позволяет утверждать, что экстрагированные белки обладают не только митогенными, но и антигенными свойствами.

Полученные результаты могут быть использованы, с одной стороны, для оптимизации борьбы с плесневыми поражениями жилых помещений и предотвращения их отрицательного влияния на здоровье человека. С другой стороны, дальнейшее изучение молекулярной природы грибных белков с измененными митогенными свойствами может оказаться перспективным для разработки препаратов-иммуномодуляторов и иммунодиагностикомов, а также уточнения механизмов сенсibilизации организма человека к грибным аллергенам.

**Виталитетная структура популяций редкого лишайника лобарии легочной (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) в растительных сообществах Южной Карелии при разном уровне антропогенной нагрузки**

**Игнатенко Роман Викторович**

*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

*ocean-9@mail.ru*

*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. — крупный листоватый эпифитный лишайник, крайне чувствительный к антропогенному воздействию, является индикатором чистоты атмосферного воздуха и малонарушенных лесных сообществ. В последние годы наблюдается сокращение численности популяций данного вида, он занесен в Красные Книги многих стран, в том числе — Российской Федерации.

Работа выполнена на территории Южной Карелии в растительных сообществах средней тайги, отличающихся уровнем антропогенной нагрузки: 1) в естественных городских лесах, примыкающих к жилой застройке в г. Петрозаводске, 2) в заказнике «Заозерский», граничащем с Петрозаводском, и 3) в заповеднике «Кивач», не испытывающем прямого антропогенного воздействия.

Для изучения состояния популяций лобарии в месте обитания регистрировали характеристики сообщества, параметры деревьев, микроусловий (экспозиция ствола, высота над землей, угол наклона поверхности ствола, pH корки). Для каждого таллома отмечали общую площадь, площадь некрозов (см<sup>2</sup>) и принадлежность к функционально-возрастной группе (стерильные, гипосоредиозные, мезосоредиозные, гиперсоредиозные, субсенильные, сенильные, фертильные). Анализ данных выполнен на основе описаний 343 талломов (69 в Петрозаводске, 127 — в заказнике, 147 — в заповеднике), растущих на 101 дереве.

Установлено, что с увеличением антропогенной нагрузки сокращается число форофитов, на которых встречается лобария: в городской среде лишайник произрастает только на *Populus tremula* (осина обыкновенная), на территории заказника — на *Populus tremula*, а также на *Sorbus aucuparia* (рябина обыкновенная) и *Salix caprea* (ива козья), в заповеднике «Кивач» к перечисленным форофитам добавляется *Betula pendula* (береза повислая).

Средняя площадь талломов на территории города выше (123 см<sup>2</sup>), чем в заказнике (68 см<sup>2</sup>) и заповеднике (67 см<sup>2</sup>). Средняя площадь некрозов в растительных сообществах Петрозаводска также выше (26 см<sup>2</sup>), чем в заказнике (8 см<sup>2</sup>) и в заповеднике (5 см<sup>2</sup>). Полученные данные хорошо согласуются с данными по виталитетной структуре популяций. Популяция лобарии в растительных сообществах Петрозаводска является неполночленной: в ней отсутствуют фертильные талломы, преобладают субсенильные (36 %) и сенильные (19 %) особи. В заказнике в составе популяции возрастает доля молодых талломов (стерильных 25 %, гипосоредиозных 27 %), сокращается доля субсенильных (13 %) и сенильных (4 %), отсутствуют фертильные особи. В заповеднике «Кивач» лобария легочная формирует полночленную популяцию с преобладанием молодых талломов — стерильных (29 %), гипосоредиозных (24 %) и мезосоредиозных (20 %), с минимальной долей субсенильных (8 %) и сенильных (2 %) особей, 10 % талломов являются фертильными.

Таким образом, виталитетная структура популяций *Lobaria pulmonaria* в растительных сообществах Южной Карелии существенно зависит от уровня антропогенной нагрузки. С увеличением последней в составе популяций увеличивается доля субсенильных и сенильных особей, сокращается доля молодых талломов, из популяции исчезают фертильные особи. При сохранении данной тенденции возникает угроза произрастанию данного вида на территории г. Петрозаводска.

## Субстратные комплексы миксомицетов ботанических садов Москвы

**Матвеев Андрей Владимирович**

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

*andrmatveev@gmail.com*

Доступность подходящих субстратов — один из основных факторов, оказывающих влияние на распространение миксомицетов и их обилие. Всё разнообразие субстратов на исследованной территории (Главный Ботанический сад имени Н.В.Цицина РАН и Ботанический сад МГУ) было объединено в 3 субстратных комплекса: 1) эпифитный (ЭСК) — кора живых деревьев и кустарников, 2) ксилобионтный (КСК) — гнилая древесина, 3) подстилочный (ПСК) — опад листовых и хвойных пород деревьев. Всего нами выявлено 64 вида миксомицетов. К ЭСК принадлежат 38 видов, к КСК — 26, к ПСК — 13. Видов, встреченных во всех трех комплексах одновременно, отмечено не было. Эпифитный и подстилочный комплексы содержат 11 видов миксомицетов, которые представлены в обоих этих комплексах (все виды, встретившиеся на опаде, кроме *Didymium squamulosum* и *Didymium difforme*, были отмечены и на коре). В ЭСК и КСК два общих вида — *Physarum album* и *Arcyria insignis*.

К ведущим семействам миксомицетов в эпифитном субстратном комплексе относятся: *Physaraceae*, *Stemonitidaceae*, *Trichiaceae*. Они включают 78,95 % от всех видов, выявленных среди эпифитных миксомицетов на изученной территории. В ксилобионтном субстратном комплексе к ведущим семействам относятся *Trichiaceae*, *Reticulariaceae*, *Physaraceae* (84,62 % от всех видов, выявленных в КСК). Ведущими семействами в подстилочном комплексе являются *Trichiaceae*, *Stemonitidaceae*, *Didymiaceae*, они включают 76,92 % видов, выявленных в ПСК.

Наибольшее сходство таксономической структуры на уровне семейств отмечается между эпифитным и подстилочным комплексами, где общие ведущие семейства *Trichiaceae* и *Stemonitidaceae* имеют примерно одинаковые пропорции в обоих комплексах. Однако между ними есть и значительное отличие — в ПСК одним из ведущих семейств является *Didymiaceae*, представителей которого на коре не выявлено вовсе. Аналогично одно из ведущих семейств ЭСК — *Physaraceae*, полностью отсутствующее в ПСК.

Среди видов миксомицетов, формирующих ядро биоты, представители с ЭСК имеются у 12 видов, представители с КСК — у 5, представители с ПСК — у 6. Но частота встречаемости в подстилочном комплексе значительно меньше по сравнению с другими субстратными комплексами. Таким образом, наибольший вклад в формирование ядра биоты миксомицетов исследованных ботанических садов вносят представители эпифитного и ксилобионтного комплексов.

## Диатомовые водоросли окрестностей озера Глубокого (Московская область)

**Неретина Анна Николаевна**

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

*neretina-anna@yandex.ru*

Альгологические исследования на оз. Глубоком насчитывают уже более ста лет. Однако на протяжении всего этого времени внимание альгологов было сосредоточено на установлении видового состава водорослей, в том числе диатомовых, самого озера. Водоросли заболоченных территорий, непосредственно прилегающих к берегам озера, специально никогда не изучали. В связи с этим цель нашей работы — изучить видовой состав диатомовых водорослей лесного болота, расположенного на южном берегу оз. Глубокого.

Сборы материала для исследования проводили с мая по сентябрь 2012 г. на станции, заложенной в заболоченном березняке, приблизительно в 180 м от южного берега оз. Глубокого. Водно-минеральное питание болота в основном происходит за счет весеннего повышения уровня озера и при таянии снега. К концу лета обводненность территории значительно уменьшается. При сборе в чистые пластиковые бутылки отжимали сфагновые мхи из микроповышений и мочажин. Всего для работы было отобрано 5 альгологических проб. Очистку панцирей диатомовых водорослей проводили по стандартной методике.

Для микроскопической обработки материала использовали световой микроскоп (Leica DM 1000, оборудованный цифровой фотокамерой Leica EC3) и сканирующие электронные микроскопы (Jeol JSM – 6380 и Jeol JSM – 840A).

На данном этапе наших исследований выявлено 89 таксонов диатомовых водорослей видового и внутривидового рангов. По числу видов лидируют представители группы шовных диатомей (78 видов), далее, со значительным отрывом, следуют представители центрических и бесшовных диатомей (по 5 таксонов в каждой группе). Лидирующими родами являются *Pinnularia s.l.* (22 вида и разновидности), *Navicula s.l.* (18 видов и разновидностей) и *Eunotia* (8 видов). На эти три рода приходится 55 % идентифицированных видов флоры диатомовых водорослей исследуемой территории. Другие роды насчитывают по 5 и менее таксонов.

Флора исследованного биотопа сложена гетерогенными по своим экологическим характеристикам видами. В наших пробах доминируют представители родов *Pinnularia* и *Eunotia*, характерные для болотной флоры. Кроме того, отмечены аэрофильные диатомовые водоросли (представители родов *Luticola*, *Diademsis*, *Hantzschia*) и типичные гидрофилы (виды родов *Asterionella*, *Fragilaria*, *Tabellaria*). Наибольшее видовое разнообразие диатомовых водорослей отмечено в мае и июне и приурочено, по-видимому, к периоду максимальной обводненности биотопа. При уменьшении обводненности сфагновых кочек с июля по середину сентября из спектра видов практически полностью выпали крупные представители родов *Pinnularia*, *Hantzschia*, *Encyonema*.

Автор выражает благодарность М.А. Гололобовой и Д.А. Чудаеву за помощь в подготовке тезисов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 12–04–31993–мол\_а и 13–04–00546–а).

## Применение ПЦР для выявления гриба *Gibellina cerealis* - патогена злаков

*Пильщикова Надежда Сергеевна*

*Санкт-Петербургский государственный Технологический институт, Санкт-Петербург, Россия*  
*yalie@yandex.ru*

*Gibellina cerealis* Passerini 1886 — возбудитель прикорневой гнили (белосоломенной болезни) пшеницы и ржи, вредоносный патоген, распространившийся в последние годы на юге России (Краснодарский, Ставропольский края). Диагностика вызываемого им заболевания затруднена, так как симптомы поражения в некоторых случаях похожи на церкоспореллез, ризоктониоз и мучнистую росу. Поэтому наиболее надёжным способом идентификации данного фитопатогена может оказаться применение ПЦР.

Для разработки основанной на ПЦР методики идентификации *G. cerealis* были впервые секвенированы последовательности двух фрагментов ДНК двух штаммов: внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS областей) рДНК и гена  $\beta$ -тубулина.

На основе данных фрагментов, а так же нуклеотидных последовательностей близкородственных грибов (база данных GenBank) при помощи программ ClustalX и Primer3Plus были сконструированы две пары праймеров. (1) На основе ITS-областей: праймеры Gib-F и Gib-R; размер ампликона — 368 п.н. (2) На основе гена  $\beta$ -тубулина: праймеры GibC-F и GibC-R; размер ампликона — 325 п.н. Для обеих пар были экспериментально подобраны условия амплификации. Для праймеров GibF/GibR: температура отжига — 69 °С (30 с.) в течение 5 циклов и 65 °С в течение 30 циклов; для праймеров GibC-F/R — 65 °С (30 с.) в течение 30 циклов.

Обе разработанные пары праймеров успешно амплифицировали ДНК двух исследованных штаммов *G. cerealis* и не давали неспецифических фрагментов при амплификации ДНК незаражённой пшеницы. Из-за отсутствия необходимых штаммов, специфичность праймеров была проверена только теоретически, с использованием программы Primer BLAST.

Обе пары праймеров были использованы для анализа искусственно заражённых грибом *G. cerealis* листьев пшеницы, отличавшихся различной степенью поражения. Была обнаружена низкая чувствительность ПЦР в условиях амплификации, обеспечивающих необходимую

специфичность: положительный результат был получен только для образцов с сильным поражением, тогда как образцы со слабым поражением и хлорозом не дали продуктов реакции.

В связи с этим для увеличения чувствительности теста был использован метод нестед-ПЦР. Его применение позволило существенно увеличить чувствительность ПЦР для праймеров Gib-F/R в комбинации с праймерами ITS1/ITS4, амплифицирующими ITS-области рибосомального оперона эукариот, и для праймеров GibC-F/R в комбинации с праймерами T1/T2, амплифицирующими ген  $\beta$ -тубулина грибов. Кроме того, проведение ПЦР в формате нестед, хотя и усложнило работу, но позволило ввести внутренний контроль качества выделения ДНК. В результате первого цикла амплификации наблюдали бэнд размером около 500–600 п.н. для праймеров ITS1/ITS4 или около 900 п.н. для праймеров T1/T2, а в результате второго цикла — соответствующий специфический фрагмент, говорящий о наличии *G. cerealis* в пробе.

Несколько более удобной для анализа оказалась пара праймеров GibF/R, так как праймеры ITS1/ITS4, амплифицирующие и грибную, и растительную ДНК, оказались более подходящими для проверки наличия в пробе ДНК, пригодной для проведения ПЦР, чем праймеры T1/T2, амплифицирующие только грибную ДНК, которой может не оказаться при анализе незаражённых образцов.

### **Преодоление видового иммунитета пшеницы Тимофеева ржавчинным грибом *Puccinia triticina***

***Пожерукова Виолетта Евгеньевна, Дегтярев Артём Игоревич,  
Айдосова Айнура Темирбулатовна***

*Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина, Омск, Россия  
pozherukova.V@yandex.ru*

Пшеница Тимофеева *Triticum timopheevii* Zhuk. считается иммунной к бурой ржавчине, вызываемой грибом *Puccinia triticina* Erikss (Вавилов, 1934; Дорофеев, 1987). В последние годы отмечено резкое повышение агрессивности западносибирской популяции гриба (Мешкова, 2011). В связи с этим проведены исследования взаимодействия популяций *P. triticina* европейской части РФ (Центрального нечерноземного региона, Поволжья, Ленинградской области) и Западной Сибири с образцами *T. timopheevii*.

Проростки 10 образцов *T. timopheevii* из коллекции ВИР (из Грузии и Ленинградской области) заражали урединиоспорами *P. triticina*, полученными путем размножения инфекции с зараженных листьев пшеницы, собранных летом 2012 г. в регионах РФ. Определяли тип реакции растений по 5–балльной шкале. Взаимоотношения гриба с растениями изучали с помощью световой микроскопии на фиксированных листьях после окрашивания в 1%-ном анилиновом синем в лактофеноле и дифференциации окраски в хлоралгидрате (Плотникова, 2009).

Образцы *T. timopheevii* проявили иммунитет к популяциям *P. triticina* из европейской части РФ. При заражении западносибирской популяцией четыре образца были иммунны (балл 0), пять — устойчивы (балл 1–2), один представлен смесью устойчивых и восприимчивых растений. Взаимодействие гриба с иммунными образцами *T. timopheevii* было сходно с взаимоотношениями с растениями-нехозяевами: патоген погибал на прегасториальной стадии либо микроколоний с 2–3 гаусториями (Niks, 1981; Elmhirst, Heath, 1987). Подавление развития части колоний сопровождалось реакцией сверхчувствительности (СВЧ), в остальных случаях СВЧ не проявлялась. На устойчивых образцах *T. timopheevii* 40 % инокулюма погибало на описанных стадиях, в остальных случаях формирование небольших пустул сопровождалось реакцией СВЧ, т.е. взаимодействие было сходно с расоспецифическим (хозяйским). Образец k-35915 представлен популяцией устойчивых и восприимчивых растений (балл 3). На устойчивых растениях отмечены проявления нехозяйской и хозяйской устойчивости, а взаимоотношения гриба с восприимчивыми растениями *T. timopheevii* и мягкой пшеницы (контроль) были сходны.

Таким образом, впервые продемонстрировано преодоление видового иммунитета *T. timopheevii* западносибирской популяцией *P. triticina*. Полученная информация важна

для понимания процессов сопряженной эволюции паразитических грибов с растениями, а также должна учитываться при пополнении резерва генов устойчивости пшеницы.

## **Продукция органических кислот *Aspergillus niger* в различных условиях культивирования** **Сазанова Катерина Владимировна**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*  
*barinova-kv@mail.ru*

Известно, что многие грибы обладают способностью выделять органические кислоты. Одним из наиболее активных продуцентов является *Aspergillus niger* (Tiegh. 1867). Физиологическая и экологическая роль выделяемых грибами кислот изучена не достаточно. В настоящей работе исследовали кислотопродукцию *A. niger* при росте на средах с различными концентрациями глюкозы, а также при использовании в качестве единственного источника углерода сахароспиртов сорбита и маннита.

*A. niger* (штамм Ch4/07, выделенный с известняка, г. Херсонес (Украина), 2007 г.), культивировали на жидких и агаризованных питательных средах с составом минеральных солей, соответствующим среде Чапека. Анализ органических кислот проводили на 10-е сутки роста методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent MSD5975. Предварительно кислоты выделяли из среды с помощью ионообменных смол.

При культивировании *A. niger* на жидкой среде, содержащей 20 г/л глюкозы, доминировала щавелевая кислота (468,2±34,1 мкг/мл). Количество лимонной, янтарной, фумаровой и яблочной кислот были менее 5 мкг/мл. При концентрации глюкозы 30 г/л количество оксалата возрастало до 1976,6±142,0 мкг/мл. Количество цитрата, сукцината, малата и фумарата не превышало 15 мкг/мл. При концентрации глюкозы 50 г/л наблюдалось резкое увеличение образования лимонной кислоты (до 2690 мкг/мл). Количество янтарной, фумаровой и яблочной кислот также увеличивалось, и появлялась глюконовая кислота. Количество оксалата увеличилось не значительно.

На жидких средах с сахароспиртами (30 г/л) содержание оксалата достоверно не отличалось от его количества на среде с глюкозой в аналогичной концентрации, однако количества янтарной, фумаровой, яблочной и лимонной кислот в 5 раз превысили их количества на глюкозосодержащей среде.

На агаризованной среде с различными концентрациями глюкозы обнаружены только оксалат и глюконат. Количество данных кислот были аналогичны их количествам на жидкой среде со сходными концентрациями глюкозы. На средах с сахароспиртами присутствовала только щавелевая кислота.

Полученные результаты показывают, что в условиях проведённого эксперимента щавелевая кислота постоянно присутствует в составе метаболитов *A. niger*. Лимонная, фумаровая, янтарная и яблочная кислоты выделяются в среду только при избыточном количестве углеводов и только на жидкой среде. Сахароспирты являются благоприятным субстратом для продукции этих кислот.

## **История исследования конъюгат (Charophyta) северных регионов России**

**Терлова Елизавета Федоровна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*e.terlova@gmail.com*

Водоемы северных областей России являются оптимальными по условиям для развития водорослей класса Conjugatorhysae. Изучение альгофлоры этого региона началось в конце XVIII века, и этот период отражен всего в нескольких публикациях. На протяжении XX века работы по изучению флоры конъюгат Севера проводили достаточно широко по России: Ленинградская область, Карелия, Кольский полуостров, Северный Урал и Большеземельская тундра, Якутия, Чукотка. Несмотря на это, единого кадастра видов конъюгат Севера до сих пор не существует.

Ленинградская область — одна из наиболее изученных территорий в этом плане. Обобщающая работа по исследованиям водорослей Ленинградской области издана в 1999 г.

и представляет список видов из разных отделов водорослей, в том числе более 600 таксонов конъюгат. Ряд работ опубликован Е. К. Косинской (1940–1955 гг.) и А. Ф. Лукницкой (1991–2011 гг.). Эти труды примечательны тем, что в них рассматриваются только конъюгаты, обитающие на территории Ленинградской области.

Много исследований видового состава водорослей проведено в Карелии. Критический анализ наиболее полного перечня таксонов этого региона составили С. Ф. Комулайн с соавторами в 2006 г. В итоге, к настоящему времени альгофлора Карелии насчитывает 1092 видовых и внутривидовых таксонов, из них 133 вида конъюгат. Слует отметить, что специальных исследований Conjugatophyceae не проводилось.

Первые сведения о водорослях Якутии появляются в начале XX в. В них приводятся видовые списки, составленные по итогам фрагментарных сборов. В 1947 г. началось систематическое изучение альгофлоры Якутии, и для северной части региона к настоящему времени известно 213 видов водорослей, относящихся к классу Conjugatophyceae. Для всей же области показано, что по видовой насыщенности класс Conjugatophyceae на третьем месте после Chlorophyceae и Pennatophyceae.

Исследование альгофлоры Полярного Урала начато в 1930 г. Н. Н. Воронихиным и продолжено М. В. Гецен до наших дней. К настоящему времени известно 1050 видов и разновидностей водорослей, из них 321 вид конъюгат.

Исследования водорослей Чукотки единичны, и по конъюгатам имеется только одна статья, в которой приводится 85 видов.

В итоге, по данным литературы (более 80 источников) мы составили сводный таксономический список видов Conjugatophyceae для северных регионов России, который насчитывает 1052 видовых и внутривидовых таксонов, относящихся к 44 родам из 2 порядков и 6 семейств. Дальнейшая обработка этой базы данных позволит провести не только сравнительно-флористический анализ, но и высказать предположения относительно эколого-географической приуроченности видов.

## Экологическая характеристика водорослей озер Кулундинской равнины

*Толеужанова Алия Толеужановна*

*Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан*

*Aliya-Tol@mail.ru*

Влияние экологических факторов обуславливает формирование таких экологических группировок (экологические альгоценозы) как фитопланктон, фитобентос, эпифиты, литоральные виды.

Материалом для настоящей работы послужили пробы водорослей, отобранные в озерах Большой Таволжан, Борлы, Мойылды и Таволжан Кулундинской равнины. Сбор проводили в течение 2005–2011 гг.

За время наших исследований в исследуемых озерах найден 351 вид водорослей, принадлежащих к 7 отделам, в том числе диатомовых — 206, синезеленых — 81, зеленых — 47, эвгленовых — 11, желтозеленых — 3, пиррифитовых — 2 и красных — 1.

В водоемах Кулундинской равнины планктонные водоросли насчитывают 149 видов, фитобентос состоит из 14 видов, 54 вида эпифитов, литоральных — 134.

Результаты экологического анализа свидетельствуют о том, что водоросли отделов *Xanthophyta* (*Chlorallantus attenuatus* Pasch., *Ilsteria quadrijuncta* Skuja et. Pasch., *Ilsteria tetracoccus* Pasch.), *Pyrrophyta* (*Peridiniopsis penardii* (Lemm.) Bourr., *Peridinium cinctum* (O. F. Muller) Ehrenberg), *Rhodophyta* (*Compsopogon corinaldii* (Menegh.) Kutz.), найденные в озерах Кулундинской равнины, относятся к планктонным.

Водоросли отдела *Bacillariophyta* подразделяются на четыре основные группы: планктонные — 34 вида и разновидности, бентосные — 9, литоральные — 132, эпифитные — 31.

Представители отдела *Cyanophyta* также состоят из планктонных — 75 видов и разновидностей, бентосных — 3, литоральных — 2, эпифитных — 1 (*Rivularia coadunata* (Sommerf.) Foslie).

*Chlorophyta* формируется из таких экологических группировок как планктонные — 24 вида и разновидности, бентосные — 1 (*Rhizoclonium profundum* Brand.) и эпифитные виды — 22.

Из 11 видов водорослей отдела *Euglenophyta*, обнаруженных в водоемах Кулундинской равнины, 10 видов относятся к планктонным и 1 (*Euglena hemichromata* Skuja) к бентосным.

Обнаруженные в озере Большой Таволжан 10 видов водорослей относятся к планктону.

В озере Борлы среди экологических группировок планктон играет ведущую роль (38 видов), за ним следуют литоральные виды — 20 видов, эпифиты — 6, бентос — 1 (*Cyanothrix Gardneri* (Fremy.) I. Kissel. ampl. I Kissel.).

В озере Мойылды наиболее богато представлены планктонные водоросли — 64 вида водорослей, литоральных видов насчитывается 57, эпифитных — 26, бентосных — 8.

В озере Таволжан экологические группировки представлены литоральными видами — 88, планктонными — 63, эпифитными — 23 и бентосными — 8.

Таким образом, экологическая структура альгофлоры водоемов Кулундинской равнины определяется, главным образом, соотношением двух основных групп — планктонных (149) и литоральных (134) видов водорослей. В озере Большой Таволжан все обнаруженные водоросли относятся к планктону (10), а в озерах Мойылды (64) и Борлы (38) планктон играет ведущую роль. В озере Таволжан доминируют литоральные (88) виды водорослей.

### **Накопление липидов в клетках зеленых микроводорослей при культивировании на различных питательных средах**

**Утегенова Гулжахан Абдужалыловна, Кайрат Бахытжан Кайратулы,  
Казмагамбетова Бибинур Есболатовна, Имбарова Гулназ Алмазкызы**

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан  
guljahan.89@mail.ru*

Микроводоросли способны продуцировать различные метаболиты, такие как белки, углеводы, липиды и витамины, которые могут быть использованы как биологические добавки для фармацевтических и нутрицевтических целей (Yusov et al., 2011). Оптимизация получения липидов в промышленных масштабах тесно связана с условиями культивирования, которые влияют на содержание липидов (Басова, 2003).

Целью исследования явилось определение содержания липидов, экстрагированных из клеток зеленых протококковых микроводорослей при культивировании на питательных средах Фитцджеральда и Тамия (Сиренко и др., 1975).

В работе использовались следующие виды микроводорослей из коллекции лаборатории экологической биотехнологии НИИ проблем экологии (г. Алматы, Казахстан): *Dictyochlorella globosa*, *Chlorella sp.*, *Chlorococcum sp.*, *Cladophora globulina*, *Oocystis rhomboideus*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus acutiformis*, которые культивировали в накопительном режиме в 250-миллилитровых конических колбах (по 80 мл культуры в каждой колбе). Интенсивность света на поверхности раствора составляла 8 кЛк при 16-часовом фотопериоде. Температура среды колебалась в диапазоне +20 – 22 °С.

Для определения динамики прироста биомассы в начале и в конце опыта определяли сухую массу инокулята и полученной из него культуры. Экстракцию липидов из клеток микроводорослей осуществляли по методу (Burja et al., 2006). Клетки микроводорослей подвергали суховоздушной сушке, затем в пробах предварительно дезактивировали ферменты изопропиловым спиртом, после чего гомогенизировали смесью хлороформ-метанол (1:1).

Результаты наших опытов показали, что на средах Тамия и Фитцджеральда наблюдалось повышение ростового индекса для всех исследованных штаммов микроводорослей. Так, в культуре *D. globosa* на среде Тамия на 7 сутки культивирования ростовой индекс составил  $3,78 \pm 0,2$ , а на 14 сутки —  $8,07 \pm 0,9$ , на среде Фитцджеральда на 7 сутки культивирования —  $5,17 \pm 0,9$ , а на 14 сутки —  $9,35 \pm 0,5$ . На среде Фитцджеральда ростовой индекс для культуры *O. rhomboideus* на 7 сутки культивирования ростовой индекс составил  $9,0 \pm 0,9$ , а на 14 сутки —  $12,9 \pm 1,2$ , на среде Тамия —  $4,02 \pm 0,2$ , а на 14 сутки —  $7,13 \pm 0,5$ . Ростовой индекс для исследованных штаммов на среде Фитцджеральда оказался выше, чем на среде Тамия.

Установлено, что минеральный состав среды Фитцджеральда способствовал синтезу липидов в клетках изученных микроводорослей. К примеру, в культуре *O. rhomboideus* на 7 сутки количество экстрагированных липидов равнялось  $15,8 \pm 1,0$ , а на среде Тамия — всего  $4,6 \pm 0,3$ . С увеличением сроков культивирования содержание липидов в клетках *O. rhomboideus* снижалось, на 14 сутки из клеток, выращенных на среде Тамия, получено всего  $0,5 \pm 0,01$  г, а на среде Фитцджеральда —  $3,2 \pm 0,8$  г липидов на 100 г суховоздушной биомассы. Подобная картина наблюдалась и в остальных исследованных штаммах, где в клетках, выращенных на среде Тамия, содержание липидов уменьшалось.

Для дальнейшего использования в производственных целях рекомендуется использование штамма *O. rhomboideus*, так как он отличался высоким ростовым коэффициентом и способностью накапливать липиды.

## **Влияние гормоноподобного ксенобиотика нонилфенола на рост и токсинообразование цианобактерий *Microcystis aeruginosa***

**Хмелевская Дарья Станиславовна**

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

*daria.khmelevskaya@pharminnotech.com*

В последние годы стала актуальной проблема загрязнения окружающей среды органическими поллютантами, такими как гормоноподобные соединения группы нонилфенолов (НФ). НФ являются разрушителями эндокринной системы и нарушают нормальный баланс гормонов в живых организмах. При попадании в водоемы происходит перенос НФ в придонные горизонты и накопление в взвешенном веществе, донных осадках и водных организмах, в т.ч. рыбе, моллюсках и др. В последние десятилетия учеными многих стран уделялось большое внимание изучению влияния НФ на водные организмы, прежде всего, на зоопланктон и водные растения. Однако влияние данных поллютантов на цианобактерии, образующие токсины, губительные для животных и человека, практически не изучено.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния НФ на рост и токсинообразование цианобактерий *Microcystis aeruginosa* — основных возбудителей токсичного «цветения» воды.

Исследования проводили с двумя штаммами *M. aeruginosa* CALU 972 (Громов, 1990) и CALU 973 (Rippka, 1975), которые выращивали на среде BG<sub>11</sub>, содержащей НФ в концентрации 2–300 мкг/л. Определение количества биомассы цианобактерий проводили по сухому весу, контроль пигментного комплекса осуществляли спектрофотометрическим методом по содержанию хлорофилла *a* и каротиноидов, концентрацию цианотоксинов определяли методом ВЭЖХ.

В результате исследования выявлен сложный характер действия НФ на цианобактерии. В концентрации 5–20 мкг/л НФ стимулирует рост *M. aeruginosa*, при более высоких концентрациях — ингибирует, а при концентрациях, превышающих 200 мкг/л, полностью подавляет их развитие. Под действием НФ возрастает количество фотосинтетических пигментов, в том числе хлорофилла *a* и каротиноидов.

Влияние НФ на процесс токсинообразования цианобактерий может быть различным и зависит от штамма *M. aeruginosa*. В присутствии поллютанта возможно как усиление синтеза цианотоксинов, так и ингибирование данного процесса. Концентрация внеклеточных микроцистинов в присутствии НФ может достигать 860 мкг/л, что почти на три порядка превышает рекомендованную ВОЗ предельно допустимую концентрацию микроцистинов в воде — 1 мкг/л. Повышенный выход микроцистинов из клеток цианобактерий в окружающую среду относится к серьезным негативным последствиям загрязнения водоемов нонилфенолами.

**Влияние инокуляции почвы микоризными грибами и микроводорослями  
на ростовые характеристики овса посевного (*Avena sativa* L.)**

**Худайкулова Кимматгуль Ахматовна<sup>1</sup>, Турган Назгуль Бахтияровна<sup>1</sup>,  
Знаудинова Эльмира Кудратовна<sup>1</sup>, Акимбаева Динара<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Казахский государственный женский педагогический университет,

<sup>2</sup>Казахский государственный национальный университет имени аль-Фараби,

Алматы, Казахстан

*ex\_eko@mail.ru*

Использование арбускулярной микоризы (АМ) является одним из эффективных способов повышения урожайности сельскохозяйственных растений. Являясь облигатными гетеротрофами, гриб-микоризообразователь обязательно должен внедриться в кору корня молодого растения-хозяина, в противном случае гриб погибает. В качестве одного из способов продления жизнеспособности прорастающих спор можно было бы использовать одновременное с инокулятом АМ внесение в почву суспензии водорослей. В данной работе было исследовано влияние эндомикоризных грибов рода *Glomus* (*G. etunicatum* Becker et Gerdemann, *G. intraradices* Schenck et Smith, *G. claroideum* Schenck et Smith) и микроводорослей *Anabaena laxa* и *Sphaeronostoc zeterstedtii* на ростовые характеристики растений овса посевного (*Avena sativa* L.).

Растения выращивали в пластиковых горшках емкостью 0,5 л. В качестве почвогрунта использовали предварительно простерилизованную автоклавированием (1 атм., 1 ч.) смесь песка и вермикулита (1:1). Споры грибов стерилизовали в растворе стрептомицина и хлорамина, семена овса — в растворе перманганата калия. После внесения в почву спор АМ и по 50 мл суспензий водорослей (исходная концентрация порядка 62000 клеток/куб. мм — *A. laxa* и 357000 — *Sphaeronostoc zeterstedtii*, начало стационарной фазы), разбавленных водой в соотношении 1:1, 1:2, 1:4, на глубину 1 см высаживали семена овса. Определение высоты растений и содержания хлорофилла и каротиноидов проводили через 45 дней. В опыте (кроме контроля: без внесения грибов и водорослей) испытывались варианты как с совместным внесением микоризы и водорослей, так и одиночное внесение каждого из инокулятов.

Установлено, что одиночное внесение микроводорослей в почву вызвало стимуляцию роста растений овса. Данный параметр существенно различался в зависимости от вида микроводоросли и используемого разведения их суспензий. Наибольшую стимуляцию роста (139,2 % к контролю) оказала *A. laxa* в разведении 1:1. С увеличением степени разведения суспензий до 1:4 эффект стимуляции снижался. *S. zeterstedtii* при такой же концентрации (1:1) несколько ингибировал рост овса. В вариантах с внесением только микоризных грибов рост растений овса был на 15 % выше, чем в контроле (115 %). При совместной инокуляции арбускулярными грибами и водорослями рост растений существенно не отличался от варианта с одной микоризой. Значения стимуляции роста растений овса в этих вариантах колебались в пределах 120–139 % к контролю. Однако содержание хлорофилла *a* и каротиноидов в вариантах с внесением в почву водорослей и микоризных грибов (соответственно 190,5 и 146,7 %) было значительно выше, чем и в контроле, и в вариантах с внесением только водорослей (161,9 и 134,7 %) или только грибов (143,8 и 120,1%). Так, при инокуляции спорами грибов с суспензией *A. laxa* (1:1) в листьях овса выявлено на 25 % больше хлорофилла *a* и на 37,5 % больше каротиноидов, чем в контроле. В остальных вариантах опыта внесение грибов и водорослей не приводило к столь существенному повышению содержания хлорофилла и каротиноидов, но, тем не менее, было заметно выше, чем в контроле составив в среднем 110–120 %.

Таким образом, проведенные исследования показали, что совместная инокуляция АМ с суспензиями микроводорослей может значительно увеличивать эффект микоризации, вызывая повышенное накопление пигментов фотосинтеза: хлорофилла *a* и каротиноидов в листьях овса.

*Работа выполнена в рамках работы кружка «Экологической биотехнологии».*  
Руководитель кружка — с.н.с. НИИ проблем экологии при КазНУ имени аль-Фараби,  
к.б.н. Фалеев Д.Г.

**Исследования культуры каротиногенной микроводоросли *Ettlia carotinos* Komarek (штамм MAINX/Praha-Ac) в норме и при стрессе**

**Чеканов Константин Александрович**

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

*kostya\_ne\_kostya@mail.ru*

Микроводоросль *Ettlia carotinos* (Chlorophyceae) является продуцентом пигмента астаксантина, имеющего большое практическое значение. Усиленное накопление астаксантина водорослью происходит при стрессе и представляет собой защитную реакцию.

Исследовали кинетику роста *E. carotinos* на среде BG-11 в 0,6-л стеклянных колоннах диаметром 40 мм в 400 мл среды культивирования. Кинетические кривые роста культуры снимали при различной освещенности и различном начальном содержании хлорофилла (Хл) на 1 мл инокулюма.

Характерной чертой роста культуры после изъятия из коллекции было наличие длительной лаг-фазы (8 дней). При этом клетки образовывали пальмеллоидные скопления. После дальнейших пересевов длительность лаг-фазы сократилась (1–2 дня). На экспоненциальной стадии в культуре наблюдались преимущественно отдельные коккоидные клетки. Подобраны оптимальные условия культивирования *E. carotinos*: рост при температуре 27 °С, освещенности 40 мкЕ/(м<sup>2</sup>с), начальном содержании Хл 15 мг/л, скорости продувания воздухом 900 мл/мин. При этом за 10 дней достигались максимальные значения сухого веса (2,5 мг/мл) и содержания Хл (60 мг/л).

Подобраны условия, эффективно индуцирующие каротиногенез у *E. carotinos* в течение 2–3 дней: инкубация в дистиллированной воде при освещенности 480 мкЕ/(м<sup>2</sup>с), той же скорости продувания и температуре, содержании Хл ниже 60 мг/л. При этом суспензия приобретала оранжевую окраску, резко возрастало отношение Кар/Хл, было отмечено появление в культуре монадных клеток (клеток со жгутиками). Анализ пигментов, выделенных путем экстракции диметилсульфоксидом, показал: доминирующим Кар при стрессе является астаксантин. Исследования ультраструктуры клеток показали, что переход к стрессу сопровождается утолщением клеточной стенки и сокращением протяженности тилакоидов.

Разработан экспресс-метод оценки основных параметров культуры (сухой вес, число клеток, содержание Хл и Кар на единицу объема культуры) по спектрам поглощения и рассеяния клеточной суспензии, снятым в 50 % глицерине. Новизна такого метода заключается в возможности определять параметры культуры по спектрам поглощения суспензии (не прибегая к выделению пигментов, подсчету клеток и сухого веса). Рассчитаны значения коэффициента линейной корреляции параметров культуры с поглощением в видимой и ближней ИК области, компенсированным на светорассеяние. При длинах волн, которым соответствует максимальная (по абсолютному значению) величина коэффициента корреляции, наблюдается наиболее выраженная линейная зависимость между величиной оптического поглощения (компенсированной на светорассеяние) и значениями параметров культуры. Следовательно, существуют линейные уравнения, по которым из спектров поглощения можно вычислить содержание пигментов, сухой вес и число клеток. Максимальные значения коэффициента линейной корреляции для содержания Кар и Хл составили 0,95 (при  $\lambda=440$  нм) и 0,94 (при  $\lambda=662$  нм) соответственно. Для сухого веса и числа клеток — 0,95 и 0,96 соответственно (при  $\lambda>730$  нм).

Полученные результаты расширяют существующие представления о физиологии каротиногенеза и способствуют оптимизации мониторинга лабораторных и промышленных культур микроводорослей.

**Влияние высоких концентраций CO<sub>2</sub> на рост и физиологические характеристики симбиотической микроводоросли *Desmodesmus* sp.**

**Щербаков Павел Николаевич**

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

suano@mail.ru

Исследование влияния сверхвысоких концентраций CO<sub>2</sub> на жизнедеятельность микроводорослей актуально в связи с их использованием для биоизъятия CO<sub>2</sub> из бросовых газов предприятий и ТЭС. Изучали влияние CO<sub>2</sub> в концентрации, близкой к таковой в дымовых газах, на рост, пигментный состав, накопление жирных кислот и ассимиляцию CO<sub>2</sub> и нитратного азота микроводорослью *Desmodesmus* sp. 3Dp86E-1 (Chlorophyta), выделенной из беломорского гидроида *Dynamena pumila* (GenBank accession # JQ313132). Культуру микроводоросли наращивали в течение 14 суток в стеклянных колоннах диаметром 40 мм в 400 мл минеральной среды BG11 при 27 °С, постоянном освещении (480 мкЕ/м<sup>2</sup>/с ФАР) и продувании смесью CO<sub>2</sub>:воздух (1:4 по объему) на полной среде (CO<sub>2</sub>+N) и в отсутствие связанного азота (на среде BG11<sup>0</sup>, CO<sub>2</sub>-N). Контролем служили колонны, которые продували атмосферным воздухом (B+N и B-N, соответственно).

В условиях CO<sub>2</sub>+N прирост биомассы был на 16 % выше, чем в варианте B+N, а в условиях CO<sub>2</sub>-N — на 14 % выше, чем в варианте B-N. Качественный состав пигментов не изменялся. Культуры CO<sub>2</sub>+N накапливали больше каротиноидов (52 против 31,3 ммоль/мл суспензии) и жирных кислот (234 против 209 мг/л), чем клетки, выращенные в условиях B+N. Для вариантов CO<sub>2</sub>-N и B-N наблюдали обратный эффект.

Определение содержания элементного С и N показало, что культура, выращенная в условиях CO<sub>2</sub>+N, ассимилирует нитратный азот в среднем на 12 %, а CO<sub>2</sub> — на 32 % быстрее по сравнению с вариантом B+N. В условиях CO<sub>2</sub>-N и B-N скорость ассимиляции CO<sub>2</sub> втрое ниже в сравнении с вариантом CO<sub>2</sub>+N.

Исследованная микроводоросль из рода *Desmodesmus* толерантна к высоким концентрациям CO<sub>2</sub>, вероятно, вследствие симбиотического происхождения. Установлено также, что данная микроводоросль перспективна для биоизъятия CO<sub>2</sub> из бросовых газов, однако эффективное биоизъятие CO<sub>2</sub> (1,5 л/л/сут.) оказалось возможным лишь в отсутствие дефицита азота.

## Подсекция «МИКРОБИОЛОГИЯ»

### Extremely High Frequency Electromagnetic Irradiation Effect On *Lactobacillus acidophilus* Sensitivity Toward Antibiotic Ceftazidime

*Soghomonyan Diana Razmikovna*

*Yerevan State University, Yerevan, Armenia*

*d.soghomonyan@ysu.am*

Nowadays there are many physical factors and chemicals that can affect microorganisms and therefore, cause different disorders in their functions. The bacterial effects of the extremely high frequency electromagnetic irradiation (EMI) or millimeter waves with low (low-energetic) intensity and with non thermal action are interesting because extremely high frequency EMI is widely applied in therapeutic practice, food and wine preservation. *Lactobacillus acidophilus*, which remains to be the most widely recognized and commercially distributed probiotic culture, is a component of human gut microflora. The influence of ceftazidime, which is an antibiotic of third generation, combined with extremely high frequency electromagnetic irradiation (EMI) on *Lactobacillus acidophilus* has been investigated. It was shown that EMI enhances the inhibitory effect of ceftazidime in minimal inhibitory concentration (16-20  $\mu\text{M}$ ). The survival rate of bacteria irradiated with EMI of 51.8 and 53 GHz frequencies with flux capacity of 0.06  $\text{mW}/\text{cm}^2$  (low intensity) during 1 h and inoculated on agar medium with ceftazidime is lower than in the control. The increase of redox potential drop rate during the growth of bacteria is higher compared with the control. That is more with 53 GHz. Also, this combined action depresses energy-dependent  $\text{H}^+$  flux across the membrane. These all suggest that EMI of the frequencies of 51.8 and 53 GHz enhances antibiotic effect accompanied by change in bacterial sensitivity toward ceftazidime. The revealed bactericide effects of these factors on *L. acidophilus* can be applied in biotechnology, food producing and safety technology.

*The author thanks to her supervisor Doctor of Biological Sciences, Professor, NAS RA Associate member Armen Trchounian (Head of Department of Bacteriology and Biotechnology of Plants and Bacteria, Yerevan State University, Armenia, Yerevan).*

### Пробиотический потенциал бактерий рода *Lactobacillus* spp.

*Абитаева Гуляим Кауркеновна*

*РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Астана, Казахстан*

*gulyaim\_as@mail.ru*

С целью коррекционного воздействия на дисбактериоз актуальным остается использование пробиотических препаратов на основе штаммов рода *Lactobacillus*. Эффективность пробиотических препаратов определяется совокупностью биологических свойств штаммов, входящих в состав препаратов, поэтому является актуальным выделение новых штаммов активных лактобактерий. Целью работы являлось выделение и отбор штаммов лактобактерий с высоким пробиотическим потенциалом.

Объектом исследований служили 13 культур молочнокислых бактерий, выделенных из различных субстратов. Принадлежность микроорганизмов к роду *Lactobacillus* устанавливали по культурально-морфологическим свойствам, отсутствию роста на СПА, отрицательной реакции на каталазу и данным микроскопирования. Идентификация выделенных молочнокислых бактерий проведена согласно определителю Берги по сбраживанию 16 углеводов. Изучены спектры устойчивости лактобактерий к 8 антибиотикам. Исследовали антагонистическую активность культур к 7 тест-штаммам: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albican*, *Streptococcus haemolyticus* методом отсроченного антагонизма. Лизоцимную активность определяли по методу J. Hawiger. Антилизозимная активность определялась методом отсроченного антагонизма по О.В. Бухарину.

В результате исследования выявлено, что выделенные культуры представлены такими видами как *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. leishmani*, *L. delbrueskii*, *Lactococcus lactis*, *Lc. piscium*. Все штаммы были резистентны к канамицину, ванкомицину, обладали

антагонизмом по отношению к *St. aureus* со спектром от 8 до 19 мм. Все 13 культур обладают протеолитической активностью, а также активностью по отношению к *Micrococcus lysodeicticus*. При изучении лизоцимной активности выявлено, что 2 штамма не способны продуцировать лизоцим. Наиболее высокие пробиотические свойства проявили штаммы видов *L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbrueskii*, *L. bulgaricus*.

Таким образом, на основании полученных данных отобраны 5 штаммов лактобактерий для разработки консорциумов, которые в дальнейшем можно использовать в качестве основы пробиотических препаратов.

Автор выражает благодарность за научное руководство к.м.н. Ануарбековой С.С., Ph. D. Булгаковой О.В.

### **Качественный состав микромицетов зерна яровой пшеницы**

**Алексеева Алла Александровна**

*Красноярский государственный аграрный университет, Россия, Красноярск*

*alla.alexeeva2013@yandex.ru*

На урожайность зерна значительное влияние оказывают фитопатогенные бактерии, распространение которых на зерне и посевах достигло в Красноярском крае угрожающих масштабов и в некоторых районах доходит до 100 %. Цель исследования — изучить качественный состав микрофлоры зерна некоторых сортов пшеницы, выращиваемой в Красноярском крае. Объектом исследования являлась яровая пшеница сорта Новосибирская 29, поступающая на АО «Минусинский мукомольный завод» из Минусинского, Новоселовского, Идринского, Курагинского и Шушенского районов. Кроме того, проводился анализ образцов зерна пшеницы, поступающей из Хакасии.

Качественный состав грибной флоры на поверхности зерна характеризуется присутствием грибов рода *Fusarium* на образцах из Минусинского района (№ 2 и 4), а также из Идринского (№ 9) и Шушенского районов (№ 11). Потенциальная опасность развития альтернариоза существует в образцах № 1, 2, 5, 6 и 7 — это Минусинский, Новоселовский район и республика Хакасия. Признаки темно-бурого гелиминтоспориоза установлены (р. *Bipolaris*) в образцах зерна из Минусинского и Идринского района (№ 4 и 8) соответственно. В этих же вариантах присутствуют и грибы рода *Trichotecium*. Конидии гриба рода *Aspergillus* установлены в образцах зерна № 3 и 8, 9 (Идринский район и Новоселовский районы, соответственно), при этом в других вариантах данный фитопатоген не обнаружен. Плесневые грибы, такие как *Penicillium* (зеленая плесень), *Mucor* (серая плесень), *Trichotecium* (розовая плесень) обнаруживаются в 60 % исследуемых образцов, при этом наибольшее их количество определено в вариантах из Минусинского, Шушенского района и частично Хакасии. Представители рода *Cladosporium* определялись крайне редко и только в образцах № 1, 3 и 8 — Минусинский и Идринский район, соответственно. В целом наибольшим видовым разнообразием по микромицетам обладают образцы зерна из Минусинского района (№ 1, 2, 4) и Буденовского района Хакасии (№ 7), иначе говоря, существует потенциальная угроза изменения качества зерна в этих вариантах в результате развития микромицетов при неблагоприятных условиях хранения и последующего заражения конечной продукции, т.е. муки.

### **Микробная конверсия сельскохозяйственных отходов в промышленном биогазовом реакторе**

**Багманова Алсу Равилевна, Зиганишина Эльвира Эмилевна**

*Казанский федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии,*

*Казань, Россия*

*alsu7000@yandex.ru*

В связи с интенсивным развитием сельского хозяйства и перерабатывающего комплекса производство нашей страны ощущает насущную потребность в незамедлительном решении проблемы утилизации производственных органических отходов. Одной из эффективных технологий утилизации биомассы, ведущей к снижению отрицательного влияния отходов промышленности на окружающую среду, является их микробная конверсия в анаэробных условиях. Для выгодного повышения результативности переработки органических отходов

возникает необходимость контроля структуры и динамики развития микробных сообществ, ведущих анаэробную ферментацию органических отходов. Результаты в этой области позволят создать научную базу контроля всего анаэробного процесса микробной конверсии органических отходов.

В работе был проанализирован микробный состав выходного субстрата промышленной биогазовой установки Буинского муниципального района Республики Татарстан. В биореакторе объемом 20 м<sup>3</sup> поддерживался мезофильный режим (38 °С). Анаэробной переработке подвергался навоз крупного рогатого скота с растительной подстилкой. Внесение новой порции субстрата и выгрузка переработанной смеси проводились ежедневно. Технологические параметры поддерживались на уровне благоприятных для процесса метаногенеза.

С помощью амплификации, клонирования и секвенирования архейных генов 16S рРНК, полученных из суммарной ДНК содержимого биореактора, была проведена оценка биологического разнообразия микробного сообщества. Анализ сходных нуклеотидных последовательностей в базе данных GenBank с использованием алгоритма BLAST и программы Ribosomal Database Project позволил выявить доминирующих представителей метаногенов, участвующих в ферментационном процессе анаэробной переработки органических отходов, а именно навоза крупного рогатого скота с растительной подстилкой. На основе анализа структуры архейного сообщества идентифицированы представители метаногенного сообщества, а именно представители родов *Methanoculleus*, *Methanosarcina* и *Methanocorpusculum*. Представителей родов *Methanosarcina* и *Methanoculleus* часто идентифицируют в биогазовых реакторах.

Таким образом, нами впервые был проведен анализ структуры метаногенного сообщества в ходе утилизации сельскохозяйственных органических отходов и идентифицированы основные участники анаэробной микробной конверсии отходов в промышленном биогазовом реакторе.

Авторы выражают искреннюю благодарность научному руководителю к.б.н., доценту Зиганшину Айрату Мансуровичу.

### **Микробиологические препараты для защиты картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при длительном хранении**

***Бальвас Екатерина Михайловна***

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина*

*skarlet191@mail.ru*

Изучение аспектов длительного хранения и получения качественной сельскохозяйственной продукции, в том числе и картофеля, является актуальной задачей. Последнее время значительное место уделяется экологически безопасным методам, прежде всего применению биологических препаратов. С целью изучения эффективности при хранении была проведена оценка следующих препаратов: Фитоцид-Р (на основе *Bacillus subtilis* 1,0 x 10<sup>4</sup> КУО/см<sup>3</sup>, ЧП «БТУ-Центр», Украина), Планриз (на основе бактерии *Pseudomonas fluorescence* штамм AP-C3, с титром 2,5 x 10<sup>3</sup> кл/мл, Украина) и Триходермин-Р (на основе *Trichoderma lignorum* М-40, титр 1 x 10<sup>5</sup> см<sup>3</sup>, Украина).

В лабораторных условиях *in vitro* проводили оценку различных концентраций биопрепаратов методом стандартных бумажных дисков на КГА (пропитанные растворами и разложенные по периметру чашек Петри). В центре размещали агарный блок (1 x 1 см<sup>2</sup>) с возбудителями — *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Vary, *Fusarium oxysporum* и *Alternaria alternata*. Зону задержки роста возбудителя определяли по диаметру стерильной зоны. Биопрепараты задерживали развитие фитопатогенов (стерильные зоны при использовании Фитоцида-Р и Планриза составляли 13–15 мм, Триходермина-Р — 9,4–11,2 мм). В контрольном варианте (обработка водой) стерильной зоны не обнаружено. Наиболее эффективные концентрации использовали для обработки клубнеплодов перед закладкой на хранение. Важной задачей является проверка биопрепаратов в условиях хранения продукции и их влияние на показатели качества, такие как сохраняемость, поражённость болезнями, потеря массы, биохимический состав клубнеплодов. Использовали сорта картофеля украинской селекции —

Повинь и Серпанок. Опыты проводились согласно общепринятым стандартным методикам. При использовании биопрепаратов Планриз, Фитоцид и Триходермин-Р наблюдались наименьшие потери массы в 1,2–1,5 раза, сухих веществ в 1,1–1,4 раза, крахмала в 1,0–1,3 раза, поражённость болезнями.

Применение биометодов в защите картофеля позволит увеличить качество продукции при хранении, а также оздоровить экологические условия выращивания.

### **Апробация лабораторного образца фунгицидного биопрепарата**

#### **на основе микроорганизмов рода *Bacillus***

***Баубекова Динара Гайдаровна***

*Астраханский Государственный Технический Университет, Астрахань, Россия*

*suslig.zenia@mail.ru*

Защита растений от фитопатогенов становится все более острой проблемой современного земледелия и сельскохозяйственной микробиологии. От ее решения во многом зависит количество и качество получаемой сельскохозяйственной продукции. Представители рода *Bacillus* являются типовыми объектами подобных исследований, поскольку сочетают в себе широко распространенные антагонистические свойства.

Целью исследования являлось изучение влияния лабораторного образца фунгицидного биопрепарата на основе микроорганизма рода *Bacillus*, выделенного из природных объектов Нижнего Поволжья, на фитосанитарное состояние почв сельскохозяйственного назначения.

Для достижения поставленной цели в работе были использованы следующие микробиологические методы исследования: выделение микромицетов, идентификация по стандартным методикам, определение видового состава микромицетов и структуры комплекса микромицетов, определение фитотоксичности микромицетов.

Ранее были изучены фунгицидная и миколитическая активности исследуемого штамма микроорганизмов — *Bacillus* sp. В ходе экспериментальных исследований было установлено, что исследуемый штамм проявляет фунгицидную активность по отношению к тест-культурам микромицетов. Также было установлено, что исследуемый штамм проявляет миколитическую активность: в условиях непосредственного взаимодействия с исследуемым штаммом формирующийся мицелий микромицетов отличался ярко выраженными морфологическими видоизменениями.

Полученные данные создали предпосылки для разработки бактериального биопрепарата для борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных культур и оздоровления почв сельскохозяйственного назначения. Исследуемый штамм *Bacillus* sp. был взят за основу фунгицидного биопрепарата, опробованного на полях для выращивания картофеля в одном из районов Астраханской области. Объектами исследования являлись почвы, используемые для выращивания картофеля летнего срока посадки.

В результате исследования установлено, что лабораторный образец оказывает влияние на комплекс микромицетов, присутствующих в почвах. Лабораторный образец биопрепарата угнетает развитие микромицетов, что выражается в уменьшении численности микромицетов при обработке. Применение лабораторного образца биопрепарата оказывает влияние и на состав трофических групп микромицетов. Установлено уменьшение численности крахмалолитиков и амилолитиков в опытной почве, что свидетельствует о положительном эффекте, так как снижение именно этих групп микромицетов не позволяет использовать клубни картофеля в качестве субстрата, и приводит к формированию биопрепаратом «фунгицидного поля».

При выявлении эффективности различных вариантов обработки исследуемой почвы (опрыскивание до посадки, предпосадочное опрыскивание + 2 пролива, 2 пролива, 3 обработки) было обнаружено, что тройная обработка почвы наиболее эффективно воздействует на уменьшение численности микромицетов в исследуемой почве.

Таким образом, в результате исследований было установлено, что исследуемый лабораторный образец биопрепарата обладает фунгицидным эффектом и влияет на количественный и качественный состав микромицетов. На основании полученных

результатов можно предложить испытуемый лабораторный образец биопрепарата в промышленное внедрение.

**Активность антимикотиков по отношению к штаммам *Aspergillus niger*,  
выделенных от больных отомикозами**

**Баязитова Алина Ахметовна**

*Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия*

*alien2110@gmail.com*

Грибы рода *Aspergillus* являются одним из основных возбудителей наружного отомикоза. Лечение отомикозов предусматривает, в большинстве случаев, применение как местных, так и системных препаратов. Однако чувствительность штаммов *Aspergillus niger* к противогрибковым препаратам может быть различна.

Целью нашей работы являлось определение степени чувствительности различных штаммов *Aspergillus niger*, выделенных при отомикозе, к различным местным и системным противогрибковым препаратам.

В работе использовались 8 штаммов, отобранных от больных отомикозами. Исследование проводили на чашках с модифицированной средой Сабуро. Изучена чувствительность к 13 различным противогрибковым препаратам: амфотерицин, пимафуцин, тербинафин, клотримазол, кетоконазол, флуконазол, итраконазол, нистатин, а также местным препаратам: «Залаин» (сертаконазол 2%), «Экзодерил» (нафтифин 1%), «Травоген» (изоконазол), «Микозорал» (кетоназол 2%), «Пимафукорт» (натамицин 2%). Чувствительность штаммов к амфотерицину, пимафуцину, тербинафину, клотримазолу, кетоконазолу, флуконазолу, итраконазолу, нистатину определяли диско-диффузионным методом. Антимикотическую активность залаина, экзодерила, травогена, микозорала, пимафукорта испытывали в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ XII-го издания.

В ходе проведенных исследований было установлено, что клинические штаммы *A. niger* обладают разной степенью чувствительности к противогрибковым препаратам. Все штаммы были чувствительны к действию тербинафина, итраконазола и пимафуцина. В то же время, отмечена устойчивость 4 штаммов к кетоконазолу, 2 штаммов — к клотримазолу. Среди препаратов местного применения все штаммы продемонстрировали чувствительность к пимафукорту. Травоген и экзодерил также были активны в отношении всех штаммов *A. niger*, однако у 2 штаммов в случае травогена и у 5 штаммов в случае экзодерила отмечен промежуточный уровень чувствительности. Микозорал и залаин проявили меньшую активность, причем отмечена устойчивость 4 штаммов к залаину и 5 штаммов к микозоралу.

Таким образом, определение чувствительности клинических штаммов к противогрибковым препаратам позволяет выбрать наиболее эффективную терапию.

**Физиологические особенности клеток *Staphylococcus aureus* при стрессе**

**Белоногова Н.В., Бардина Т.С.**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*Anna.Margulis@ksu.ru*

Активация аутомикрофлоры может происходить вследствие ослабления иммунитета, а также при различных стрессовых воздействиях окружающей среды. Таким образом, важным аспектом в исследовании физиологии *Staphylococcus aureus* является изучение его реакций на различные стрессоры.

В связи с этим целью настоящей работы явилась оценка изменения физиологических и биохимических характеристик *S. aureus* при действии химических и физических стрессоров.

В ходе работы решались следующие задачи: 1. Выявить стресс-индуцированные морфологические изменения *S. aureus* при действии стрессоров различной природы. 2. Оценить изменение ферментативной активности *S. aureus* при стрессе. 3. Оценить возможность индукции сигнальных молекул клетками *S. aureus* при действии стрессоров. В качестве химического стрессора нами был выбран галогенированный фуранон: 5-гидрокси-4-(4-метил-

фенилсульфонил)-3-хлор-2(5H)-фуранон (Фуранон 1), в качестве физического стрессора — тепловой шок (ТШ) 45 °С в течение 15 мин.

Было определено влияние Фуранона 1 в различных концентрациях на стафилококк при ТШ. В варианте Фуранон 1 в концентрации 10 мкг/мл при ТШ 45 °С отмечалось снижение числа КОЕ в 2 раза. В варианте Фуранон 1 в концентрации 1 мкг/мл при ТШ 45 °С на ЖСА на 72 час роста появились мелкие круглые колонии стафилококка без лецитиназной активности, составившие 80 % от всех колоний.

При высеве культуры стафилококка на агаризованные среды, в которые предварительно был внесен фуранон 1 в исследуемых концентрациях, отмечали небольшую стимуляцию роста в вариантах 1 и 20 мкг/мл, изменение ферментативной активности не наблюдали.

При росте стафилококка на жидкой среде, содержащей 5-гидрокси-4-(4-метилфенилсульфонил)-3-хлор-2(5H)-фуранон в концентрациях 1, 10 и 20 мкг/мл, оптическая плотность культуры и общее число клеток на 24 час роста не отличались от контрольного варианта (без вещества). Но в вариантах, содержащих фуранон, наблюдали снижение числа КОЕ примерно в 2 раза по сравнению с контролем. В варианте Фуранон 1 в концентрации 1 мкг/мл 17 % колоний имели отличную морфологию. Это были большие кремовые колонии с неровным краем.

Таким образом, фуранон при совместном действии с ТШ 45 °С снижает лецитиназную активность стафилококка, а также приводит к появлению новых морфотипов колоний и снижает способность к колониеобразованию при инкубировании культуры в жидкой среде в его присутствии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 14.740.11.1040).*

### **Разработка и антимикробные свойства композиционного сорбента из карбонизированной рисовой шелухи и фугата спорогенных бактерий**

***Болекбаева А.Б., Даулетбаева С.К.***

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан  
ayaulym\_87\_87@mail.ru, salta90@mail.ru*

Одной из важных проблем производства пробиотиков является разработка безотходных технологий. Примером является реализация возможности использования культуральной жидкости (КЖ) микроорганизмов, в которой присутствуют продукты их метаболизма и биосинтеза, которые могут оказывать антимикробный эффект. Однако, КЖ требует стабилизации, что может быть достигнуто путем ее иммобилизации на поверхности сорбента. Цель настоящего исследования — разработать новый композиционный материал на основе сорбента — карбонизированной рисовой шелухи (КРШ) и иммобилизованных на нем метаболитов спорогенных бактерий.

Культивирование *Bacillus subtilis* СК-245 проводили в жидкой среде Омелянского во флаконах на шейкер-инкубаторе ES-20 в течение 48 часов. Концентрирование культуральной жидкости осуществляли на сепараторе АСГ-3МБ, «Альфа-Лаваль». КЖ иммобилизовали на поверхности КРШ и подсушивали до остаточного содержания влаги 4-8 %. Антагонистическую активность КЖ и полученного композиционного материала в отношении микроорганизмов-мишеней определяли методом диффузии в агар и совместного культивирования.

Концентрированная культуральная жидкость *B. subtilis* обладает антагонистической активностью по отношению ко всем использованным тест-микроорганизмам с зонами задержки роста к *Enterobacter aerogenes* PM-1 — 19±0,6; *Enterobacter aerogenes* PM-2 — 10,8±0,6; *Echerichia coli* G-3 — 16±0,7; *Echerichia coli* G-4 — 19,04±0,5; *Proteus vulgaris* PM-1 — 20,03±0,4. При этом композиционный материал оказывает выраженное негативное действие на все 5 тест-культур. В то же время и сам сорбент способен связывать до 28-43 % клеток этих микроорганизмов. Поэтому при использовании исследуемого материала происходит эффективное подавление тест-культур. Это означает, что композиционный материал обладает как сорбционной, так и антимикробной активностью против энтеробактерий — возбудителей

пищевых токсикоинфекций. Новый пробиотик на основе сорбента карбонизированной рисовой шелухи и антимикробных метаболитов спорогенных бактерий может быть альтернативой антибиотикам. Высокая антимикробная активность биологического компонента будет препятствовать микробной контаминации и способствовать сохранности лекарственных форм.

Разработан новый композиционный сорбент на основе карбонизированной рисовой шелухи и иммобилизованной на нем инактивированной культуральной жидкости, содержащей антимикробные экзопродукты метаболизма *Bacillus subtilis* СК-245.

### **Характеристика анаммокс-бактерий станции очистки сточных вод в долине реки Мзымта (г. Сочи)**

**Бочкова Е.А.<sup>1</sup>, Литти Ю.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, Россия*

*botchkovaekat@gmail.com*

Одной из актуальных проблем современности является глубокая очистка сточных вод, в том числе от соединений азота. Самым перспективным вариантом решения этой проблемы признана биологическая очистка сточных вод с использованием различных групп микроорганизмов, в частности, анаммокс-бактерий. Эти микроорганизмы осуществляют окисление аммония нитритом в анаэробных условиях. Анаммокс-бактерии имеют своеобразное строение клеток, а также крайне низкую скорость роста. Ни один представитель этой группы ещё не выделен в чистую культуру.

В биопленках иммобилизованного активного ила из станции очистки сточных вод поселка строителей Олимпийских объектов в долине реки Мзымта Сочинского региона показана активность процесса анаммокс и обнаружены анаммокс-бактерии. Длительное культивирование активного ила со станции в лабораторном анаэробном проточном биореакторе с иммобилизацией микробных клеток на ершовом носителе с восходящим потоком среды позволило накопить большое количество биомассы анаммокс-бактерий с типичной для них красновато-бурой окраской. Электронно-микроскопические исследования показали наличие в активном иле скоплений клеток, окруженных плотной оболочкой и имеющих характерную для анаммокс-бактерий клеточную компартментализацию.

Для определения филогенетической принадлежности анаммокс-бактерий была отобрана проба из нижней части биореактора. В ходе молекулярно-генетических исследований были получены сиквенсы 88 клонов *E. coli*, трансформированных рекомбинантной плазмидой. 55 % клонов имели сходные сиквенсы и попадали в одну и ту же компактную однородную группу внутри порядка *Planctomycetales*, с 95%-ным сходством с нуклеотидной последовательностью анаммокс-бактерии *Candidatus 'Jettenia asiatica'* (№ в базе данных NCBI Blast DQ301513.1). Такой уровень сходства с большой вероятностью указывает на принадлежность анаммокс-бактерий из станции очистки сточных вод в долине реки Мзымта к новому виду.

*Авторы выражают благодарность сотрудникам центра «Биоинженерия» РАН, группа молекулярной диагностики, за помощь в выполнении работы.*

### **Оценка адгезивных свойств пробиотических лактобацилл**

**Бруслик Наталия Леонидовна**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань*

*nbruslik@yandex.ru*

Лактобациллы — группа бактерий, часто входящих в состав пробиотических препаратов. Важным свойством пробиотических микроорганизмов является способность к адгезии, благодаря которой снижается интенсивность их элиминации из кишечника и повышается их антагонистическое действие в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий. Целью данного исследования является скрининг адгезивных свойств лактобацилл для отбора штаммов с наибольшим адгезивным потенциалом. Данные микроорганизмы станут основой новых высокоэффективных пробиотических препаратов.

Объектами исследования служили 19 штаммов микроорганизмов, выделенных из кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов. Определение принадлежности выделенных бактерий к роду *Lactobacillus* проводили по ГОСТ 10444.11-89: по отношению к окраске по Граму, подвижности, наличию спорообразования и каталазы. Адгезивные свойства лактобацилл оценивали по степени адгезии клеток на гидрофобных носителях: неполярном углеводороде *n*-гексадекане и монополярном кислом углеводороде хлороформе, а также по величине  $\zeta$ -потенциала (дзета-потенциала) клеточной поверхности.

Для 11 из 19 исследованных штаммов (58 %) была характерна низкая степень адгезии на *n*-гексадекане, для 2 штаммов (10 %) – средняя и для 6 штаммов (32 %) — высокая. Уровень адгезии на хлороформе был высоким для 13 штаммов (68 %), для 4 штаммов (22 %) — средним и у 2 (10 %) — пониженным.  $\zeta$ -потенциал клеточной поверхности у всех штаммов был отрицательным, максимальное значение составило -30 мВ. Среди исследованных штаммов величина  $\zeta$ -потенциала распределилась следующим образом: высокие значения (-30 мВ – -21 мВ) наблюдались у 5 штаммов (26 %), средние (-20 мВ – -11 мВ) — у 2 штаммов (10 %), и низкие значения (-10 мВ – 0 мВ) обнаружены у 12 штаммов (64 %). Поскольку отрицательный  $\zeta$ -потенциал ингибирует адгезию бактериальных клеток, низкие значения  $\zeta$ -потенциала будут соответствовать повышенной способности к адгезии.

Полученные результаты позволили выделить пять штаммов лактобацилл, которые являются наиболее перспективными для использования в пробиотикотерапии по всем исследованным параметрам, то есть обладают высокой степенью адгезии на *n*-гексадекане и хлороформе, но характеризуются низкими значениями  $\zeta$ -потенциала. Для 8 штаммов было характерно сочетание двух показателей, соответствующих наиболее высокой адгезивной способности, при этом третий показатель отвечал или за низкую, или за среднюю способность клеток к адгезии. Полученные данные указывают на то, что неспецифические факторы адгезии, такие как гидрофобность, кислотнo-основные свойства и  $\zeta$ -потенциал клеточной поверхности, различаются в пределах одного вида микроорганизмов, что, вероятно, обусловлено различным соотношением отдельных компонентов в составе их клеточной стенки.

*Автор выражает благодарность научному руководителю, старшему преподавателю кафедры микробиологии ИФМиБ КФУ, к.б.н. Яруллиной Дине Рашидовне и магистранту кафедры микробиологии ИФМиБ КФУ Конновой Светлане Анатольевне за помощь в выполнении измерений на анализаторе Malvern Zetasizer Nano.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».*

## **Фундаментальные и прикладные аспекты исследований колебательной динамики почвенных микробных сообществ**

***Бубнов Иван Александрович***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*i.a.bubnov@mail.ru*

Перспективным направлением в микробной экологии является изучение особенностей процессов, происходящих в природных микробных сообществах (МС) во времени. Независимо от длительности изучаемой динамики отбор образцов проводят, как правило, достаточно редко в виду как объективных (трудоемкость частого отбора), так и субъективных причин. Однако в ряде работ было показано, что краткосрочные изменения численности и активности МС имеют не стохастический, а закономерный характер, и представляют собой колебания. Для изучения характера краткосрочных изменений структуры МС — численного соотношения составляющих МС микробных популяций — нами был проведен микрополевой эксперимент, в ходе которого проводили ежедневный отбор и анализ почвенных образцов в течение 30 дней. Был проведен молекулярно-биологический (ПЦР-ДГГЭ), хроматографический (определение скорости эмиссии CO<sub>2</sub>) и микробиологический (учет численности КОЕ копиотрофных и олиготрофных бактерий) анализы, результаты которых были обработаны с помощью многомерного статистического (факторный анализ главных компонент), гармонического и кросскорреляционного анализов. Результаты продемонстрировали наличие статистически

значимых колебаний численности КОЕ как копиотрофов, так и олиготрофов, с периодом 4,3 дней. Применение факторного анализа данных ДГГЭ позволило получить интегральную характеристику, отражающую структуру почвенного МС и наиболее чувствительную к различиям между образцами. Были показаны закономерные колебания интегральной характеристики во времени, с периодом 4,6 дней. Выявленные колебания визуально хорошо совпадали с колебаниями численности КОЕ копиотрофов во второй половине периода измерений. Показана достоверная кросскорреляция этих рядов данных с лагом, равным нулю. Гармонический анализ выявил схожие достоверные гармоники четвертого порядка ( $P < 0,05$ ). Схожие данные были показаны и для динамики эмиссии  $CO_2$ , также имевшей закономерный колебательный характер с периодом 5 дней. Выявленные закономерности показывают, что краткосрочная сукцессия почвенного МС имеет волнообразный характер и обусловлена не случайным влиянием внешних факторов, а внутренними причинами. Изменение структуры МС происходит схожим образом в пределах каждого пика численности копиотрофных бактерий, а не между пиками. Экстраполяция этих наблюдений на другие исследования позволит проводить косвенную оценку характера колебаний структуры МС. Полученные результаты будут использованы для создания новых методов биоиндикации, биотестирования и экологической оценки здоровья почвенных экосистем.

### **Применение пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки и выведения железа**

**Гальченко Татьяна Андреевна**

*Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия*

*ga-lche-nok@mail.ru*

Ежегодно возрастающий уровень техногенной нагрузки способствует повсеместному накоплению химических поллютантов. Одним из ведущих мест среди большого разнообразия веществ, загрязняющих окружающую среду, занимают тяжелые металлы.

Особенностью тяжелых металлов по сравнению с другими элементами является их тенденция биоаккумуляции, к которой в наибольшей степени способны микроорганизмы. Способность к адсорбции тяжелых металлов известна и для некоторых представителей рода *Bacillus*.

Важным является то, что входящие в состав пробиотических препаратов микроорганизмы рода *Bacillus* являются самоэлиминирующимися антагонистами и способны оказывать антиоксическое действие.

Целью нашей работы являлось изучение эффективности применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки и выведения железа. Для достижения поставленной цели были выдвинуты следующие задачи:

1. Оценить эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации железом на основании изучения показателей крови и органов мишеней;
2. Изучить эффективность применения пробиотических препаратов для биодоставки железа в органы и ткани.

При определении влияния солей тяжелых металлов на динамику роста исследуемых штаммов было установлено, что присутствие ионов железа оказывает стимулирующее действие на рост всех исследуемых микроорганизмов.

В условиях *in vivo* установлено, что применение пробиотиков препятствуют возникновению воспалительного процесса в организме при интоксикации металлами. В результате определения способности бактерий рода *Bacillus*, входящих в состав исследуемых пробиотиков, к накоплению тяжёлых металлов установлено, что наиболее эффективным из исследуемых препаратов при отравлении ионами железа является «Споробактерин», а наименее — «Бактисубтил».

**Сравнительный анализ действия аптечных настоек и экстрактивных веществ, обладающих бактерицидным действием, на жизнеспособность бактерий рода *Staphylococcus***

**Гиголаева Зарина Валиковна**

*Северо-Осетинский Государственный Университет имени К.Л.Хетагурова, Владикавказ, Россия  
Zarina5516@gmail.com*

Стафилококковые заболевания — группа очень различных заболеваний, обусловленная стафилококками. Основные показатели стафилококковой инфекции — гнойные заболевания кожи и подкожной клетчатки, стафилококковый сепсис, синдром токсического шока, пневмонии, ангины, энтероколит, отравление стафилококковым энтеротоксином и расстройство центральной нервной системы. Стафилококки представляют собой грамположительные неподвижные аэробные или факультативные анаэробные кокки, принадлежащие к семейству микрококков.

Для успешного лечения стафилококковой инфекции используются различного рода бактерицидные препараты. Важное значение приобретают вопросы профилактики заражения различного рода стафилококками, т.к. известно, что данная инфекция особенно активизируется при сниженном статусе иммунной системы.

В настоящей работе была поставлена задача анализа бактерицидной активности трав, произрастающих на территории Северного Кавказа, на разной высоте с разным уровнем УФ-облучения и климато-географических условий. Все собранные травы (зверобой, душица, шалфей, тысячелистник) характеризуются в разной степени выраженными бактерицидными свойствами. В работе использована чистая культура *Staphylococcus* в различных разведениях и посевах с различных областей лица, рук.

Проведены анализы устойчивости стафилококков к действию спиртовых растворов и масел зверобоя, душицы, шалфея и тысячелистника. Выявлены особенности бактерицидной активности используемых трав в зависимости от места их произрастания. Обнаружена зависимость степени функциональной активности трав от дозы ультрафиолетового облучения растений в природных условиях. Показана роль загрязнений окружающей среды как фактора, снижающего антибактериальную активность лекарственных трав. Предполагается провести сравнительный анализ действия аптечных настоек и экстрактивных веществ данных растений.

**Сравнение антифунгального эффекта секрета слюнных клеток медицинской пиявки и его компонента — рекомбинантного фермента «дестабилазы-лизоцима»**

**Го Даньян, Павлова И.Б.**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
guody@mail.ru*

Секрет слюнных клеток (ССК) медицинской пиявки — основной активный гуморальный агент, обеспечивающий высокую эффективность гирудотерапии (лечения с помощью медицинских пиявок). Этот секрет содержит более сотни белков, а также более 150 низкомолекулярных соединений. Одним из важнейших компонентов ССК является дестабилаза-лизоцим (Д-Л) — полифункциональный белок, проявляющий гликозидазную, мурамидазную, эндо-изопептидазную, а также неферментативную антимикробную активности. Доказано, что рекомбинантный Д-Л (рД-Л) так же полифункционален, как и природный белок. Он является перспективным потенциальным тромболитическим и антимикробным лекарственным препаратом, способным медленно разрушать преобразованные тромбы. Настоящая работа посвящена сравнительному изучению антифунгального действия нативных ССК и рД-Л, а также их действия после одночасового прогревания при 90 °С.

Установлено, что ССК и рД-Л оказывают антибиотическое действие на клетки грибов как в мицелиальной, так в дрожжевой форме (представители р. *Botrytis*, а также р.р. *Candida*, *Saccharomyces*, соответственно). Определены МИКи этого действия, а также жизнеспособность грибных клеток, которая существенно уменьшалась при инкубации с рД-Л, и в большей степени — при инкубации с ССК. Прогревание ССК при 90 °С лишает его способности подавлять рост тестируемых грибов, в отличие от рД-Л, антифунгальный эффект которого

после прогревания возрастает. Полифункциональный белок рД-Л способен проявлять своё антимикробное действие благодаря ферментативным активностям, а также амфипатическим свойствам его молекулы.

Исследование картины лизиса клеток грибов под влиянием рД-Л и ССК с помощью сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии позволило заключить, что имеет место нарушение проницаемости мембран грибов, а также разрушение их клеточных стенок. Обращает на себя внимание образование кольцевых мембранных структур, что указывает на возможность гибели клеток по программе апоптоза. Как показано для одного из представителей семейства лизоцимов, эти белки способны к образованию амилоидных структур. Картина лизиса грибов под влиянием рД-Л указывает на возможность гибели клеток по механизмам апоптоза/некроза в зависимости от структурированности этого белка.

### **Практическое значение микробиологического мониторинга у пациентов детского стационара онкогематологического профиля**

*Грудина Мария Сергеевна*

*Челябинская государственная медицинская академия, Челябинск, Россия*

*tyara9090@mail.ru*

Таксономическая структура возбудителей инфекционных осложнений и их чувствительность к антибиотикам в любом стационаре со временем изменяются, что обуславливает настоятельную необходимость постоянного микробиологического мониторинга. Анализ результатов бактериологического исследования позволяет разработать алгоритмы рациональной антибактериальной терапии.

Целью работы являлся анализ результатов микробиологического мониторинга за 2010 год у пациентов детского онкогематологического Центра (ДОГЦ) областной детской клинической больницы г. Челябинска (ЧОДКБ).

Для изучения микробного пейзажа и чувствительности к антибактериальным препаратам микрофлоры, выделенной на фоне инфекций у пациентов ДОГЦ ЧОДКБ, ретроспективно проведен анализ результатов микробиологического мониторинга за 2010 год. Проанализировано 57 идентифицированных культур микроорганизмов, выделенных от 48 детей со злокачественными новообразованиями и болезнями крови, находившихся на лечении в ДОГЦ ЧОДКБ в 2010 году. Забор исследуемого материала производили с входных ворот инфекции. Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом. В качестве материалов исследования использовали журнал учета исследований бактериологической лаборатории ЧОДКБ за 2010 год, годовой отчет по ДОГЦ ЧОДКБ за 2010 год. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли стандартными методами. О достоверности различий качественных показателей сравниваемых групп судили по точному критерию Фишера и  $\chi^2$  с поправкой Йетса.

Всего было выделено и идентифицировано 57 культур микроорганизмов. Такое большое количество возбудителей у 48 пациентов объясняется частым сочетанием инфекционных агентов в результате смешанных (микстинфекций) или развитием вторичных (суперинфекций) инфекций. Сочетание патогенов различной этиологии в виде сочетания 3 и более инфекционных агентов наблюдали у 1 пациента (2 %), 2 — у 8 (17 %), моноинфекцию — у 39 (81 %). Все возбудители инфекций — условно-патогенные микроорганизмы. Наиболее часто микроорганизмы выделяли со слизистой рта при мукозитах (91,7 %). Бактерии регистрируются достоверно чаще, чем дрожжеподобные грибы и составляют 55 случаев (96 % от всех идентифицированных микроорганизмов). Среди бактерий Г+ кокки встречаются значительно чаще и составляют 51 случай (93 % от всех бактерий). Из Г+ кокков на первом месте по частоте встречаемости стрептококки — 41 случай (80 % от Г+ кокков), в подавляющем большинстве *Streptococcus viridians* — 38 случаев (92,7 % от стрептококков); стафилококки и энтерококки не превышают 10 %. Анализ чувствительности к антибактериальным препаратам показал, что возбудители инфекционных осложнений химиотерапии у детей в 27,3 % случаев резистентны к различным по механизмам действия и химической структуре антибиотикам: ингибирующим синтез пептидогликана (оксациллину), нарушающим синтез белка (гента-

мицину, эритромицину, линкомицину, левомицетину), подавляющим синтез нуклеиновых кислот (ципрофлоксацину).

Таким образом, у детей со злокачественными новообразованиями и болезнями крови наиболее частой причиной инфекций становятся условно-патогенные микроорганизмы, с преобладанием бактериальной Г+ кокковой флоры, устойчивой к β-лактамам, аминогликозидам, фторхинолонам, макролидам, линкозамидам.

### **Потенциальные тромболитические препараты на основе сериновых протеиназ**

*Данилова Юлия Васильевна*

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*Danilova146@mail.ru*

Современная профилактика и лечение тромбозов включают применение тромболитических средств, антикоагулянтов прямого и непрямого действия и препаратов, изменяющих микроциркуляцию и агрегацию форменных элементов крови. Актуальными являются исследования фибринолитических свойств ферментов, в том числе микробного происхождения.

Представляло интерес изучить фибринолитические, тромболитические и антикоагулянтные свойства глутамилэндопептидазы и субтилизиноподобной протеиназы *Bacillus pumilus*. Была исследована способность протеиназ *B. pumilus* лизировать прогретые и непрогретые фибриновые пластинки. Обнаружение зоны лизиса на прогретых чашках означает, что исследуемые белки обладают способностью прямо расщеплять фибриноген. Показано, что после внесения раствора, содержащего белок, небольшие зоны лизиса появились через 15 мин инкубации при 37°. Через 30 мин площадь зоны лизиса фибрина значительно увеличилась. Известно, что способность фермента лизировать фибриноген не всегда адекватно отражает его способность лизировать тромб, образованный из плазмы крови, поскольку в ней могут содержаться ингибиторы протеиназ. Мы исследовали способность сериновых протеиназ *B. pumilus* лизировать предобразованный тромб и препятствовать его формированию. Показано, что в высокой концентрации (0,4 мг/мл) исследуемые протеиназы эффективно лизировали кровяной сгусток. Ферменты в концентрациях от 0,1 до 0,4 мг/мл оказывали выраженное антикоагулянтное действие: в течение 24 ч инкубации не наблюдалось образование тромба, тогда как в контрольном варианте он образовывался за 3-5 мин.

Таким образом, сериновые протеиназы *B. pumilus* обладают высокой фибринолитической активностью, а также тромболитическими и антикоагулянтными свойствами. Полученные результаты позволяют сделать предположение, что субтилизиноподобная протеиназа и глутамилэндопептидаза *B. pumilus* являются перспективными для разработки тромболитических препаратов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.*

### **Характеристика физиолого-биохимических свойств термотолерантных микроорганизмов-нефтедеструкторов, выделенных из географически удаленных биотопов**

*Делеган Янина Адальбертовна<sup>1,2</sup>, Ветрова Анна Андрияновна<sup>2</sup>, Иванова Анастасия Алексеевна<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Пуцинский Государственный естественно-научный институт, Пушино, Россия*

<sup>2</sup> *Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Пушино, Россия*

*mewgia@ya.ru*

Нефть и нефтепродукты являются одними из самых распространенных загрязнителей окружающей среды в современном мире. Значительная доля месторождений нефти находится в регионах с жарким климатом, где естественная биоремедиация территорий осложнена в связи с неблагоприятными условиями для развития аборигенной микрофлоры. Внесение микроорганизмов-деструкторов в составе биопрепаратов способно повысить темпы ремедиации. В связи с этим целью работы являлся отбор и характеристика физиолого-

биохимических свойств термотолерантных микроорганизмов-деструкторов нефти и нефтепродуктов, выделенных из географически удаленных территорий.

В результате выделения микроорганизмов из образцов почв и воды, отобранных в различных регионах России и стран СНГ, было получено 75 чистых культур, причем 11 штаммов эффективно осуществляли деструкцию нефти при повышенной температуре (45 °С). В ходе ARDRA-анализа выявлено, что 11 отобранных термотолерантных штаммов являются представителями шести различных родов. При оценке способности микроорганизмов утилизировать различные углеводороды нефти при повышенной температуре (45 °С) было выявлено, что наилучший рост бактерий наблюдался в среде с добавлением алканов (октан, нонан, декан, гексадекан) в качестве единственного источника углерода и энергии. Отмечена устойчивость исследуемых штаммов к различным антибиотикам. На примере одного из термотолерантных штаммов была изучена кинетика роста в жидкой минеральной среде Эванса с нафталином в условиях периодического культивирования в течение 100 часов. Выявлено, что термотолерантный штамм 12В имеет двухфазную кривую роста, возможно, за счет потребления промежуточных метаболитов.

Таким образом, в ходе работы выделены и частично охарактеризованы термотолерантные микроорганизмы-деструкторы нефти, перспективные для создания микробных биопрепаратов для очистки окружающей среды в условиях жаркого климата.

*Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-31390 мол\_а.*

### **Характеристика посевного материала *Penicillium adametzii***

**для производства препарата Глюкозооксидаза, используемого в биоэлектронике**

**Демешко Ольга Дмитриевна<sup>1</sup>, Заславская Елена Семеновна<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup> *Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь*

*demeshkoo@mail.ru, lenkazasloveskya@gmail.com*

Глюкозооксидаза (ГО) (КФ 1.1.3.4.) катализирует реакцию окисления β-D-глюкозы до D-глюконо-1,5-лактона и пероксида водорода. Перспективным применением фермента является разработка на его основе био-, наносенсоров и биотопливных элементов. Ранее в лаборатории ферментов отобран высокоактивный продуцент ГО — *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1 (далее *P. adametzii*), в настоящее время совершенствуется технология получения препарата ГО, используемого в производстве отечественных биосенсоров «Глюкосен» для экспресс-определения содержания глюкозы в крови больных диабетом.

Цель исследования – характеристика разрабатываемого посевного материала *P. adametzii* для производства ГО.

При создании технологий производства ферментных препаратов важным этапом является разработка методов получения высококачественного посевного материала и его хранения. В производстве в качестве посевного материала часто используют спорую суспензию культуры продуцента, выращенного на сыпучих субстратах. Для *P. adametzii* лучшим для роста и споруляции является пшено. Проведен анализ посевного материала по выживаемости гриба, его фенотипической изменчивости и возможности использования в технологии получения ферментного препарата. Установлено, что выживаемость спор гриба (возраст посевного материала: 2 недели – 6 мес.) составила 90 %. В популяции *P. adametzii* выявлено 3 типа колоний. Доминирующим (95 %) типом являются круглые, выпуклые, пушистые, белые колонии с зеленой центральной зоной, их средняя скорость роста — 4 мм/сутки. Второй (3 %) и третий (2 %) тип колоний незначительно отличаются по морфологии, характеризуются слабой споруляцией и пониженной (в 2,5–3 раза) скоростью роста. Использование данного посевного материала ( $4,3 \times 10^4$  спор/мл ферментационной среды) обеспечило проведение ферментации *P. adametzii* за 72 часа с высоким выходом целевого продукта. Уровень образования фермента составил 6,5 ед/мл (1 единица = 1 ммоль/мин), продуцирующая способность мицелия гриба — 0,59 ед/мг.

Полученные данные позволяют рекомендовать к использованию разработанный высокоактивный посевной материал в промышленной технологии производства препарата Глюкозооксидаза *P. adametzii*.

## **Бактериальные комплексы плодовых тел базидиомицетов на разных стадиях разложения**

**Загрядская Юлия Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*1989july@mail.ru*

При изучении процессов разложения плодовых тел базидиомицетов в лесном биогеоценозе значительную роль отводят беспозвоночным животным-биодеструкторам (моллюски, клещи, пауки, насекомые, нематоды и ракообразные). Об участии бактерий в процессах разложения плодовых тел базидиомицетов на сегодняшний день практически ничего не известно. Цель нашей работы — характеристика бактериальных комплексов плодовых тел двух видов базидиомицетов (*Armillaria mellea* и *Coprinus comatus*) на разных стадиях разложения в природных условиях.

Показатели общей численности бактерий, определенные с помощью прямого микроскопического метода, в образцах плодовых тел (ПТ) базидиомицетов на разных стадиях разложения (СР) были различны, при этом для поздних СР они составляли для *A. mellea* и *C. comatus* 2,44 и 2,6 млрд. клеток в 1 г (соответственно), что на порядок больше, чем для ранних СР (0,2 и 0,05 млрд. клеток в 1 г соответственно). Это косвенно свидетельствует об активном участии бактерий в процессах разложения плодовых тел исследованных макромицетов.

Показатели численности сапротрофного бактериального комплекса (метод посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду) в тканях ПТ обоих видов базидиомицетов на разных СР были различны и достигали 887,6 млн. КОЕ/г на поздних стадиях, что значительно выше, чем на ранних, в 40–1000 раз для *C. comatus* и *A. mellea* соответственно.

Таксономическая структура сапротрофного бактериального комплекса (СБК) плодовых тел значительно различалась в зависимости от стадии разложения, при этом всегда доминировали грамотрицательные бактерии, доля которых составляла от 71,2 до 100 %. Различия в структуре СБК обоих видов базидиомицетов выявлялись на поздних СР. Так, в ПТ *A. mellea* доминировали бактерии родов *Aeromonas*, *Vibrio* и *Pseudomonas*, а в ПТ *C. comatus* *Pseudomonas*. Обнаружение значительной доли бактерий родов *Aeromonas* и *Vibrio* в ПТ *A. mellea* на поздних СР тесно связано с присутствием личинок мицетофилид, в кишечнике которых они и обнаруживаются.

Полученные данные свидетельствуют об определенной специфике бактериальных сообществ, формирующихся в процессе разложения базидиомицетов, обусловленной как стадией разложения плодового тела, видовой принадлежностью базидиомицета, так и участием в процессе разложения личинок мицетофилид.

## **Усовершенствование состава питательной среды для культивирования гриба *Trichophyton verrucosum***

**Зайцева Виктория Владимировна**

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*vika-vitebsk@rambler.ru*

В комплексе мер борьбы с трихофитией важное место отводится вакцинопрофилактике. С этой целью широко используются живые сухие вакцины против трихофитии крупного рогатого скота. Однако технология их изготовления трудоемка и имеет ряд существенных недостатков.

Для проведения работы использована суточная культура *Trichophyton verrucosum* 130, выращенная на сусло-агаре. Выращивание культур проводили в течение 15 суток при температуре 28 °С. Из полученной после размола концентрированной грибной массы отбирали пробу для определения концентрации микроконидий и количества жизнеспособных микроконидий. В работе было изучено по 5 партий гексозного и пентозного компонентов.

Для оценки влияния препаратов Пулсал, Бионорм Б или Бионорм В в состав питательных сред их добавляли в концентрации 1 %, 3 %, 5 % и 8 %.

В ходе проведенных исследований изучили химический и биохимический состав гексозного и пентозного компонентов и установили, что среды, содержащие 4 и 8 % гексозного компонента, обеспечивали интенсивный рост гриба. Вместе с тем, оптимальная концентрация гексозного компонента в среде составляет 4 %, так как индекс спорообразования при этом составляет 244,0–251,7 % относительно сусло-агара. При содержании в среде 8 % пентозного компонента наблюдается наибольшая продуктивность по спорообразованию. При этом среды из сусла и пентозного компонента равноценны.

Также установлено, что заметный рост гриба на сусло-агаре появлялся на 5 сутки, а на средах, содержащих препараты ПулСал, Бионорм Б или Бионорм В — на 3 сутки инкубации. Для наиболее интенсивного спорообразования дерматофитов в сусло-агар целесообразно вносить до 5 % препаратов, так как индекс спорообразования составляет 226–250 %. Внесение этих препаратов в питательную среду до 8 % ингибирует спорообразование, а снижение их концентраций до 1–3 % приводит к существенному снижению индекса спорообразования.

По результатам проведенной работы предложена рецептура питательной среды на основе гексоз и пентоз, которая позволяет повысить выход микроконидий дерматофита. При этом предложенная питательная основа наиболее доступна и эффективна по сравнению с ранее известными. Оценка физико-химических и биологических свойств препаратов ПулСал, Бионорм Б и Бионорм В позволила выдать рекомендации по включению их в состав сусло-агара.

**Коррекция экспериментального антибиотико-ассоциированного дисбактериоза  
у конвенциональных белых мышей нативными культурами  
гомопробиотических лактобактерий и бифидобактерий**

**Замахеев Михаил Владимирович**

*Вятский государственный университет, Киров, Россия*

*cryptochid@mail.ru*

Среди средств коррекции нарушений микрофлоры кишечника в течение многих лет пробиотики занимают особое место в связи с рядом регистрируемых эффектов, однако клинические испытания многих пробиотических препаратов дали противоречивые оценки их эффективности. Одной из главных причин недостаточной эффективности пробиотиков является чужеродность для человека и животных входящих в их состав микроорганизмов, которые часто не способны к длительному существованию в кишечнике больного. Для приживания в данном биотопе предлагается использовать гомопробиотические микроорганизмы, относящиеся к фенотипической группе, доминирующей в кишечнике людей и животных.

Цель исследования — оценка эффективности различных компонентов нативных культур гомопробиотических лактобактерий и бифидобактерий в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у конвенциональных белых мышей с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом, получаемым в стандартных условиях путем перорального введения гентамицина.

Из кишечного содержимого белых мышей линии BALB/c выделены чистые культуры гомопробиотических лактобактерий и бифидобактерий. На основании комплексного изучения свойств выделенные бактерии идентифицированы как *Lactobacillus plantarum* и *Bifidobacterium bifidum*. Микроорганизмы выращивали в жидкой питательной среде на основе ферментативного гидролизата мяса с дополнительными добавками в микроаэрофильных условиях.

Нативные культуры гомопробиотических лактобактерий и бифидобактерий с концентрацией  $2,6 \times 10^9$  КОЕ·мл<sup>-1</sup> и  $8,1 \times 10^8$  КОЕ·мл<sup>-1</sup> соответственно и их компоненты (надосадочную жидкость, нативные микробные клетки, инактивированные микробные клетки) вводили перорально конвенциональным белым мышам с антибиотико-ассоциированным дисбактериозом и оценивали динамику общего содержания микроорганизмов и отдельных представителей кишечной микрофлоры в 1 г фекалий. Наиболее существенное положительное влияние на восстановление кишечной микрофлоры экспериментальных животных оказывает надосадочная жидкость, содержащая микробные экзометаболиты, освобожденная центрифугированием

нативных культур от клеток лактобактерий и бифидобактерий. Скорость восстановления общего содержания микрофлоры в кишечнике животных под воздействием перорального введения надосадочной жидкости относительно контроля возрастает до 6500 раз. Аналогичный стимулирующий эффект надосадочной жидкости установлен в отношении восстановления численности лактобактерий, бифидобактерий и эшерихий собственной кишечной микрофлоры животных. В меньшей степени стимулирующий эффект на восстановление микрофлоры кишечника выявлен у нативных культур и нативных клеток лактобактерий и бифидобактерий (соответственно на два и один порядок в сравнении с дисбиотическим состоянием на фоне введения гентамицина).

#### **Антимутагенное действие штамма *Lactobacillus acidophilus* n.v.Ер. 317/402 в тесте Эймса**

**Кириллова Мария Александровна**

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*mashakirillova1991@mail.ru*

В настоящее время наблюдается увеличение числа острых и хронических заболеваний у большинства населения, обусловленных нарушением микроэкологии кишечника. К числу серьезных заболеваний относится колоректальный рак. В связи с этим особую актуальность представляет исследование антигенотоксических свойств лактобактерий, используемых для создания пробиотических препаратов.

Целью данной работы явилась оценка антимутагенных свойств штамма *Lactobacillus acidophilus* n.v.Ер. 317/402, используемого для приготовления кисломолочного продукта «Наринэ», в тесте Эймса. А именно были исследованы: культура штамма из экспоненциальной фазы роста в среде MRS, супернатант культуральной жидкости и суспензия клеток в изотоническом растворе. Антимутагенную активность оценивали в тесте Эймса на тестерном штамме *Salmonella typhimurium* TA100 (*his G46, rfa, pKm 101, ΔuvrBbio-*). В качестве положительного контроля использовали азид натрия (4 мкг/чашку). Для оценки антимутагенных свойств лактобацилл «Наринэ» мы проводили тест Эймса в двух модификациях, которые позволили определить десмутагенный и биоантимутагенный эффект.

Анализ полученных нами результатов показывает, что штамм *L. acidophilus* n.v.Ер. 317/402 в экспоненциальной фазе роста проявляет сильный десмутагенный эффект в отношении азид натрия. Наивысший антимутагенный эффект установлен для культуры *L. acidophilus* n.v.Ер. 317/402, выращенной в среде MRS, и супернатанта культуральной жидкости. Нам не удалось обнаружить значимый биоантимутагенный эффект *L. acidophilus* n.v.Ер. 317/402 в специальной модификации теста Эймса. Полученные результаты позволяют нам предположить, что обнаруженный антимутагенный эффект прежде всего обусловлен метаболитами лактобактерий, выделяющимися в культуральную жидкость, которые непосредственно связываются с азидом натрия и инактивируют его.

#### **Изучение условий биосинтеза липаз грибом *Geotrichum* sp.**

**Клюева Мария Владимировна**

*Национальный Университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан*

*mary.klyueva@gmail.com*

Липазы микроорганизмов обычно относят к индуцибельным ферментам, так как их биосинтез возрастает при внесении в состав питательной среды в качестве источников углерода и энергии различных масел или продуктов их гидролиза.

Известно, что внесение в состав питательной среды легко метаболизируемых источников углерода подавляет биосинтез ряда гидролитических ферментов, в том числе и липаз. Биосинтез таких ферментов является конститутивным, зависит от скорости роста продуцента и контролируется катаболитной репрессией.

Целью настоящих исследований было изучение условий биосинтеза липаз грибом *Geotrichum* sp.

Гриб *Geotrichum* sp. выделен из испорченной сметаны, хорошо растёт при 30–32 °С и в специально подобранных средах активно синтезирует липазы, секретируемые в питательную

среду. Липазную активность определяли потенциометрически по методу Ota и Yamada (1966). Субстратом служила эмульсия оливкового масла в 40%-ном водном растворе поливинилового спирта.

Было изучено влияние различных источников углерода в составе питательной среды на образование липаз (тест-липазная активность отмытой бимассы) и их секреции (тест-липазная активность центрифугата или продуцента), что показало, что такие соединения как лактат, цитрат, сукцинат натрия, а также углеводы и многие другие углерод-содержащие соединения, не являющиеся продуктами гидролиза природных липидов и жиров, дают положительные результаты по способности вызывать биосинтез липаз.

Для уточнения характера биосинтеза липаз проводились специальные эксперименты: культуру гриба *Geotrichum* sp. 12 часов выращивали на среде, содержащей 1 % хлопкового масла, после чего в колбы добавляли 2%-ный водный раствор глюкозы, а к контрольным вариантам — соответствующее количество дистиллированной воды. Выращивание культуры продолжали ещё 24 часа, периодически отбирая пробы, для определения липазной активности (вне- и внутриклеточной) и степени утилизации глюкозы в среде. Установлено, что глюкоза, добавленная к 12-часовой культуре, полностью подавляла образование липазы, синтез которой восстанавливался только после полной утилизации этого компонента. Изучение влияния различных концентраций глюкозы (до 2 %) не показало снижения активности липазы.

Таким образом, влияние глюкозы при добавлении её к культуре в логарифмической фазе, по-видимому, осуществляется именно на уровне синтеза липазы.

Репрессирующее действие глюкозы зависит от её концентрации в питательной среде. Репрессия не специфична и вызывается и другими легкометаболизирующимися источниками углерода. Специальными опытами было установлено, что цАМФ не оказывает дерепрессирующего действия глюкозы на биосинтез липазы грибом *Geotrichum* sp. При этом следует учесть, что гриб *Geotrichum* sp. синтезирует две молекулярные формы липаз, природа возникновения которых пока ещё не выяснена.

### **Устойчивость бактерий *Lactococcus lactis* к кислотному стрессу**

**Козел Данута Тофильевна**

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*danochka1991@yandex.ru*

На модели коллекционного штамма *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132, являющегося типовым представителем вида *Lactococcus lactis*, проанализирована устойчивость данных бактерий к высокой кислотности среды (кислотному стрессу). Изучение динамики роста *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132 показало, что исследуемый штамм хорошо рос как в среде с оптимальной кислотностью (рН 6,8), так и в среде с повышенной кислотностью (рН 5,0). Через 24 ч культивирования лактококка при оптимальном значении рН показатель накопления биомассы (ОП<sub>590</sub>) достигал 1,3, титр клеток —  $3,0 \times 10^7$  КОЕ/мл, при выращивании в среде с высокой кислотностью аналогичные показатели составляли ОП<sub>590</sub> 1,2 и  $5,8 \times 10^6$  КОЕ/мл соответственно. Полученные результаты свидетельствуют об устойчивости анализируемого штамма к высокой кислотности питательной среды. Однако, при культивировании *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132 в среде с рН 5,0 отмечалось увеличение продолжительности лаг-фазы (с 1 ч до 3 ч) и более раннее наступление стадии отмирания (с 18 до 15 ч), что может быть связано с адаптацией микроорганизма к неблагоприятным условиям роста.

Исследование жизнеспособности *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132 в условиях экстремально высокой кислотности среды (рН 2,0, 180 мин) показало, что выживаемость лактококка, выращенного при оптимальном значении рН, составляет 34 %. Аналогичный показатель для культуры, выращенной при рН 5,0, был значительно выше — 60 %. Полученные результаты свидетельствуют, что адаптация *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132 к высокой кислотности среды культивирования повышает его устойчивость к экстремально низким значениям рН. Это согласуется с данными литературы, описанными для лактококков.

Полученные результаты могут быть использованы для повышения кислотоустойчивости заквасочных культур лактококков с целью увеличения продолжительности хранения и эффективности продуктов питания на основе данных микроорганизмов.

### **Кристаллообразование в культурах ризобактерии *Azospirillum brasilense***

**Кушнерук Марина Алексеевна, Славкина Елизавета Александровна**

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия*

*marina.kushneruk@mail.ru*

Бактерии *A. brasilense* являются симбионтами высших растений и обладают рядом положительных эффектов: стимулируют рост растения-хозяина, повышают его устойчивость к неблагоприятным факторам среды, защищают от фитопатогенов. Азоспириллы колонизируют корневую систему или семена растения в зависимости от фазы жизненного цикла обоих партнеров, которые в природных условиях совпадают. Особенности перехода этих бактерий от активного размножения к покою остаются пока не изученными, так же как и вопрос о реактивации их роста после покоя или стресса. В рамках данной работы мы описали кристаллообразование в культурах *Azospirillum brasilense* Sp245, имеющих разную глубину покоя.

Нами были получены стрессированные культуры *A. brasilense* Sp245: в одном случае стресс был вызван длительным (5,5 лет) хранением бактерий на малатно-синтетической среде; в другом — комплексом стрессовых факторов (отсутствие питательных веществ, наличие в среде гексилрезорцина, ионов меди и др.). При работе с данными культурами мы обнаружили в них идентичные кристаллы игольчатой формы. Кристаллическая природа этих образований была подтверждена методом интерференционно-поляризационной микроскопии; размер варьировал в значительных пределах и достигал 50 мкм, ширина — 1,5 мкм.

Химический состав обнаруженных кристаллов не изучался, однако можно с уверенностью говорить о том, что они отличны от струвита, образование которого описано ранее в нашей лаборатории для того же штамма. Струвит ( $MgNH_4PO_4 \times 6 H_2O$ ) образуется в жидких вегетативных культурах *A. brasilense* Sp245, подвергающихся интенсивной аэрации, и имеет такую же форму, как и струвит, обнаруживаемый в составе уролитов при инфицировании мочеполовой системы человека бактериями *Proteus mirabilis*. У азоспириллы он содержит в виде изоморфных примесей ряд ионов ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+/3+}$ ,  $Cl^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ). В нашем случае одна из культур персистировала на физрастворе с несколькими добавками; в числе ионов среда содержала только  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ . Таким образом, отсутствовала часть компонентов, необходимых для образования струвита.

Требует дальнейшего исследования вопрос о том, является ли образование игольчатых кристаллов явлением, типичным для покоящихся культур бактерий рода *Azospirillum*.

### **Новый штамм бактерий рода *Pseudomonas*,**

**обладающий комплексом полезных для растений свойств**

**Леонтьева Татьяна Николаевна**

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*biolab316@yandex.ru*

На сегодняшний день в литературе представлено большое количество работ, посвященных ростстимулирующим ризобактериям (PGPR) — универсальным симбионтам высших растений. Их способность повышать адаптивный потенциал растения-хозяина обусловлена рядом механизмов — обогащение почвы соединениями азота, мобилизация труднодоступных питательных веществ почвы, защита корней растений от фитопатогенов, синтез фитогормонов. Очевидно, что использование таких микроорганизмов в агробиотехнологии позволяет обеспечить эффективный биоконтроль патогенов и минимизировать использование в растениеводстве химических фунгицидов.

Выделен новый штамм микроорганизма, который по совокупности идентификационных методов (культурально-морфологические и физиолого-биохимические методы, анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК, МАЛДИ-масс-спектрометрия клеточных

белков) был отнесен к роду *Pseudomonas*. Проводятся исследования по уточнению видовой принадлежности штамма.

Показано, что штамм проявляет высокую антагонистическую активность в отношении широкого спектра фитопатогенных грибов, в частности, возбудителей корневых гнилей злаковых культур. При изучении азотфиксирующей активности штамма методом, основанным на восстановлении ацетилена, установлено, что исследуемый штамм обладает способностью к фиксации атмосферного азота (нитрогеназная активность на уровне 0,65 мкг N<sub>2</sub>/мл/ч). Отмечено, что инокуляция семян зерновых и овощных культур выделенным штаммом способствует стимуляции роста растений, что может быть связано со способностью штамма синтезировать цитокининоподобные вещества. В ходе проведенных исследований установлено также, что препарат, полученный на основе исследуемого штамма, повышает устойчивость растений к абиотическим стрессовым факторам. Так, обработка проростков пшеницы культуральной жидкостью штамма стимулирует рост растений в условиях засоления, а также позволяет быстрее преодолеть последствия данного негативного фактора при его устранении.

Таким образом, выделен новый штамм бактерий рода *Pseudomonas*, который может быть использован в качестве основы биопрепарата полифункционального действия для сельскохозяйственных нужд.

### **Изучение способности к биопленкообразованию у бактерий *Escherichia coli* при комбинированном действии теплового шока и антибиотиков**

*Лепехина Елена Владимировна*

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия*

*alenshick@mail.ru*

Способность бактерий к образованию биопленок является одной из важнейших стратегий выживания при неблагоприятных условиях. Формирование биопленок на поверхности различных изделий, имеющих медицинское значение, а также в процессе хронических и острых инфекций снижает чувствительность бактерий к антимикробным препаратам, осложняя процессы дезинфекции и терапии. Комбинированное действие повышенной температуры и антибиотиков на процесс образования биопленок относится к числу малоизученных проблем и представляет большой научный и практический интерес.

В настоящей работе изучалась способность бактерий *Escherichia coli* BW25133 (wt), находящихся в экспоненциальной фазе аэробного роста, к формированию биопленок при комбинированном действии повышенных температур в диапазоне 37 °С–46 °С и сублетальных концентраций антибиотиков (ципрофлоксацина, ампициллина и стрептомицина), имеющих различные мишени в бактериальной клетке.

*E. coli* принадлежит к числу мезофильных бактерий с оптимумом температуры 37 °С. Изменение температуры от 37 °С до 42 °С (мягкий тепловой шок) не влияло на способность к биопленкообразованию. При 44 °С величина удельного биопленкообразования возрастала в 1,7 раза, а при 46 °С — снижалась в 1,7 раза по сравнению с 37 °С. Присутствие ципрофлоксацина не приводило к изменению удельного биопленкообразования при 37 °С. В этих условиях стрептомицин незначительно стимулировал формирование биопленок, в то время как ампициллин практически полностью подавлял этот процесс. Комбинированное действие мягкого теплового шока и антибиотиков ципрофлоксацина и стрептомицина не влияло на способность к биопленкообразованию. Ампициллин стимулировал биопленкообразование при мягком тепловом шоке и не оказывал влияния при 46 °С. В условиях сильного теплового шока (при изменении температуры культивирования от 37 °С до 46 °С) присутствие ципрофлоксацина повышало, а стрептомицина снижало величину удельного биопленкообразования в 2,5 и 5 раз, соответственно.

Различный характер действия изученных антибиотиков на процесс формирования биопленок при оптимальной ростовой температуре, а также различная степень модифицирующего эффекта повышенных температур в присутствии антибиотиков могут быть связаны со спецификой влияния антибиотиков на метаболизм бактерий. В то время как ципрофлоксацин и стрептомицин влияют на синтез ДНК и белка, соответственно, ампициллин

ингибирует синтез компонентов клеточной стенки, которые необходимы для созревания биопленки.

*Исследования поддержаны грантом Программы МКБ Президиума РАН №12-П-4-1013, грантом Президента РФ МК-1763.2012.4, а также ГК по соглашению №8114 с Министерством образования и науки Российской Федерации.*

### **Влияние ионов Fe<sup>2+</sup> на бактерицидное действие антибиотиков**

*Люшина Галина Андреевна*

*Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия*

*lindick@ya.ru*

Масштабное использование антибактериальных средств привело к появлению устойчивых штаммов микроорганизмов. Это вызвало снижение эффективности лечения бактериальных инфекций антибиотиками. Актуальным является поиск не только новых антибиотиков, но и приемов, усиливающих действие применяемых препаратов. Накапливаются данные о том, что бактерицидное действие ряда антибиотиков связано не только с их специфическим действием, но и неспецифически, через индукцию окислительного стресса. Известно, что ионы Fe<sup>2+</sup> могут катализировать образование активных форм кислорода. Это указывает на возможность усиления бактерицидного эффекта антибиотиков в присутствии Fe<sup>2+</sup>.

В данной работе было изучено влияние ионов железа на рост бактерий *E. coli* при действии двух антибиотиков – ципрофлоксацина (ЦФ) и ампициллина (амп). Использовался штамм *E. coli* BN407, несущий генное слияние *iuc::lacZ*, позволяющее следить за уровнем свободного железа в цитоплазме бактерий. Для определения экспрессии гена *iuc* измерялась активность фермента β-галактозидазы. Культивирование проводилось на среде М9 с глюкозой. Дефицит железа создавался добавлением в среду хелатора дефероксамина (0,1 мМ), а избыток — добавлением FeSO<sub>4</sub> (10 мкМ). Результаты исследования показали, что в культурах, обработанных одновременно ЦФ и дефероксамином, скорость лизиса бактерий снижалась по сравнению с культурами, обработанными только ЦФ, что свидетельствовало о снижении бактерицидного действия ЦФ при дефиците ионов железа. Противоположный эффект наблюдался в культурах, обработанных ЦФ в присутствии FeSO<sub>4</sub>. Защитный эффект хелатора отмечен и при действии ампициллина, однако добавление железа не оказывало ощутимого эффекта на изменение выживаемости клеток при добавлении этого антибиотика.

Результаты исследования показали, что действие антибактериальных препаратов может быть модифицировано путем изменения уровня железа в культуральной среде и этот эффект зависит от вида антибиотика. Полученные данные указывают на то, что в определенных ситуациях применение ципрофлоксацина в комплексе с препаратом, содержащим Fe<sup>2+</sup>, может повысить эффективность использования данного антибиотика при лечении инфекционных заболеваний.

*Исследования были частично поддержаны грантом Президиума РАН по Программе "Молекулярная и клеточная биология" № 12-П-4-1013.*

### **Изучение влияния дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis kurstaki z-52* на развитие растений и их чувствительность к заболеваниям (на примере проростков капусты), вызванным бактериями рода *Xanthomonas***

*Мартянова Дарья Игоревна*

*Ульяновский Государственный Университет, Ульяновск, Россия*

*myoostopus@rambler.ru*

В последние годы в Российской Федерации научно-исследовательскими биологическими лабораториями, производственными биофабриками и биотехнологическими фирмами разработано более 60 микробиологических средств защиты растений для применения в сельском и лесном хозяйствах. Наиболее широко микробиометод представлен инсектицидными средствами на основе различных подвидов *Bacillus thuringiensis* (90-95 % рынка биопрепаратов).

Капуста огородная является одной из наиболее распространенных и важнейших сельскохозяйственных культур. Но, как и любое растение, она подвержена заболеваниям. Причиной сосудистого бактериоза капусты является бактерия рода *Xanthomonas*.

Целью нашего исследования являлось изучение влияния дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis kurstaki* Z-52 на развитие растений и их чувствительность к заболеваниям (на примере проростков капусты).

Тест-объектами служили фитопатогенные бактерии *Xanthomonas campestris*. Исследуемый сорт капусты — Грибовский 147.

Влияние токсинов исследовали на листьях ювенильных растений. Оценивалось действие нескольких концентраций токсинов (0,01; 0,03; 0,1; 0,2; 0,3; 0,75; 1,5 и 3 %). Проводились следующие варианты опыта: интактные растения, растения, проращиваемые в суспензии возбудителя и суспензии возбудителя с дельта-эндотоксинами. Растения выдерживались в суспензии дельта-эндотоксинов в течение шести часов, затем многократно промывались стерильной дистиллированной водой. В каждом варианте оценивали по 60 листов (15 чашек Петри на вариант). Спустя десять дней оценивали поражение растений бактериозом.

По итогам наших исследований мы получили следующие результаты: количество заразившихся растений в суспензии возбудителя составило 95 % от общего числа. Снижение количества растений с распространением заболевания началось при концентрации 0,01 % и 0,1 %. Наиболее оптимальной концентрацией токсинов оказалась 0,75 %. Развитие болезни имело тенденцию к снижению при повышении концентрации. При концентрации 0,75 % биологическая эффективность составила 86,2 %. При повышении концентрации наблюдалось увеличение пораженных листьев, вызванное большими концентрациями токсинов.

Выявлено, что под влиянием дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* достоверно снижались распространенность и развитие заболевания сосудистым бактериозом у растений в среднем на 55 %.

## **Токсические и мутагенные эффекты галогенированных фуранонов**

***Митько Вячеслав Евгеньевич***

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань*

*Anna.Margulis@ksu.ru*

В настоящее время большой научный интерес для исследования биологической активности вызывают галогенированные фураноны. Большинство испытанных на данный момент соединений этого ряда, способных подавлять QS-регуляцию, токсичны для человека, поэтому модификация и поиск новых, нетоксичных галогенированных фуранонов является актуальной задачей.

Целью данной работы было выявить возможные эффекты галогенированных фуранонов в стандартном тесте на токсичность по отношению к микроорганизмам и классическом тесте Эймса без метаболической активации.

В работе исследовали следующие хлорсодержащие фураноны под условными названиями Ф1, Ф2 и Ф3.

Растворы фуранона Ф3 (10 мкг/мл и 1 мкг/мл) проявили значительные токсические эффекты по отношению к тестерному штамму *Salmonella typhimurium* TA100. Слабые мутагенные свойства показал раствор фуранона Ф3 (0,1 мкг/мл). Остальные растворы исследуемых фуранонов проявили слабые токсические эффекты.

Также было показано отсутствие превышения числа колоний-ревертантов над контролем в тесте на мутагенность. Этот факт позволяет продолжать исследования в направлении применения фуранонов в качестве терапевтических агентов.

Далее мы оценивали способность исследуемых фуранонов изменять активность общего пула внеклеточных секретлируемых протеаз *B. subtilis* JB20-36 *in vitro*. Добавление фуранонов Ф1 и Ф3 непосредственно в реакционную смесь не привело к изменению активности фермента, что означает отсутствие эффекторных свойств исследуемых соединений по отношению к данному ферменту.

В то же время фуранон Ф2 незначительно снижал активность внеклеточной протеазы в концентрации 10 мкг/мл.

Таким образом, можно заключить, что фураноны не оказывают влияния на внеклеточную протеолитическую активность бактерий, являющуюся одним из факторов патогенности грамположительных микроорганизмов.

Исходя из полученных экспериментальных данных, можно сделать вывод о том, что данная группа галогенированных фуранонов может быть использована в дальнейших исследованиях медицинской и биотехнологической направленности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 14.740.11.1040).*

### **Окислительная активность микроорганизмов штамма *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2 по отношению к углеводородам ароматического ряда**

***Мухаматдьярова Светлана Ринатовна***

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*biolab316@yandex.ru*

Нефтяные углеводороды являются наиболее распространенными загрязнителями окружающей среды, поэтому поиск и идентификация бактерий, способных к их деградации, является актуальным. Целью исследований было изучение окислительной активности по отношению к ароматическим углеводородам нового штамма *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2, выделенного из искусственно загрязненной дизельным топливом серой лесной почвы.

Культивирование микроорганизмов проводили в колбах с 250 мл питательной среды Диановой-Ворошиловой для углеводородокисляющих бактерий с добавлением 1 % источника углерода и 5 мл трехсуточной культуры *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2 с содержанием клеток  $1,0 \times 10^8$  КОЕ/мл. В герметично закрытые сосуды подавали стерильный воздух со скоростью 520 мл/мин. Воздух, прошедший через колбу с микроорганизмами, улавливали поглотителем углекислого газа, в качестве которого использовали 200 мл 0,1 н. NaOH. Из емкостей с поглотителем посуточно отбирали аликвоту 10 мл и оттитровывали 0,1 н. HCl. Окислительную активность определяли по количеству образовавшегося CO<sub>2</sub>, оттитрованного кислотой. В качестве контроля использовали образец с реактивами, углеводородами, но без микроорганизмов. Длительность эксперимента составляла 3 суток.

Способность микроорганизмов *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2 к окислению 1 г субстрата была достаточно высока и составляла для о-ксилола 76 мг CO<sub>2</sub>, для бензола — 85 мг CO<sub>2</sub>, для нафталина — 88 мг CO<sub>2</sub> и для толуола — 93 мг CO<sub>2</sub>. В дальнейшем планируется продолжение работ по исследованию окислительной активности штамма *Ochrobactrum* sp. ИБ ДТ-5.3/2 по отношению к другим фракциям углеводородов нефти, самой нефти и продуктам ее переработки.

### **Биологические свойства сальмонелл, выделяемых от детей с сальмонеллезами**

***Назарова Виктория Юрьевна***

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

*vika.nazarova.00@gmail.com*

Актуальность проблемы сальмонеллезов связана с высокими уровнями заболеваемости, длительно сохраняющейся тенденцией к ее росту, трудностями в эпидемиологическом расследовании причин сальмонеллезов, формированием резистентности к противомикробным препаратам. Разработка методов экспресс-диагностики сальмонеллезов и типирования сальмонелл является одним из важных моментов сдерживания распространения возбудителей.

Целью работы являлась оптимизация терапии и диагностики сальмонеллезов у детей.

Проведен анализ историй болезни пациентов, находившихся на лечении в ГДИКБ г. Минска в 2009-2011 гг. Изучены 2054 культуры сальмонелл, выделенные от больных детей. Используются бактериологический, молекулярно-генетический и статистический методы.

За изучаемый период было выделено 2054 изолята *S. enteritidis* (94,4 %), 105 изолятов *S. typhimurium* (4,8 %), *S. panama*, *S. sp. CI*, *S. give*, *S. london*, *S. brandenburg*, *S. infantis*, *S. derbi* выделяли в единичных случаях.

Молекулярно-генетическую детекцию сальмонелл и среди них *S. enteritidis* проводили по родоспецифическому маркеру — *invA* гену, детерминирующему инвазивные свойства сальмонелл, идентификацию *S. enteritidis* осуществляли по вариантоспецифическому маркеру — *sefA* гену. В процессе амплификации *invA* и *sefA* генов в положительных случаях образовывались ампликоны размером 250-300 п.о. и 100-150 п.о. соответственно. Все сероварианты исследованных сальмонелл (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. london*, *S. brandenburg*, *S. infantis*, *S. derbi*, *S. agama*, *S. welt*) были позитивны по *invA* гену, в то время как по *sefA* гену позитивны были только *S. enteritidis*.

Таким образом, в этиологии сальмонеллезов у детей в 2009-2011 гг в г. Минске доминировали *S. enteritidis*, вторыми по значимости были *S. typhimurium*. Предварительная оценка метода детекции сальмонелл показала, что этот метод позволяет выявлять энтеропатогенные сальмонеллы. Гены *invA* и *sefA* являются родо- и видоспецифическими маркерами соответственно.

### **Изучение стерилизации иммобилизованных белковых препаратов — перспективных лекарственных средств**

**Овсепян Ани Мисаковна, Декина Светлана Сергеевна**

*Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса, Украина*

*s.dekina@gmail.com*

Ранее нами совместно с ДУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины» были разработаны глазные лекарственные пленки (ГЛП) с иммобилизованными в поливиниловом спирте сывороточным альбумином человека, папаином и мочевиной, обладающими противовоспалительным, противоожоговым и антибактериальным действием, соответственно. С целью поиска эффективного метода стерилизации ГЛП исследовано влияние консервантов и антисептиков, УФ-облучения и стерилизующей фильтрации.

Установлено полное сохранение физико-химических, биологических свойств пленок с сывороточным альбумином человека и лизоцимом после стерилизации  $\gamma$ -облучением в дозах 10, 17, 28 кГр.

Показано дозозависимое влияние  $\gamma$ -облучения на протеолитическую активность ГЛП с папаином и мочевиной, приводящее к снижению таковой на 85 %, 93 % и ее полной потере. Введение в пленки наиболее эффективных в отношении патогенных микроорганизмов препаратов: 0,15 % нипагина, 0,5 % метабисульфита натрия, 0,2 % левомицетина и 2 % борной кислоты, 0,9 % бензилового спирта, 0,01 % бензалкония хлорида, привело к ингибированию активности папаина, в меньшей степени снижали активность энзима метабисульфит натрия и нипагин. В ходе исследований ГЛП, изготовленных с нипагином, метабисульфитом натрия и без них, не было отмечено различий в микробиологической чистоте пленок, что свидетельствует о недостаточном бактериостатическом действии антисептиков. Исследование влияния УФ-облучения на ГЛП с папаином и мочевиной показало уменьшение числа колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов в зависимости от времени облучения (60–90 мин) с 4–6 КОЕ до 0 КОЕ (120 мин); протеолитическая активности препарата составила 63,8 %. Применение стерилизующей фильтрации раствора для приготовления ГЛП, содержащих все необходимые компоненты, в меньшей степени отразилось на активности препарата — 79,7 % от исходной. Исходная микробная нагрузка составила 750–1000 КОЕ, тогда как проверка раствора после фильтрации показала его микробиологическую чистоту.

Таким образом, изготовление пленок с папаином и мочевиной в асептических условиях с предварительной стерилизующей мембранной фильтрацией растворов обеспечивает стерильность и высокую сохранность протеолитической активности.

**Электрофоретическое изучение протеиназ — активаторов протеина С плазмы крови, образуемых *Aspergillus ochraceus* при глубинном и твердофазном культивировании**  
**Осмоловский Александр Андреевич, Попова Елизавета Андреевна, Звонарева Елена Сергеевна**  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
aosmol@mail.ru

Протеолитические ферменты микромицетов представляют значительный интерес для клинической и диагностической медицины в виду их способности оказывать воздействие на белки системы гемостаза. Так, они могут быть перспективны для определения содержания в плазме одного из ключевых белков системы гемостаза — протеина С, активная форма которого является своеобразным регулятором свертывания крови и фибринолиза в кровеносном русле. Недостаток содержания протеина С в кровотоке приводит к риску возникновения тромбоэмболических заболеваний вплоть до летальных исходов. Известны экзогенные активаторы протеина С, выделенные из яда змеи *Agkistrodon contortrix contortrix*, которые уже нашли применения в диагностикумах для определения количества протеина С в плазме крови и протеиназы, образуемых микромицетом *Aspergillus ochraceus*.

В настоящей работе были получены препараты внеклеточных протеиназ *A. ochraceus* ВКМ F-4104D после глубинного и твердофазного культивирования микромицета, с помощью изоэлектрофокусирования и нативного электрофореза в ПААГ проведено их сравнительное изучение.

Изоэлектрофокусирование и последующий электрофорез препаратов внеклеточных белков показало, что *A. ochraceus* ВКМ F-4104D при глубинном культивировании образует по крайней мере две протеиназы – активатора протеина С с рI 6,0. В препарате внеклеточных протеиназ после твердофазного культивирования также было обнаружено две протеиназы, проявившие активаторную к протеину С активность, однако значения их рI (6,2) отличались от рI протеиназ препарата после глубинного культивирования. Обе протеиназы проявляли как общую протеолитическую активность, так и тромбиноподобную и плазминоподобную активности с хромогенными пептидными субстратами Tos-Gly-Pro-Arg-pNA и DVal-Leu-Lys-pNA, соответственно.

Таким образом установлено, что микромицет *A. ochraceus* ВКМ F-4104D как при глубинном, так и при твердофазном культивировании образует две протеиназы, активирующие протеин С, близкие по рI (6,0 и 6,2) и электрофоретической подвижности.

**Альтернативные методы применения пробиотических препаратов при интоксикации тяжелыми металлами**

**Пешков Сергей Алексеевич**

Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия  
Darvin156@mail.ru

Настоящими «рекордсменами» по извлечению тяжелых металлов из окружающей среды являются микроорганизмы. В связи с этим цель моего исследования: «изучение способности к аккумуляции тяжелых металлов пробиотическими штаммами бактерий в условиях *in vitro*».

Для решения поставленных задач в работе использовалось 6 пробиотических препаратов: «Колибактерин», «Линекс», «Гастрофарм», «Споровактерин жидкий», «Биоспорин», «Бактисубтил». В качестве регулирующих факторов в работе используются соли тяжелых металлов: FeSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, MnSO<sub>4</sub>, CoSO<sub>4</sub> и CdSO<sub>4</sub>.

В результате проведенного эксперимента мы получили данные, из которых следует, что из всех анализируемых металлов наиболее активно аккумулируют ионы железа *E. coli* М-17 и *E. faecium*. Содержание ионов кобальта в биомассе *E. coli* М-17 составляет 3,8 %, *E. faecium* — 5,7 %, *L. acidophilus* — 8,3 % и *L. bulgaricus* — 8,2 %, соответственно. Относительно значений накопления ионов кадмия можно отметить, что они активно аккумулируются штаммом *E. faecium*, содержание ионов в биомассе составляет 31,35%. Данные, полученные при изучении аккумуляционной способности бактерий рода *Bacillus*, свидетельствуют, что всеми исследуемыми культурами только 3 металла интенсивно извлекаются из культуральной

жидкости. Наиболее активно аккумулируется свинец, на втором месте находится цинк, на третьем месте — железо. Три остальных металла практически не накапливаются данными микроорганизмами. Исключение составляют *B. cereus* IP 5832 в отношении ионов марганца (процент накопления составляет 23,97) и *B. licheniformis* в отношении ионов кобальта (процент накопления составляет 22,35).

Из полученных данных следует, что *E. faecium* является лучшим биосорбентом кобальта. Хорошие показатели аккумуляции ионов свинца и железа показал штамм *B. subtilis* 534. Лучшие значения по накоплению ионов цинка отмечаются для штамма *B. subtilis* 3, по накоплению марганца — для *B. cereus* IP 5832, а по накоплению кобальта — для *B. licheniformis*.

### **Выделение и морфологическая характеристика новых штаммов бактериофагов *Pseudomonas fluorescens***

***Пилипчук Татьяна Андреевна***

*Институт микробиологии НАНБ, Минск, Беларусь*

*tanya.pilipchuk@tut.by*

Фитопатогенные бактерии рода *Pseudomonas* наносят большой экономический ущерб сельскохозяйственному производству, поражая бобовые, злаковые, овощные, плодовые и др. культуры, снижая урожай до 50 %. Одним из подходов биологического контроля является использование бактериофагов, что позволяет осуществить профилактику и борьбу с бактериальными болезнями сельскохозяйственных растений. Ввиду специфичности воздействия фагов исключительно на бактериальные клетки можно избежать повреждающего действия на растения, что обычно не наблюдается при использовании синтетических пестицидов.

Целью работы явилось выделение новых культур бактериофагов для пополнения коллекционного фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов, чтобы в дальнейшем изучить и использовать выделенные фаги в качестве биологических средств защиты растений.

Материалом для выделения бактериофагов, активных в отношении бактерий *Pseudomonas fluorescens*, послужили образцы растений сельскохозяйственных культур, имеющие признаки бактериального поражения. Всего было выделено 8 изолятов фагов, которые были очищены до негативных колоний. Фаги были обнаружены в плодах груши — фаг Pf5, спаржевой фасоли — Pf10, стеблях и листьях томатов — Pf11, картофеле — Pf12 (Витебская область), а также в плодах яблок — Pf6, Pf7, Pf8 и листьях капусты — Pf9 (Минская область). Изолированные фаги при культивировании на газоне индикаторной культуры формируют негативные бляшки, отличающиеся друг от друга по морфологии (диаметру бляшки, степени прозрачности и наличию ореола). Самые крупные (5–8 мм в диаметре) бляшки наблюдались у бактериофагов Pf5 и Pf10, и характеризовались четко очерченным краем. Самыми мелкими (1–3 мм) оказались негативные прозрачные бляшки бактериофага Pf11, с четко очерченным краем, без ореола. Негативные бляшки, образуемые бактериофагом Pf12 — средние (3–5 мм в диаметре), прозрачные, с четко очерченным краем, без ореола. Образуемые фагами Pf6–Pf9 негативные бляшки составили 4–7 мм в диаметре и характеризовались различной степенью прозрачности и наличием ореола. Также была отработана методика выделения ДНК бактериофагов. В дальнейшем планируется провести молекулярно-генетический анализ выделенных ДНК фагов.

*Выражаю благодарность за помощь в работе своему научному руководителю к.б.н. Новик Галине Ивановне, а также к.б.н. Валентовичу Леониду Николаевичу.*

## **Влияние летучих органических соединений и синтезирующих их бактерий на образование биопленок *Agrobacterium tumefaciens* C58**

**Плюта Владимир Александрович**

*Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, Россия*

*plyutaba@gmail.com*

Более 90 % бактерий существуют в природных экосистемах в виде специфически организованных, прикрепленных к твердым поверхностям биопленок; биопленки имеют характерную архитектуру и заключены в экзополимерный матрикс. Известно, что у ряда бактерий процесс формирования биопленок зависит от Quorum Sensing (QS) систем регуляции. Бактерии, живущие внутри биопленок, проявляют значительно более высокую устойчивость к действию антибактериальных факторов. Способность бактерий формировать биопленки вызывает серьезные проблемы в медицине, с/х, микробиологической и химической промышленности. Поэтому поиск и изучение действия различных соединений с антибактериальной активностью, подавляющих образование биопленок, является актуальной задачей.

В последние годы внимание исследователей привлекли данные о том, что бактерии способны синтезировать летучие органические соединения (ЛОС), подавляющие рост бактерий и грибов. Продукция этих веществ является новым, слабо изученным аспектом конкурентных отношений микроорганизмов и может быть важным фактором биологического контроля защиты растений.

В настоящей работе мы исследовали действие ризосферных и почвенных бактерий родов *Pseudomonas* и *Serratia*, продуцирующих ЛОС, и конкретных ЛОС (ДМДС, нонанон-2, гептанон-2, ундецен-1, ундеканон-2) на формирование биопленок и зрелые биопленки фитопатогенной бактерии *A. tumefaciens* C58, вызывающей образование опухолей у двудольных растений. В работе был использован метод выращивания биопленок на мембранных фильтрах (colony-biofilms).

Было показано, что ЛОС бактериальных штаммов и отдельные ЛОС способны подавлять образование биопленок *A. tumefaciens* C58 и убивать бактерии в зрелых биопленках, причем гибель бактерий, живущих в составе биопленок, происходила при более высоких концентрациях ЛОС, чем их гибель при образовании биопленок. Используя различные *lux*-репортерные штаммы, мы показали, что кетоны (нонанон-2, гептанон-2, ундеканон-2) подавляют экспрессию генов QS систем регуляции LuxR/LuxI типа.

## **Действие летучих органических веществ почвенных бактерий на микроорганизмы, дрозифилу, нематоды; Quorum Quenching эффект**

**Попова Александра Антоновна**

*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

*french@land.ru*

Некоторые бактерии, ассоциированные с растениями, могут синтезировать летучие органические соединения (ЛОС), подавляющие рост фитопатогенных микроорганизмов. О природе ЛОС, продуцируемых различными бактериями, сведений имеется недостаточно, не изучены молекулярно-генетические и биохимические основы их действия и синтеза.

В ходе работы было показано, что летучие вещества, образуемые бактериями *Pseudomonas* и *Serratia*, подавляют рост фитопатогенных бактерий, грибов и цианобактерий. ЛОС бактерий-продуцентов вызывают у нематоды *Caenorhabditis elegans* заметную задержку в развитии и нарушение репродуктивной функции, а на дрозифилу *Drosophila melanogaster* оказывают летальный эффект.

Хромато-масс-спектрометрический анализ показал, что в наибольшем количестве синтезируется диметилдисульфид (ДМДС), а также ряд кетонов и алкенов. ДМДС, 1-ундецен и кетоны (2-нонанон, 2-гептанон, 2-ундеканон) сильно подавляют рост бактерий и значительно ингибируют рост гриба *Rhizoctonia solani*. На *D. melanogaster* и *C. elegans* эти соединения оказывают летальное действие.

Исследуемые штаммы бактерий *Pseudomonas chlororaphis*, *P. fluorescens* и *Serratia plymuthica* обладают Quorum Sensing (QS) регуляцией. QS — это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, зависящий от плотности их популяции. Обязательными компонентами QS систем являются низкомолекулярные сигнальные молекулы (аутоиндукторы) и рецепторные белки, с которыми аутоиндукторы связываются. У грамотрицательных бактерий аутоиндукторами являются N-ацил-гомосеринлактоны (АГЛ).

Способность ингибировать QS системы названа Quorum Quenching (QQ). Эффект QQ изучался при воздействии ЛОС бактерий-продуцентов и отдельно ДМДС на бактерии, синтезирующие АГЛ. Было показано, что ЛОС исследованных бактерий ингибируют синтез АГЛ, сигнальных молекул Quorum Sensing регуляции, т.е. наблюдается Quorum Quenching.

С помощью real-time PCR было выяснено, что при воздействии на штамм *P. chlororaphis* 449, обладающий двумя QS-системами, летучими органическими соединениями, выделяемыми *S. plymuthica*, *P. fluorescens*, самим *P. chlororaphis* 449 и ДМДС, значительно падает уровень экспрессии генов АГЛ синтазы (*phzI*, *csaI*). То есть ЛОС действуют не на сами аутоиндукторы, а ингибируют транскрипцию генов, ответственных за их синтез.

### **Образование внеклеточных коллагенолитических ферментов микромицетом *Tolypocladium inflatum* в условиях глубинного и твердофазного культивирования**

**Попова Елизавета Андреевна, Звонарева Елена Сергеевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*veliana@gmail.com*

Коллагенолитические ферменты являются наиболее востребованными протеиназами в медицине и косметологии. В настоящее время их получают из гепатопанкреаса камчатского краба и путем глубинного культивирования бактерий и мицелиальных грибов. Однако для микромицетов более подходящим является метод твердофазного культивирования (культивирование на сыпучих увлажненных частицах в отсутствие свободной воды), имитирующий естественные условия обитания грибов. При таком культивировании по сравнению с глубинным наблюдается значительное увеличение выхода ферментов, поэтому особый интерес представляет собой изучение образования коллагенолитических ферментов именно в условиях твердофазного культивирования.

Коллагенолитическую активность измеряли колориметрически с помощью азоколлагена в культуральной жидкости при глубинном и твердофазном культивировании микромицетов. За единицу активности принимали количество мкг расщепившегося азоколлага за одну мин. В качестве субстратов для твердофазного культивирования были взяты отруби и кокосовые волокна, в качестве инертного носителя применялся вермикулит, к которому была добавлена питательная среда.

Путем качественного скрининга среди мицелиальных грибов разных экологических и систематических групп был отобран штамм, обладающий наибольшей коллагенолитической активностью — *Tolypocladium inflatum*. В глубинных условиях активность культуральной жидкости *T. inflatum* составила  $6,4 \text{ Е/мл} \times 10^{-2}$ . Коллагенолитическая активность продуцента в твердофазных условиях при росте на кокосовых волокнах составила  $152 \text{ Е/мл} \times 10^{-2}$ , на отрубях —  $93 \text{ Е/мл} \times 10^{-2}$ , на вермикулите —  $68 \text{ Е/мл} \times 10^{-2}$ , что в 23,75, 14,53 и 10,6 раз больше, соответственно, чем в условиях глубинного культивирования при оптимальном сроке культивирования 7 суток для обоих случаев.

Таким образом, на примере *T. inflatum* показано, что твердофазное культивирование является более подходящим методом для получения коллагенолитических ферментов при культивировании мицелиальных грибов.

## Особенности качественного состава эпифитных микроорганизмов некоторых культурных и сорных растений

Приходько Светлана Игоревна

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия  
heven2289@gmail.com

Объектами исследования были эпифитные микроорганизмы, выделенные с листьев капусты (цветной и белокочанной), кукурузы, укропа, салатов, люцерны, клевера, осота. Взятие образцов культурных и сорных растений производилось в июне–июле 2012 г. в Тамбовской и Московской областях. Методика выделения бактерий с поверхности растений основана на получении суспензии в фосфатно-солевом буфере. Колонии микроорганизмов получали методом прямого посева суспензии на универсальную плотную питательную среду YDC и среду для культивирования эпифитных микроорганизмов — капустный агар. Температура культивирования 27 °С — YDC, 27 °С и 37 °С — капустный агар. Далее проводилось выделение ДНК и амплификация гена 16S рРНК выделенных бактерий с использованием универсальных бактериальных праймеров (8UA\_519B) с последующей детекцией ампликонов геледокументирующей системой, определение нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК на автоматическом секвенаторе. На основе анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК штаммов бактерий, изолированных со среды YDC (максимальная степень идентификации 96–99,9%), можно сказать, что микробиота филлосферы исследованных растений представлена следующими микроорганизмами: *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. subtilis*), *Micrococcus* (*M. flavus*, *M. luteus*), *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Pseudomonas putida*, *Lysinibacillus* sp., *Enterobacter cloacae*. Бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* преобладают на образцах растений, как из Тамбовской, так и Московской областей. С образцов из Московской области выделено 8 штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* и *B. mycoides* и всего 1 штамм *Pseudomonas* sp. С образцов растений из Тамбовской области было выделено 3 штамма *Pseudomonas putida* и 3 штамма *Bacillus megaterium* и *Bacillus subtilis*.

С образцов молодых листьев капусты белокочанной из Тамбовской области на капустном агаре были выделены 9 штаммов, идентифицированных как *Bacillus* (*B. safensis*, *B. pumilus*), *Enterobacter cloacae*, *Agrobacterium tumefaciens*. На старых листьях капусты белокочанной видовой состав был более разнообразен и составил 21 штамм: *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*), *Enterobacter cloacae*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Frigoribacterium* sp. Штаммы бактерий, полученные с образцов молодых листьев капусты белокочанной Московской области: *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. cereus*), *Micrococcus luteus*, *Microbacterium* (*M. yannicii*, *M. laevaniformans*, *M. barkeri*). Общее количество штаммов — 14. С образцов старых листьев капусты белокочанной: *Microbacterium barkeri*, *Bacillus pumilus*. Общее количество штаммов — 10. Штаммы бактерий, полученные на капустном агаре с образцов сорного растения осот полевой: *Achromobacter* sp., *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*. Общее количество штаммов — 3. Как видно из представленных данных, образцы из двух исследуемых регионов отличаются не только по количеству выделенных штаммов, но и по видовому составу эпифитных бактерий.

Таким образом, культурные растения отличаются более высоким биоразнообразием эпифитных микроорганизмов, чем дикорастущие травы – люцерна, клевер и осот. Возможно, это связано с количеством и химическим составом продуктов экзоосмоса, благоприятными условиями для развития данных микроорганизмов. С молодых листьев капусты удалось выделить меньшее количество штаммов, нежели со старых листьев, где в процессе гибели клеток растительной ткани выделяется большее количество питательных веществ, что способствует размножению бактерий, не только эпифитных, но и сапротрофных.

## Разнообразие микробного сообщества гидротермы Алла (Прибайкалье)

Раднагуруева Арюна Арсалановна, Лаврентьева Е.В., Бархутова Д.Д.

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия

aryuna\_rg@mail.ru

Байкальский регион отличается разнообразием водных и наземных экосистем, которые являются местами активной деятельности экстремофильных микроорганизмов. В термальных источниках формируются микробные сообщества, адаптированные к высоким температурам и щелочным рН.

В работе представлены результаты изучения микробного сообщества из пробы микробного мата высокотемпературной зоны (73-65°С) гидротермы Алла. Метагеномный анализ проведен на пиросеквенаторе Roche 454 GS-FLX Titanium (Южная Корея). Оценка таксономической сложности сообщества проведена с помощью пакета программ CLcommunity (ver 2.58).

Было определено 2402 нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК домена *Bacteria*. В метагеномном образце ДНК доминируют филы *Deinococcus-Thermus* (45 %) и *Nitrospirae* (36 %). *Proteobacteria* составляют всего 3 %.

Среди эубактерий филы *Deinococcus-Thermus* (1084 нуклеотидные последовательности) 43,5 % составляют представители рода *Meiothermus* и 55,8 % — рода *Thermus*, широко распространенные в гидротермальных экосистемах и осуществляющие аэробную деструкцию органического вещества.

93 нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК (8,6 %) принадлежат известному виду *Meiothermus ruber*, впервые выделенному и описанному из горячих источников Бурятии Алла и Гусиха. Другой репрезентативной группой (34,9 % сиквенсов, 378 нуклеотидных последовательностей) является неизвестная таксономическая группа бактерий рода *Meiothermus*, где процент сходства их с ближайшим культивируемым гомологом *Meiothermus hypogaeus* (из глубинного ила горячего источника Японии) варьировал от 94,1 до 96,6 %. Восемь последовательностей имели сходство 92–94 % с ближайшим культивируемым гомологом *Meiothermus hypogaeus* и некультивируемым бактериальным клоном (DQ088760\_s, из подземных вод глубоких шахт добычи золота в Южной Африке).

Бактерии рода *Thermus* в микробном сообществе гидротермы Алла представлены культивируемым видом *T. ignitirrae*, который ранее был выделен из горячего источника Исландии. И лишь одна нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК принадлежит неизвестному таксону, процент сходства с ближайшим гомологом (*T. ignitirrae*) не превышает 96 %.

Таким образом, применение метагеномного анализа позволило выявить присущих термальным местообитаниям представителей бактерий родов *Meiothermus* и *Thermus* (семейство *Thermaceae*), ответственных за аэробные процессы деструкции в микробном сообществе в высокотемпературной зоне.

## Детоксикация почвы в результате ее рекультивации бинарной культурой окисляющих углеводороды микроорганизмов Салихова А.Р.<sup>1</sup>, Заретдинова Р.А.<sup>1</sup>, Мухаматдьярова С.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Уфимский государственный нефтяной технический университет,

<sup>2</sup>Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

biolab316@yandex.ru

Фитомелиорация при рекультивации разливов нефти может быть неэффективной из-за гибели семян и молодых всходов, как вследствие токсичности остаточных нефтяных углеводородов, так и поражения ослабленных проростков фитопатогенами. Поэтому поиск микроорганизмов-деструкторов нефти, благоприятно влияющих на прорастание семян в нефтезагрязненной почве, является актуальной задачей.

Исследования проводили на образцах почвогрунта подзолистого, загрязненного нефтью Угутского месторождения в концентрации 4,8–9,3 вес. %, который обрабатывали бинарной

культурой деструкторов нефти ИБ НД1 (*Pseudomonas* sp. и *Rhodococcus* sp.). Как тест-растение были использованы проростки кресс-салата.

Было обнаружено, что использование микроорганизмов-деструкторов способствовало детоксикации загрязненной почвы через три месяца инкубации. По сравнению с образцами без внесения микроорганизмов, способных к окислению углеводов, в вариантах с использованием бинарной культуры взошедших семян кресс-салата было больше в 1,7–4,4 раза, а количество проростков, пораженных микроскопическими грибами, меньше в 1,5–3,7 раза. Посев грунта на питательную среду Чапека не выявил в составе комплекса микроскопических грибов рекультивированного грунта представителей рода *Fusarium*, в то время как они обнаруживались в посевах из образцов без внесения микроорганизмов. Тест на наличие антагонистических взаимоотношений между бактериями бинарной культуры и микромицетом *Fusarium oxysporum* показал замедление роста последнего при его контакте с бактериями. У грунта, обработанного биологическим препаратом-деструктором углеводов «Ленойл», использованным в качестве объекта для сравнения и не проявлявшим антагонизма в отношении микромицетов, обнаружена большая фитотоксичность, чем после использования исследуемой культуры при сопоставимом остаточном содержании углеводов в грунте.

Таким образом, использование бинарной культуры *Pseudomonas* sp. ИБ НД1.1 и *Rhodococcus* sp. ИБ НД1.2 не только снижало содержание углеводов в загрязненном грунте, но и способствовало уменьшению его фитотоксичности. Ее применение может быть целесообразно в том случае, если озеленение загрязненного грунта проводится в один вегетационный сезон с внесением биопрепарата-нефтедеструктора.

### Устойчивость молочнокислых бактерий к эритромицину и клиндамицину

Семенчукова Екатерина Александровна

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

eka2105@mail.ru

Эритромицин и клиндамицин — представители макролидов и линкозамидов соответственно — достаточно широко используются на протяжении длительного времени, что ведет к риску распространения среди микроорганизмов устойчивости к этим антибиотикам. В этой связи актуальным является изучение резистентности практически ценных культур молочнокислых бактерий к указанным антимикробным соединениям.

Исследовали чувствительность к эритромицину и клиндамицину 25 штаммов молочнокислых бактерий рр. *Lactobacillus* (*L.*), *Lactococcus* (*Lc.*), *Leuconostoc* (*Leuc.*) из коллекции культур лаборатории молочнокислых и бифидобактерий Института микробиологии НАН Беларуси. Определение минимальных ингибирующих концентраций (МИК) антибиотиков проводили с использованием стандартного метода серийных двукратных разведений в жидкой питательной среде.

Более половины исследованных культур (13 штаммов) были устойчивы к действию эритромицина. При этом высокие уровни устойчивости (у 9 культур) наблюдали только у представителей вида *L. plantarum*. Штаммы *L. acidophilus*, *Lc. lactis*, *Leuc. mesenteroides* проявляли высокую чувствительность к этому антибиотику. Выявлено, что значения МИК эритромицина существенно варьировали у исследованных микроорганизмов.

Из 25 изучаемых культур 21 штамм был устойчив к действию клиндамицина. Высокоустойчивыми являлись представители видов *L. acidophilus* и *L. plantarum*. Высоким уровнем чувствительности к клиндамицину обладали штаммы *Lc. lactis* и *Leuc. mesenteroides*.

Проведенные исследования позволяют заключить, что большинство штаммов молочнокислых бактерий проявляли устойчивость к действию клиндамицина и эритромицина — 84 % и 52 % соответственно. Высокой чувствительностью к обоим антимикробным соединениям характеризуются *Lc. lactis* и *Leuc. mesenteroides*. Наибольшее число высоко-резистентных штаммов выявлено у представителей вида *L. plantarum*. Перспективным является определение генетической детерминации антибиотикорезистентности у исследуемых культур.

Автор выражает благодарность к.б.н. И.А. Найденко и В.В. Денисенко за помощь в проделанной работе и подготовке тезисов.

**Тестирование устойчивости бактерий рода *Bifidobacterium*  
к неблагоприятным условиям пищеварительного тракта в модельных опытах *in vitro***

**Сидоренко Анастасия Вячеславовна**

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*a\_sidarenka@mbio.bas-net.by*

Проанализирована выживаемость 23 штаммов бактерий рода *Bifidobacterium*, относящихся к видам *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. animalis*, *B. boum*, *B. pseudolongum*, *B. thermophilum*, в модельных условиях пищеварительного тракта. Тестируемые культуры бифидобактерий были выделены из пробиотиков (3), кисломолочных продуктов (3), фекалий человека (7) и животных (10), и идентифицированы до вида на основании данных двухлокусного секвенирования — анализа нуклеотидной последовательности генов 16S рРНК и трансальдолазы.

Выживаемость исследуемых штаммов бифидобактерий в модельных условиях пищеварительного тракта варьировала в пределах 35–84 %. При этом культуры, выделенные из фекалий человека и животных, характеризовались более высокой жизнеспособностью по сравнению с культурами, изолированными из пробиотиков и кисломолочных продуктов. Так, выживаемость бифидобактерий, выделенных из фекалий человека и животных, после инкубации в модельных условиях желудка составляла 48–95 %, а после инкубации в модельных условиях кишечника снижалась до 35–84 % от исходного значения. Для бифидобактерий, изолированных из пробиотиков и кисломолочных продуктов, аналогичные показатели составляли 57–75 % и 46–69 % соответственно. Отмечено, что устойчивость бифидобактерий к условиям пищеварительного тракта являлась скорее штаммовой, нежели видовой характеристикой, поскольку культуры одного вида существенно различались по данному признаку. Выявлено, что выживаемость тестируемых штаммов бактерий рода *Bifidobacterium* в условиях желудочно-кишечного тракта не коррелировала с их способностью образовывать экзополисахариды. Отмечено, что после инкубации в модельных условиях желудка жизнеспособность анализируемых штаммов бифидобактерий снижалась на 5–52 %, а после инкубации в модельных условиях кишечника — на 1–23 %. Полученные результаты согласуются с данными ряда авторов и свидетельствуют, что действие желудочного сока — это основной стрессовый фактор пищеварительного тракта, приводящий к гибели бифидобактерий.

Скрининг бактерий рода *Bifidobacterium*, выделенных из фекалий человека и животных, по признаку выживаемости в модельных условиях пищеварительного тракта позволил отобрать устойчивые культуры, перспективные для разработки пробиотиков и продуктов питания.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь (грант Б11ПЛШ-003).*

**Рост и устойчивость бифидобактерий к условиям желудочно-кишечного тракта  
при культивировании на различных питательных средах**

**Старовойтова Татьяна Александровна**

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*t.a.starovoitova@gmail.com*

Бифидобактерии, широко используемые для производства пробиотических препаратов и продуктов питания, имеют сложные пищевые потребности: для их культивирования применяют дорогостоящие многокомпонентные среды. Представлялось интересным сравнить интенсивность роста двух штаммов бифидобактерий *Bifidobacterium longum* БИМ В-647 и БИМ В-648 при культивировании на богатой и бедной питательных средах с целью возможного удешевления процесса их выращивания. Кроме того, из литературы известно, что молочнокислые бактерии, выращенные в неблагоприятных условиях (при недостатке источников питания), более устойчивы к стрессовым воздействиям, чем культуры, выращенные в оптимальных условиях. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать устойчивость бифидобактерий, выращенных на богатой и бедной питательных средах,

к модельным условиям желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), т.к. это свойство важно для их использования в качестве пробиотиков.

Бифидобактерии культивировали в среде deMan, Rogosa и Sharpe с добавлением L-цистеина. Бедная питательная среда представляла собой исходную (богатую) питательную среду, разбавленную в три раза дистиллированной водой. Модельные условия ЖКТ создавали путем инкубирования бифидобактерий при 37 °С первоначально в искусственном желудочном соке (0,5 % NaCl, 0,1 % пепсин, pH 2,0), затем в искусственном кишечном соке (0,5 % NaCl, 0,1 % панкреатин, 0,3 % желчь, pH 8,2).

Титр клеток исследуемых штаммов бифидобактерий после 24 ч культивирования, как в богатой, так и в бедной питательных средах составлял  $\sim 10^9$  КОЕ/мл, что свидетельствует о возможности выращивания данных бактерий в питательной среде с меньшим расходом компонентов (т.е. удешевлении процесса их культивирования). После инкубации в модельных условиях ЖКТ выживаемость штамма *B. longum* БИМ В-647, выращенного на богатой среде, составила 58,5 %, выращенного на бедной среде — 41,1 %. Для штамма *B. longum* БИМ В-648 аналогичные показатели составили 64,6 % и 53,0 % соответственно. Таким образом, в отличие от молочнокислых бактерий, бифидобактерии, выращенные в неблагоприятных условиях (в бедной среде) менее устойчивы к модельным условиям ЖКТ, по сравнению с культурами, выращенными в оптимальных условиях.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности удешевления процесса культивирования бифидобактерий за счет использования обедненных питательных сред. Однако необходимы дальнейшие более детальные исследования в данном направлении.

### **Изучение новой сигнальной функции оксида азота — регуляции формирования биопленок клетками *Escherichia coli***

**Стрельцова Дарья Александровна, Старостина Ирина Александровна**  
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия  
*dastr1@yandex.ru*

Резистентность бактерий к антибиотикам в большинстве случаев связана с их способностью формировать сложные защитные структуры — биопленки — как ответ на разнообразные стрессы. Все антибиотики вызывают в клетке окислительный стресс и, соответственно, приводят к образованию биопленок. В настоящее время проблема лекарственной устойчивости бактериальных патогенов стала глобальной и требует новых методических решений.

Сигнальная молекула оксида азота (NO), продуцируемая всеми биосистемами, является многофункциональным клеточным регулятором, включая защиту от окислительного стресса активацией ДНК-репарационных процессов: SoxRS, SOS, OxyR и др. Главные мишени NO — железо-серные белки, в том числе IscR[2Fe-2S], регулирующий образование фимбрий для связи биопленок с субстратом. В нашей работе изучение NO включено в новое направление для решения проблемы антибиотикорезистентности.

Использован ряд NO-доноров различной структуры. Проведено сравнительное исследование их влияния на планктонный рост и формирование биопленок условно-патогенной *E. coli* wt и рядом изогенных мутантов с делециями генов контроля доставки Fe<sup>2+</sup> для сборки железо-серных кластеров: *ΔiscA*, *ΔsufA* и паралог *ΔiscA/sufA*. Рост планктонных культур в LB-среде (OD<sub>600</sub>) и масса зрелых биопленок (OD<sub>570</sub>) после окрашивания кристаллвиолетом оценивали спектрофотометрически с использованием одноразовых кювет. О развитии окислительного стресса — ответной защитной реакции на обработку NO-донорами — судили по экспрессии гена *soxS* (*soxRS* регулона) в штамме со слитым опероном [*sfiA::lacZ*] в колориметрическом тесте по активности β-галактозидазы.

NO-доноры в низких физиологических концентрациях в 2–4 раза снижали массу биопленок по показателю OD<sub>570</sub>; высокие токсичные дозы, напротив, стимулировали уход клеток в биопленки. NO-доноры были активны также в разрушении (дисперсии) сформированных биопленок, максимально в сочетании с антибиотиком ципрофлоксацином. Доказана необходимость клеточного железа для образования биопленок: снижение

их показателей в мутантах с дефектами сборки Fe-S кластеров, с одной стороны, и внесением Fe<sup>2+</sup>-хелаторов в среду инкубации — с другой.

Итак, в нашей работе получены доказательства целесообразности использования NO как эффективного природного регулятора в борьбе с бактериальными пленками. Исследования будут продолжены.

Работа поддержана грантами Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» № 01-РАН-21 и РФФИ № 12-04-00399-а.

## **К вопросу участия бактерий в образовании углеводов нефти**

**Строева Александра Романовна**

*Российский государственный университет нефти и газа имени И.М.Губкина, Москва, Россия*

*stroeva@inbox.ru*

Все углеводороды (УВ) нефтей могут быть разделены на две основные группы: преобразованные УВ, утратившие черты строения, свойственные исходным биоорганическим молекулам, и реликтовые УВ (биомаркеры, биометки) или хемофоссилии. Одним из УВ-биомаркеров являются н-алканы. Считается, что н-алканы, преимущественно с нечетным числом атомов «С», образуются из н-насыщенных жирных кислот путем их декарбокислирования. При этом если исходное органическое вещество (ОВ) было сапропелевое, образуются в основном н-С<sub>15</sub>, н-С<sub>17</sub> и н-С<sub>19</sub>, если гумусовое — более высокомолекулярные н-С<sub>25</sub>, н-С<sub>27</sub> и н-С<sub>29</sub>. Представлялось интересным исследовать в этом аспекте возможности бактериального синтеза УВ.

Объектом исследования были бактерии *Arthrobacter* sp. RV и *Pseudomonas aeruginosa* RM из коллекции РГУ нефти и газа, выращенные на минеральной среде с глюкозой. Экстракцию биомассы проводили хлороформом в УЗ-ванне в течение 15 мин и анализировали методами капиллярной газожидкостной хроматографии и хроматомасс-спектрометрии. Строение веществ доказывали методом хроматомасс-спектрометрии и добавлением к образцам предполагаемых соединений.

Как показали наши исследования, в результате жизнедеятельности *Arthrobacter* sp. RV и *P. aeruginosa* RM образуются н-алкены с нечетным числом атомов «С» в молекуле. Оба штамма синтезируют н-С<sub>7</sub> и н-С<sub>9</sub>, а *P. aeruginosa* RM — еще и н-С<sub>11</sub>. Одновременно у обоих видов бактерий генерируются непредельные н-жирные кислоты с четным числом атомов: н-С<sub>8</sub>, н-С<sub>10</sub> и н-С<sub>12</sub>. Величины отношений сумм н-кислот к н-алкенам для *P. aeruginosa* RM и *Arthrobacter* sp. RV имеют близкие значения и варьируют в пределах 7,0-7,6. Оба штамма синтезируют непредельный нерегулярный изопренан — сквален (2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракоза-2,6,10,14,18,22-гексаен).

Таким образом, преобладание в слабопреобразованных нефтях н-алканов с нечетным числом атомов «С» можно объяснить не только процессами декарбокислирования жирных кислот с четным числом атомов «С» в молекуле, но и чисто бактериальным синтезом.

## **Экстракция липополисахаридного антигена из возбудителей сальмонеллеза**

**штамма *Salmonella typhimurium***

**Тургимбаева А.М., Каукабаева Г.К.**

*РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Астана, Казахстан*

*scorpio116@mail.ru*

Сальмонеллез (*Salmonellosis*) — полиэтиологическая инфекция с фекально-оральным механизмом передачи, вызываемая бактериями рода *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*, характеризуется разнообразными клиническими проявлениями от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм. В настоящее время важное значение приобретает своевременная ветеринарно-санитарная экспертиза сырья и продуктов животного происхождения.

В процессе работы было получено препаративное количество бактериальной массы культуры *S. typhimurium*. Из бактериальной массы *S. typhimurium* выделяли липополисахарид (ЛПС) водно-фенольным методом по O. Westphal с применением протеиназы К, РНКазы и

ДНКазы. Концентрацию углеводов в растворах ЛПС определяли с помощью пробы Молиша (сернокислотным методом). Анализ выделенного ЛПС проводился с помощью электрофореза в 12 % ПААГ по методу J. Laemmli, а также с помощью непрямого варианта иммуноферментного анализа.

Выход сырой бакмассы клеток *S. typhimurium* из 1 л питательной среды составил 22,5 г или 2,25 %. Выход ЛПС из культур *S. typhimurium* составил 0,75 мг/мл. При этом раствор ЛПС содержал 97,2 % углеводов, а остальные 2,8 % приходились на примесные белки.

Результаты электрофореграммы ЛПС из *S. typhimurium* показывают четкую ступенчатую модель бендов, что говорит о гладком типе грамотрицательных бактерий. Оптимальная концентрация ЛПС антигена для сенсibilизации твердой фазы в ИФА составила 10 мкг/мл, при которой титр выявляемых антител достигал 1:25600. При концентрации антигена 2 мкг/мл титр антител снижался на порядок, что составило 1:6400. Увеличение количества антигена, иммобилизованного на поверхность полистироловой панели, от 20 мкг/мл привело к проявлению фонового рисунка.

Таким образом, применение модифицированного водно-фенольного метода по O. Westphal позволяет получать ЛПС с максимальным содержанием углеводов и минимальным наличием примесей. Полученный нами ЛПС антиген штамма *S. typhimurium* обладает достаточно выраженными антигенными свойствами и является перспективным для получения моноклональных антител.

### **Об устойчивости лактобактерий к действию кислоты и желчи**

*Туякова А.К., Ахметова Г.Н., Ануарбекова С.С.*

*Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Казахстан  
altynay\_79@mail.ru*

Способность микроорганизмов выживать в желудочно-кишечном тракте после прохождения через желудок имеет высокую значимость для создания пробиотического препарата. Желчные кислоты обладают мощным противомикробным действием, поэтому микрофлора желудочно-кишечного тракта выработала механизмы сопротивления к действию желчи.

Целью исследования являлось изучить устойчивость молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*, перспективных в качестве пробиотических микроорганизмов, к действию кислоты и желчи.

Объектами исследования являлись тридцать восемь штаммов лактобацилл, выделенные из молочных продуктов.

Устойчивость лактобацилл к последовательному действию кислоты и желчи проводили по методике Haller. Бактерии с начальной концентрацией клеток  $10^7$  КОЕ/мл помещали в физиологический раствор при pH 2,0–3,0 в течение 1–2 ч, затем в 1 % желчный бульон на 24 ч с температурой инкубирования 37 °С.

Устойчивость к действию желчи определяли путем инкубации бактерий в гидролизованном молоке с содержанием желчи 20, 30, 40 % со значением pH до 8,0.

Во многих работах получены данные о том, что лактобациллы способны переносить кислотность желудка и действие желчных солей, присутствующих в ЖКТ, с вариабельностью между культурами. В настоящем исследовании было подтверждено их размножение до и после комбинированного воздействия кислоты и желчи. При этом начальная и конечная концентрация клеток существенно не изменилась.

66,6 % исследуемых культур были активными в питательной среде в присутствии 20 и 26,3 %, 30 и 40 % желчи, даже если концентрация клеток была ниже, чем в контрольных культурах без добавления желчи. Из них три культуры *L. helveticus*, *L. casei* subsp. *tolerans* и *L. casei* subsp. *casei* и две культуры *L. salivarius* оказались устойчивыми к 20, 30 и 40 % желчи.

Полученные данные исследованных культур подтверждают, что клетки лактобацилл выживают во время транзита по желудочно-кишечному тракту, что свидетельствует об их пробиотической ценности и определяет их практическое использование в качестве пробиотиков и в производстве пищевых продуктов.

## **Антагонистические штаммы *Bacillus subtilis* Cohn как перспективная основа биопрепаратов против фитопатогенных грибов рода *Fusarium* Link**

**Уразбахтина Диана Ренатовна**

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*di2412@yandex.ru*

Как отмечалось ранее, в защите растений против фузариозной инфекции зерна злаков до сих пор не разработаны высокоэффективные химические фунгициды и биологические препараты. Нами в качестве принципиально нового подхода к борьбе с фузариозной инфекцией, а также к снижению уровня загрязнения зерна микотоксинами предложена разработка препаратов на основе эндофитных штаммов бактерий (*Bacillus*), антагонистичных к грибам рода *Fusarium*, повышающих устойчивость растений к метаболитам фитопатогенов, а также способных к деструкции мико(фузарио)токсинов. Ранее из 23 эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* мы отобрали 3 штамма, наиболее активно подавляющих рост фузариевых грибов *in vitro* — 11РН, 49РН, 89РН. В настоящем исследовании мы провели дополнительный скрининг эффективности этих бактерий, а также штамма-прототипа *B. subtilis* 26Д — основы коммерческого биофунгицида Фитоспорин-М, в подавлении роста изолятов наиболее распространенных в зерне озимой ржи фузариевых грибов. Способность штаммов *B. subtilis* подавлять рост фитопатогенных грибов изучалась методом агаровых блоков, а оценка протекторного эффекта проводилась при обработке семян полусухим методом, проращиванием на грибных фильтрах и измерением линейных размеров проростков. Оказалось, что 2 штамма 49РН и 89РН оказались самыми активными антагонистами в сравнении как с прототипом, так и с новым штаммом 11РН, эффективно подавляющим рост фузариевых грибов, выделенных из зерна яровой пшеницы. Интересным на наш взгляд является обнаруженное нами свойство этих штаммов бактерий не только подавлять рост грибов *in vitro*, но и проявлять протекторный эффект при токсическом воздействии грибных метаболитов на семена. Так, предобработка семян ржи спорами двух штаммов 11РН и 26Д снижала степень ингибирования роста проростков культуры. При разбавлении фильтра в 2 раза более выраженный защитный эффект оказывал штамм 11РН. Такая зависимость от концентрации токсинов в случае штамма 11РН позволяет предполагать, что наблюдаемый защитный эффект является следствием не только индукции защитных реакций и устойчивости у растения-хозяина в присутствии бацилл, но и непосредственного метаболического воздействия бактериальных клеток на фитотоксины. Таким образом, штамм *B. subtilis* 11РН является перспективным в качестве основы биопрепарата для биоконтроля популяций фитопатогенных фузариевых грибов.

*Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №11-04-97044-р\_поволжье\_а.*

## **Скрининг почвенных микромицетов, обладающих рост-стимулирующей активностью**

**Успенская А.Д., Шукешева С.Е.**

*Казахский Национальный университет имени аль-Фараби, Алматы Казахстан*

*asasha07@mail.ru*

Сельское хозяйство является одной из ключевых отраслей экономики Республики Казахстан. Одним из важных направлений современных исследований является повышение продуктивности растений. Потенциальным объектом агробιοтехнологии выступают PGPM (Plant Growth-Promotion Microorganisms), стимулирующие рост и повышающие продуктивность растений. Применение PGPM представляется привлекательной альтернативой химическим удобрениям.

Целью работы было проведение первоначального этапа отбора почвенных микроскопических грибов, обладающих рост-стимулирующей активностью.

Материалом исследований служили 220 изолятов микромицетов, выделенных из темно-каштановой почвы под различными агрокультурами (люцерна, донник, эспарцет, соя, рапс) Алматинской области Казахстана.

Определение рост-стимулирующей активности проводили методом замочки семян. В качестве испытуемых семян использовали семена люцерны *Medicago sativa* L. Учитывали количество проросших семян, длину стеблей и корней в опыте и контроле.

Установлено, что из 170 штаммов микроскопических грибов рост-стимулирующая активность была ярко выражена у представителей видов *Penicillium bilaiae* (9 штаммов из 16) и *Trichoderma koningii* (7 из 18). Доля проросших семян достигала 99,6 %. Длина корня и надземной части проростков увеличивалась на 27,4–65,2 % и 19,4–64,7 % соответственно по сравнению с контрольным вариантом.

Из 50 штаммов 21 дрожжевая культура характеризовалась рост-стимулирующей способностью. Это представители видов *Aureobasidium pullulans* (8 штаммов из 15), *Rhodotorula mucilaginosa* (6 из 12), *Metschnikovia pulcherrima* (4 из 11) и *Lipomyces starkeyi* (3 из 8). При этом длина стеблевой и корневой частей проростков увеличивалась на 11,5–40,2 % и на 9,5–42,6 % соответственно по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований были отобраны штаммы микроскопических грибов и дрожжей с ярко выраженной рост-стимулирующей активностью по отношению к кормовым культурам.

### **Эпифитная углеводородокисляющая микробиота в биоремедиации морской среды от нефти** **Федоренко Виктория Николаевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*kusenochka@mail.ru*

Активное развитие нефтедобывающих и транспортных технологий приводит к усугублению проблемы нефтяного загрязнения морских водоемов. Ведущая роль в самоочищении морской среды от нефти и нефтепродуктов принадлежит углеводородокисляющим микроорганизмам (УВОМ). В природе микроорганизмы существуют в составе консорциумов, ассоциаций друг с другом и другими организмами, в частности, с бурыми водорослями. Поэтому исследование естественных микробных ассоциаций на поверхности макрофитов, их компонентов и биологической активности является актуальным для получения биопрепаратов нового поколения.

Для выявления микробного пейзажа поверхностей бурых водорослей и учета тотальной численности эпифитных микроорганизмов готовили препараты-отпечатки. Общую численность гетеротрофных культивируемых микроорганизмов на поверхности бурых водорослей выявляли методом предельных разведений (МПР) при 15 °С в жидкой минеральной среде с углеводами, а УВОМ — с 1 % нефти. В качестве посевного материала использовали сухие размолотые бурые водоросли из литорали Кандалакшского залива Белого моря, фрагменты талломов живых макрофитов.

Численность эпифитных микроорганизмов на препаратах-отпечатках составляла  $5,21 \times 10^5$  —  $4,98 \times 10^6$  кл/см<sup>2</sup>. Эпифитное микробное сообщество представлено одиночными клетками и многочисленными микроколониями, что указывает на активный рост микроорганизмов на поверхности водорослей. Выявлены мелкие и крупные кокки (одиночные и их цепочки), палочки и многочисленные клетки, изогнутые полумесяцем. Встречаются бактерии с коринеформной морфологией. Обнаружен активный рост микроорганизмов в психроактивных условиях. Общая численность микроорганизмов в среде с углеводами достигала до  $10^6$  кл/мл. Отселектированы эпифитные УВО микробные сообщества с накоплением биомассы до  $10^5$  кл/мл. Поверхность макрофитов контаминирована грибами, их обилие составляло до  $10^6$  пропагул/г сухого вещества, в том числе и в среде с нефтью. Известно, что активность микромицетов по разрушению нефти может превышать бактериальную, что подтверждается нашими данными, основанными на скорости и интенсивности роста грибов на нефти.

Макрофиты являются носителями неоднородных по составу эпифитных микробных сообществ, в том числе с УВО способностью. Водоросли создают благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов, с которыми, вероятно, они находятся в трофическом симбиозе. Эпифитные микроорганизмы можно рассматривать как источник для деградации легко- и трудноокисляемых органических соединений, в том числе и нефти.

**Бактерии техносферы: деструкторы ароматических галогенидов**  
**Хайбуллина Гульназира Саитгалиевна<sup>2</sup>, Хубитдинова Линара Данисовна<sup>2</sup>,**  
**Сагитова Алина Иршатовна<sup>1</sup>, Ясаков Тимур Рамилевич<sup>1</sup>,**  
**Жарикова Наталья Владимировна<sup>1</sup>, Коробов Владислав Викторович<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии УНЦ РАН,

<sup>2</sup>Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,

<sup>3</sup>Учебно-научный центр БГПУ им. М. Акмуллы и ИБ УНЦ РАН, Уфа, Россия  
vacikk@mail.ru

В настоящее время все большее внимание уделяется изучению бактерий-деструкторов ароматических галогенидов. Применение таких микроорганизмов рассматривается как основа наиболее выгодных способов контроля за качеством среды в техносфере.

Целью работы являлось выделение новых бактерий-деструкторов ароматических галогенидов.

Объектом исследований служили образцы почвенных микроорганизмов предприятий нефтехимического профиля г. Уфы.

Методом множественной инокуляции, позволяющим одновременно провести скрининг большого числа штаммов, были выделены деструкторы фенола и его хлорированных производных. Последовательный пересев культур проводили на агаризированные среды следующего состава (г/л): NH<sub>4</sub>Cl — 1, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 5, MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,05, FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,005, CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O — 0,001, ZnSO<sub>4</sub> — 0,0008, pH среды доводили до 6,8-7,0. В качестве единственного источника углерода и энергии в среды добавляли фенол, 2,4-дихлорфенол (2,4-ДХФ), 4-хлорфеноксиуксусную кислоту (4-ХФУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и 2,4,5-трихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4,5-Т) в концентрации 100 мг/л.

В результате исследований было выделено 19 бактерий-деструкторов фенола, 2,4-ДХФ, 4-ХФУК, 2,4-Д и 2,4,5-Т. Изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков изолятов позволило отнести 10 культур к роду *Bacillus*.

Ранее было обнаружено, что представители рода *Bacillus* способны использовать широкий ряд органических субстратов. Культуры *B. stearothermophilus* BR219 и *B. pumilis* ассимилировали фенол. Из активного ила выделен *B. cereus* Jr-A, деградировавший фенол, нитрофенол, хлорфенол, бензол и толуол. Фенол, крезол, 4-гидроксibenзойную кислоту и гентизиновую кислоту конвертировал штамм *Bacillus* sp. PHN 1. Prabha с коллегами отмечали, что бактерии рода *Bacillus* обладали устойчивостью к 2,4-Д, но не были способны ее утилизировать. Менее 1 % 2,4-Д трансформировал *B. subtilis* KCM-RG<sub>5</sub>.

Из приведенного видно, что ранее среди представителей рода *Bacillus* не обнаруживались деструкторы 2,4-дихлорфенола, 4-хлорфеноксиуксусной и 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислот.

Полученные в данной работе оригинальные штаммы-деструкторы указанных соединений могут быть использованы в разработках технологий очистки среды от фенола и его хлорированных производных.

*Работа выполнена при содействии гранта программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» на базе Учебно-научного центра БГПУ им. М.Акмуллы и ИБ УНЦ РАН под руководством д.б.н. Маркушевой Т.В. и к.б.н. Журенко Е.Ю.*

**Влияние хлорпроизводных 2(5H)-фуранона на жизнеспособность бактериальных клеток**

**Хакимуллина Э.Н., Тризна Е.Ю., Курбангалиева А.Р., Каюмов А.Р.**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

elvina5555@mail.ru

Грамположительные бактерии являются причиной многих инфекционных заболеваний. Также они гораздо быстрее вырабатывают устойчивость к различным лекарственным препаратам и образуют биопленки, что обуславливает необходимость разработки новых антибактериальных препаратов, эффективно подавляющих рост и развитие грамположительных бактерий. На роль таких лекарственных средств претендуют галогенизированные фураноны,

которые подавляют рост бактерий и действуют в концентрациях (5 мкг/мл) не токсичных для эукариот. В данной работе был синтезирован ряд хлор- и серосодержащих 2(5Н)-фуранонов и исследовано их действие на клетки *B. subtilis*.

Исследовали действие фуранонов на рост клеток бацилл в условиях лимитации по источнику азота на минимальной среде SMM с концентрациями исследуемого фуранона 1,0, 2,5 и 5,0 мкг/мл. Клетки культивировали в течение 10 ч, затем инкубирование прекращали и измеряли оптическую плотность культуры. При концентрации фуранона Ф1 (5-гидрокси-4[(4-метилфенил)тио]-3-хлор-2(5Н)-фуранона) 1 мкг/мл уже наблюдалось подавление роста бактерий в 2 раза по сравнению с контролем. Фуранон Ф2 (3,4-дихлор-5-(4-метилфенилсульфонил)-2(5Н)-фуранон) подавлял рост клеток в 2 раза при концентрации 2,5 мкг/мл. Фуранон Ф3 (5-[(4-метилфенил)сульфонил]-3,4-дихлор-2(5Н)-фуранон) выраженным бактериостатическим действием в исследованных концентрациях не обладал. Таким образом, фураноны Ф1 и Ф2 могут представлять интерес в качестве бактериостатического средства.

Исследовали влияние фуранонов Ф1, Ф2 и Ф3 на процессы, связанные с чувством кворума. Данные соединения эффективно подавляют образование биопленок в концентрациях 5 мкг/мл, однако активность фактора транскрипции ComA не подавлялась. Для определения возможной клеточной мишени также измеряли активность глутаминсинтетазы (ГС), ключевого фермента, осуществляющего включение восстановленного азота в метаболизм клетки. Уровень активности ГС в клетках при внесении первого и третьего фуранонов не снижался, тогда как в присутствии Ф1 активность фермента была в несколько раз ниже чем в контрольных клетках. Это позволяет сделать вывод, что одной из клеточных мишеней этого соединения является азотный метаболизм. Однако молекулярные механизмы этого влияния остаются пока не выясненными и требуют дальнейших исследований.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и гранта РФФИ 12-04-31472 мол\_а.*

**Разработка метода экспрессии специфической искусственной микроРНК для анализа роли сигнального белка РII в метаболизме *Chlamydomonas reinhardtii***

*Харатьян Нина Грачьевна*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия,  
nina.kharatyan@gmail.com*

Сигнальные белки из консервативного семейства РII охарактеризованы у прокариот и некоторых высших растений. Белки РII функционируют за счет белок-белковых взаимодействий, контролируя широкий спектр мишеней в клетке, включающих ферменты, транскрипционные факторы и белки-транспортеры. В лаборатории адаптации микроорганизмов СПбГУ впервые для представителя одноклеточных зеленых водорослей выявлен белок из семейства РII. Успешно применяемые на других микроорганизмах методы направленного мутагенеза оказываются неприемлемыми для *Chlamydomonas* из-за невозможности интегрировать в геном водоросли гетерологичную ДНК с помощью гомологичной рекомбинации. Недавнее открытие микроРНК у *C. reinhardtii* и создание векторов, обеспечивающих экспрессию искусственных микроРНК, которые содержат специфичную для мишени miRNA, делают возможным анализ функций РII-белка в клетках на основе молекулярно-биологического изучения штаммов с его сниженным содержанием.

Последовательности нуклеотидов, специфичные для гена *CrGLB1*, кодирующего белок РII *C. reinhardtii*, которые необходимы для получения микроРНК, были созданы с помощью программы WMD2. Двухцепочечный олигонуклеотид, содержащий последовательности, необходимые для получения микроРНК, был клонирован в плазмиду pChlamiRNA3, линеаризованную рестриктазой *SpeI*. Сконструированные amiRNA-плазмиды были протрансформированы в *E. coli*, и было отобрано 40 клонов, содержащих вставку в ориентации, необходимой для экспрессии. Плазмиды, выделенные из 10 клонов, были отобраны далее для трансформации *C. reinhardtii* cw15arg7. Оценка уровней белка в изолированных в присутствии паромоцина трансформантах осуществлена методом Вестерн-блот

гибридизации с использованием антител, специфичных к РII-белку *C. reinhardtii* (CrPII). Из 100 проанализированных трансформантов отобраны два штамма, amiRNA-*GBL1*-38 и amiRNA-*GBL1*-48, в которых уровни белка РII не превышают 2,5 и 25 % соответственно. Методом ПЦР в реальном времени показано снижение уровней мРНК *GLB1* в отобранных штаммах.

Рекомбинантный белок CrPII, содержащий стрептавидин на С-конце, очищен на колонках с иммобилизованным *Strep*-Tactin и использован в качестве мишени для оценки взаимодействующих с ним белков из клеток amiRNA-*GBL1*-38. Протеомный анализ позволил нам выявить несколько потенциальных мишеней белка CrPII, которые в настоящее время анализируются.

### **Деградационные свойства природных бактерий *Rhodococcus pyridinivorans* AL18**

**Чернявская М.И., Козлова М.В., Сацункевич Н.Е., Сечеников А.А.**

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*mm-cher@tut.by*

Природные углеводороды являются основным стратегическим сырьем мировой экономики. Нарушения в эксплуатации добывающих, перерабатывающих и транспортирующих отраслей ведут к попаданию в природную среду опасных химических соединений, разрушающих естественные биоценозы. Поиск эффективных средств борьбы с загрязнениями природного и антропогенного характера является одной из актуальнейших проблем. В этом плане особый интерес представляют биологически безопасные технологии, связанные с использованием природных микроорганизмов, способных эффективно деградировать углеводороды, а также активизировать и восстанавливать природные микробиоценозы.

В результате проведенного исследования из 330 образцов природной почвы выявлено 19 изолятов, содержащих микроорганизмы-деструкторы нефти. Среди 170 штаммов микроорганизмов, изолированных из 19 почвенных изолятов, выявлено 11 штаммов, способных использовать нефть в качестве источника углерода и энергии. Один из выделенных штаммов (AL18), идентифицированный на основании сиквенс-анализа генов 16S рНК как *Rhodococcus pyridinivorans*, характеризовался высокой деградационной активностью. Помимо нефти он обладал способностью использовать в качестве единственного источника углерода и энергии отдельные ее компоненты (гексадекан, гексан, о-ксилол, п-ксилол, нафталин, антрацен, фенантрен, бифенил, пирен). При интродукции штамма *R. pyridinivorans* AL18 в почву, содержащую нефть в концентрации 4 %, ее количество снижалось на 62 % за 21 день.

Показано, что признак утилизации нафталина у штамма *R. pyridinivorans* AL18, стабильно наследующийся в неселективных условиях в течение 60 генераций при температуре 28 °С и утрачивающийся с частотой 68 % при повышенной температуре культивирования (37 °С), обеспечивается генетическими детерминантами, имеющими гомологию с известными генами плазмидного происхождения *narAa*, *narAb* и *narB*, которые определяют синтез ферментов с широкой субстратной специфичностью (цис-нафталин диоксигеназы и цис-нафталин дигидродиол дегидрогеназы) бактерий *Rhodococcus* sp. Выделенный штамм-деструктор *R. pyridinivorans* AL18, способный расти в широких диапазонах рН (5,0–10,0), температур (18–42 °С) и концентрации NaCl в среде (до 14 %), может быть использован как основа биопрепарата для очистки почвы от опасных поллютантов.

### **Извлечение ионов цинка и меди с помощью микроорганизмов из отходов Медногорского медно-серного комбината**

**Четверикова Дарья Владимировна**

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*biolab316@yandex.ru*

В настоящее время актуальна разработка технологий, направленных на уменьшение объема выбросов промышленных производств и повторное использование уже накопленных отходов. Одним из таких ресурсов могут быть отходы горно-обогатительных и

металлургических производств. При помощи биологического выщелачивания из них можно комплексно извлекать сразу несколько содержащихся в отходах компонентов.

Целью нашей работы было изучение возможности комплексного извлечения меди и цинка из отходов, накопленных в отвалах Медногорского медно-серного комбината, с применением биотехнологических методов.

Отработанные руды Медногорского медно-серного комбината содержат: 87 % пирита, 3 % доломита, 7 % кварца, 1,5 % угля, 0,5 % гематита, 1 % халькопирита, 0,2 % малахита.

Предварительно в конических колбах были выращены 10-суточные культуры ацидофильных железоокисляющих бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans* с титром  $(2-6) \times 10^6$  клеток/мл (рН 1,8). 14 культур бактерий *A. ferrooxidans* были ранее выделены сотрудниками Института биологии УНЦ РАН из кислых стоков хвостохранилищ. С наработанными культурами *A. ferrooxidans* в лабораторных условиях был поставлен эксперимент: 100 г руды смешивали с 500 мл солевой основы среды 9К и 1 мл инокулята бактерий и выдерживали при температуре 30 °С в течение 21 суток.

В результате было извлечено в раствор более 60 % цинка от его исходного содержания в отходе с применением штаммов *A. ferrooxidans* ИБ 1, ИБ 2, ИБ 8, ИБ 10, ИБ 13, и более 69 % меди с использованием культур ИБ 2, ИБ 4, ИБ 5, ИБ 8, ИБ 14. Ионы меди переходили в раствор медленнее, чем ионы цинка, большая часть которых высвобождалась в первые 14 дней эксперимента. В процессе биологического выщелачивания отходов Медногорского медно-серного комбината наблюдалось размножение окисляющих руду бактерий. После завершения процесса титр бактериальных клеток у активно размножающихся культур ИБ 2, ИБ 8, ИБ 14 составил  $10^9-10^{11}$  клеток/мл.

Таким образом, выделенные культуры ИБ 2, ИБ 8 и ИБ 14 перспективны для использования в биотехнологиях комплексной переработки отходов Медногорского медно-серного комбината.

### **Бактерии *Pseudomonas* sp., разлагающие перфторпеларгоновую кислоту**

**Шаринов Данил Альмирович**

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

*biolab316@yandex.ru*

Проблема очистки наземных и водных экосистем, загрязненных токсичными, устойчивыми к разложению химическими соединениями, занимает центральное место в ряду важнейших задач современной экологии. Галогенированные соединения, часто обнаруживаемые в потоках отходов, и их токсические свойства стимулировали исследования по их микробному метаболизму. Поведение фторированных соединений менее изучено (хотя их использование в сельскохозяйственных и промышленных процессах велико и случаи загрязнения окружающей среды становятся более частыми). Преимущество применения биологических методов дезактивации фторорганических соединений объясняется тем, что микроорганизмы минерализуют их и другие продукты органического синтеза в естественном цикле круговорота веществ, не оказывая отрицательного влияния на окружающую среду. Поэтому скрининг и идентификация штаммов микроорганизмов-деструкторов фторорганических соединений является актуальной задачей.

Целью данной работы являлось выделение и идентификация природных штаммов микроорганизмов, способных к разложению перфторпеларгоновой кислоты, являющейся основой для ряда гербицидов.

Выделение штаммов-деструкторов из образцов техногенно загрязненной почвы с территории промышленного предприятия Республики Башкортостан осуществлялось методом накопительных культур. Навески почвы помещали в колбы со 100 мл питательной среды Раймонда без пептона, добавив 1 мл перфторпеларгоновой кислоты в качестве единственного источника углерода. Культивирование проводили при температуре 30 °С в круговой качалке со скоростью вращения 160 об/мин. Определение титра клеток в инокуляте проводили путем нанесения культуральной жидкости на агаризованную мясо-пептонную среду для получения отдельных колоний с дальнейшим подсчетом их числа. Далее инокулят высевали на твердую

питательную среду Раймонда без пептона, применяя в качестве субстрата перфторпеларгоновую кислоту.

Рост титра одного из штаммов на 5 сутки эксперимента составил два порядка. Изучение его культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, а также секвенирование и сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК с таковыми филогенетически близкородственных типовых штаммов позволило идентифицировать этот штамм как *Pseudomonas* sp.

### **Идентификация гена металлопротеиназы в геноме условно-патогенной бактерии *Providencia stuartii***

**Шляпникова Екатерина Вячеславовна**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*izzi\_ui@mail.ru*

Грамотрицательные бактерии рода *Providencia* являются частыми возбудителями внутрибольничных инфекций. Эти бактерии способны вызывать бактериемию, заболевания мочеполовых путей, кератит, гнойно-воспалительные инфекции. Бактерии рода *Providencia* обладают различными факторами вирулентности, такими как адгезины, уреазы, способность инвазировать эукариотические клетки и др. Можно предположить, что внутриклеточные протеиназы патогенных бактерий могут играть важную регуляторную роль в контроле экспрессии генов вирулентности.

Настоящая работа посвящена генно-информационному поиску в геномах различных видов бактерий рода *Providencia* последовательностей, гомологичных гену гримелизина *Serratia grimesii*. Биоинформационный анализ проводили с помощью программ сайта NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) — GenBank, Blast, Sanger, а также Asap (<http://asap.ahabs.wisc.edu/>), coliBASE ([colibase.bham.ac.uk/](http://colibase.bham.ac.uk/)). В геномах *P. rettgeri* DSM 1131 и *P. stuartii* ATCC 29914 найдены последовательности (50 п.н.) с 78 % гомологией к гену гримелизина, видимо, соответствующие консервативным участкам генов металлопротеиназ. Blast-анализ выявил в геномах различных видов *Providencia* последовательности, кодирующие пептиды с гомологией 64 %/80 % (идентичность/сходство) к гримелизину.

Следующий этап работы заключался в выделении гена металлопротеиназы из клеток *P. stuartii*. В геноме *P. stuartii* ATCC 29914 найдена гомологичная последовательность, которая была использована как матрица для конструирования праймеров (dir: cag-gca-ttc-caa-ata-gag-cct-ttt-a; rev: aat-taa-tat-gta-cgc-cgc-cat-tat-c). Был проведен анализ гомологичной последовательности (50 п.н.) с помощью программы поиска сайтов рестрикции Spin ([http://staden.sourceforge.net/manual/spin\\_unix\\_toc.html](http://staden.sourceforge.net/manual/spin_unix_toc.html)) и отобраны рестриктазы для фрагментации геномной ДНК (*Bam*H1, *Eco*R1), которые не имели сайтов расщепления в пределах этой последовательности. Рестрикты геномной ДНК лигировали и проводили ПЦР-анализ. ДНК-электрофорез показал, что продукт амплификации имеет размер около 1000 н.о., что близко к размерам генов металлопротеиназ (1014–906 н.о.). Полученные результаты могут свидетельствовать о присутствии в клетках *P. stuartii* протеиназы, гомологичной гримелизину.

*Данный проект поддержан грантом ФЦП Соглашение № 14.А18.21.1118.*

### **Динамика аммонификаторов почвы в свете концепции волнообразного развития микробных сообществ**

**Эмер Наталья Рудольфовна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*emer2005s@gmail.com*

За последние двадцать лет проблема качества и здоровья почвы трансформировалась в одно из наиболее актуальных теоретико-практических направлений биологии.

Почвенное микробное сообщество (МС) может быть хорошим индикатором почвенного здоровья, поскольку динамическая концепция структуры микробного сообщества обладает прямыми предсказательными функциями.

В данной работе исследовался характер ежедневной динамики бактериальных сообществ аммонификаторов (22 дня) в серой лесной почве. Оценку ежедневной динамики микроорганизмов проводили при помощи учета количества колониобразующих единиц (КОЕ) на селективной питательной среде.

Выявлен волнообразный характер ежедневной динамики численности аммонификаторов в образцах исследуемой почвы. Волнообразная динамика численности была отмечена как для общего количества аммонификаторов, так и для аммонифицирующих бактерий, образующих сероводород.

Отмечено значительное преобладание численности микроорганизмов, высеваемых с почвы, возделываемой по интенсивной системе земледелия (опыт), над численностью микроорганизмов, высеваемых с почвы участка залежи (контроль). Количество КОЕ аммонификаторов, не выделяющих  $H_2S$ , существенно превосходило число КОЕ аммонификаторов, выделяющих  $H_2S$  и окрашивающих питательную среду в черный цвет.

Гармонический анализ показал, что МС контрольной почвы имеет большую устойчивость, так как значение амплитуды колебаний численности КОЕ в опытной почве оказалось выше, чем в контрольной, при равной частоте колебаний. В то же время, обнаруженная разница в частоте колебаний числа КОЕ аммонификаторов, дезаминирующих серосодержащие аминокислоты и не дезаминирующих, указывает на различие в их стратегиях утилизации субстрата. Зафиксирован также больший период колебаний количества КОЕ аммонификаторов, образующих  $H_2S$ , в опытной почве, по сравнению с контрольной.

## Подсекция «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

### Структура промоторов генов БТШ70 и тонкая регуляция их экспрессии у видов с различной термальной адаптацией

*Астахова Любовь Николаевна*

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

*Lyubov.astakhova@gmail.com*

Белки теплового шока (БТШ) известны как наиболее эволюционно консервативная и универсальная защитная система, предохраняющая клетку от воздействия различных стрессовых факторов. У всех исследованных на сегодня эукариот транскрипция генов БТШ при тепловом шоке индуцируется связыванием транскрипционного фактора HSF с регуляторными последовательностями в области промотора, имеющими консенсус GAANNTTCNNGAA (HSE). В связи с этим считалось, что промотор теплового шока универсален для широкого спектра видов, в т.ч. относящихся к разным таксонам.

Нами были секвенированы гены бтш70 вида *Stratiomys singularior* (Diptera, Stratiomyidae), личинки которого развиваются в среде с множеством неблагоприятных факторов (высокие температура, концентрация солей и др.). Были показаны существенные отличия структуры промоторов этого вида от промоторов генов бтш70 *Drosophila melanogaster*, хотя HSE имеются у обоих видов. Была проведена работа по сравнению активности промоторов *S. singularior* и *D. melanogaster* с помощью люциферазной репортерной системы в клетках *D. melanogaster* (Schneider 2). Было показано, что активность промотора *S. singularior* в данной клеточной линии в 7–8 раз ниже по сравнению с активностью промотора *D. melanogaster* как в нормальных условиях, так и при тепловом шоке. Предположительно, такие отличия между промоторами разных видов *Diptera* объясняются разницей во взаимодействии с фактором GAF, который помимо HSF играет важную роль в активации генов бтш70 у *D. melanogaster*.

По сравнению с генами бтш70 *Diptera* гены HSP70 млекопитающих, в т.ч. регуляторные области, высококонсервативны. Тем не менее, нами обнаружен ряд отличий в строении промоторов генов БТШ70 (HSPA1A, A1B и A1L) у различных видов млекопитающих, в частности у человека и верблюда *C. dromedarius*. Нами была продемонстрирована значительно более высокая транскрипционная активность промоторов генов HSPA1A и A1L верблюда по сравнению с соответствующими генами человека при нормальных условиях. При тепловом шоке разница сохраняется для гена A1L, но практически исчезает для гена HSPA1A. Таким образом, нами показана специфичность промотора бтш70 некоторых видов, ранее считавшегося универсальным.

### Получение рекомбинантных пептидогликан-распознающих белков человека PGLYRP

*Бобровский Павел Александрович, Манувера Валентин Александрович*

*НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия*

*pbobrovskiy@gmail.com*

Пептидогликан-распознающие белки (Peptidoglycan Recognition Proteins — PGLYRP) являются компонентами врожденного иммунитета, выполняющего роль первого барьера иммунной защиты хозяина. Эти белки способны узнавать пептидогликан и липополисахариды клеточных стенок Грам-положительных и Грам-отрицательных бактерий. В геноме человека представлено четыре гена, кодирующих пептидогликан-распознающие белки (PGLYRP1-4). Эти белки обладают антибактериальной активностью, а PGLYRP2 также способен гидролизовать пептидогликан клеточной стенки бактерии. Хламидийная инфекция является серьезной проблемой здравоохранения вследствие своего влияния на уровень здоровья населения и демографическую ситуацию. Существенными проблемами являются резистентность хламидий к антибиотикам и способность длительное время персистировать в организме человека. Геном хламидий содержит гены белков двукомпонентных систем, активирующихся после связывания PGLYRP с пептидогликаном, а так же кодирует почти полный путь метаболизма пептидогликана. Цель работы — получение активных

рекомбинантных пептидогликан-распознающих белков человека для гетерологичной экспрессии в прокариотических и эукариотических системах, а так же проверка антибактериальной активности по отношению к *Chlamydia trachomatis* и *Staphylococcus epidermidis*. Для получения структурной части генов была выделена РНК, а затем получена кДНК методом обратной транскрипции. Последовательности, кодирующие пептидогликан-распознающие белки, клонированы в составе векторов для регулируемой экспрессии в *E. coli*. Сконструированы плазмиды для гетерологичной экспрессии целевых белков в эукариотических системах. Подобраны штаммы и условия культивирования *E. coli* для оптимального накопления рекомбинантных белков. Показано, что PGLYRP накапливаются в виде телец включения. Последующий рефолдинг путем ступенчатого диализа, а так же, получение белков, слитых с белком-переносчиком мальтозы позволили получить целевые белки в растворимой форме, однако достоверной антибактериальной активности по отношению к *S. epidermidis* не было обнаружено. На данный момент идет оценка накопления целевых рекомбинантных белков PGLYRP в эукариотических системах, а так же определение антибактериальной активности по отношению к *C. trachomatis*.

### **DR5-специфический мутантный вариант цитокина TRAIL DR5-B**

**совместно с химиотерапевтическими агентами**

**преодолеывает устойчивость опухолевых клеток к TRAIL опосредованному апоптозу**

**Бычков М.Л., Гаспарян М.Э., Долгих Д.А.**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*maksim.bychkov@gmail.com*

TRAIL — это цитокин, селективно индуцирующий апоптоз в опухолевых клетках и не вызывающий гибель нормальных клеток. TRAIL активирует апоптотические сигнальные пути в раковых клетках при связывании с рецепторами смерти DR4 и DR5. Однако, более половины линий опухолевых клеток нечувствительны к TRAIL, отчасти из-за взаимодействия цитокина с рецепторами-ловушками (DcR1, DcR2 и OPG). Мы получили мутантный вариант цитокина TRAIL DR5-B, который связывается с рецептором DR5 так же эффективно, как и дикий тип, однако практически не взаимодействует с рецепторами-ловушками и с рецептором смерти DR4.

Нами было показано, что препарат DR5-B в 4–5 раз более эффективно индуцирует апоптоз в чувствительных к TRAIL клетках, экспрессирующих на своей поверхности DR5-рецептор. Применение препарата DR5-B позволило преодолеть устойчивость к TRAIL клеток HT29, A549, MCF-7 и U937, так же экспрессирующих на мембране рецептор смерти DR5. Препарат DR5-B в концентрации 100 нг/мл индуцировал гибель на 45 %, 36 %, 54 % и 40 % клеток HT29, A549, MCF-7 и U937 соответственно, а аналогичная концентрация TRAIL дикого типа вызывала гибель всего 7 %, 16 %, 11 % и 19 % клеток, соответственно. Химиотерапевтические вещества бортезомиб, таксол и доксорубин значительно усиливали гибель клеток при их инкубации с препаратами DR5-B и TRAIL (эффективная концентрация препарата DR5-B уменьшалась в 2,5–4,5 раз). При этом комбинации химиопрепаратов и мутантного варианта DR5-B индуцировали гибель клеток в 2–2,5 более эффективно по сравнению с TRAIL дикого типа.

Цитотоксичность белков DR5-B сравнивали с TRAIL дикого типа на клетках фибробластов HFF и эндотелия HUVEC человека. Оба препарата не вызывали гибель этих клеток при концентрациях в 10 мкг/мл, что 1000 раз превышает эффективные дозы препаратов.

Благодаря высокой биологической активности и отсутствию цитотоксичности на нормальных клетках, препарат DR5-специфического мутантного варианта TRAIL DR5-B может служить эффективным средством для терапии опухолей, устойчивых к TRAIL дикого типа.

**Оценка рекомбиногенной активности топоизомеразных ядов  
с использованием модельной ДНК-конструкции в культуре клеток человека**

**Ефимова В.С., Рубцов М.А.**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
vera33-22@mail.ru*

Проблема лечения раковых заболеваний весьма актуальна в современном мире. Одним из современных терапевтических подходов является применение так называемых топоизомеразных ядов — ингибиторов эукариотических ДНК-топоизомераз. Данные лекарственные препараты имеют существенный побочный эффект: блокирование топоизомераз приводит к накоплению двухцепочечных разрывов в клетке, их некорректной репарации и, как следствие, к образованию хромосомных транслокаций, вызывающих нарушение регуляции генов в клетке. Известно, что такие события могут приводить к развитию у пациентов т.н. «обусловленных лечением» («treatment related»), или «вторичных», лейкозов.

Оценивать рекомбиногенную активность топоизомеразных ядов в *in vitro* системах и с использованием лабораторных животных не представляется разумным, так как при первом подходе не учитывается влияние многих клеточных процессов и механизмов, а второй подход длителен и требует существенных финансовых затрат. В связи с этим, целью настоящей работы явилось создание тест-системы для *in vivo* определения рекомбиногенной активности противораковых лекарственных препаратов в культуре клеток человека.

На основе плазмиды рсDNA-3.1, была создана модельная генетическая конструкция, в которой промотор (рCMV) и «репортерный» ген (GFP) разделены кодирующей последовательностью гена красного флуоресцентного белка mCherry, фланкированной сильными негомологичными сайтами связывания/расщепления эукариотической ДНК-топоизомеразы II. При транзientной трансфекции в культивируемые клетки человека такая «разделяющая вставка» должна обеспечивать экспрессию белка mCherry и блокировать экспрессию GFP. В случае обработки клеток, несущих данный конструкт, ингибитором ДНК-топоизомеразы II может происходить рекомбинация между сайтами связывания/расщепления топоизомеразы, в результате чего будет делетироваться «разделяющая вставка» и активироваться экспрессия GFP. Таким образом, вывод о рекомбиногенности того или иного препарата можно будет сделать на основе прямого наблюдения обрабатываемых клеток с помощью флуоресцентной микроскопии.

Для проверки «работоспособности» такой конструкции, мы заменили сайты связывания ДНК-топоизомеразы II на LoxP-сайты и сделали котрансфекцию клеток НЕК293 полученной плазмидой совместно с плазмидой, несущей ген рекомбиназы Cre. Мы показали, что в этом случае в клетках действительно происходит рекомбинация и наблюдается экспрессия GFP.

*Работа выполнена при частичном финансировании из средств ГК 16.740.11.0629, соглашения №8800 (Министерство образования и науки Российской Федерации), гранта 12-04-33031\_мол\_а\_вед, 12-04-31338\_мол\_а (РФФИ) и гранта компании ООО «ОПТЭК».*

**Влияние структурных элементов новых производных антрахинона  
на аффинность и избирательность связывания с теломерным G-квадруплексом**

**Ильинский Николай Сергеевич<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт Молекулярной Биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;*

<sup>2</sup>*Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*

*ilinsky\_nick@mail.ru*

Антрациклиновые антибиотики — основной класс препаратов для противоопухолевой химиотерапии. Для преодоления побочных эффектов, усиления действия на клетки с множественной лекарственной устойчивостью в НИИ ИНА им. Г.Ф. Гаузе синтезирован ряд оригинальных гетероаренантрахинонов. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина для части соединений показаны цитотоксичность, ингибирование теломеразы, топоизомеразы I. Для определения влияния разных элементов химической структуры соединений на наличие и селективность

антителомеразного действия измерялся *in vitro* стабилизационный эффект лигандов на теломерный G-квадруплекс.

Изучено взаимодействие четырёх групп соединений с двуцепочечной тимусной ДНК и внутримолекулярным теломерным G-квадруплексом. Использовались методы кругового дихроизма, УФ-поглощения и безызлучательного переноса энергии (*FRET*).

Плавление флуоресцентно меченых олигонуклеотидов по *FRET* позволило отобрать лиганды, значительно стабилизирующие G-квадруплекс ( $\Delta T_{1/2} = 14$  °C). Некоторые соединения имели высокую избирательность стабилизации квадруплекса, однако для большинства стабилизационный эффект заметно уменьшался в присутствии двуцепочечной ДНК. Спектры кругового дихроизма и поглощения в 295 нм G-квадруплекса отражали частичную денатурацию структуры в присутствии соединений. Однако эффективность переноса энергии между метками, пришитыми к концам теломерного олигонуклеотида, в присутствии лигандов не уменьшалась, то есть сахарофосфатный остов остаётся свёрнутым.

Таким образом, найден потенциальный квадруплексный лиганд, который имеет высокую аффинность и избирательность связывания с теломерным G-квадруплексом. Стабилизация квадруплекса снижает активность теломеразы, что является одним из механизмов селективной противоопухолевой токсичности. Наличие нескольких мишеней может усилить действие на резистентные клетки. Определено, что гуанидиниевый заместитель боковой цепи, фурановый гетероцикл усиливают стабилизацию квадруплекса. Наличие двух боковых цепей необходимо для связывания. Впервые для малых молекул показано структурное воздействие на теломерный G-квадруплекс. Расширено представление о механизме действия антрахиноновых соединений, в том числе митоксантрона, на ДНК.

*Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-0038а.*

### **Роль продукта гена *PHO87* в устойчивости к ортованадату**

**дрожжей *Ogataea polymorpha* и *O. parapolymorpha***

**Каргинов Азамат Валерьевич, Агафонов Михаил Олегович**

*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, Россия*

*karginovaz@mail*

Чувствительность дрожжей к токсичному аналогу фосфата, ортованадату, связана со способностью этого аниона проникать в клетку. Концентрация его в среде, при которой дрожжи могут расти, на порядки выше той, которая допустима в цитозоле. В литературе существует ряд предположений о механизмах защиты дрожжевых клеток от этого яда, однако экспериментальных подтверждений они пока не получили. Для изучения этих механизмов в качестве модели мы использовали два близкородственных вида термотолерантных метилотрофных дрожжей, *Ogataea polymorpha* и *O. parapolymorpha*, которые при большом сходстве имеют радикально разную природную устойчивость к ортованадату: первый вид существенно более устойчив, чем второй. Нами был проведен поиск генов, мутации в которых изменяют устойчивость к ортованадату. В результате был идентифицирован ген, кодирующий гомолог низкоаффинного переносчика фосфата плазмалеммы. У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* есть два гена, кодирующих белки с этой функцией *PHO87* и *PHO90*. Кроме идентифицированного гена в геноме *O. polymorpha* не выявляется других потенциальных ортологов этих генов *S. cerevisiae*. Поэтому идентифицированный ген был обозначен в соответствии с его ближайшим гомологом из *S. cerevisiae* как *PHO87*.

Инактивация гена *PHO87* у *O. parapolymorpha* приводила к увеличению устойчивости к ортованадату, а введение гена *O. parapolymorpha* в геном *O. polymorpha* ее снижало. Замена этого гена в геноме *O. parapolymorpha* на ген из *O. polymorpha* приводило к увеличению устойчивости. Анализ количества продукта этого гена в разных рекомбинантных штаммах показал, что разное влияние этих генов на устойчивость к ортованадату связано не уровнем их экспрессии, а с функциональными свойствами их продуктов. Известно, что в клетках *S. cerevisiae* Pho87p является не только переносчиком, но и сенсором внешнего фосфата. Полученные нами данные позволяют предполагать, что у Pho87p *O. polymorpha* сильнее выражена функция сенсора, а у Pho87p *O. parapolymorpha* — функция переносчика.

## **Влияние модификаций порфирина TMRyP4 на его взаимодействие с ДНК**

**Ковалёва Оксана Алексеевна**

*Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

*oksanakov2005@yandex.ru*

ДНК является одной из перспективных мишеней для терапии онкологических заболеваний. Катионный порфирин TMRyP4 и его производные относятся к ряду веществ, являющихся перспективными для ФДТ онкологических заболеваний. В связи с этим важно установить влияние модификаций порфирина на аффинность к ДНК.

Методами спектроскопии, флуоресцентного анализа и кругового дихроизма (КД) охарактеризованы комплексы новых производных катионного порфирина TMRyP4 (P4) с ДНК различной последовательности и структуры. Изучено производное: 5,10,15,20-тетраакис(N-карбоксиметил-4-пиридиный)порфирин (P1), а также его модификации, заключающиеся в введении ионов металлов Zn, Ni, Co в ядро порфиринового макроцикла.

Установлена высокая аффинность молекул P1 к структуре антипараллельного квадруплекса (TelQ) d(TTAGGG)<sub>4</sub>, и определено образование двух типов комплексов с TelQ ( $K_1=(40\pm 6)\times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ,  $N_1=1$ ;  $K_2=(5,4\pm 0,4)\times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ,  $N_2=2$ ), что на порядок выше чем с ДНК тимуса теленка ( $K_1=(3,4\pm 0,2)\times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ). Охарактеризованы места связывания порфирина P1 на TelQ: сильный тип комплекса определяется взаимодействием с ТТА петлями, более слабый — с G-квартетами. При взаимодействии с двойной спиралью ДНК установлено предпочтительное сродство к GC парам. Методом КД показано изменение конформации TelQ при адсорбции молекул P1, возможно связанное с разрушением одного G-квартета в комплексе TelQ:P1. Таким образом, показано высокое сродство к антипараллельному TelQ квадруплексу.

Введение металлов не значительно влияет на аффинность соединений к ДНК, однако тип взаимодействия соединений с ДНК значительно изменяется. Внедрение Zn делает соединение бороздочным лигандом, введение Ni — интеркалятором, в отличие от безметальной формы P1, который образует два типа комплекса с дуплексом ДНК. Co, напротив, снижает константу связывания с ДНК. Исследования открывают перспективы для направленной модификации соединений данного ряда с целью создания аналога высокоспецифичного к структурам G-квадруплекса ДНК, играющим важную роль в злокачественном перерождении клетки. Данные соединения помогут увеличить эффективность лечения и снизить риск побочных эффектов.

*Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (12-04-00929).*

## **Разработка клеточных моделей для исследования влияния области VNTR муцина MUC1 на метастатический потенциал опухолевых клеток человека *in vitro***

**Кондратенко Юлия Дмитриевна, Рубцов Михаил Александрович, Сыркина Марина Сергеевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*azzzkita@gmail.com*

Появление у опухолевых клеток способности к метастазированию, как правило, ассоциировано с неблагоприятным прогнозом для пациента. Молекулярные механизмы, приводящие к изменению метастатического потенциала клеток активно исследуются на протяжении нескольких десятилетий. Установлено, что в данном процессе активно принимают участие молекулы, взаимодействующие с внеклеточным матриксом или с молекулами клеточной адгезии. Природный MUC1 представляет собой гетеродимер, в котором экстрацеллюлярная N-концевая субъединица, содержащая область tandemных повторов (VNTR), ассоциирована с C-концевой субъединицей, содержащей трансмембранный (TM) и цитоплазматический (CT) домены. Предположения о роли муцина MUC1 в процессе метастазирования высказывались с тех пор, как было установлено, что при злокачественной трансформации клетки данный гликопротеид теряет свою апикальную локализацию и приобретает периферическую. Однако непосредственное влияние области VNTR муцина MUC1 на способность опухолевых клеток к метастазированию остается не выясненным.

Методами генетической инженерии на основе экспрессионного вектора pEGFP-N3 были получены конструкции, кодирующие различные комбинации функциональных фрагментов муцина MUC1, содержащие и не содержащие область VNTR, а также маркеры для идентификации синтезируемых химерных белков (FLAG-эпитоп и EGFP). Для создания клеточных моделей использовались культивируемые клетки линии HT-29 с низким уровнем экспрессии эндогенного муцина MUC1, которые были транзientно трансфицированы полученными конструкциями. Экспрессию химерных белков идентифицировали по флуоресценции EGFP, благодаря чему нам удалось предварительно оценить различия в локализации исследуемых слитых белков в зависимости от наличия в их составе различных функциональных фрагментов муцина MUC1 человека.

В результате работы нами были созданы клеточные модели для исследования влияния области VNTR муцина MUC1 на способность опухолевых клеток к метастазированию. В дальнейшем полученные модели могут быть использованы для оценки подвижности опухолевых клеток *in vitro*, что принято считать критерием их метастатического потенциала.

Работа выполнена при частичном финансировании из средств ГК 16.740.11.0629, 8800 (Министерство образования и науки Российской Федерации), грантов 12-04-31721-мол-а 12-04-31338-мол-а, 12-04-33031-мол-а-вед (РФФИ) и гранта компании ООО "ОПТЭК" ЛСС.

### **Получение активной рекомбинантной дестабилазы *Hirudo medicinalis***

**Курдюмов Алексей Сергеевич<sup>1,2</sup>, Манувера Валентин Александрович<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (ГУ), Москва, Россия

<sup>2</sup>НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

*aleks-kuzmaland@bk.ru*

Дестабилаза медицинской пиявки — полифункциональный фермент беспозвоночных. Во-первых, её действие направлено на растворение стабилизированного D-димера до мономеров путём изопептидолиза связей  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)-Lys, что приводит к медленному разрушению старых, преобразованных тромбов. Во-вторых, была выявлена лизоцимная активность при разрушении клеточных стенок *Micrococcus lysodeikticus*. В-третьих, фермент, лишённый мурамидазной активности, блокирует рост многих микроорганизмов, и эта способность сравнима с активностью многих известных антибиотиков.

Цель работы — получение активной рекомбинантной дестабилазы (Dst) и изучение её свойств. Активную рекомбинантную дестабилазу получали и ранее, однако предложенная методика характеризовалась низким выходом конечного продукта и высокой трудоёмкостью. Свойства данного фермента были изучены не в полной мере. Поэтому была поставлена задача оптимизировать процесс получения рекомбинантной Dst и более полно определить характеристики её ферментативной активности.

Для получения рекомбинантного белка, были получены конструкции на основе коммерческих плазмид серии pET (Novagen, США), несущие структурную часть гена дестабилазы. Имеются варианты, кодирующие Dst с C- или N-концевыми гексагистидовыми мотивами, а также Dst без дополнительных участков. Данными плазмидами были трансформированы клетки *E. coli* штамма BL21(DE3)-gold. Для полученных штаммов-продуцентов были подобраны условия культивирования, обеспечивающие максимальный выход белка, который накапливался в виде телец включения. Дестабилазу с полигистидиновыми последовательностями выделяли с помощью афинной металл-хелатной хроматографии и затем ренатурировали диализом. Дестабилазу без данной последовательности сначала ренатурировали диализом, потом выделяли с помощью ионообменной хроматографии. Для определения лизоцимной активности был разработан метод, основанный на определении концентрации выделившегося белка из клеток *E. coli* штамма BL21(DE3)-gold после обработки исследуемыми ферментами. Определены оптимальные условия работы дестабилазы (pH = 8.75–9; I = 0.3–0.4M). Лизоцимная активность полученных ферментов составляет 70 % от активности лизоцима яичного белка. Определен уровень выживаемости клеток после обработки их дестабилазой. Титр живых клеток после обработки Dst на порядок меньше, чем в необработанной культуре, а после обработки яичным лизоцимом — на два.

## Получение биотинилированного *in vivo* фотопротеина обелина при экспрессии в *E. coli*

**Ларионова Марина Дмитриевна**

*Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, Россия*

*larionova.marina@inbox.ru*

Производные  $\text{Ca}^{+2}$ -регулируемого фотопротеина обелина, включая его биотинилированные формы, применяются в качестве биолюминесцентных меток в ряде аналитических приложений. Химическое биотинилирование обелина приводит к частичной потере биолюминесцентной активности (до 30 %), кроме того, полученный препарат является гетерогенным. В данной работе описано получение обелина, эффективно биотинилируемого *in vivo* при экспрессии в *E. coli*.

Высокий уровень синтеза обелина в *E. coli*, составляющий до 70 % от тотального клеточного белка, был достигнут при использовании экспрессионной системы рЕТ. Для биотинилирования обелина *in vivo* использовали слитый с его N-концом искусственный биотин-акцепторный пептид, один из сконструированных при изучении субстратной специфичности биотин-лигазы BirA *E. coli*. Однако, лишь 10–15 % синтезируемого обелина содержали биотин, что предположительно связано с малым количеством внутриклеточной биотин-лигазы. Чтобы преодолеть это ограничение, ген биотин-лигазы был включен в экспрессионную конструкцию обелина. Амплифицированный из генома *E. coli* ген *birA* был помещен за геном обелина через трансляционное ATGA стоп-старт перекрывание, аналогичный прием используется для трансляции *birA* в *E. coli* и обеспечивает меньший уровень экспрессии нижележащего гена. ДНК-связывающий домен в BirA, являющийся репрессором биотин-синтазного оперона, был удален для улучшения экспрессионных характеристик полученного штамма-продуцента.

Синтезируемый с полученной конструкции обелин метаболически биотинилировался с высокой эффективностью — до 90 %, а также обладал свойствами, характерными для белка дикого типа. Для демонстрации возможности использования полученного белка в качестве метки в биолюминесцентном иммуноанализе был проведен модельный твердофазный анализ, в котором препарат показал большую чувствительность в сравнении с химически биотинилированным обелином.

*Данная работа проводилась на базе лаборатории фотобиологии Института биофизики СО РАН при поддержке Правительства Российской Федерации в рамках государственной программы по привлечению ведущих ученых в российские учреждения высшего профессионального образования (грант № 11.G34.31.058).*

## Роль остатка Gln117 для взаимодействия никотиновых ацетилхолиновых рецепторов альфа 7 типа с эпибатином

**Мерцалов Григорий Валентинович, Кудрявцев Денис Сергеевич**

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

*mertsalovgrigoriy@gmail.com*

Нейрональные никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR), являющиеся лиганд-управляемыми ионными каналами, участвуют во многих процессах высшей нервной деятельности и повсеместно распространены в нервной системе; при нарушениях они оказываются вовлечены в развитие тяжелых нейродегенеративных заболеваний. Типичным представителем этого семейства рецепторов является nAChR  $\alpha 7$  типа. Особый интерес представляет гомологичный ему nAChR  $\alpha 9$  типа, который взаимодействует с некоторыми лигандами иначе, чем остальные никотиновые рецепторы. Так, например, известные агонисты nAChR никотин и эпибатин являются для него антагонистами. Данное исследование посвящено изучению молекулярных основ различий функционального ответа  $\alpha 9$  и  $\alpha 7$  никотиновых рецепторов на эпибатин. С помощью вычислительных методов были получены

модели комплексов  $\alpha 7$  и  $\alpha 9$  nAХР с эписбатидином, и были выбраны аминокислотные остатки, предположительно важные для их взаимодействия; по этим положениям в последовательность  $\alpha 7$  nAХР методом направленного мутагенеза были внесены точечные замены, соответствующие гомологичным остаткам в  $\alpha 9$  nAХР. Затем, мутантные рецепторы были экспрессированы в ооцитах *Xenopus laevis*, и с помощью электрофизиологических методов исследовались токи через эти рецепторы при добавлении эписбатидина и ацетилхолина. В результате проведенных измерений была обнаружена аминокислотная замена в  $\alpha 7$  рецепторе Q117T, которая изменяла его ответ на эписбатидин. Мутантный рецептор не активировался в ответ на аппликацию эписбатидина в концентрациях, достаточных для активации рецептора дикого типа. При этом сохранялся его нормальный ответ на ацетилхолин. Таким образом, измененный рецептор не утратил своей функциональности, но его фармакологические свойства приблизились к  $\alpha 9$  типу, так как эписбатидин перестал выступать для него в роли агониста. Это свидетельствует о том, что аминокислотный остаток Gln117, действительно, важен для взаимодействия  $\alpha 7$  nAХР с эписбатидином, и его отсутствие у  $\alpha 9$  типа может объяснять то, что данный лиганд является для него антагонистом.

### **Исследование регуляторных свойств архейного рибосомного белка L4 в системах *in vitro* и *in vivo***

**Михайлина А.О., Шкляева А.А., Костарева О.С.**

*Институт белка РАН, Пущино, Россия*

*lisenok020388@mail.ru*

В бактериях экспрессия генов рибосомных белков в большинстве оперонов регулируется по принципу «обратной связи». Известно, что экспрессия 11 генов S10 оперона *Escherichia coli* регулируется рибосомным белком L4 на уровне трансляции и транскрипции; участок связывания белка L4 расположен в некодирующей лидерной 172-нуклеотидной области мРНК, расположенной с 5'-конца от первого гена – S10. Регуляция синтеза рибосомных белков в археях слабо изучена. Область архейного S10-подобного оперона отличается от бактериальной, она короче и первым геном является ген рибосомного белка L3 (*rpl3*), причём 5'-нетранслируемая область мРНК *rpl3* не содержит детерминант, похожих на участок связывания бактериального белка L4.

Целью данной работы является исследование регуляторных свойств архейного рибосомного белка L4 в системах *in vitro* и *in vivo*. В работе использованы методы генной инженерии. Ранее нами было показано, что в сопряженной системе транскрипции-трансляции *in vitro* рибосомный белок L4 из археи *Methanococcus jannaschii* (MjaL4) специфически ингибирует синтез белка L3 из того же организма (MjaL3) на матрице содержащей, кроме *rpl3*, 25 нуклеотидов (н.о.) 5'-нетранслируемой области (5'-НТО) мРНК. Причём, MjaL4 не взаимодействует с фрагментом мРНК MjaL3, лишённым лидерной последовательности, что свидетельствует о том, что участок связывания белка находится в лидерной части мРНК MjaL3 и ограничен 25 нуклеотидами. Для того чтобы исследовать регуляторные свойства MjaL4 в системе *in vivo*, на основе вектора pETDuet-1 нами созданы две генетические конструкции, одна из которых содержит ген репортерного белка (зелёный флуоресцентный белок GFP), а другая служит для коэкспрессии генов белков MjaL4 и GFP, слитого с 25-нуклеотидным регуляторным фрагментом 5'-НТО мРНК MjaL3. Мы будем анализировать экспрессию репортерного гена, трансляция которого направляется регуляторным элементом, в норме и при избытке белка-регулятора MjaL4 *in trans* (синтезируемого с плазмиды). Уровень синтеза репортерного белка планируется измерять по его флуоресценции. Таким образом, регуляторные свойства MjaL4 будут исследованы нами в системе *in vivo*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-31121 мол\_а) и Программы МКБ РАН.*

## Мобильные элементы как вероятный источник клональной изменчивости

### *Himasthla elongata* (Echinostomatida)

Соловьева Анна Ивановна

ИНЦ РАН, Санкт-Петербург, Россия

*orcinuca@gmail.com*

Изучение геномов паразитических червей представляет актуальную фундаментальную задачу. Известно, что трематоды имеют сложный жизненный цикл, протекающий с чередованием партеногенетических и гермафродитного поколений. На некоторых стадиях размножение осуществляется путем диплоидного партеногенеза. Принято считать, что при диплоидном партеногенезе не происходит никаких генетических перестроек и все продуцируемые особи — клоны. Однако использование ДНК-маркеров позволило установить генетическую неоднородность клонов дочерних спороцист, редий и церкарий у некоторых объектов. Одной из причин перестроек генома может быть активность мобильных элементов — ДНК-транспозонов и ретропозонов.

Для изучения возможной роли транспозонов в формировании клональной изменчивости партенит трематод в качестве объекта выбрали *Himasthla elongata* из высокопатогенного семейства *Echinostomatida*. Изоляты редий и церкарий *H. elongata* выявляли в первом промежуточном хозяине *Littorina littorea* (Gastropoda). Особь *L. littorea* несет группировку партенит, произошедших из одного мирацидия и представляющих собой генетически идентичные клоны. Настоящее исследование провели на уровнях пулов церкарий, выделенных из особей *L. littorea*, и отдельных церкарий. С помощью основанного на специфической двухступенчатой амплификации рестрикционных фрагментов метода S-SAP (Sequence-specific amplification polymorphism) с праймером Hind+cag, меченым  $\gamma$ -P<sup>33</sup>, и последующей автордиографией получены картины распределения продуктов, характеризующие отдельные особи церкарий. Путем клонирования некоторых консервативных и варибельных зон выявлены участки обратной транскриптазы non-LTR ретроэлементов семейства CR1 и интергразы LTR-элемента семейства Sac1. Принадлежность клонированных участков к геному объекта подтверждена методом флуоресцентной гибридизации *in situ* на ядра и хромосомы *H. elongata*. В ходе анализа полученных последовательностей мы обнаружили копии, не содержащие стоп-кодонов, что может указывать на потенциальную активность данных ретроэлементов.

В совокупности с литературными данными об экспрессии и активности повторов классов LINE и LTR в раннем эмбриогенезе, полученные нами результаты могут свидетельствовать о вероятной активности ретроэлементов на стадии развития церкарий. Более того, присутствие ретротранспозонов в геноме может приводить к разного рода перестройкам за счет антипараллельно ориентированных копий и наличия длинных концевых повторов.

Автор выражает благодарность научному руководителю Галактионову Н.К. и д.б.н. Подгорной О.И. Работа выполнена при поддержке гранта президиума РАН (МКБ).

## Влияние фактора элонгации eEF1 на терминацию трансляции эукариот

Сусоров Денис Сергеевич

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

*sinusorov@yandex.ru*

В ходе биосинтеза белка к транслирующей рибосоме присоединяются особые белки — трансляционные факторы. У эукариот факторы терминации eRF3 и элонгации eEF1A доставляют в А-сайт рибосомы соответственно eRF1 (фактор гидролиза связи пептидил-тРНК) и аминоксил-тРНК. У архебактерий функции доставки выполняет один белок (aEF1), что в купе с высокой гомологией eRF3, eEF1A и aEF1 позволяет предположить возможность перекрёстной активности эукариотических факторов в процессе биосинтеза белка. В нашей работе мы изучали влияние фактора элонгации eEF1 на терминацию трансляции эукариот. Для исследования мы использовали реконструированную *in vitro* систему трансляции эукариот, метод toe-print для определения положения рибосомного комплекса, с помощью меченых аминоксил-тРНК следили за кинетикой гидролиза связи пептидил-тРНК в ходе терминации трансляции. Метод toe-print основан на реакции обратной транскрипции. Величина кДНК

фрагментов означает расстояние, которое проходит ревертаза до встречи с препятствием — рибосомой, и отражает таким образом движения самой рибосомы. В ходе исследования мы показали, что в процессе терминации происходит характерный сдвиг toe-print сигнала, который наблюдается при добавлении eRF1, а при добавлении eRF3 имеет гораздо большую интенсивность. Аналогичный результат был получен для смеси eRF1 и eEF1, но только в присутствии аминоктил-тРНК. В ходе изучения гидролиза пептидил-тРНК было показано, что eRF1 имеет низкую собственную гидролизную активность, которая возрастает при добавлении eRF3. Увеличение активности наблюдалось и при добавлении аминоктил-тРНК и eEF1, однако имело гораздо меньшую интенсивность. Из всего этого мы сделали следующие выводы: элонгационный фактор эукариот eEF1 в присутствии аминоктил-тРНК стимулирует конформационный переход терминационного комплекса аналогично терминационному eRF3, eEF1 в присутствии аминоктил-тРНК увеличивает эффективность гидролиза пептидил-тРНК фактором eRF1.

**Влияние белков AmtB, GlnK и глутаминсинтетазы  
на активность фактора транскрипции TnrA в клетках *Bacillus subtilis***

*Тарасов Николай Викторович*

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, ИФМиБ, Казань, Россия  
nikmilton1@gmail.com*

Фактор транскрипции TnrA регулирует экспрессию генов азотного обмена в клетках *Bacillus subtilis* и активен при недостатке азота в восстановленной форме. На сегодняшний день описано его взаимодействие с глутаминсинтетазой (GS), связывание с цитоплазматической мембраной через белок GlnK и протеолиз в условиях отсутствия источника азота. Недавно было показано, что комплекс с TnrA может формировать также и активная форма GS, однако вопрос, активен ли в этом случае белок, остается открытым, поэтому целью работы явилось установить *in vivo* влияние этих белков на активность фактора транскрипции TnrA.

Установлено, что в штамме дефектном по белку AmtB наблюдается повышенная активность фактора транскрипции TnrA по сравнению с диким штаммом, вероятно, за счет дефицита азота внутри клеток в отсутствие белка AmtB, который осуществляет транспорт  $\text{NH}_4^+$  в клетки. А в штамме дефектном по белку GlnK активность фактора транскрипции TnrA оказалась ниже исходного штамма. Возможно, это можно объяснить конститутивным образованием комплекса GS-TnrA в этом штамме, что подавляет активность фактора TnrA независимо от доступности азота для клетки. Активность фактора транскрипции TnrA в штамме дефектном по гену GS, была в 7 раз выше, чем в исходном штамме. Это позволяет сделать вывод, что активность фактора транскрипции TnrA в исходном штамме частично подавлена, несмотря на высокую активность GS. По всей видимости, и активная форма GS может подавлять активность TnrA, что согласуется с данными о взаимодействии активной GS с TnrA *in vitro*. Полученные данные позволяют сделать заключение, что и активная форма GS способна подавлять активность TnrA, а не только ингибированная форма, как сообщалось ранее, и активность фактора транскрипции TnrA в клетках бацилл, по всей видимости, определяется его конкурентным взаимодействием с белком GlnK и глутаминсинтетазой.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и гранта РФФИ 12-04-31472 мол\_а.*

**Белок Chromator взаимодействует с белками Su(Hw) зависимого инсуляторного комплекса  
*Drosophila melanogaster***

**Шаповалов Игорь Сергеевич, Головнин Антон Клеменсович**

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

*igor.shapovalov.193.5@gmail.com*

Одним из компонентов Su(Hw)- и CTCF-зависимых инсуляторов *Drosophila melanogaster* является белок CP190. Среди белков-партнеров CP190 был обнаружен ранее описанный белок Chromator (Chriz). Chromator участвует в образовании веретена деления в митозе. Локализация Chromator в интербэндах политенных хромосом свидетельствует о возможной роли в поддержании структуры хроматина. В настоящее время функциональная роль Chromator не выяснена. Неизвестны белки-партнеры, которые совместно с Chromator формируют хроматин-организующие комплексы. Вероятно, что белки — компоненты инсуляторных комплексов могут взаимодействовать с Chromator и участвовать в организации структуры хроматина.

В составе Chromator выделяют N-концевой консервативный домен, C-концевой домен с отрицательно заряженным участком, и консервативный положительно заряженный участок между ними. Тестирование взаимодействия Chromator с компонентами Su(Hw)-зависимого инсуляторного комплекса в дрожжевой двугибридной системе показало, что Chromator взаимодействует с белками Mod(mdg4)-67.2 и CP190, но не взаимодействует с белком Su(Hw). Для взаимодействия с обоими белками необходимы C-концевой домен и положительно заряженный участок Chromator. Mod(mdg4)-67.2 взаимодействует с Chromator через ВТВ-домен и глутамин богатый район, а CP190 — через М-домен и, частично, «цинковые пальцы». Полученные результаты подтверждены экспериментами по коиммунопреципитации Chromator с компонентами белкового комплекса Su(Hw) инсулятора. Chromator соосаждался с белками Mod(mdg4)-67.2 и CP190, а также с белком Su(Hw). Это доказывает, что Chromator является компонентом изучаемого инсуляторного комплекса. В экспериментах GST pull down было показано, что GST-Chromator осаждает полноразмерный CP190 и, в меньшей степени, CP190 с делетированным М-доменом. При иммуноокрашивании политенных хромосом слюнных желез дрозофилы наблюдалась почти полная колокализация Chromator с CP190, но лишь частичная — с Mod(mdg4)-67.2. Иммуноокрашивание ядер клеток S2 дрозофилы показало, что Chromator частично колокализуется с CP190 и Mod(mdg4)-67.2 в «инсуляторных тельцах». В настоящий момент нами доказано, что Chromator присутствует в составе Su(Hw)-зависимого инсуляторного комплекса. Далее мы планируем изучать функциональную роль Chromator в системе *in vivo*.

**С-концевой домен фактора транскрипции Tnra из *Bacillus subtilis* контролирует  
активность ДНК-связывающего домена, но не участвует в димеризации белка**

**Шарафутдинов Иршад Султанович**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, ИФМиБ, Казань, Россия*

*irwad@yandex.ru*

Фактор транскрипции Tnra, представитель семейства MerR регуляторов транскрипции, у *Bacillus subtilis* контролирует гены белков азотного метаболизма в условиях недостатка азота в среде. Как все ДНК-связывающие белки, он находится в клетках в димерной форме, однако сайт димеризации не установлен. Множественное выравнивание белков гомологов Tnra разных видов бацилл позволило выявить потенциальные сайты димеризации. С учетом ранних данных, что 27 аминокислотных остатков с С-конца белка Tnra не отвечают за димеризацию, вероятно, 8 из 10 предполагаемых аминокислот С-конца (D68, G69, D78, K82, D89, K95, G99, N102) не являются критичными для димеризации. Несмотря на высокую гомологию, белок Tnra обладает другой четвертичной структурой. Вероятно, это связано с различиями в механизмах передачи сигнала, тогда как эффекторами для белков MerR являются ионы металлов, связывающиеся с С-концевым доменом, белок Tnra взаимодействует с белком GlnK и глутаминсинтетазой.

Способность рекомбинантных белков TngA к димеризации определяли методом поперечных сшивок в присутствии глутарового альдегида в качестве сшивающего агента. Продукты реакции сшивки анализировали в 15%-ном SDS-ПААГ с последующим иммуноблоттингом. Результаты были подтверждены методом гельфильтрации на колонке SuperDex 200 10/300 GL (Sigma, США) в системе ВЭЖХ (Waters breeze2, США). На хроматограммах были идентифицированы два пика, соответствующие массам мономеров и димеров дикого и всех мутантных белков TngA. Методом поверхностного плазмонного резонанса установлено, что удаление аминокислотных остатков с С-конца не инактивирует ДНК-связывающую активность этого фактора транскрипции, а наоборот приводит к увеличению аффинности к ДНК. Это позволяет сделать вывод, что С-концевой домен в полноценном белке участвует в контроле его ДНК-связывающей активности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и гранта РФФИ 12-04-31472 мол\_а.*

**Белковый комплекс Tag7-Hsp70 убивает опухолевые клетки,  
взаимодействуя с рецептором TNFR1 клеточной поверхности**

***Шелудченков Антон Александрович***

*Институт биологии гена РАН, Москва, Россия*

*antonio@phystech.edu*

В нашей лаборатории открыт белковый комплекс Tag7-Hsp70, способный убивать опухолевые клетки. При добавлении Tag7-Hsp70 в наномолярных концентрациях к клеткам линии L-929 (мышьяная фибросаркома) обнаружено 2 пика гибели: через ~3 ч (гибель ~15 %) и через ~20 ч (гибель ~25 %). Цель работы состояла в исследовании механизмов, запускаемых в опухолевых клетках при воздействии на них Tag7-Hsp70.

Культура клеток линии L-929 (мышьяная фибросаркома) выращивалась на среде DMEM, рекомбинантные белки Tag7 и Hsp70 экспрессировались в штаммах *E. coli*. Для пиков гибели мы проанализировали активности каспаз 3 и 8, провели ингибиторный анализ участия внутриклеточных органелл и поверхностного рецептора TNFR1. Была проведена аффинная хроматография мембранных белков клеток линии L-929 на колонке, заполненной Tag7-Hsp70, с последующим SDS-PAGE и MALDI-анализом полученных белковых фракций с целью поиска рецептора, с которым мог бы связываться Tag7-Hsp70.

Мы обнаружили признаки апоптоза и некроптоза, проявляемые клетками линии L-929 через ~3 ч и через ~20 ч, соответственно, после добавления Tag7-Hsp70 в конечной концентрации ~1 нМ. Активность каспаз 3 и 8 оказалась необходима для запуска клеточной смерти через ~3 ч, но не через ~20 ч. Клеточная смерть через ~20 ч устранялась предварительной инкубацией клеток с молекулой-ингибитором киназной активности RIP1-киназы Nec-1, а также с антителами к рецептору TNFR1. Ингибиторный анализ позволил установить участие АФК и митохондрий в запуске клеточной смерти через ~20 ч. Аффинная хроматография мембранных белков L-929 и последующий MALDI-анализ позволили установить, что рецептор TNFR1 поверхности L-929 способен связываться с комплексом Tag7-Hsp70.

В результате работы мы установили два механизма клеточной смерти: апоптоз и некроптоз, — запускаемые в опухолевых клетках линии L-929 через ~3 ч и через ~20 ч, соответственно, после их обработки белковым комплексом Tag7-Hsp70. Получены данные в пользу того, что клеточная смерть запускается при связывании комплекса Tag7-Hsp70 с рецептором TNFR1 поверхности L-929. Таким образом, белковый комплекс Tag7-Hsp70 претендует на роль нового, не известного ранее, лиганда для мембранного рецептора TNFR1.

## Подсекция «НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ ВНД»

### Новые возможности использования препарата «Семакс»

*Айдарова Анна Валериевна*

*Медицинский институт «РЕАВИЗ», Самара, Россия*

*grmvadarja@rambler.ru*

В настоящее время в клинической практике широко используются вещества с ноотропными свойствами. Одним из самых распространённых представителей данной группы является препарат «Семакс». Основными показаниями к применению ноотропа являются: атрофия зрительного нерва, черепно-мозговые травмы, профилактика инсульта, постнаркозные состояния. Однако нами было установлено, что препарат «Семакс» способен оказывать положительное действие на когнитивные процессы и при воздействии на организм других стрессовых факторов.

Исследование проводилось на половозрелых крысах массой 160–180 гр. в два этапа. Все животные содержались при стандартном сбалансированном рационе и свободном доступе к воде. На первом этапе эксперимента формировали две группы животных. Первая группа (контрольная) содержалась в условиях естественного светового режима. Вторая (подопытная) группа в течение всего времени наблюдения подвергалась воздействию круглосуточного освещения от люминесцентной лампы интенсивностью 300 ЛК (модель развития дисфункции циркадианной системы, возникающей у людей, работающих в ночные смены). Тестирование животных проводилось с использованием стандартной методики «Открытое поле» до начала эксперимента и на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й неделях содержания животных в соответствующих условиях освещённости. Спустя 28 дней половине животных из каждой группы интраназально в течение 5 дней вводили ноотропный препарат «Семакс» в объёме 0,2 мл, после чего животных вновь тестировали.

Во втором этапе исследования также принимали участие две группы животных. Контрольная группа в течение 21 дня подвергалась хроническому воздействию 15 % раствора этанола, который содержался в поилках вместо воды (модель развития хронической алкогольной зависимости). Животные второй группы содержались в тех же условиях, но они ежедневно интраназально получали ноотропный препарат «Семакс». Схема и сроки тестирования животных были прежними.

Полученные данные показывают, что хроническая световая экспозиция привела к значительному снижению горизонтальной и вертикальной двигательной активности. Однако, после использования изучаемого препарата уровень двигательной активности практически полностью восстановился, в то время как изменения, у животных не получавших препарат, носили стойкий характер.

Положительный эффект препарата был отмечен и при хронической алкоголизации животных. Под воздействием этанола значительно изменился характер исследовательского поведения. В контрольной группе к концу наблюдения было зарегистрировано полное отсутствие исследовательского инстинкта, в то время как у экспериментальных животных даже на фоне алкогольной зависимости наблюдается увеличение количества заглядываний в центральные отверстия тестовой площадки. Зарегистрировано и увеличение количества груминговых реакций у крыс экспериментальной группы, что свидетельствует о существенном снижении уровня тревожно-фобического состояния под влиянием «Семакса». Важным показателем поведения является и характер движения на тестовой площадке. Хроническое введение этанола крысам контрольной группы способствует увеличению времен замирания животных в отдельных квадратах поля. Введение ноотропа не просто исключает реакцию замирания из структуры поведенческого акта, но и регистрируется более интенсивный выход животных в центр площадки, что свидетельствует о повышении у них чувства комфорта.

По нашему мнению, препарат можно рекомендовать для восстановления психических функций лицам, подвергающимся действию длительному искусственному освещению, а также людям, страдающим различными формами алкогольной зависимости.

## **Влияние острого и хронического стресса вынужденного плавания на экспрессию белка ключевого фермента синтеза серотонина в дорзальном ядре шва мозга крыс**

**Баблюк Екатерина Владимировна**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Национальный исследовательский Новосибирский государственный университет,*

<sup>2</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск*

*ev.bablyuk@gmail.com*

Депрессивные расстройства часто сопровождаются снижением активности серотонинергической (5-НТ) системы мозга, однако механизмы этого изменения не ясны. Среди ключевых регуляторов системы, включающих транспортер, рецепторы, ферменты катаболизма серотонина, значительное внимание в последнее время получил относительно недавно выявленный специфический для мозга фермент синтеза медиатора триптофангидроксилаза-2 (ТПГ-2). Учитывая провоцирующую роль стресса в возникновении депрессии, целью данной работы явилось исследование влияния такого классического стрессорного воздействия, индуцирующего быстрое развитие депрессивно-подобного состояния у грызунов, как вынужденное плавание на экспрессию ТПГ-2 в дорзальном ядре шва взрослых самцов крыс. Определение экспрессии белка фермента проводили иммунофлуоресцентным методом с помощью антител фирмы Санта-Круз. Животных подвергали 15-минутному вынужденному плаванию ежедневно в течение двух недель. Экспрессию белка анализировали через 2 часа после повторного плавания, когда наблюдаются первые отчетливые признаки депрессивно-подобного состояния (поведенческая беспомощность), через сутки и через 2 недели. Исследовали количество иммунореактивных клеток, а также уровень сигнала в ростральных, средних и каудальных отделах вентральной части дорзального ядра. Контролем служили нестрессированные животные. В результате проведенных исследований было обнаружено значительное влияние стресса на экспрессию фермента, которое зависело от продолжительности стрессорного воздействия. При этом не было различий в эффектах стресса на фермент в разных отделах ядра в ростокаудальном направлении. Во всех отделах экспрессия белка фермента была достоверно увеличена через 2 часа, не отличалась от контроля через 24 часа и была достоверно сниженной через 2 недели стрессорного воздействия. Выявленные изменения в экспрессии фермента могут являться свидетельством снижения активности 5-НТ системы, а также, возможно, причиной формирования в ходе хронического стрессорного воздействия депрессивно-подобного состояния.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-01102.*

## **Изменения вызванных потенциалов при сбоях внимания в условиях бинарного выбора**

**Брызгалов Дмитрий Владимирович**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия*

*bryzgalovdm@gmail.com*

Известно, что даже в оптимальных условиях как животные, так и люди совершают ошибки, которые являются естественным следствием особенностей работы системы внимания. Проявляются ли сбои внимания на стадии обработки сигнала, если создать условия повышенной нагрузки на сенсорную систему внимания? Специально была разработана новая методика, позволяющая исследовать этот вопрос.

В экспериментах участвовали 30 студентов (средний возраст —  $20,9 \pm 1,3$  лет) с нормальным слухом, которым с равной вероятностью предъявляли 4 звуковых стимула, различавшиеся по двум признакам: высота и зашумленность; испытуемые должны были реагировать нажатием на одну из двух кнопок, ориентируясь на комбинацию признаков стимулов. Межстимульный интервал составлял  $2500 \text{ мс} \pm 500 \text{ мс}$ , после правильных реакций на экране появлялось "подкрепляющее" изображение.

Процентное соотношение правильных реакций, ошибок и пропусков составило, соответственно,  $85,1 \% \pm 1,6 \%$ ,  $9,6 \% \pm 1,1 \%$  и  $5,4 \% \pm 0,7 \%$ . Латентность ошибок была

достоверно выше латентности правильных ответов. Было отмечено значимое увеличение пика P2 при ошибочных действиях и пропусках по сравнению с правильными реакциями, тогда как пик N1 не продемонстрировал значимых различий ни для одного из видов поведения.

Полученные данные указывают на понимание испытуемыми задачи, следовательно, ошибки и пропуски были вызваны не недостатком информации и не низким уровнем активации, судя по неизменности пика N1 для 3 типов реакций. Увеличение амплитуды P2 рассматривается нами как коррелят процессов торможения в слуховой коре, которые приводят к невозможности правильной реакции. Таким образом, мы предполагаем, что сбой внимания является отражением подавления обработки сигнала на уровне сенсорных областей неокортекса.

*Исследование осуществлено в рамках программы фундаментальных исследований НИУ ВШЭ в 2012-2013 году.*

### **Изменение спектральной мощности ЭЭГ у студентов с разным уровнем агрессивности при прослушивании музыкальных произведений**

*Букина Дарья Андреевна*

*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

*dabuk.tnt12@mail.ru*

Воздействие музыки на центральную нервную систему сопровождается изменением электрофизиологических реакций мозга, свидетельствующих об изменении баланса возбуждения и торможения, однако, данные об изменениях паттернов электрической активности мозга противоречат друг другу. Кроме того, механизмы формирования эмоциональных реакций у человека при восприятии музыки и их изменения у лиц с разным уровнем агрессивности остаются малоизученными. В связи с чем, целью данной работы было проведение спектрального анализа ЭЭГ различных областей коры головного мозга человека в состоянии покоя с открытыми глазами и затем при прослушивании классической и рок-музыки.

Группу испытуемых составили студенты 2 и 3 курсов биологического факультета АлтГУ, в количестве 73 человек в возрасте 17–20 лет. Регистрация ЭЭГ осуществлялась в 8 монополярных отведениях, с наложением электродов по международной схеме 10–20, в качестве референтного электрода служил объединенный ушной электрод. Статистическая проверка достоверности перестроек спектральной мощности при переходе от фона к прослушиванию музыки выявила наличие значимых изменений во всех анализируемых диапазонах.

При прослушивании классической музыки у студентов с низким уровнем агрессивности наиболее выраженные изменения спектральной мощности отмечаются в  $\alpha$  и  $\beta_1$ -диапазонах частот, у группы со средним уровнем агрессивности в  $\theta$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ -диапазонах, в отличие от высокоагрессивных с максимальными изменениями в  $\delta$ -диапазоне. Изменения спектральной мощности в ответ на прослушивание рок-музыки у студентов с низким уровнем агрессивности в большей степени затрагивает  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\beta_1$ -диапазоны, у высокоагрессивных — только в  $\beta_1$ -диапазон, в то время как у среднеагрессивных — все диапазоны частот. При прослушивании классической музыки фокусы наибольшей относительной реактивности находятся в центральной и лобной областях, а при рок-музыке — в центральной и височной областях.

Таким образом, прослушивание классической и рок-музыки сопровождается изменениями спектральной мощности электрической активности коры головного мозга, общий характер которых определяется особенностями музыкального фрагмента, а специфика — уровнем агрессивности испытуемых.

**Влияние предварительного предъявления контекста на формирование памяти при выработке обстановочного условно-рефлекторного замирания у мышей в позднем гнездовом периоде**

***Бухгольц Ольга Игоревна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*buchgolts@mail.ru*

Выработка условно-рефлекторного замирания, ассоциированного с контекстом, у грызунов становится возможной к завершению гнездового периода, когда сформировано предметное зрение и почти завершено созревание гиппокампа (24 день постнатального развития (ПД)). Однако предварительное предъявление контекста на ПД17 с отставленным на неделю последующим электро-кожным раздражением (ЭКР) приводит к формированию памяти об обстановке. Вопрос о том, какие пластические перестройки лежат в основе обучения обстановочному условно-рефлекторному замиранию с предварительным предъявлением контекста в раннем постнатальном периоде, в настоящее время остается открытым.

В работе исследовали способность к обучению мышат линии С57В1/6 разных возрастов в модели обстановочного условно-рефлекторного замирания с предварительным предъявлением контекста, а также влияние предварительного предъявления контекста обучения на экспрессию транскрипционного фактора c-Fos в гиппокампе мышат на ПД19 и ПД23. Обучение проводили в две стадии: на ПД19 или ПД23 проводили предэкспозицию контекста (животное помещали в экспериментальную камеру с электродным полом на 5 мин для ознакомления с обстановкой); на ПД20 или ПД24 осуществляли незамедлительное нанесение ЭКР (2 сек, 1 мА), при этом животное проводило в камере не более 5 сек. Тестирование памяти проводили через 24 часа после нанесения ЭКР, помещая животных в обстановку обучения на 5 мин. Через 1,5 часа после предэкспозиции контекста у части животных извлекали мозг для определения уровня экспрессии транскрипционного фактора c-Fos.

Предъявление контекста на ПД19 и ЭКР на ПД20 не приводило к формированию памяти об обстановке; при предъявлении контекста на ПД19 и ЭКР, отставленном на 5 дней (ПД24), а также при предъявлении контекста на ПД23 и ЭКР на ПД24 обучение было успешным. Предъявление контекста вызывало увеличение уровня экспрессии c-Fos в гиппокампе как на ПД19, так и на ПД23. Полученные результаты позволяют предположить, что память о контексте формируется в скрытой форме уже на ПД19, но для ее репрезентации необходимо дозревание гиппокампа и связанных с ним структур.

**Оценка качества хронической регистрации нейронной активности в моторной коре обезьян**

***Васильева Любовь Николаевна***

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*lvvasilieva@mail.ru*

Необходимость конструирования более совершенных устройств для долговременной регистрации нейронной активности диктуется бурным развитием в области нейропротезирования. Разработка интерфейса мозг-компьютер может значительно улучшить качество жизни пациентов с расстройствами моторной системы разной этиологии, при которых нарушается связь мозга с мускулатурой, однако остаются сохранными центральные механизмы программирования движений. Для успешного внедрения инвазивных интерфейсов мозг-компьютер в клиническую практику необходимо создание полностью безопасного и биосовместимого регистрирующего устройства. В этой связи особое значение приобретают эксперименты на приматах, направленные на тестирование качества и длительности регистрации с помощью хронически имплантированных устройств. В настоящем исследовании мы проверяли возможность использования пучков множественных микропроводов (диаметр 18 мкм) для регистрации нейронной активности моторной коры обезьян. Пучки погружали в кору через канюли, заранее вживленные в череп животного. Координаты для вживления определяли с помощью микростимуляции моторной коры. Качество регистрации нейронной

активности с помощью вживленных пучков оценивали в течение 4-х месяцев, прошедших с момента имплантации. В целом, качество регистрации с помощью микропроводок было сопоставимо с отведением активности классическим заостренным микроэлектродом. В некоторых случаях амплитуда потенциалов действия в наших экспериментах достигала 500 мкВ. При использовании адекватных методов сортировки потенциалов действия на одной микропроводе можно было выделить активность до 4–6 одиночных нейронов. Регистрация нейронного сигнала хорошего качества была возможна непосредственно после имплантации электродов, однако максимально возможное качество записи мы наблюдали через 14 дней с момента погружения имплантата в мозг. Полученные результаты показывают, что пучки множественных микропроводок являются реальным кандидатом на роль регистрирующего устройства при конструировании интерфейсов мозг-компьютер.

### **Восприятие мелькающего света при миопии и в норме**

***Вахмянина Анна Александровна, Накарякова Евгения Игоревна***

*Башкирский государственный университет, Уфа, Россия*

*anariel\_93@mail.ru*

Зрительная система человека имеет в составе три вида колбочек с различной спектральной чувствительностью. Известно, что их количество, соотношение и распределение в сетчатке имеет широкую вариацию. Цель работы состояла в сопоставлении критической частоты слияния световых мельканий (КЧСМ) на красный, зеленый и синий цвета в центральной и периферической части поля зрения у студентов с миопией и без нарушения зрения.

В исследовании принимали участие 26 человек в возрасте 18–20 лет. Без патологии зрения (11 человек), с миопией (15 человек). Значения КЧСМ измерялись в центральной и периферической областях сетчатки на красный, зеленый и синий свет с помощью прибора «Свето-тест». Обработка данных производилась при помощи непараметрических критериев.

Обнаружено, что КЧСМ увеличивается от центра к периферии, независимо от цвета стимулов ( $p < 0,01$ ). В группе с миопией такое увеличение более выражено для красного цвета — 9 Гц и меньше для зеленого и синего цвета, 5 и 4 Гц, соответственно. В группе «норма» увеличение сопоставимо для всех цветов и составляет 4–5 Гц. Было выявлено, что в группе с миопией в периферической области сетчатки на красный и зеленый цвет значения КЧСМ выше, чем в группе с нормальным зрением ( $p < 0,05$ ). Сравнение КЧСМ на различные цвета не выявило различий в группе с нормальным зрением ( $p > 0,05$ ), независимо от области предъявления. В группе с миопией выявлены более низкие значения для красного цвета только при измерении КЧСМ в центре ( $p < 0,01$ ). Кроме того, было обнаружено, что в группе «норма» значения КЧСМ статистически не различаются между правым и левым глазом, а в группе «миопия» у левого глаза были отмечены более высокие значения КЧСМ, достигавшие в двух тестах уровня статистической значимости.

Следовательно, при миопии наблюдается иная, нежели в норме согласованность активности колбочек различных типов и меньшая сбалансированность правого и левого зрительных каналов.

*Выражаем благодарность доценту кафедры МФЧЖ Кошелеву Д.И.*

### **Способность полевых мышей *Apodemus agrarius***

**к точным количественным оценкам визуальных стимулов в больших множествах**

***Воробьева Наталия Сергеевна***

*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

*vorobyeva.nataliya.s@gmail.com*

Способность к количественным оценкам является одним из высших проявлений когнитивных способностей животных, интерес к этому направлению растет, расширяется круг исследуемых видов. Большинство работ посвящено способностям животных либо сравнивать существенно различающиеся множества, либо точно оценивать малое число объектов. Мы впервые исследовали способности грызунов природной популяции к точным оценкам числа визуальных стимулов в пределах 9, что считается большим множеством для животных.

Потомков природной популяции полевых мышей (первое и второе поколение, 24 особи) исследовали с применением схемы «обучение — экзамен», с пищевым подкреплением на этапе обучения и отсутствием подкрепления в «экзаменах» (6642 обучающих сеансов и 2216 экзаменов). Подкрепляли выбор одного из двух контейнеров с различным числом черно-белых изображений геометрических фигур на дверцах; общая площадь фигур при изменении их количества и взаиморасположения оставалась неизменной.

В первых четырех сериях мыши обучались выбору большего числа элементов из двух множеств: 5 и 10, 2 и 3, 5 и 6, 8 и 9. По результатам экзаменов, доля верных выборов достоверно отличалась от случайного ( $p < 0,01$ ; угловой критерий Фишера) у 13 из 24, 9 из 24, 7 из 11 и 9 из 15 мышей, соответственно. В следующих сериях подкреплялся выбор меньшего количества: 5 и 6 и 8 и 9. Интерес представлял как факт переучивания с участием особей из прошлых серий (11 мышей), так и возможность выбора меньшего у ранее не тестированных особей (13 мышей). Доля верных выборов достоверно отличалась от случайного ( $p < 0,01$ ) у 9 из 11 и 11 из 22 мышей, соответственно.

Таким образом, полевые мыши из природных популяций способны сравнивать существенно разные множества элементов (5 и 10), а также определять абсолютное число элементов с точностью до единицы, за пределами «субитайзинга» (больше 4), осуществляя выбор как большего, так и меньшего количества. Это говорит о способности грызунов к «прото-счету».

### **Поведенческие эффекты локальной активации и блокады рецепторов серотонина и дофамина во фронтальной коре у животных в модели "права выбора" пищевого подкрепления**

*Герасимова Юлия Александровна<sup>1</sup>, Кулешова Елена Петровна<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*<sup>2</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
travelmate2300@mail.ru*

Проблема «импульсивного» и «самоконтролируемого» поведения индивидуума — одна из актуальных научных проблем на сегодняшний день. Клиническая картина некоторых психических расстройств и заболеваний, таких как шизофрения, депрессия, наркомания, синдром дефицита внимания и гиперактивности, различные типы расстройств личности может включать такой симптом заболевания как патологическая импульсивность в поведении больного. Целью нашей работы было исследование роли 5-НТ<sub>1А</sub>, 5-НТ<sub>2А/С</sub> типов рецепторов и D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> типов дофаминовых рецепторов фронтальной коры в организации «импульсивного» и «самоконтролируемого» поведения животных в условиях выбора подкрепления разной ценности.

В эксперименте на кошках была использована методика «права выбора» разного по ценности пищевого подкрепления. Предпочтение коротколатентных реакций с низкокачественным подкреплением считали проявлением «импульсивного» поведения, в то время как предпочтение длиннолатентных реакций с высококачественным подкреплением — проявлением «самоконтроля» [1,2]. Животным локально во фронтальную кору вводили агонисты и антагонисты серотонинергических и дофаминергических рецепторов и физиологический раствор, который служил контролем.

При контрольном введении физиологического раствора в область фронтальной коры животные выполняли длиннолатентные задержанные реакции, в среднем, в 46 % случаев, и «импульсивные» реакции, в среднем, в 42 % случаев. Локальное билатеральное введение агонистов 5-НТ<sub>1А</sub>- и 5-НТ<sub>2А/С</sub>-рецепторов (8-ОН-DPAT, DOI), антагонистов 5-НТ<sub>2А/С</sub>-рецепторов (кетансерин) и D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> рецепторов (SCH 23390, раклоприд) в дорзальную часть фронтальной коры пяти кошкам привело к ослаблению проявлений «импульсивного» поведения. Действие 8-ОН-DPAT и DOI также показало значительное увеличение пропусков инструментальной реакции, т.е., нарушение воспроизведения условного рефлекса. Комбинированное локальное введение блокаторов D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> рецепторов и агониста/антагониста 5-НТ<sub>2А/С</sub>-рецепторов не привело к статистически достоверным изменениям в поведении животных по сравнению с контрольными экспериментами. Результаты наших экспериментов предполагают,

что для реализации выбранной стратегии поведения животного необходимо совместное влияние серотонинергической и дофаминергической систем мозга.

*Работа выполнена при поддержке ОФФМ РАН «Интегративная физиология».*

### **Сравнительный анализ пространственной и непространственной памяти в водном лабиринте у разных видов грызунов**

**Дронова А.М.<sup>1</sup>, Зубков Д.А.<sup>1</sup>, Зоц М.А.<sup>2</sup>, Иванова А.А.<sup>2</sup>, Ивашкина О.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, Россия*

*info@neurobiology.ru, niinf@yahoo.com*

Водный лабиринт Морриса — классическая модель для исследования пространственного обучения и сопоставления его с непространственным. При использовании классического протокола обучение проводят в течение нескольких дней. Длительный период обучения усложняет исследования биохимических изменений, происходящих в мозге. Фельдманом и соавторами была предложена комбинированная односеансная версия обучения в водном лабиринте Морриса. Было показано, что при сочетании зрительных ориентиров вокруг бассейна и флажка на платформе у лабораторных крыс формируется долговременная пространственная память. Обучение в такой версии делает возможным проведение биохимических исследований мозга, происходящих при обучении.

В работе были использованы лабораторные мыши, рыжие полевки (*Clethrionomys glareolus*) и малые лесные мыши (*Sylvaemus uralensis*). Была исследована способность животных трёх видов к формированию долговременной памяти в трёх версиях однодневного обучения в водном лабиринте Морриса. Односеансное обучение в каждой модификации состояло из 10 попыток. Во время каждой попытки животное помещали в лабиринт на 1 минуту. По истечении времени, животных, не достигших платформу, помещали на неё на 30 секунд. В пространственной версии водного лабиринта Морриса положение платформы было постоянным, окружающие зрительные стимулы оставались неизменными, платформа была скрыта. В непространственной версии все внешние стимулы были скрыты от животного, платформа была отмечена флажком. В комбинированной версии все условия расположения платформы, зрительных стимулов и мест выпуска животных были такими же, как в пространственной версии. В первых пяти попытках платформа была отмечена флажком, начиная с шестой, на каждую четную попытку флажок убрали. Через 24 часа после обучения проводили тестирование непространственной памяти, а ещё через 8 часов — пространственной.

Было показано успешное формирование долговременной памяти у всех видов грызунов при обучении в однодневной пространственной и непространственной версиях водного лабиринта Морриса. При обучении в комбинированной версии было показано формирование как пространственной, так и непространственной долговременной памяти у всех грызунов. При этом в комбинированной версии животные обучались быстрее, чем в пространственной.

### **Воздействие андрофарма на поведенческие реакции самцов белых крыс**

**Завидовский Богдан Иванович**

*Донецкий национальный университет, Донецк, Украина*

*bogdan-mr.hyde@yandex.ru*

В данной работе изучено действие препарата «Андрофарм» (cyproterone) на поведенческие реакции самцов белых крыс с учетом их индивидуально-типологических особенностей.

Эксперимент проводился на 20 половозрелых беспородных самцах белых крыс весом  $210 \pm 15$  г. На протяжении 10 дней оказывали воздействие препаратом «Андрофарм» путем внутрибрюшинных инъекций в расчете 150 мг/кг. Для выявления уровня поведенческой активности использовали установки «Открытое поле» (ОП) и «Продырявленное поле» (ПП).

По результатам контрольного исследования, исходную группу животных по правилу сигмального отклонения используя маркерный показатель исследовательской активности

разделили на три подгруппы. В них вошли животные с высокой (ВА), средней (СА) и низкой (НА) активностью. Для установления достоверности полученных результатов использовали U-критерий Манна-Уитни.

В результате исследований получены следующие данные: в условиях ОП двигательная и исследовательская активность по сравнению с контролем достоверно снизилась во всех подгруппах ( $p < 0,05$ ); относительно показателя эмоциональности, то установлено, что чувствительными по данному показателю оказались только крысы с исходно высоким уровнем активности, у которых наблюдался рост эмоциональности ( $p < 0,05$ ). Характер изменения грумингового поведения совпал по направленности с описанной выше тенденцией: стимуляция грумингового поведения произошла у ВА крыс ( $p < 0,05$ ).

Полученные в условиях ПП данные несколько отличаются от результатов исследования, полученных в открытом поле. Так, выявлено, что степень снижения исследовательской активности зависит от исходного уровня активности: чем выше активность животного в контроле, тем в большей степени она сокращается после инъекций андрофарма: у ВА крыс данный показатель сократился в 2,6 раза ( $p < 0,01$ ), у СА в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а НА крысы не проявили чувствительности к данному воздействию. Касательно уровня двигательной активности, то выявлено разнонаправленное влияние антиандрогенного воздействия на количество пересеченных квадратом: в подгруппе среднеактивных самцов отмечено повышение этого показателя ( $p < 0,05$ ), а высокоактивных — достоверное его снижение ( $p < 0,05$ ), а в у низкоактивных крыс достоверных изменений не наблюдалось.

Таким образом, следует сделать заключение, что «Андрофарм» оказывает разнонаправленное воздействие на животных с различными индивидуально-типологическими особенностями.

**Когнитивные нарушения у здоровых крыс после фракционированного гамма облучения  
головного мозга по различным схемам с суммарной дозой 36 Гр**  
*Зоркина Яна Александровна<sup>1</sup>, Зубков Евгений Александрович<sup>1</sup>, Матренин Кирилл Игоревич<sup>1</sup>,  
Чаморсов Антон Юрьевич<sup>2</sup>, Кистенев Артур Васильевич<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им.В.П.Сербского,

<sup>2</sup>НИИ нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко РАМН, Москва, Россия

*zrkyana@gmail.com*

На сегодняшний день распространенным и серьезным осложнением лучевой терапии опухолей головного мозга является радиационно-индуцированная когнитивная дисфункция. В мировой практике исследования по нарушению когнитивных функций человека при различных схемах фракционированной радиотерапии отсутствуют, а фундаментальные данные, полученные на лабораторных животных, незначительны.

Исследование проводилось на 64 беспородных крысах, разделенных на 4 группы: 3 получили тотальное облучение головы с суммарной дозой 36 Гр (2Гр\*18 фракций, 4Гр\*9 и 6Гр\*6) и контрольная группа (без облучения). По завершению облучения были проведены поведенческие тесты, оценка экспрессии эндотелиальных (VEGF) и глиальных (GFAP) белков методом иммуногистохимического анализа с применением конфокальной микроскопии и методом qPCR.

Индекс спонтанного чередования в Y-лабиринте не различался между опытными группами и контролем. В модели пассивного избегания через 48 ч после обучения сохранность навыка отмечена во всех группах. В тесте распознавания нового объекта значение индекса дискриминации, характеризующего соотношение времени исследования нового и знакомого предметов, у животных интактной группы составило  $55,4 \pm 7$ , в опытных группах значения были достоверно ниже, причем самые низкие в группе 2Гр\*18 и далее увеличиваются в ряду 4Гр\*9, 6Гр\*6. В лабиринте Морриса через 48 ч после обучения крысы со схемой облучения 2Гр\*18 достоверно дольше контрольных животных находили платформу, в группах 4Гр\*9 и 6Гр\*6 различий с контролем не обнаружено. По данным иммуногистохимического анализа отмечено повышение экспрессии GFAP в астроцитах коры переднего отдела головного мозга и гиппокампа по сравнению с контролем. Отмечено значительное повышение синтеза VEGF

во всех отделах мозга. Данные подтверждены количественным анализом экспрессии генов VEGF и GFAP методом qPCR.

Таким образом, у крыс после фракционированного гамма облучения головного мозга по различным схемам с суммарной дозой 36 Гр наблюдалось снижение когнитивных функций, причем уровень дисфункции зависит от варианта фракционирования дозы. Различия между группами в тесте распознавания нового объекта свидетельствует о нарушенных функциях префронтальной коры, а в лабиринте Морриса — гиппокампа. Иммуногистохимический анализ и qPCR показали взаимосвязь между изменениями в данных структурах мозга и развившейся когнитивной дисфункцией.

### **Источники когнитивных вызванных потенциалов P300 при нормальном старении и болезни Паркинсона**

*Иваненко Ольга Владимировна*

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина*

*ivanenkoov@gmail.com*

Сопутствующими проявлениями болезни Паркинсона часто являются когнитивные нарушения. Оценка последних исключительно по показателям амплитуды и латентности P300 не позволяет обнаружить изменения и их возможные причины на более ранних стадиях. Целью работы являлось исследование особенностей генерации когнитивных вызванных потенциалов P300 при нормальном старении и в случае болезни Паркинсона.

Сравнивались группы пациентов (болезнь Паркинсона, без деменции), 47–66 лет), здоровых обследуемых старшего (44–66 лет) и молодого (18–20 лет) возраста. Проводили ЭЭГ-регистрацию когнитивных вызванных потенциалов P300 в ситуации случайно возникающего события на слуховые стимулы с последующим анализом параметров волны и определением трехмерной локализации источников электрической активности с помощью ICA и LORETA.

Для молодых обследуемых характерны острая форма пика P300 и хорошо выраженное топографическое распределение амплитуд с преобладанием в теменных отведениях. Активность в момент P300 генерировалась 1–2 четко выраженными источниками, постоянного места локализации, согласно данным ICA, не обнаружено. При нормальном старении наиболее выраженными изменениями были снижение амплитуды P300 ( $P_z$  — на 7,53 мкВ) и увеличение латентности ( $P_z$  — на 102 мс), длительность компонента возрастала. По данным sLORETA отмечается снижение активности практически всех областей, кроме передних лобных. Главными отличиями в случае болезни Паркинсона были изменения формы P300 (более пологая нисходящая фаза), нарушение топографии распределения амплитуд, меньшая активность источников P300, но в целом большая площадь коры активирована. Межгрупповое сравнение в sLORETA разных фаз вызванного потенциала показало, что от момента подачи стимула до начала восходящей фазы P300 у пациентов с болезнью Паркинсона в затылочных областях активность ниже. И наоборот, в восходящую фазу компонента P300 отмечается более высокая активность в теменных зонах в группе больных. В нисходящую фазу отличия регистрируются также в правой нижней лобной извилине.

Таким образом, при нормальном старении наблюдается снижение амплитуды и увеличение латентности P300, что может быть обусловлено общим снижением активности источников. В случае болезни Паркинсона активность источников значимо больше, что может свидетельствовать о необходимости вовлечения больших участков мозга для обработки стимулов и/или более медленной их инактивации.

## **Опознавание сложных зрительных стимулов в модели прямой зрительной маскировки.**

### **Эффект семантического сходства тестового стимула и игнорируемого дистрактора-маски**

**Калинин С.А., Герасименко Н.Ю., Славуцкая А.В.**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*19ks88@mail.ru*

На модели прямой зрительной маскировки исследовали нейрофизиологические механизмы опознавания сложных зрительных стимулов в присутствии игнорируемого дистрактора (маски). В психофизиологических (38 чел.) и нейрофизиологических (25 чел.) экспериментах испытуемые решали задачу опознавания изображений двух категорий — «животные» и «предметы». Предъявление стимулов (50 мс — маска и 17 мс — тестовое изображение; SOA = 50 мс) и регистрацию точности опознавания и времени двигательной реакции (ВР) проводили с помощью программы E-Prime 2.0 (Psychology Software Tools, Inc., США), а регистрацию вызванной активности (ВП) — на 40-канальном энцефалографе Neocortex-Pro (Neurobotics, Россия). Показано, что опознавание при категориальном сходстве тестового стимула и маски является более трудным заданием, при котором ниже точность выполнения, больше время реакции, выше его дисперсия. Фактор категориального совпадения/несовпадения тестового изображения и маски влияет на амплитуду поздних волн ВП. Несовпадение теста и маски сопровождается увеличением амплитуды компонента N200 ВП фронтально-центральных областей, что может отражать усиление функции когнитивного контроля. Амплитуда P300 в ВП центрально-теменных и теменных областей ниже при категориальном совпадении двух стимулов, что предположительно определяется двумя факторами: 1) различиями в распределении ресурсов внимания в этих двух задачах и 2) интерференцией заключительных стадий переработки информации об игнорируемом (маскирующем) и релевантном (тестовом) стимуле.

*Работа поддержана Грантом РГНФ 11-0600518.*

## **Экспериментальные подходы к анализу механизмов зависимости**

**Карнеева С.А., Ефимова А.П., Леушкина Н.Ф., Ханнанова А.Я.**

*Башкирский государственный университет, Уфа, Россия*

*saima1356@mail.ru*

Нарастающие темпы увеличения болезней зависимости ставят перед медико-биологической наукой задачу создания теоретического базиса для разработки ранних профилактических мероприятий. Ведущее место в формировании зависимости играет дофаминергическая система, в которой осуществляются процессы дофаминергической трансмиссии, зависящие от ряда факторов. Среди них велика роль особого белка — переносчика дофамина, который возвращает выделившийся дофамин, обратно в терминаль. Нарушения в функционировании гена переносчика дофамина могут быть причиной повышения или снижения содержания внеклеточного дофамина, что может привести к началу заболевания или к ее рецидиву.

Целью нашего исследования было изучение поведения и генотипирование локусов 256A/G и Alw21I гена переносчика дофамина у предпочитающих (ПА) и не предпочитающих (НА) алкоголь крыс. Эти группы крыс получены после генотипирования локуса Taq 1A гена дофаминового рецептора второго типа, скрещивания гомозиготных особей и выявления предпочтения алкоголя в тесте двух поилок.

Исследование поведения ПА и НА крыс в установке открытое поле выявило значимо большую двигательную активность у ПА крыс и признаки тревожности. При генотипировании локуса 256A/G гена обнаружено, что у ПА крыс генотип A/A встречался с частотой 0,41, генотип A/G — 0,44, генотип G/G — 0,15. У НА генотип A/A встречался с частотой 0,65, генотип A/G — 0,32, генотип G/G — 0,03. В группе НА крыс выявлено статистически значимое увеличение частоты генотипа A/A ( $p = 0,044$ ,  $\chi^2 = 4,01$ ), по сравнению с группой крыс ПА. Это позволяет рассматривать этот генотип как генетический маркер устойчивости к употреблению алкоголя. В результате анализа локуса Alw21I этого гена у ПА и НА крыс установлено, что все особи являются гомозиготами по аллелю С данного локуса.

*Авторы приносят благодарность научным руководителям доц., д.м.н. Ахмадееву А.В., проф., д.б.н. Калимуллиной Л.Б.*

## **Влияние интероцептивного стресса на уровень кортикостерона и метаболитов оксида азота в крови и гиппокампе крыс**

***Касацкая Софья Алексеевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*sonya-kas@yandex.ru*

Гиппокамп, по сравнению с другими отделами мозга крыс более подвержен биохимическим и пластическим изменениям в ответ на стресс различного происхождения. Недавно было показано, что вентральный и дорсальный регионы гиппокампа различаются по уровню экспрессии рецепторов к стрессорному гормону кортикостерону и другим глюко- и минералкортикоидным гормонам а также по экспрессии нейрональной изоформы синтазы оксида азота.

Целью данной работы было исследование различий в реакции на интероцептивный стресс между дорсальным и вентральным гиппокампом. Интероцептивный стресс моделировали путем внутрибрюшинного введения бактериального липополисахарида (ЛПС, 5 мг/кг) самцам крыс линии Вистар. Крыс декапитировали через 2 ч и 4 ч после введения ЛПС; опытным группам соответствовали контрольные и интактная группы животных. В крови и в гиппокампе крыс определяли уровень кортикостерона методом ИФА (DRG, Germany). Содержание метаболитов оксида азота, нитратов и нитритов (NOx) определяли в крови с помощью спектрофотометрической детекции по реакции Грисса и в гиппокампе флуориметрически по интенсивности флуоресценции продукта реакции 2,3- диаминафталина (ДАН) и нитрита.

В результате интероцептивного стресса уровень кортикостерона в крови крыс а также в регионах гиппокампа достоверно повышался через 2 ч после инъекции ЛПС, тогда как через 4 ч уменьшался до контрольного уровня. Содержание NOx статистически значимо снижалось через 4 ч после инъекции ЛПС в дорсальном гиппокампе, тогда как в вентральном гиппокампе существенных изменений по этому показателю не происходило. Таким образом, полученные нами результаты по преимущественной доставке кортикостерона и генерации метаболитов оксида азота могут свидетельствовать о большей чувствительности дорсального гиппокампа к интероцептивному стрессу по сравнению с вентральным гиппокампом и его возможной роли в интеграции сигналов системной активации иммунитета на уровне центральной нервной системы.

*Проект поддержан грантом ОФФМ РАН «Интегративная Физиология» (2012).*

## **Глюкокортикоиды как модуляторы рецепции и анализа половых феромонов у домово́й мыши**

***Кваша Илья Григорьевич***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*konungthorn@gmail.com*

Обоняние играет исключительную роль в организации социального поведения млекопитающих. Показано прямое участие дополнительной обонятельной системы (ДОС) в формировании и реализации полового поведения самцов различных видов млекопитающих. В настоящее время нет работ, которые бы учитывали уровень стрессированности животного при реализации феромональных эффектов; в естественной среде обитания животные постоянно подвергаются воздействию стрессоров различной интенсивности; в естественной популяции наблюдается очень широкая вариабельность в стресс-реактивности особей. Целью работы являлось исследование роли глюкокортикоидов (ГК) и механизмов их воздействия на процессы рецепции и анализа половых феромонов у домово́й мыши. Был использован широкий спектр методов и подходов: поведенческий, иммуногистохимический, эндокринологический и фармакологический. На уровне поведения показано, что стрессированные естественными факторами (метаболический и эмоциональный стресс) самцы домово́й мыши не отдают

предпочтения запаху эстральной самки по сравнению с запахом самки на стадии диэструса, хотя животные контрольной группы демонстрируют такого рода предпочтение ( $n=40$ ,  $p \leq 0,01$ ). Было выполнено несколько серий экспериментов по определению диапазона концентраций кортикостерона (КРТ) в плазме крови реципиента сигнала, достаточных для блокировки ответа самцов на запах рецептивной самки на уровне поведения(1), гормонального ответа(2) и на уровне рецепторов вомероназального органа(3). Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение, что подавление ответа самцов на запах рецептивной самки своего вида в случае короткого стрессового воздействия связано с негеномными эффектами активации рецептора ГК, так как геномные эффекты, реализующиеся через рецептор ГК и требующие синтеза белков *de novo*, несколько отставлены во времени. В случае хронического стресса наиболее вероятным является влияние активации рецептора ГК на экспрессию вомероназальных рецепторов в нейронах ВНО. Фармакологический анализ показал отсутствие отрицательного воздействия высокого уровня КРТ в плазме крови мышей (до 230–250 нг/мл) на процессы извлечения ольфакторного памятного следа, что свидетельствует о периферическом механизме угнетения ответа самцов на запах рецептивной самки. Предлагаемый нами механизм угнетения ответа рецепторных клеток ВНО через прямое действие КРТ подтверждается обильной экспрессией рецепторов к ГК в рецепторной ткани ВНО (Вознесенская, 2009) и отсутствием экспрессии рецептора к андрогенам и рецептора к минералокортикоидам в этой ткани (Кваша, Вознесенская, 2012).

*Поддержано МК -709.2012.4.*

## **Роль раннего ольфакторного опыта в формировании паттернов хемосенсорного поведения у домашней мыши**

***Клинов А.Б., Ключникова М.А.***

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия*

*artklinov495@gmail.com*

Обонятельный анализатор — филогенетически одна из древнейших сенсорных систем организма. Для большинства видов млекопитающих анализ запаховых раздражителей является определяющим в организации сложных форм поведения. В отличие от других сенсорных систем, например, зрительной или слуховой, хемосенсорные системы являются динамичными в течение всего жизненного цикла животного. В основе этого явления лежат процессы непрерывного обновления обонятельного эпителия. Пластичность процессов в обонятельном анализаторе в значительной мере расширяет адаптивные возможности организма. Возможность модификации чувствительности животного к различного рода одорантам в зависимости от окружающей запаховой среды и предшествующей истории обонятельных контактов может расширять такие адаптивные возможности животного, как, например, поиск потенциального брачного партнера или дистантно удаленных источников пищи или определение сигналов о потенциальной опасности, что, в конечном итоге, определяет приспособляемость животного к данной конкретной среде. Фелинин является уникальной аминокислотой, содержащей серу, обнаруженной в моче домашней кошки. Фелинин выводится с мочой и является потенциальным феромоном кошачьих (Rutherford et al., 2002). Мы провели серию исследований по измерению порогов чувствительности к комплексному запаху хищника (*Felis catus*) и к L-фелинину (US Biologicals) у домашних мышей с использованием автоматического восьмиканального ольфактометра фирмы Knosys. Экспозиции мочи домашней кошки домашним мышам в возрасте с 14 по 28 день (период синаптогенеза) достоверно ( $p < 0,01$ ,  $n = 25$ ) понижало пороги чувствительности к искомой смеси. Пороговые значения детекции нормализованной мочи домашней кошки в контроле составили 0,090 %, тогда как в эксперименте — 0,040 %. Измерение порогов чувствительности к L-фелинину проводилось с использованием Y-лабиринта по причине низкой летучести этого компонента. Иммуногистохимическими методами (*c-fos*) была зарегистрирована Fos-иммунореактивность в комплексе из двух гломерул в медио-вентральной части основной обонятельной луковицы. Аналогичные исследования были выполнены для животных, экспонированных в раннем онтогенезе к фелинину. В настоящее время выполняется анализ по сравнению размера гломерул у контрольных и сенситизированных

к фелинину мышей.

Предварительные данные, а также наши более ранние исследования (Voznessenskaya, Wysocki, 2001) указывают на вовлечение как периферических, так и центральных механизмов в процессы индукции чувствительности к одорантам.

*Исследования поддержаны МК -709.2012.4 и РФФИ.*

### **Изменения функционального состояния людей с различным характером мотивации, вызываемые просмотром коммерческого видеоролика**

***Константинова Мария Витальевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*konstantinovamaria216@yandex.ru*

Различный характер мотивации выражается в разной степени вовлечения произвольного и непроизвольного внимания, что находит свое отражение в характеристиках основных параметров движений глаз — фиксаций и саккад. Связанные с этим изменения функционального состояния проявляются также в динамике амплитуды электроэнцефалограммы (ЭЭГ) в частотном диапазоне альфа-ритма (8-13 Гц). Активность непроизвольного внимания выражается в депрессии альфа-колебаний (ДА) в затылочных и теменных областях коры мозга, а активность произвольного внимания — в ДА в центральных и лобных областях коры мозга.

Испытуемым предъявляли коммерческий видеоролик продолжительностью 15 секунд. Было выделено две группы испытуемых (по три человека), различающихся по характеру мотивации: клиенты, уже пользующиеся услугой, рекламируемой в ролике (ПУ), и потенциальные клиенты (ПК). Регистрировали ЭЭГ и движения глаз методом видеоокулографии.

В ходе исследования было выявлено, что саккады у ПУ имеют достоверно меньшую амплитуду, чем у ПК. Суммарная длина трека перемещений взора у ПУ меньше, чем у ПК. При просмотре ролика ПК совершали на 20% больше фиксаций, чем ПУ, а их средняя продолжительность оказалась достоверно короче. Анализ динамики плотности фиксаций, рассчитанной по обеим группам отдельно, демонстрирует, что у ПУ режим определения стимульных свойств объекта отчетливо выражен на протяжении всего ролика за исключением коротких интервалов, тогда как у ПК не отмечается такой динамики, и в некоторых интервалах режим быстрого сканирования окружения преобладает.

По данным ЭЭГ у ПУ при просмотре ролика отмечается существенная ДА как в затылочных (в среднем до 23 %, непроизвольное внимание), так и лобных (в среднем до 28 %, непроизвольное внимание) областях коры мозга. У ПК, напротив, ДА практически не выражена. Таким образом, отличие характера мотивированности ПУ по сравнению с ПК отражается в более высоком уровне произвольного внимания, выражающемся в более детальном просмотре ролика. У ПК общий уровень активации оказался ниже, чем у ПУ, и преобладали процессы непроизвольного внимания, при котором снижена эффективность распознавания зрительных объектов. Таким образом, ПУ более внимательно воспринимают содержание ролика по сравнению с ПК.

### **Индивидуальные особенности влияния блокатора андрогенов на уровень тревожности самцов белых крыс**

***Косторев Александр Станиславович***

*Донецкий национальный университет, Донецк, Украина*

*devillanderson@yandex.ua*

Важным событием последнего десятилетия является открытие способности стероидных гормонов регулировать экспрессию генов. Гормоны этой группы, в число которых входят кортикостероиды, эстрогены, андрогены и прогестины, свободно проходят через клеточную мембрану и образуют в цитоплазме соответствующие гормон-рецепторные комплексы. Последующие события развиваются на уровне синтеза большого числа белковых факторов,

а также целого ряда нейрoхимических регуляторов и медиаторов синоптической передачи. Их действие на синтез и метаболизм медиаторов уже не вызывает сомнений.

Вышеизложенное послужило предпосылкой к изучению действия препарата «Андрофарм» — конкурентным антагонистом рецепторов андрoгенов, который блокирует биологическое действие тестостерона и других андрoгенов в клетках-мишенях, на уровень тревожности самцов белых крыс с учётом индивидуально-типологических особенностей.

Эксперимент проводили на 20 половозрелых беспородных крысах-самцах массой  $210 \pm 15$  г. В течение 10 дней осуществляли влияние препаратом «Андрофарм» путем внутривбрюшинных инъекций в расчете 150 мг/кг. Для определения уровня тревожности использовали стандартный пятиминутный, тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ).

По результатам уровня тревожности контрольного тестирования, начальная группа животных была разделена на три подгруппы по закону сигмального отклонения. В результате мы получили подгруппы с низким (НТ), средним (СТ), и высоким (ВТ) уровнями тревожности. Используемые данные обрабатывали с помощью общепринятых методов математической статистики с использованием U-критерия Манна-Уитни.

Полученные результаты указывают на то, что «Андрофарм» оказал свое влияние неоднозначно на исходные подгруппы. Время пребывания на открытом пространстве лабиринта животных с исходным ВТ увеличилось до  $204,0 \pm 36,91$  ( $p < 0,01$ ) секунды, а у животных с СТ — до  $142,5 \pm 25,53$  секунд ( $p < 0,01$ ) из исходных значений  $0,0 \pm 0,00$  и  $30,0 \pm 7,39$  секунд соответственно. Такой характер влияния «Андрофарма» указывает на анксиолитическое действие блокирования рецепторов андрoгенов. В подгруппе с НТ наблюдается противоположный анксиогенный эффект, поскольку числовое значение маркерного показателя уменьшилось с  $192,8 \pm 23,31$  до  $94,6 \pm 17,64$  секунд ( $p < 0,05$ ).

Результаты, которые описаны выше, получили подтверждение при обработке данных количества повторных выходов на открытое пространство: у животных с исходным ВТ наблюдается увеличение с  $0,0 \pm 0,00$  до  $2,6 \pm 0,23$  раз ( $p < 0,05$ ), а в подгруппе СТ — до  $3,8 \pm 0,7$  раз ( $p < 0,05$ ) с  $1,3 \pm 0,16$ . Эти количественные изменения полностью подтверждают вектор действия «Андрофарма» на подгруппы ВТ и СТ. Относительно изменений уровня тревожности подгруппы НТ достоверных данных получено не было.

Таким образом, можно сделать вывод, что «Андрофарм» оказывает свое влияние на изменение уровня тревожности в зависимости от исходных показателей тревожности подопытных животных.

## **Нейрофизиологические корреляты эффективного решения когнитивных задач**

*Кундупьян Оксана Леонтьевна, Кундупьян Юлия Леонтьевна*

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*olkundupyuan@sfnedu.ru*

Механизмы зрительного распознавания стимулов могут осуществляться за счет трех видов функциональной асимметрии: асимметрия активационно-деактивационного баланса различных зон коры; асимметрия активации одноименных образований, лежащих в левом и правом полушариях и фронто-окципитальная асимметрия. Важную роль в когнитивной деятельности играет моторная преднастройка, которая связана со зрительным распознаванием стимулов. Целью нашего исследования было изучить динамику времени реакции (ВР), связанных с событием потенциалов (ССП) и спектральные характеристики ЭЭГ при эффективном решении вербальных и невербальных задач.

В исследовании принимало участие 30 человек, средний возраст — 25 лет. В качестве модели деятельности использовали 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 СПП. Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

Анализ ВР показал, что невербальные задачи человек решал быстрее и эффективнее при использовании левой руки ( $F = 1,69$   $p = 0,002$ ), а для решения вербальных задач обследуемые

использовали 2 стратегии распознавания ( $F = 1,86$   $p = 0,01$ ) (быстрые реакции, требующие нажатия правой рукой и быстрые реакции, требующие нажатия левой рукой). По результатам спектральных характеристик ЭЭГ, было обнаружено, что в процесс эффективного распознавания невербальных стимулов и неэффективного распознавания вербальных стимулов одновременно вовлекались механизмы передней и задней систем внимания. При неэффективном распознавании вербальных и невербальных стимулов увеличивались амплитуды сенсорных компонентов ССП (N1, P1), а при эффективном распознавании — амплитуды когнитивных ССП (P2, P3, N4).

Таким образом, можно предположить, что решение вербальных и невербальных заданий, контролируется разными механизмами, связанными с функциональной межполушарной асимметрией, а также с преднастройкой двигательной системы и взаимодействием всех этих механизмов.

## **Исследование особенностей поведения трансгенных мышей**

**линии Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd**

**Куницына Татьяна Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*kunitsyna.tatiana@gmail.com*

У трансгенных мышей линии Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd ген флуоресцентного белка EGFP встроен под промотор раннего гена *zif/268*, кодирующего транскрипционный фактор, участвующий в пластических перестройках в мозге. Целью работы было выявление особенностей поведения мышей линии Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd в стандартных тестах и способности к обучению в задаче условно-рефлекторного замиранья (УРЗ).

В работе были использованы половозрелые самцы линии Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd и гибриды F1 C57BL/6JxDBA/2 (B6D2). Мышей исследовали в тестах «ротарод» и «открытое поле» (ОП) и обучали в задаче УРЗ. В тесте «ОП» животных помещали в арену диаметром 120 см на 5 минут. В тесте «ротарод» предобучение составляло 10 попыток, во время которых барабан вращался в течение минуты, ускоряясь до 20 об/мин за 30 с; тестирование состояло из 5 сессий, барабан вращался со скоростями 20, 30, 40, 50 и 60 об/мин в течение 5 мин. Обучение в задаче УРЗ проводили по следующему протоколу: обследование камеры — 150 с, звуковой сигнал — 30 с, последние 2 с сопровождалась ЭКР (1 мА), через 30 с проводили второе сочетание, ещё через 30 с — третье. Тестирование долговременной памяти об обстановке проводили через 3 дня после обучения.

Общий пройденный путь и средняя скорость пути у трансгенных мышей Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd в тесте «ОП» были достоверно больше, чем у гибридов B6D2, что демонстрирует их большую подвижность. Различий по уровню тревожности между мышами разных линий обнаружено не было. В тесте «ротарод» трансгенные мыши демонстрируют более высокий уровень координации движений по сравнению с гибридами. Также было показано, что трансгенные мыши успешно обучаются в модели УРЗ, хотя при тестировании замирают достоверно меньше времени, чем гибриды B6D2.

Таким образом, были охарактеризованы особенности поведения самцов трансгенной линии мышей Tg(Egr1-EGFP)60Gsat/Mmcd и показана их способность к обучению в задаче УРЗ. Полученные данные свидетельствуют о возможном использовании мышей данной линии для исследований процессов обучения и памяти.

## **Оценка нагрузки и чувствительности факторов в параметрах ЭЭГ человека при реализации реальных и мысленных движений**

**Лазуренко Дмитрий Михайлович**

*НИИ нейрокибернетики им. А.Б. Когана, ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия*

*mityasky@ya.ru*

Известно, что целостная деятельность мозга обеспечивается управляющими влияниями коры на подкорковые структуры, генерализованными неспецифическими подкорковыми влияниями

на кору, фронто-окципитальными взаимодействиями, функциональной межполушарной асимметрией и др. Задачей настоящего исследования явилось выявление роли различных структур мозга в реализации произвольной двигательной и идеомоторной активности.

В обследовании участвовали 8 человек (4 мужчины и 4 женщины), средний возраст которых составлял  $26 \pm 2$  года. Каждый из них участвовал в обучающей процедуре и двух тестовых обследованиях. В процессе обучения и тестовых обследований участники выполняли заданные движения руками в любой последовательности и произвольном темпе с условием, что за каждым реальным движением должно следовать аналогичное мысленное движение. Регистрация ЭЭГ осуществлялась в ходе тестовых обследований от 14 стандартных отведений по международной системе «10-20» (f7, f8, f3, f4, c3, c4, p3, p4, o1, o2, t3, t4, t5, t6). В качестве исходных данных использовались мгновенные значения амплитуды ЭЭГ-сигналов в интервалах  $-500 \div -150$  мс и  $+2500 \div +4500$  мс относительно меток инициации реальных движений. Анализ полученных данных осуществлялся в среде Statistica 8.

Анализ показал, что ортогональное преобразование исходного набора данных приводит к формированию ограниченного числа компонент (факторов). В результате было выделено 4 фактора, на 2 из которых приходилось более половины нагрузки (до 61 %) значимых собственных векторов. Все факторы в сумме описывали около 74,9868 % объясненной дисперсии. Первый фактор аккумулировал большую часть изменчивости исходных данных (факторная нагрузка 42,2177 %) и был связан с неспецифическими (относительно реализуемой деятельности) флуктуациями функционального состояния мозга. Второй фактор (18,9669 %) оказался чувствителен к внутрислошарным различиям в реализации реальных движений и идеомоторных актов и отражал наличие связи работающей конечности с контрлатеральным полушарием мозга. Третий фактор (7,1240 %) был чувствителен к межполушарным взаимодействиям симметричных областей мозга и сформировал 2 кластера: лобно-центральный и теменно-затылочный. Четвертый фактор оказался недостоверным.

Таким образом, в исходном наборе данных, представляющих собой текущие значения амплитуды ЭЭГ-сигналов, лишь четверть непосредственно связаны с реализуемой моторной (в т.ч., идеомоторной) деятельностью, которые можно использовать, в частности, при разработке ВСИ систем.

*Благодарность за оказываемую поддержку директору НИИ НК ЮФУ д.б.н., проф. В.Н. Кирию.*

### **Использования генетически кодируемых флуоресцентных биосенсоров для регистрации синаптической активности в первичной культуре нейронов**

*Матлашов Михаил Егорович*

*Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,*

*Москва, Россия*

*matlashowww@mail.ru*

Изучение молекулярных процессов, лежащих в основе метаболизма и синаптической передачи в мозге, уже десятки лет является одной из важнейших задач современной биологии. В связи с этим весьма полезными и удобными инструментами являются химические вещества — биосенсоры, позволяющие с помощью оптических приборов наблюдать за изменениями концентраций различных неорганических молекул в живых клетках [4]. Однако эти вещества обладают рядом недостатков, прежде всего, отсутствием избирательности по отношению к многочисленным популяциям клеток мозга, а также невозможностью локализовать сенсор в различных компартментах клетки, например пре- и постсинаптических окончаниях нейронов. Другим значительным недостатком является непроницаемость клеточной мембраны для многих индикаторов и необходимость использовать пэтч-электроды для их инъекции в клетку. В последнее время появилось большое количество генетически кодируемых биосенсоров, позволяющих обойти эти недостатки [1, 3].

Мы использовали генетически кодируемые флуоресцентные биосенсоры для регистрации спонтанной синаптической активности в культуре гиппокампальных нейронов. До сих пор считалось, что активность нейронов не сопровождается изменениями рН в их цитоплазме.

Однако большинство измерений активности нейронов проводились с помощью пэтч-электродов, когда, фактически, цитоплазма забуферена электродным раствором [2]. Мы предположили, что в условиях наблюдения за интактными клетками нам удастся зафиксировать колебания рН в цитоплазме нейронов. Действительно, с помощью созданного в нашей лаборатории генетически кодируемого флуоресцентного рН индикатора нам удалось провести регистрацию периодических колебаний рН в телах нервных клеток в культуре в условиях регистрации их спонтанной активности. Одновременное наблюдение за динамикой ионов кальция с помощью другого генетически кодируемого сенсора позволило обнаружить корреляцию колебаний рН с колебаниями внутриклеточной концентрации кальция. Ингибиторный анализ подтвердил, что частота и интенсивность колебаний рН являются отражением функциональной активности нейронной сети, а система NADPH-оксидаза — протонный канал  $H_v$  возможно является одним из основных регуляторов активности и рН в нейронах.

Таким образом, используя генетически кодируемые биосенсоры нам удалось зарегистрировать новое явление — спонтанные колебания рН, которые могут играть существенную роль в метаболизме и регуляции активности нейронов. В дальнейшем планируется подтвердить наличие этих колебаний в живом организме.

### **Роль реактивных паттернов ээг в норме и при различных нарушениях функционального состояния ЦНС**

*Мещерякова А.В., Золотов В.Д.*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия  
maabler@gmail.com*

Биоэлектрическая активность (БЭА) мозга, регистрируемая с поверхности головы, есть отражение сложного взаимодействия корково-корковых и корково-подкорковых взаимоотношений. Выявление изменений БЭА головного мозга только в состоянии покоя (фоновые паттерны) не всегда дает исчерпывающую информацию о степени патологических нарушений ЦНС, особенно, если они вызываются нарушениями взаимодействия церебральных систем и носят функциональный характер. Поэтому в интерпретации электроэнцефалограммы (ЭЭГ) большая роль отводится функциональным нагрузкам, в качестве которых чаще всего используются ритмическая фотостимуляция (РФС). Перестройка электрической активности мозга под воздействием ритмов фотостимуляции может иметь значение для клинической интерпретации этих изменений. Однако в настоящее время эти данные используются не достаточно. Целью настоящей работы была оценка и клиническая интерпретация характера изменений БЭА на ритмическую фотостимуляцию после закрытой черепно-мозговой травмы. Нами был проведен анализ реактивных паттернов ЭЭГ 15 больных с последствиями закрытой черепно-мозговой травмы (группа «ЗЧМТ»), а также контрольной группы — 16 здоровых испытуемых. Запись ЭЭГ осуществлялась на 21-канальном электроэнцефалографе фирмы «Мицар» (Россия, Санкт-Петербург) при ритмической фотостимуляции, подававшейся дискретно от 2 до 24 Гц с шагом в 2 Гц. ЭЭГ оценивались визуально. При воздействии РФС учитывался характер перестроек БЭА и степень их выраженности, по которой было проведено ранжирование (Svyatogor, 2001).

По характеру изменений биоэлектрической активности мозга на ритмическую фотостимуляцию было выделено 4 типа реакций усвоения ритмов: 1 — неотчетливое усвоение отдельных частот, 2 — достаточно отчетливое усвоение, 3 — отчетливое усвоение, 4 — выраженное усвоение. Реакция усвоения ритмов коррелирует с возбудимостью ЦНС разной степени выраженности. Поэтому можно считать, что четыре степени усвоения ритмов фотостимуляции являются отражением состояния баланса процессов возбуждения и торможения.

Для здоровых испытуемых в подавляющем большинстве случаев (67 %,  $p < 0,05$ ) степень усвоения ритмов фотостимуляции можно было оценить как достаточно отчетливую (2), а в остальных 33 % — как неотчетливое усвоение отдельных частот (1). Для пациентов группы «ЗЧМТ» наиболее характерной была отчетливая (3) и выраженная (4) реакция усвоения ритмов

фотостимуляции с гармониками и субгармониками. Полученные данные показали, что не только характер фоновых паттернов ЭЭГ, но и степень реакции усвоения ритмов фотостимуляции играют большую роль в оценке функционального состояния ЦНС и нейрофизиологической интерпретации энцефалографических данных.

**Влияние ограничения вибрисковой чувствительности в раннем постнатальном онтогенезе у крыс на адаптивность поведения во взрослом возрасте**

*Новикова Екатерина Сергеевна*

*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия*

*ka3nka29@yandex.ru*

Протекание ранних онтогенетических процессов во многом определяет формирование поведения человека и животных, вплоть до взрослого возраста. В связи с этим представляется важным установить закономерности между условиями, в которых протекало раннее развитие организма, и особенностями поведения у взрослых особей.

Целью данной работы было изучение особенностей поведения в потенциально угрожающих условиях у взрослых самцов крыс линии Вистар, подвергавшихся сенсорной депривации в критический период раннего постнатального онтогенеза. У половины крысят из каждого помета с 9-го по 20-й день жизни ежедневно ножницами выстригали вибриссы (опыт), у другой половины помета касались ножницами кожи вокруг вибрисс (контроль). В возрасте 70–90 дней животных тестировали в «открытом поле», в 5 мес. — в тесте принудительного плавания, в 7 мес. обучали условному рефлексу двустороннего избегания (УРДИ) в челночной камере по стандартной методике. Данные обрабатывали методом видеотрекинга.

Были получены следующие результаты. В «открытом поле» после первых 5 мин тестирования у всех животных показатели двигательной активности снижались, у опытных крыс эти изменения были более значительны. Наряду с этим у контрольных крыс увеличивалось исследование центральной части поля, а у опытных уменьшалось. В тесте принудительного плавания скорость движения, время активного плавания и пройденное расстояние у опытных животных были меньше, чем в контроле. При обучении УРДИ корреляционный анализ выявил различие корреляционных связей между показателями обучения безусловной реакции избегания и условной реакции избегания у контрольных и опытных животных, что свидетельствует о различной организации процессов обучения в тесте УРДИ. Также наблюдалась тенденция к позднему формированию стойкого условного рефлекса у опытных крыс.

Таким образом, сенсорная депривация в критический период раннего постнатального онтогенеза крыс приводит к снижению исследовательской активности в незнакомой обстановке открытого пространства, увеличению депрессивноподобных проявлений в ситуации неизбежной угрозы, изменению процессов консолидации памяти при обучении. Показано, что эти эффекты являются неблагоприятными, но не критичными для формирования адаптивных способностей у животных.

## Роль функциональной межполушарной асимметрии в условиях сенсорной маскировки

*Павловская Марина Алексеевна*

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*mpavlovskaya@mail.ru*

Известные данные относительно межполушарного мозгового обеспечения помехоустойчивости разноречивы. Ряд авторов считают помехоустойчивость в значительной степени функцией структур правого полушария, другие - приходят к выводу о большем отрицательном влиянии помехи на работу того полушария, которое делает больший вклад в реализацию функции.

В качестве парадигмы использовалась центральная слуховая последовательная маскировка с дифференцировкой тонов (1000 и 1200 Гц) интенсивностью 60 дБ, длительностью 30 мс и вероятностью 0,15, 0,5 и 0,85. В качестве маскира использовали тональный стимул той же длительности, частотой 1100 Гц и интенсивностью 90 дБ. Маскировочный ряд интервалов составил 300, 200, 100 и 50 мс.

Анализ ССП показал, что стадия обнаружения целевого стимула представлена двумя билатерально-симметричными негативными фокусами в центрально-париетальных областях, с доминированием правополушарного — при редкой стимуляции. Ожидание маскира сопровождается развитием симметричной позитивной лобной волны и негативным левополушарным фокусом в центрально-париетальной области, что определяет его игнорирование и повышение помехоустойчивости системы. Различение стимулов сопровождается развитием двух асимметричных негативных фокусов в правой верхневисочной (доминирование на редкий стимул) и левой нижнетеменной областях, которые связаны с активацией механизмов произвольного внимания для восстановления сенсомоторной интеграции. Оба фокуса находятся в местах пересечения дорзальных и вентральных слуховых путей анализа и взаимодействия фронтальной и париетальной систем внимания. Завершение сенсомоторной интеграции соответствует одновременному развитию позитивной волны в лобной (P3a) и теменной (P3b) областях сагиттально, обеспечивающих деактивацию двух систем внимания.

Следовательно, было изучено взаимодействие фронтальной системы, проявляющейся в активации билатерально симметричных процессов негативно-позитивных тета-колебаний (N1, P2, N2, P3a) ССП, и париетальной, отражающейся в асимметричных процессах развития дельта-колебаний (CNV, MMN, P3b) ССП с доминированием правого полушария на этапах ожидания и принятия решения. В условиях обратной маскировки маскер воздействовал на тета-колебания ССП, снижая эффективность деятельности. В условиях прямой маскировки маскер воздействовал на дельта-компонент ССП, оптимизируя сенсомоторную интеграцию.

## Влияние группового содержания на двигательную активность

*самцов *Drosophila melanogaster**

*Панова Анна Алексеевна*

*Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*AnemoneNemorosa@yandex.ru*

Опыт общения с конспецификами у многих животных вызывает модификацию поведения. В отношении дрозофилы показано, что содержание самцов в гомогенной группе приводит к последующему подавлению агрессивного и полового поведения.

В работе были использованы самцы *D. melanogaster* линии дикого типа Canton-S. Мух содержали в стандартных условиях поодиночке, либо в группе (в течение первых 3 суток после отрождения, затем рассаживали). Двигательную активность тестировали в одиночных камерах с использованием программы *Drosophila Tracks* (© Н. Г. Камышев).

В серии подготовительных экспериментов был определен оптимальный объем группы (20 особей), а также влияние наличия пищи в экспериментальной камере во время тестирования на двигательную активность (уменьшение активности при наличии пищи).

В основной серии экспериментов нами было показано, что содержание самцов дрозофилы в группе в течение первых 3 суток после отрождения приводит к значительному подавлению

двигательной активности, которое сохраняется на протяжении 6 суток после изоляции из группы. При этом отличие от контроля — самцов, содержавшихся поодиночке — проявляется, в основном, только спустя 2 часа нахождения в экспериментальной камере.

Полученные нами результаты демонстрируют сильное влияние предшествующего опыта взаимодействия с конспецификами на последующее локомоторное поведение самцов дрозофилы. Основываясь на работах других авторов, нами был сделан вывод, что данная модификация поведения может являться примером оперантного обучения, т.к. находясь в скоплениях, мухи стремятся избегать тесных контактов, сопровождающихся неприятными ударами ног и крыльев. В результате, содержание в группе приводит к угнетению двигательной активности и усилению поведения покоя.

Полученные нами данные будут способствовать стандартизации условий содержания, а предложенная нами модель может стать основой изучения процессов, лежащих в основе социальных взаимодействий особей дрозофилы.

*Работа выполнена при поддержке программы №7 Президиума РАН «Механизмы интеграции молекулярных систем при реализации физиологических функций» и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».*

### **Методика локализации первичных моторных и соматосенсорных зон коры мозга человека методом магнитоэнцефалографии**

***Пронько Платон Кириллович, Прокофьев Андрей Олегович***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*Московский городской психолого-педагогический университет, МЭГ-центр, Москва, Россия.*

*platon7pronko@gmail.com*

В данной работе мы предприняли попытку разработать способ неинвазивного картирования первичной моторной коры мозга человека. У 18 здоровых праворуких испытуемых исследовали магнитные ответы мозга, вызванные произвольными повторяющимися движениями указательного пальца правой руки. Периоды движения пальца определяли по сигналу акселерометра. Непрерывную вызванную магнитную активность мозга испытуемых в течение всей экспериментальной сессии состыковывали в единую последовательность, раскладывали на независимые составляющие методом анализа независимых компонент и ранжировали по количеству взаимной информации с модифицированным сигналом акселерометра. Усреднение независимых компонент, демонстрировавших максимальную связь с движением пальца, проводили относительно момента начала движения. Результаты распределенного моделирования мозговых источников двух независимых компонент с наибольшим количеством взаимной информации показали, что их источники локализуются в контралатеральных движению областях коры, соответствующих по анатомическим маркерам представительства кисти руки в первичной моторной и первичной соматосенсорной коре. Разработанная методика показала принципиальную возможность локализации зоны M1 на групповом уровне у здоровых испытуемых.

### **Экспрессия транскрипционного фактора c-Fos в критическом периоде развития первичной зрительной коры у мышей линии C57Bl/6**

***Рогозин Павел Денисович***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*parogozin@yandex.ru*

Роль активации генома, в частности, немедленного раннего гена *c-fos*, в механизмах опыт-зависимой пластичности нервной системы до сих пор остается малоизученной. Целью настоящей работы было исследовать возможность и степень индукции *c-Fos* в первичной зрительной коре мышей, используя модель световой депривации на разных стадиях ее развития: до, во время и после критического периода.

На 11-е, 25-е или 50-е сутки после рождения мышей подвергали 5-дневной бинокулярной световой депривации в темной камере с последующей экспозицией на свету в течение 90 мин и изъятием мозга для иммуногистохимического выявления белка c-Fos (группа ОП). Мозг животных контрольных групп извлекали сразу после депривации, без воздействия света, на 16-е, 30-е и 55-е сутки (группа АК), и в те же сроки после содержания в стандартных условиях (группа ПК). Количественно оценивали плотность c-Fos-положительных клеток (число клеток/мм<sup>2</sup>) в первичной зрительной (V1) и соматосенсорной (S1) областях коры.

У контрольных животных всех возрастов была выявлена слабая экспрессия: в группе АК плотность c-Fos-положительных клеток составляла  $0,3 \pm 0,2$  и  $0,4 \pm 0,16$  и в группе ПК —  $4,22 \pm 1,96$  и  $1,52 \pm 0,48$  в V1 и S1, соответственно. Световая экспозиция вызывала достоверное увеличение плотности c-Fos-положительных клеток во всех опытных группах в V1 ( $248,00 \pm 31,31$ ), но не в S1 ( $12,22 \pm 5,22$ ) в среднем по возрастам. При этом в группе ОП среди исследованных возрастов максимальное число окрашенных клеток в V1 на достоверном уровне наблюдали на 30-е постнатальные сутки:  $532,21 \pm 48,6$  против  $45,81 \pm 15,77$  на 16-е и  $167,12 \pm 29,6$  на 55-е сутки, то есть во время критического периода.

Полученные результаты подтверждают ранее полученные на других животных (крысы, кошки, обезьяны) данные о повышении уровня экспрессии c-Fos в развивающемся неокортексе в ответ на сенсорные манипуляции. Более высокий уровень экспрессии c-Fos во время критического периода в сравнении с другими возрастными группами позволяет сделать предположение о вовлечении этого транскрипционного фактора в механизмы опыт-зависимой пластичности нервной системы.

## **Восприятие сенсорной информации и преобразование сигнала в символ**

***Савченко Виктория Валерьевна***

*Сибирский федеральный университет,*

*Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Красноярск, Россия*

*mi\_viktoriya@inbox.ru*

Одной из самых важных проблем физиологии человека является проблема восприятия сенсорной информации и преобразования сигнала в символ, так как отвечает на вопросы о механизмах когнитивной работы мозга и открывает перспективы для разработки систем сенсорного замещения. Сенсорное замещение — это способ трансформации характеристик одной сенсорной модальности (визуальной, аудиальной, кинетической) в стимулы другой модальности.

Эту проблему мы исследовали на примере анализа скорости восприятия тактильных сигналов при сенсорном замещении. Анализ происходил на созданном приборе с применением интегральной платы-полуфабрикатом EA-EDU-009, включающая в себя микроконтроллер LPC2130. для которого была написана программа в среде BlackBox Component Builder (Цюрих, Швейцария). Для основы сенсорного алфавита была выбрана азбука Морзе.

В данной работе был описан биологический процесс восприятия тактильного сигнала рецептором и дальнейшим его поступлением в мозг. По результатам проведенных экспериментов была изучена предельная скорость восприятия человеком информационных сигналов (закодированных букв, слогов, слов), наименьшее время восприятия буквы составило 14 миллисекунд, через тактильную сенсорную систему (кинетическую модальность). Были произведены наблюдения о характере обучения человека тактильной азбуке Морзе. В экспериментах контролировались такие переменные, как интенсивность, длительность и скважность сигналов тактильного алфавита.

Полученные результаты позволяют понять такие фундаментальные параметры восприятия сигналов при сенсорном замещении, как сила и скорость, а также их оптимальные значения, при которых наилучшим образом происходит обработка поступающего сигнала от рецепторов кожи руки в мозг.

Это исследование дает экспериментальное средство для изучения пластичности мозга и имеет значение для восприятия и познания в целом.

## **Влияние овариоэктомии на спайк-волновую активность мозга крыс линии WAG/Rij**

**Садртдинова Индира Илдаровна**

*Башкирский государственный университет, Уфа, Россия*

*indira.ildarovna@mail.ru*

В исследованиях Van Luijtelaa et Coenen (1996) было показано, что гонадэктомия ведет к снижению количества спайк-волновых разрядов (SWD). Цель нашего исследования: анализ электроэнцефалографических показателей переднего кортикального ядра (Соа) миндалевидного комплекса (МК) мозга при дефиците половых гормонов. Опыты выполнены на половозрелых самках крыс линии WAG/Rij массой 290–320 г. Результаты анализа электроэнцефалограммы (ЭЭГ) до овариоэктомии показали ритмы различной частоты, амплитуда которых не превышает 40–50 мкВ. Частым типом активности являются низкоамплитудные колебания в  $\alpha$ -диапазоне (8–13 Гц) и  $\beta_1$ -диапазонах (13–18 Гц), накладывающиеся на дельта (1–4 Гц) и тета ритмы (4–8 Гц). Через месяц после овариоэктомии на ЭЭГ присутствовали ритмы с амплитудой от 20 до 75 мкВ. Далее нами проводился расчет количества и продолжительности спайк-волновых разрядов в течение всего периода регистрации (50 эпох по 10 сек). В группе контроль среднее количество спайк-волновых разрядов в Соа составило —  $5,5 \pm 0,11$ , после проведения операции овариоэктомии происходит их снижение —  $3,35 \pm 0,23$ . Анализ изменений средней продолжительности SWD по ходу эксперимента показал, что у самок группы контроль она равняется —  $2,37 \pm 0,06$ , после проведения овариоэктомии —  $1,01 \pm 0,053$ , таким образом, происходит снижение количества SWD и одновременное сокращение продолжительности. Общая длительность спайк-волновых разрядов в переднем кортикальном ядре в группе контроль составила  $13,08 \pm 1,67$ , после проведения овариоэктомии мы наблюдали снижение количества и продолжительности SWD в записях ЭЭГ Соа, общая их продолжительность составила  $3,41 \pm 0,33$ .

## **Чувствительность феномена импринтинга к изменчивости экспериментальной ситуации**

**Серкова Вера Владимировна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*dulsin@mail.ru*

В настоящее время феномен импринтинга рассматривается в качестве особого механизма памяти, свойственного раннему онтогенезу. Однако в наших работах было показано, что и во взрослом состоянии животные также обладают способностью фиксировать пространственную информацию по типу импринтинга. В связи с этим возникает вопрос, каким образом полученный феномен будет проявлять себя в изменчивой экспериментальной ситуации. Процедура импринтирования заключалась в оперативном изменении топологии пространства в пределах 1-2-х проб первого опыта, за счет чего мыши F1 от C57BL/6J и DBA/2J были вынуждены пользоваться не прямым, исходно предпочитаемым маршрутом, а обходным. Такая процедура приводила к искажению организации программы поведения, поскольку при животные были вынуждены объединить исходное предпочтение с приобретенным. Устойчивость сформированной структуры навыка исследовали в тестах на проявление и сохранность феномена импринтинга в поведении: (1) при отставлении до 15 дней сразу после процедуры импринтирования, (2) в случае перерыва до 15 дней на этапе стабилизации навыка, (3) при изменении семантики задачи — отмене подкрепления, (4) при изменении пространственной структуры лабиринта — возврате в уменьшенный (исходно импринтированный) или при помещении в новый увеличенный вариант.

Оказалось, что в случае изменения семантического содержания задачи (отмена подкрепления) животные адекватно перестраивали навык: либо игнорировали пищевые зоны, либо сохраняли маршрутную структуру решения без заглядывания в кормушки. Однако при восстановлении исходной структуры задачи животные возвращались к ранее сформированной структуре решения с учетом приобретенного предпочтения. Эта структура также оказалась устойчивой по отношению к пространственной реализации задачи и перерыву в работе как на этапе знакомства со структурой задачи, так и на этапе стереотипного выполнения навыка.

Полученные данные свидетельствуют о том, что любая информация, зафиксированная в начале обучения, будет учтена при организации поведения и устойчиво воспроизводиться в изменяющихся экспериментальных условиях. Высказывается предположение о едином механизме фиксации информации на всем протяжении жизни животного .

### **Полушарные особенности ЭЭГ при реальном и воображаемом движении у здоровых праворуких людей**

**Симонова Ольга Андреевна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*olyasimonova@gmail.com*

Одним из аспектов изучения функциональной специализации мозга человека является анализ полушарной специфичности реактивных церебральных перестроек при функциональных нагрузках. В качестве модели для решения этой проблемы может быть исследование реакций мозга при выполнении двигательных заданий раздельно правой или левой рукой. Особую значимость в плане разработки активно развивающегося в последнее время направления интерфейс мозг-компьютер приобретает изучение реакций мозга при мысленном представлении выполнения двигательных проб, что важно в разработке методов реабилитации больных с двигательными нарушениями.

В данной работе были проанализированы ЭЭГ реакции 15 здоровых праворуких людей (21–39 лет) при реальном и воображаемом движении (раздельно правой и левой руки). Анализу подвергались 60 секундные отрезки ЭЭГ с вычислением спектрально-когерентных характеристик всей частотной полосы и основных физиологических диапазонов ритмов.

При выполнении двигательной пробы установлено что при правосторонней нагрузке нарастала когерентность в альфа3 и бета1 диапазонах в левом полушарии, при левосторонней нагрузке нарастала когерентность в альфа3 и бета2 диапазонах справа. Нарастание когерентности в более низких альфа (1 и 2) диапазонах проявлялось без признаков межполушарной асимметрии.

Воображаемые движения сопровождались нарастанием когерентности альфа3 и бета2 диапазонов в правом полушарии; по сравнению с реальными движениями в этой экспериментальной ситуации отмечалось увеличение когерентности низкочастотных составляющих в центральных областях коры с акцентом слева. Изменение спектральных характеристик ЭЭГ при реальных и воображаемых имеют сходный характер, проявляются в нарастании мощности и частоты бета-колебаний, не приурочены к активированному полушарию и отражают неспецифический компонент формирования реакции.

Проведенные исследования выявили разный тип нейрофизиологического обеспечения реальных и воображаемых движений и уточнил функциональную значимость частотно-мощностных и когерентных характеристик ЭЭГ при реактивных перестройках мозга.

*Работа выполнена в Лаборатории общей и клинической нейрофизиологии ИВНД и НФ РАН (зав. д.б.н. Е.В. Шарова) на клинической базе Института нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН под научным руководством д.б.н., проф. Г.Н. Болдыревой.*

*Работа поддержана грантами РФФИ (проект №10-04-00485а, проект №11-04-12166-офи-М-2011) и РГНФ (проект №11-06-01-060).*

### **Изучение роли дофаминергической системы в реализации эффектов 5-НТ модулина**

**Скобелева Валерия Михайловна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*lerok-cidental92@mail.ru*

Известно, что рецепторы серотонина 1В подтипа способны в качестве гетерорецепторов регулировать дофаминергическую трансмиссию. Показано, что специфический эндогенный модулятор 5-НТ1В рецепторов тетрапептид Leu-Ser-Ala-Leu (5-гидрокситриптамин-модулин, 5-НТМ) при интраназальном введении оказывает выраженный анксиолитический эффект. Для оценки степени вовлеченности дофаминергической системы в развитие эффектов пептида

мы изучили действие 5-НТМ как в стандартных условиях, так и на фоне введения селективного блокатора D2 дофаминовых рецепторов — сульпирида.

Работа выполнена на белых крысах-самцах (*ratus norvegicus*), 5-НТ модулин вводился интраназально в дозе 100 мкг/крысу, сульпирид — внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг. Поведенческие эффекты оценивали в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), темно-светлой камере (ТСК) и тесте неизбежного плавания.

Интраназальное введение 5-НТМ действительно показало наличие анксиолитического эффекта. При совместном введении 5-НТМ и сульпирида нами показано статистически значимое уменьшение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в крестообразном лабиринте (снижение числа переходов, уменьшение количества стоек и выглядываний) по сравнению с контрольной группой, что может быть проявлением нейролептического действия сульпирида. Также отмечалось незначительное увеличение показателей, свидетельствующих о большей тревожности крыс по сравнению с группой, которой вводился лишь 5-НТМ: увеличение времени замирания, снижение поведения риска (ПКЛ), уменьшение времени нахождения в светлом отсеке (ТСК). В тесте неизбежного плавания было продемонстрировано статистически значимое увеличение времени иммобилизации, а также снижение времени пассивного плавания в сравнение с контролем и группой 5-НТМ.

Представленные результаты свидетельствуют о нивелировании эффектов 5-НТМ на фоне действия селективного блокатора D2 рецепторов дофамина, что может говорить о том, что анксиолитические эффекты 5-НТМ в большой степени обусловлены активацией именно 5-НТ1В гетерорецепторов, и действительно реализуются при активном участии ДА-системы. Полученные данные могут быть интересны в плане исследования взаимодействия двух медиаторных систем и требуют дальнейшего уточнения на биохимическом уровне.

### **Связь активности кальциевого сенсора STIM2 с нарушениями кальциевого гомеостаза при болезни Альцгеймера**

*Скобелева Ксения Владимировна, Рязанцева Мария Андреевна*

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*kseniia.skobeleva@gmail.com*

В 50 % случаев наследственной болезни Альцгеймера (БА) наблюдаются мутации в гене, кодирующем белок преснелин-1 (PS1). Белок PS1 хорошо известен, как компонент комплекса гамма-секретазы, участвующей в разрезании белка предшественника амилоида. В связи с этим, предыдущие исследования связывали патологию БА с нарушениями в ферментативной активности PS1. Однако были обнаружены мутации в гене белка PS1, вызывающие БА, но не нарушающие ферментативную функцию белка. Было показано, что мутация PS1 M146V не нарушает активность гамма-секретазного комплекса, но приводит к изменениям в регуляции кальциевого гомеостаза в нейронах, включая нарушение депонирования кальция эндоплазматическим ретикулумом (ЭР).

В нашей работе мы исследовали влияние мутации PS1 M146V на регуляцию концентрации  $Ca^{2+}$  во внутриклеточных кальциевых депо клеток нейробластомы человека линии SK-N-SH. Содержание  $Ca^{2+}$  во внутриклеточных депо определяли с помощью флуоресцентного зонда Fura-2AM. Для оценки количества содержащегося в клетке  $Ca^{2+}$  использовался иономицин, приводящий к опустошению внутриклеточных кальциевых депо. Было обнаружено, что экспрессия мутанта приводит к повышению содержания  $Ca^{2+}$  во внутриклеточных депо по сравнению с клетками, экспрессирующими PS1 дикого типа. Снижение экспрессии кальциевого сенсора ЭР STIM2 с помощью shRNA уменьшало уровень  $Ca^{2+}$  в депо до контрольных значений. В связи с тем, что STIM2 может активировать депо-управляемые кальциевые каналы, образованные белком TRPC1, мы предположили, что увеличение концентрации  $Ca^{2+}$  в депо клеток может быть связано с активностью этих каналов. Снижение экспрессии белка TRPC1 с помощью shRNA тоже возвращало уровень  $Ca^{2+}$  в депо до контрольных значений. Также было установлено, что в клетках, экспрессирующих PS1 M146V наблюдается снижение уровня экспрессии белка TRPC1, но не белка Orail, который

является основной субъединицей CRAC-каналов, активируемых белком STIM1. Можно предположить, что снижение экспрессии TRPC1 является компенсаторным ответом клетки на активность STIM2 в клетках с экспрессией PS1 M146V.

Таким образом, обнаружено, что активность кальциевого сенсора ЭР STIM2 и депо-управляемых кальциевых каналов могут быть источником патологического повышения  $Ca^{2+}$  во внутриклеточных депо, вызванного экспрессией мутантного PS1 M146V.

*Работа поддержана грантами: РФФИ, Zeiss («ОПТЭК»), МКБ, стипендия Президента РФ.*

### **Неоднозначность восприятия обонятельных стимулов**

***Соседка Ю.С., Тукаев, С.В., Зима И. Г.***

*Киевский национальный университет им. Т. Шевченка, Киев, Украина*

*juliasosedka@gmail.com*

Люди оценивают обонятельные раздражители главным образом по эмоциям, которые они вызывают, что объясняется участием в обработке обонятельной информации подкорковых и фронтальных неокортикальных структур, участвующих в формировании эмоциональных состояний. Вопрос почему один и тот же обонятельный раздражитель может быть и приятным и неприятным стимулом, как и отображение позитивных и негативных эмоций в биоэлектрической активности мозга остаётся открытым. Целью данного исследования было изучение нейродинамики головного мозга при пассивном восприятии исключительно олфакторного раздражителя изоамилацетата. Анализировали изменения спектральной плотности ЭЭГ в диапазоне частот от 0,2 до 35 Гц в состоянии покоя и при одорации у 35 добровольцев обоих полов, студентов в возрасте от 18 до 23 лет. Использовали следующие тесты: САН (Самочувствие, Активность, Настроение), методика диагностики самооценки тревожности Ч.Спилбергера, Ю.Ханина, тест “Острое умственное утомление” Леоновой. Для сравнения независимых и зависимых выборок использовали тест Манна-Уитни и критерий Вилкоксона. 22 испытуемых оценивали изоамилацетат как приятный запах. Для них было характерна генерализованная депрессия (кроме переднелобных) СПМ в  $\theta$ -,  $\alpha 1$ - и  $\beta 1$ -поддиапазонах и в задних областях в  $\alpha 2$ -поддиапазоне. У 13 испытуемых, которые оценили изоамилацетат как неприятный, наблюдалась депрессия СПМ в  $\theta 2$ - (правое полушарие),  $\alpha 2$ - (задние зоны),  $\beta 1$ -поддиапазонах (правые центрально-затылочные области) и увеличение СПМ  $\beta 2$ -поддиапазоне (лобные отведения). Согласно результатам психологического тестирования у испытуемых, которые оценили изоамилацетат как приятный, происходило снижение ситуативной тревожности, умственного утомления и улучшение самочувствия и настроения. Для оценивших запах как неприятный было характерно увеличение ситуативной тревожности и умственного утомления, снижение активности и ухудшение самочувствия и настроения. Таким образом, мы установили связь эмоционального ответа на олфакторный раздражитель с особенностями нейродинамики. Полученные нами данные свидетельствуют о зависимости пространственной организации мозговой деятельности при активации обонятельного анализатора в зависимости от субъективной эмоциональной оценки стимула.

### **Моноаминергические механизмы фильтрации сенсомоторной информации у здоровых испытуемых и больных шизофренией**

***Сошенко Алена Дмитриевна***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия,*

*ГНЦ социальной и судебной психиатрии имени В.П.Сербского, Москва, Россия*

*soshenko\_ad@mail.ru*

Уточнение роли моноаминов в патогенезе шизофрении является актуальной задачей современной нейробиологии и психиатрии. Перспективным представляется исследование связи между активностью моноаминергических систем и психофизиологическими маркерами (эндофенотипами) шизофрении. Предстимульное торможение акустической стартл-реакции (ПСТ), отражающее процессы фильтрации сенсомоторной информации, рассматривают в качестве валидного маркера предрасположенности к развитию заболевания. В работе

исследованы особенности фильтрации сенсомоторной информации у здоровых испытуемых и больных шизофренией с одновременной оценкой уровня моноаминов в плазме крови.

В исследовании участвовали 22 здоровых и 32 больных шизофренией испытуемых мужского пола в возрасте 22–50 лет, не получавших медикаментозного лечения. ПСТ оценивали, сравнивая изменения миограммы круговой мышцы глаза в ответ на предъявления одиночного звукового основного стимула (105 дБ, 40 мс) с аналогичными изменениями в ответ на парные предъявление предстимула (85 дБ, 20 мс) с основным стимулом. У больных шизофренией наблюдался дефицит ПСТ при интервалах между сигналами 60 и 120 мс. В исследуемой группе больных выявлено трехкратное снижение показателей метаболизма дофамина по сравнению с нормой и тенденция к снижению уровня адреналина. В группе нормы уровень ПСТ демонстрировал положительную корреляцию с показателем метаболизма дофамина и отрицательную — с содержанием серотонина в плазме крови. У больных шизофренией нарушения ПСТ не были ассоциированы с активностью дофаминергической системы, однако демонстрировали отрицательную корреляцию с уровнем обмена серотонина, и положительную — с содержанием норадреналина и адреналина. Полученные данные свидетельствуют о различии нейрохимических механизмов, обеспечивающих фильтрацию сенсомоторной информации у здоровых и больных шизофренией испытуемых. Обнаруженные ассоциации дефицита ПСТ с уменьшением активности адренергических механизмов у больных могут указывать на специфичную роль нарушений связей между медиодорзальным таламусом и префронтальной корой (преимущественно, норадренергических) в изменениях обработки сенсомоторной информации у больных шизофренией.

### **Особенности зрительных связанных с событием потенциалов при выполнении задачи дискретного преследующего слежения**

*Старостин Артем Николаевич*

*Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*archystar@bk.ru*

Задача слежения является одной из удобных моделей в исследовании организации двигательного акта. Хорошо изучены закономерности таких параметров как: скорость, ускорение, траектория и т.д. Однако, в отличие от простых зрительно-моторных задач, задача слежения слабо изучена с использованием объективных электрофизиологических методов, хотя именно они позволяют сделать обоснованные выводы о нейрофизиологических механизмах, определяющих наблюдаемые закономерности выполнения задания.

В нашей работе приняло участие 12 испытуемых в возрасте 20–25 лет. В процессе тестирования им предлагалось, используя манипулятор «мышь» совмещать курсор (крест черного цвета) с целью (белый круг 1 см в диаметре). Цель экспонировалась в текущей позиции в течение 1 с, после паузы, составляющей 1, 2, 5 или 9 с предъявлялась в новой позиции, случайно выбранной на удалении 100 пикселей от текущего положения курсора. В процессе тестирования регистрировались координаты курсора, цели, 21 канал электроэнцефалограммы (по системе 10х20). Используя отметки о событиях начала экспозиции цели вычислялись связанные с событием потенциалы (ССП). SSP рассчитывались отдельно по 5 группам времен реакции — 0.15–0.25, 0.2–0.3, 0.25–0.35, 0.3–0.4, 0.4–0.6 с.

Результат исследований показал, что после начала экспозиции стимула выявлялись компоненты P80 и N140, далее развивался комплекс частично перекрывающихся колебаний P220, P250, P350. Поздняя негативная волна представлена компонентом N400 и длительной негативностью с максимумом на 600 мс. Рост ВР приводил к увеличению латентного периода P250 и N400 и росту амплитуды P350 при неизменном латентном периоде. Компонент P220 оставался без изменений.

В реакции слежения выделяют несколько этапов — время реакции, этап подведения курсора к цели, этап корректирующих движений и собственно удержание. Совместный анализ ВР и ВП позволяет предположить, что компонент P250 коррелирует с этапом подведения, N400 — с этапом коррекции и удержания. Увеличение P350, видимо, связано с ростом сложности выполнения задачи, что отражается в удлинении ВР.

## **Особенности альфа-ритма ЭЭГ у предпочитающих и не предпочитающих алкоголь крыс**

**Федорова А.М., Хабудинова А.Р.**

*Башкирский государственный университет, Уфа, Россия*

*marmishka-06@mail.ru*

Возрастающие темпы употребления психоактивных веществ (в России превышающие более, чем в два раза среднемировые) указывают на необходимость разработки превентивных мер, реализация которых должна осуществляться на стадии предрасположенности к алкоголизму. А для этого необходимо знать, как распознать предрасположенность.

Целью данного исследования явилось выявление особенностей альфа-ритма на фоновой электроэнцефалограмме (ЭЭГ) у предпочитающих (ПА) и не предпочитающих (НА) алкоголь крыс. Используемые в работе ПА и НА крысы получены из популяции крыс линии WAG/Rij после генотипирования локуса Taq 1A DRD2, скрещивания гомозиготных животных и выявления в последующем предпочтения алкоголя в тесте двух поилок. Среди крыс, имевших генотип A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub>, для получения потомства были отобраны особи (самки и самцы) имевшие высокие темпы нарастания количеств потребляемого спирта при принудительной алкоголизации в течение двух недель и с установкой двух поилок на третьей неделе эксперимента предпочитавшие пить спирт. В настоящем исследовании использовано четвертое поколение этих крыс.

Регистрацию ЭЭГ проводили с помощью хронического вживления электродов в мозг экспериментальных крыс с помощью стереотаксиса. В качестве наркоза использовали хлоралгидрат в дозе 400 мг/кг. Электроды устанавливали в первичную соматосенсорную кору (AP-+3; LM-3); в теменную кору (AP-0; LM-5); в затылочную кору (AP- -6; LM-3), индифферентный электрод — в кости над мозжечком. После периода восстановления (7–8 дней) производили регистрацию фоновой ЭЭГ в программе EEGView. На записях ЭЭГ определяли процент времени, занятый альфа-ритмом (8–13 Гц) и его амплитуду (мкВ).

Изучение соотношения относительной спектральной плотности ЭЭГ между группами крыс показало, что у ПА крыс процент времени, занятый альфа-ритмом достоверно выше, по сравнению с НА крысами (A<sub>1</sub>/A<sub>1</sub> — 4,9 ± 0,94 %; A<sub>2</sub>/A<sub>2</sub> — 4,04 ± 1,1 %, p < 0,05). При этом амплитуда альфа-ритма у ПА крыс достоверно ниже (23,89 ± 0,41 мкВ) по сравнению с НА крысами (41,38 ± 0,79 мкВ, p < 0,05). Исследование поведения ПА и НА крыс показало, что низкий вольтаж альфа-ритма коррелирует с повышенной тревожностью.

## **Исследование нейрофизиологических коррелятов решения математических задач в условиях произвольной и обусловленной стратегии**

**Фомина Анна Сергеевна**

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*a\_bogun@mail.ru*

Вопрос о нейрофизиологических механизмах решения арифметических задач не теряет актуальности. В литературе не описаны методы выделения этапов решения, хотя отсутствие подобного контроля признается одной из причин получения разной картины активации коры при решении сходных задач.

Цель работы — исследование нейрофизиологических коррелятов решения примеров на сложение и умножение двузначных чисел в условиях произвольной и обусловленной стратегии.

Обследование включало два теста, состоящих из блоков сложения и умножения. В Тесте 1 при произвольной стратегии 40 % примеров предъявлялось однократно, 30 % — дважды, 30 % имели одинаковые операнды. В Тесте 2 при обусловленной стратегии участники нажимали на кнопку каждый раз после получения промежуточного результата и в конце решения. Обследовано 28 участников (средний возраст 26 лет), праворуких. Стимулы предъявлялись в ПО «Аудиовизуальный слайдер». ЭЭГ регистрировалась с использованием электроэнцефалографа-анализатора «Энцефалан-131-03» по системе 10–20. Рассчитывалось время решения (ВРеш), число и длительность этапов решения, спектральная мощность ритмов ЭЭГ и функция когерентности (КОГ). Достоверность оценивалась с помощью дисперсионного анализа MANOVA.

В Тесте 1 наибольшие значения ВРеш при умножении показаны для однократных примеров в сравнении с повторявшимися и примерами с одинаковыми операндами. В Тесте 2 при сложении ВРеш линейно увеличивалось с ростом числа этапов от 1 до 4. При умножении динамика ВРеш была куполообразной наряду с ростом числа этапов от 1 до 5. В условиях обоих Тестов сложение приводило к формированию дельта-тета-фокусов в левых лобных, центральных и теменных областях, и в правой лобной зоне. При умножении дельта-тета-фокусы формировались в левых лобно-центральных и теменных зонах, и в височных областях справа. Асимметрия КОГ увеличилась между левыми лобной, теменной и височной областями в дельта-тета-диапазоне, и в лобно-теменной в альфа-диапазоне.

Таким образом, с использованием метода оценки количества и длительности этапов решения показано, что этот процесс является не линейным, а циклическим, связанным с повторением, прерыванием и возобновлением этапов. По данным анализа ЭЭГ, КОГ и поведенческих данных подтверждено, что сложение и умножение являются разными по стратегии решения навыками.

### **Влияние продолжительности образовательного процесса на сохранность когнитивных функций у пациентов с болезнью Альцгеймера**

*Цыбульская Евгения Анатольевна*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*liebelkus@gmail.com*

Отдельные данные свидетельствуют о возможности сохранения когнитивных функций у пожилых людей с болезнью Альцгеймера (БА). Предполагается, что функции разрушенных БА клеток, компенсируются мозговыми ресурсами, накопленными в течение жизни.

Настоящее исследование проведено по типу «случай-контроль». Экспериментальную группу составили 34 пациента Городского гериатрического медико-социального центра (в возрасте 61–82 года): 19 человек с подтвержденным диагнозом БА и 15 человек с «преддеменцией». Контрольную группу, подобранную по возрасту, составили 23 пациента Городской ревматологической больницы № 25. Испытуемые выполняли 3MS тест (Modified mini-mental State Examination) — расширенный вариант теста для оценки психического статуса и заполняли специально разработанную нами анкету для оценки когнитивной нагрузки в течение жизни.

Показано, что тяжесть болезни Альцгеймера увеличивается с возрастом. В обеих группах обнаружена достоверная положительная связь между количеством лет обучения и баллами по шкале 3MS: (в экспериментальной группе 0,51 ( $p \leq 2,5\%$ ) и в контрольной группе 0,67 ( $p \leq 1\%$ ). В экспериментальной группе испытуемые с количеством лет обучения больше 10, имели более сохранные когнитивные функции (76,7 баллов по 3MS), чем те, кто получал образование менее 10 лет (55 баллов), ( $p \leq 0,2\%$ ). В экспериментальной группе испытуемые с продолжительностью образования более 10 лет показали значимо более высокие баллы по 3MS по сравнению с испытуемыми с продолжительностью образования менее десяти лет (76,7 и 55 соответственно, ( $p \leq 0,2\%$ )). Испытуемые контрольной группы затратили на получение образования в среднем значимо больше лет, чем испытуемые с БА (14 и 10,6 лет, ( $p \leq 1\%$ )), что сочетается с наличием у них значимо более высоких баллов по шкале 3MS (96 и 73).

Впервые на материалах ЛПУ Санкт-Петербурга экспериментально доказано влияние продолжительности образовательного процесса на сохранность когнитивных функций у больных болезнью Альцгеймера. Таким образом, продолжительность образовательного процесса можно считать важным фактором профилактики тяжелых форм снижения когнитивных функций при болезни Альцгеймера.

## **Изучение влияния 5-гидрокситриптамин-модулина на поведение белых крыс после острого неизбежного стресса**

**Цымбалова Александра Юрьевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*odrima@yandex.ru*

5-гидрокситриптамин-модулин или 5-НТМ (Leu-Ser-Ala-Leu) известен как эндогенный регулятор 1В рецепторов серотонина. Показано, что на фоне острого стресса содержание 5-НТМ увеличивается в тканях мозга (кора, гиппокамп, substantia nigra, гипоталамус) и уменьшается в надпочечниках, что может свидетельствовать об участии данного пептида в регуляции адаптивных реакций организма на стресс. Целью данной работы была оценка характера влияния 5-НТМ на поведение крыс после острого неизбежного стресса.

Работа выполнена на белых крысах-самцах (*Ratus norvegicus*); 5-НТМ вводился внутривентрикулярно или интраназально в дозе 100мкг/крысу. В качестве модели острого неизбежного стресса использовалась иммобилизация в течение 3-х часов. Пептид вводился либо перед иммобилизацией животных, либо сразу после прекращения стресса. Для исследования эффектов пептида применялся приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) и темно-светлая камера (ТСК). Эффект пептида оценивался в сравнении как с контрольными животными, подвергнутыми иммобилизации, так и с нативным контролем.

Нами показано, что предварительное введение животным 5-НТМ перед острым стрессом не оказывало выраженного эффекта при обоих способах введения.

Введение 5-НТМ после острого неизбежного стресса вызвало увеличение числа посещений и времени в светлых отсеках лабиринта, стоек и переходов, а также статистически значимое увеличение числа выглядываний, поведения риска; снижение времени замирания и латентного периода по сравнению со стрессированным контролем. То есть у опытных животных наблюдалось меньшая выраженность тревоги и их поведение по многим параметрам приближалось к нативным животным. Данный эффект проявлялся как при интраназальном, так и при внутривентрикулярном введении и сохранялся в течение 48 часов.

Полученные данные указывают на то, что, скорее всего, 5-НТМ принимает участие в развитии реакции адаптации организма в ответ на воздействие острого стресса. Выявленный нормализующий эффект пептида требует дальнейшего изучения и может оказаться перспективным для разработки новых форм коррекции заболеваний, связанных с реакцией на тяжелый стресс и нарушений адаптации.

## **Влияние антиоксидантов на процессы обучения и памяти у мутантной линии *cardinal Drosophila melanogaster***

**Черникова Д.А.<sup>1</sup>, Домнина Н.С.<sup>2</sup>, Сергеева О.Ю.<sup>2</sup>, Никитина Е.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Российский государственный педагогический университет им. А.И.Герцена, С.-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*keyan@bk.ru, 21074@mail.ru*

Антиоксиданты, как универсальные природные окислители и неотъемлимые участники окислительного стресса, играют важную роль в биохимических процессах в организме, и поэтому являются одной из возможных причин возникновения различных патологий, в связи с чем, внимание к антиоксидантам с каждым годом растет.

В организме существуют специальные системы, которые контролируют поступление антиоксидантов к тканям и органам. Так, при нарушении действия антиоксидантной системы развивается окислительный стресс, при котором активные формы кислорода вступают в реакцию с нуклеиновыми кислотами, белками, липидами, тем самым, нанося непоправимый вред организму. Однако, нельзя сказать, что введение избытка антиоксидантов в организм смогло бы решить данную проблему, поскольку свободные радикалы не только вредят, но и приносят пользу организму, способствуя перевариванию пищи или борясь с болезнетворными

микроорганизмами. В любом случае, вопросы пользы, необходимой дозировки, побочных эффектов антиоксидантов и др. — являются крайне актуальными на сегодняшний день.

Структура многих генов человека и дрозофилы гомологична, поэтому познание основ развития различных патологий, в частности, нейродегенеративных заболеваний, канцерогенеза и старения, у дрозофилы облегчает понимание этих процессов у человека и дает возможность поиска стратегий их терапии с использованием дрозофилы в качестве модели.

Целью проведенной работы было выявление влияния синтетических антиоксидантов на процессы обучения и памяти у мутантной линии *cardinal Drosophila melanogaster*. Опыты проводились по методике условно-рефлекторного подавления ухаживания у самцов *Drosophila melanogaster*.

Нами были взяты синтетические гибридные макромолекулярные антиоксиданты (ГМАО) на основе полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой: ПЭГ-КК (ММ = 6 800,  $\chi = 4,1$  масс.%) и ПЭГ-КК (ММ = 21600,  $\chi = 11,6$  масс.%). ПЭГ-КК — продукт модификации полиэтиленгликоля 4-гидрокси-3,5-ди-трет.бутилкоричной кислотой.

При добавлении в корм мух ПЭГ-КК (ММ = 6 800,  $\chi = 4,1$  масс.%) и ПЭГ-КК (ММ = 21600,  $\chi = 11,6$  масс.%) в концентрации  $10^{-6}$  моль/л у мутанта *cd* не было выявлено достоверных отличий формирования и сохранения памяти от дикого типа.

В интактном контроле нарушений памяти не было выявлено, а при ТШ (стресс) антиоксидант скорректировал нарушения памяти, имеющиеся у мутанта *Cd*.

Таким образом, была показана эффективность антиоксидантов ПЭГ-КК (ММ = 6 800,  $\chi = 4,1$  масс.%) и ПЭГ-КК (ММ = 21600,  $\chi = 11,6$  масс.%) на формирование и на сохранение памяти как при ТШ, так и без него у мутанта *cardinal D. melanogaster*.

### **Изменение экспрессии генов дофаминовых рецепторов в гиппокампе крыс в процессе условнорефлекторной деятельности с отрицательным подкреплением**

**Шварц Александр Павлович, Трофимов Александр Николаевич**

*НИИ Экспериментальной Медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия*

*alex1711990@mail.ru*

Дофамин — один из основных нейромедиаторов ЦНС млекопитающих, участвующий в регуляции множества физиологических функций, в т.ч. в процессах внутреннего подкрепления. Данные нейрофармакологических исследований говорят об участии дофаминовых рецепторов (ДР) гиппокампа в процессах обучения и памяти. Однако до сих пор не было известно изменяется ли экспрессия генов отдельных типов ДР в гиппокампе при выработке условных рефлексов. Цель данной работы — изучение особенностей экспрессии генов дофаминовых рецепторов D1, D2 (длинной — D2L — и короткой — D2S — изоформы), D3, D4, D5 в гиппокампе крыс при выработке условной реакции активного избегания (УРАИ). Работа выполнена на молодых (70–80-дневных) самцах крыс линии Вистар. УРАИ вырабатывали в двухуровневой камере (условный сигнал — свет) в течение 5 дней, по 20 попыток в день. Материал забирали через 40 минут после последней попытки 5-го дня, контролем служили интактные животные. Содержание мРНК интересующих генов определяли методом обратной транскрипции-ПЦР в реальном времени. К 5-му дню тренировки 33,3 % обучавшихся животных достигли критерия обученности (70 % правильных попыток). В гиппокампе животных, подвергавшихся когнитивной нагрузке, обнаружено достоверное снижение содержания мРНК D2L, D2S, D3 и D4 ДР, т.е. представителей D2-семейства. Полученные результаты позволяют предполагать вовлеченность данных рецепторов гиппокампа в механизмы формирования условных рефлексов с отрицательным подкреплением.

## Подсекция «ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ»

### Оценка загрязненности улиц Рязани выхлопными газами и меры для нормализации экологической обстановки в городе

*Бизяева Анастасия Евгеньевна*

*Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева,*

*Рязань, Россия*

*marieta69@mail.ru*

Транспорт является необходимым условием функционирования современного общества. Однако прогресс транспортной сети сопровождается отрицательным воздействием на окружающую среду. Ежегодно автотранспортными средствами выбрасывается в атмосферу более 12 млн. тонн загрязняющих веществ (70 % всех атмосферных выбросов в городах), из них наиболее опасны оксиды углерода, азота и серы, углеводороды, соединения свинца.

Цель работы: оценить загрязнение атмосферного воздуха выбросами автотранспорта в городе Рязани и предложить меры по нормализации экологической обстановки.

Загруженность автотранспортом основных магистралей города и оценку уровня загрязнения атмосферного воздуха оксидом углерода определяли по методикам, изложенным в практикуме А.И. Федоровой, А.Н. Никольской (2001). Наблюдения проводили 3 раза в сутки в течение месяца. Влияние выхлопных газов на состояние растений устанавливали методом флуктуирующей асимметрии (О.П. Мелехова и др., 2008). Для оценки коэффициента асимметрии (X) использована пятибалльная шкала (Захаров В. М., Крысанов Е.Ю., 1996): 1 балл ( $X < 0,055$ ) — чистый воздух, 5 баллов ( $X > 0,07$ ) — критическое состояние.

В результате исследований установлено, что загруженность улиц Рязани максимальна в вечерние и утренние часы (5–7 баллов), умеренная — днем (3 балла). Суммарная загруженность превышает 15000 автомобилей в сутки. Эти показатели свидетельствуют о значительном загрязнении атмосферного воздуха выхлопными газами, так как благоприятной для города считается загруженность автотранспортом в 1–2 балла.

Рассчитанный в соответствии с методикой уровень загрязнения атмосферного воздуха оксидом углерода на Московском шоссе находится в пределах  $16,8 \text{ мг/м}^3$ , что превышает ПДК в 3,5 раза; на Куйбышевском шоссе —  $12,6 \text{ мг/м}^3$ , превышение ПДК в 2,5 раза; на улице Семашко —  $23,4 \text{ мг/м}^3$ , превышение ПДК в 4,5 раза.

Коэффициент флуктуирующей асимметрии листьев у березы вблизи автомагистралей равен 0,062–0,066, что соответствует 3–4 баллам, указывает на высокий уровень загрязнения воздуха и неблагоприятность среды обитания для всех компонентов биоценоза.

Для решения проблемы загрязнения воздуха выхлопами автотранспорта необходимо: вывести за пределы городской черты грузовые транзитные потоки, организовать пешеходные зоны с полным запретом въезда транспортных средств на жилые улицы, ограничить интенсивность движения до 300 авт./час, расширить улицы и создать между проезжей частью и жилыми домами естественные фильтры — стены из зелёных насаждений.

*Автор выражает благодарность доктору биологических наук, профессору ФГБОУ ВПО РГАТУ, Александре Ивановне Новак за научное руководство при выполнении работы.*

### Методологическая основа биолого-экологического обоснования организации, реконструкции и функционирования заказников Ставропольского края

*Билько Марина Васильевна*

*Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Россия*

*bilko.marina@yandex.ru*

Развитие систем ООПТ на территории Ставропольского края в настоящее время рассматривается как основная форма сохранения биологического и ландшафтного разнообразия. В ходе развития системы охраняемых территорий предполагается образование новых ООПТ и введение специальных режимов природопользования на уже действующих объектах. В связи с этим возрастает необходимость в разработке эффективных инструментов

для организации и реконструкции ООПТ. Имеющиеся научные разработки по организации, реконструкции и функционированию ООПТ характеризуются узкоспециализированным подходом. В связи с этим возникает необходимость всестороннего анализа влияющих факторов и разработки комплексной системы мероприятий по сохранению благоприятных экологических условий.

В основу исследований положен геоэкологический (ландшафтно-экологический) подход. Для комплексной оценки современного состояния заказников Ставропольского края будут определены: показатель эффективности функционирования ООПТ, степень устойчивости биоты, функциональная значимость состояния ООПТ, форма и характер границ ООПТ.

Существует множество (более 30) различных индексов для измерения тех или иных аспектов видового разнообразия. Мы возьмем принятые в качестве нормативных показателей индексы в системах природоохранной службы ряда государств. Это индексы Менхиника (1964), Маргалёфа (1951), Симпсона (1949), Шеннона – Уиверра (1949), Бергера – Паркера (1970), дополнительно может быть использован индекс концентрации видового богатства (Кожаринов, Морозова, 1997).

Согласно «Методическим указаниям по обследованию памятников природы и государственных природных заказников» от 11.04.1995 г. будут проведены исследования по определению биологической устойчивости насаждений, деградации лесной среды, оценки состояния кустарниковой и травянистой растительности, даны рекомендации для перевода заказников в другие категории защищенности лесов и виды особо охраняемых территорий.

### **Разработка способа очистки сточных вод от соединений азота с использованием анаммокс-процесса в рамках технологии «Constructed wetlands»**

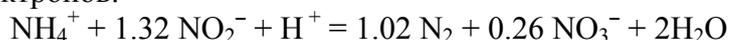
***Бурнашова Елена Николаевна***

*Томский государственный университет (ТГУ), Томск, Россия*

*lichtgestalte@mail.ru*

В настоящее время в малых населенных пунктах Томской области используется технология Constructed Wetlands, которая зарекомендовала себя как экономичная, экологичная и адаптированная к условиям Томской области. Сущность технологии заключается в создании на пути следования осветленных на этапе механической очистки стоков заболоченных участков с высшей водной растительностью. Однако использование данной технологии является невозможным в связи с отсутствием достаточного количества территории для размещения фитокарт. Поэтому стало необходимо разработать установку, занимающую меньшее количество площадей.

Выходом из данной ситуации могла бы послужить замена этапа очистки воды от соединений азота с традиционной схемы на процесс анаммокс: анаэробного окисления аммония. В этом процессе аммоний в присутствии анаммокс-бактерий (*Candidatus brokadia anammoxidans*, *Candidatus kuenenia stuttgartiensis*) окисляется до молекулярного, используя нитрит как акцептор электронов:



По сравнению с традиционным нитрифицирующим-денитрифицирующим способом удаления азотных загрязнений, для анаммокс-процесса не требуются высокие энергозатраты для поддержания постоянной концентрации кислорода, а так же дополнительный донор электронов, что делает его экономически более выгодным.

Установка представляет собой реактор, засаженный рогозом с вертикальным потоком воды и реактором, засаженным тростником и рогозом с горизонтальным потоком.

Эксперимент продолжался 56 дней. В течение первого месяца главной задачей было удерживать нитрифицирующие и анаммокс-бактерии. Второй месяц эксперимента был направлен на то, чтобы оценить эффективность удаления азота. Пробы брались из каждого резервуара. Пробы проанализированы с помощью ионоселективных электродов ЭЛИС-121  $\text{NO}_3^-$  и прибора МУЛЬТИТЕСТ-513, а также фотометрическими методами определения аммония, нитрата и нитрита.

Анализ результатов показал с каждым последующим циклом воды процесс нитрификации проходит быстрее и с большей эффективностью.

Исследования водных экосистем показали, что в соответствующих условиях анаммокс-процесс может превалировать над денитрификацией, и, таким образом, может наряду с ней являться одним из основных путей удаления азота из данных систем.

Реактор типа «СWs» оказался подходящим для сохранности биомассы и поддержания аэробно-анаэробной среды, которая играет большую роль для увеличения биомассы нитрификаторов и анаммокс-бактерий.

### **Экологический мониторинг состояния ТЭЦ (на примере г. Москвы)**

***Буханцев Кирилл Владимирович***

*Московский государственный открытый университет, Москва, Россия*

*afs6509115@mail.ru*

Цель работы — определить для каждого административного округа (АО), какие ТЭЦ создают для него наибольшую опасность здоровью населения, какие ТЭЦ создают наибольшую опасность в целом по городу. Для наиболее опасных ТЭЦ определить ориентировочную зону их воздействия с точностью до района.

В качестве характеристики загрязнения, создаваемого отдельной ТЭЦ, выбрана его максимальная концентрация при «опасной» скорости ветра. Она рассчитывалась для каждой из около 600 «клеток», на которые была разбита территория Москвы, с учетом расстояния от ТЭЦ до центра этой «клетки».

ТЭЦ выбрасывают в атмосферу такие вещества, как диоксид азота, диоксид серы, взвешенные вещества, пятиокись ванадия и углекислый газ. Выбросы ТЭЦ представляют серьёзную опасность для жителей города. Соединяясь с гемоглобином крови, оксид углерода блокирует способность красных кровяных телец переносить кислород, вызывая тем самым кислородное голодание, также этот газ негативно воздействует на сердечно-сосудистую систему. Вдыхание диоксида углерода (углекислого газа) в повышенной концентрации сопровождается изменением функции внешнего дыхания и кровообращения, вызывает головную боль, раздражение верхних дыхательных путей, увеличение легочной вентиляции легких за счет учащения и углубления дыхания, учащение сердцебиения. Получена ранжировка АО по совокупной опасности, создаваемой разными ТЭЦ. Наиболее опасными являются Центральный АО и Юго-Восточный АО. На уровне районов наибольший ранг опасности с точки зрения популяционного риска имеют Марьино, Выхино, Ясенево и Отрадное.

Опасными являются территории вокруг всех столичных ТЭЦ. Опасной зоной вокруг ТЭЦ в Москве является зона радиусом в 300 м. Внутри такой окружности опасно не только жить, но и строить стадионы, школы и площадки для отдыха. Близость жилой застройки обуславливает проведение на станциях дополнительных мероприятий по снижению воздействия на окружающую среду. Среди мероприятий по сокращению загрязняющих выбросов в атмосферу можно отметить монтаж дымососов рециркуляции газов (ДРГ), внедрение ступенчатого сжигания топлива на энергетических котлах.

### **Флуктуирующая асимметрия растений в экологической оценке состояния городской среды**

***Валеева Гузель Равильевна***

*Казанский федеральный университет, Институт экологии и географии, Казань, Россия*

*guzelvaleeva@yandex.ru*

Для оценки стабильности развития растений можно использовать любые признаки по различным морфологическим структурам, для которых возможно оценить нормальное значение и соответственно учесть степень отклонения от него. Предпочтительным в силу простоты и однозначности интерпретации является учет асимметрии исследуемых структур, которые в норме являются симметричными. В качестве наиболее простой системы признаков, удобной для получения большого объема данных для различных популяций, в настоящее время часто предлагается система промеров листа у растений с билатерально симметричными листьями.

В настоящей работе оценка качества окружающей среды в различных районах г. Казани

проводилась с использованием показателей флуктуирующей асимметрии (ФА) листьев березы повислой (*Betula pendula*).

Для отбора исследуемого материала был выделен 21 участок на территории города. Отбор проводился в конце вегетационного периода 2010–2011 г.

В ходе камеральной обработки оценивались следующие параметры: 1) морфометрические параметры листовой пластинки; 2) содержание фотосинтезирующих пигментов в листьях; 3) флуоресценция в листьях и ацетоновой вытяжке.

По результатам оценки с использованием показателя ФА большинство исследованных точек на территории г. Казани было отнесено к категории «грязно» («опасно»), а 2 точки — к категории «очень грязно» («вредно»). Точки градации «чисто» на территории города отсутствуют. Наиболее неблагоприятным с точки зрения качества среды обитания по результатам исследования оказался Авиастроительный район.

С использованием непараметрического критерия Спирмена была выявлена обратная корреляционная зависимость между содержанием пигментов в листьях и степенью нарушения стабильности развития березы, а также непараметрическая зависимость между замедленной флуоресценцией живой ткани листа и степенью нарушения стабильности развития. В дальнейшем это может стать основой для разработки метода экспресс-оценки качества городской среды с использованием растений.

С 2010 г. по 2011 г. прослеживается тенденция к ухудшению состояния окружающей среды в г. Казань. По всей видимости, это является следствием увеличением транспортной нагрузки, строительными и ремонтными работами на территории города в преддверии Универсиады-2013.

По результатам исследования была составлена карта качества среды обитания для г. Казани.

#### **Морфо-гистохимические исследования пыльцы четырех видов рода Лютик: результаты 4-летнего мониторинга**

***Воробьева Ольга Александровна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,  
followthesun.95@mail.ru*

В моем исследовании были проанализированы образцы пыльцы четырех представителей рода лютик (*Ranunculus*) по морфологическим и гистохимическим показателям.

Методами моего исследования были световая микроскопия, микрофотография, микроморфометрия и статистическая обработка данных.

В ходе исследования было проведено изучение состояния Кинозерского Национального Парка с помощью комплексной оценки состояния пыльцевых зерен представителей рода лютик произрастающих на данной территории.

Результаты, полученные в ходе исследования, показали, что с увеличением антропогенной нагрузки экологическое состояние исследуемой территории ухудшилось, об этом свидетельствует уменьшение количества пыльцы, способной к размножению.

#### **Микробные технологии очистки промышленных и бытовых сточных вод**

***Гальперина А.Р., Иващенко К.В.***

*Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия  
ksuny-24.03@inbox.ru*

Вода — ценнейший природный ресурс, который играет исключительную роль в процессах обмена веществ, составляющих основу жизни.

Потребности в воде огромны и ежегодно возрастают. Ежегодный расход воды на земном шаре по всем видам водоснабжения составляет 3300–3500 км<sup>3</sup>. При этом 70 % всего водопотребления используется в сельском хозяйстве.

Для изучения роли альго-бактериальных сообществ на основе цианобактерий в процессах самоочищения сточных вод ставились микроэкосистемы на основе промышленных и бытовых сточных вод с внесением циано-бактериальных сообществ. В микроэкосистемах отслеживались следующие параметры: убыль суммарных нефтяных углеводородов, содержание растворенного

кислорода, БПК<sub>5</sub>, перманганатная и бихроматная окисляемость, содержание растворенного органического вещества, оптическая плотность вод .

В ходе определения гидрохимических показателей установлено, что для замазученных сточных вод поверхностного горизонта резервуара-накопителя отмечается превышение ПДК для водоемов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования: хлорид-ионы (674 мг/дм<sup>3</sup>) — 2 ПДК; сульфат-ионы (920 мг/дм<sup>3</sup>) — 1,84 ПДК; нефтяные углеводороды (82,9 мг/дм<sup>3</sup>) — 276 ПДК. Гидрокарбонаты содержатся в количестве 122 мг/дм<sup>3</sup>, рН среды — 7,8 (слабощелочная). Согласно проведенным исследованиям методом биотестирования сточные воды можно отнести к сильнозагрязненным, класс опасности второй (высокоопасные отходы).

Бытовые сточные воды характеризовались следующими параметрами: ХПК составило 544,8 мг/л; содержание РОВ — 144,2 мг/л; содержание растворенного кислорода — 3,63 мг/л. Сточная вода обладала светло-соломенным цветом, мутностью и интенсивным запахом сероводорода.

В ходе экспериментальных исследований было обнаружено, что внесение циано-бактериальных сообществ в замазученные сточные воды способствует снижению значений перманганатной окисляемости на 69 %, бихроматной окисляемости на 65 %, содержания растворенного органического вещества на 73 %, содержания суммарных нефтяных углеводородов на 91,4 %. Происходило интенсивное обесцвечивание сточных вод: оптическая плотность сточной воды в эксперименте уменьшилась на 79 %. Все это свидетельствует об интенсивно проходящих процессах биодеградации органического вещества.

Кроме того, наблюдалось снижение токсичности сточной воды со второго до четвертого класса опасности.

Внесение циано-бактериальных сообществ в бытовые сточные воды позволило снизить химическое потребление кислорода на 66 %, содержание растворенного органического вещества на 99%; увеличить содержание растворенного кислорода на 62 %. Также внесение цианобактериальных сообществ способствовало уничтожению неприятного запаха в течение 5 суток.

Таким образом, внесение циано-бактериальных сообществ в промышленные и бытовые сточные воды не только интенсифицирует процессы самоочищения от нефтяных углеводородов и органических веществ, но и способствует детоксикации и дезодорированию сточных вод.

Это создает предпосылки использования подобного рода сообществ для разработки методов биологической очистки нефтесодержащих и бытовых сточных вод.

### **Биоиндикация в современных экологических мониторинговых исследованиях городских экосистем**

*Глазова Ирина Юрьевна*

*Курский государственный университет, Курск, Россия*

*glazova-ira@mail.ru*

Интенсивный рост городов, следствием которого является загрязнение окружающей среды, настойчиво диктует поиск новых и совершенствование уже существующих методов экологических исследований. Актуальность подобных работ не подлежит сомнению благодаря своему социальному значению, поскольку от состояния природной среды зависит качество жизни населения. В современных экологических исследованиях часто обращаются к вопросам биомониторинга и биоиндикации.

При изучении экологического состояния городской среды в центральном округе города Курска, использовали фитоиндикацию. В качестве объекта исследования послужили древесные растения — береза повислая (*Bétula péndula*). Оценивали уровень флуктуирующей асимметрии по методике Захарова, Крысанова 1996.

По расчетным данным он максимален (более 1) на площади им. Перекальского, что соответствует очень грязному воздуху; минимален на ул. Золотая, то есть здесь чисто.

После проведенного исследования мы выяснили, что уровень флуктуирующей асимметрии листьев березы повислой может значительно отличаться на пробных площадках в зависимости от интенсивности антропогенной нагрузки. Так, на пл. Перекальского с высокой урбаногенной нагрузкой уровень асимметрии листьев составляет 1,058. На территории

Эколого-биологического центра, удаленного от центральных магистралей, предприятий и селитебной зоны города, уровень асимметрии намного ниже — 0,04. В тоже время, на ул. Золотая, расположенной в центре города, уровень асимметрии листьев березы также низок.

## **О степной петрофитной растительности Средне-Волжского комплексного биосферного резервата**

**Горлов Сергей Евгеньевич**

*Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия*

*gorlov87@yandex.ru*

Необходимость выявления биологического разнообразия и организации его мониторинга на сегодняшний день является одним из приоритетных направлений развития современной экологии и охраны природы. Особый интерес представляет изучение разнообразия флоры и растительности степей, распространенных на особо охраняемых природных территориях, где фитоценозы сохранились в почти первозданном виде. К настоящему моменту, в изучении растительности петрофитных степей Средне-Волжского биосферного резервата, созданного в 2006 году (заповедный режим в зоне ядра установлен 19.08.1927 г.), остаются значительные пробелы.

Начиная с 2010 года, на территории резервата нами проводится работа, цель которой — изучение современного состояния петрофитной растительности, прогноз дальнейших изменений и предложение мер по сохранению разнообразия растительности заповедной территории.

На крутых склонах, преимущественно южной экспозиции, где горные породы каменноугольного и пермского возрастов выходят на дневную поверхность нами выявлено 73 вида высших сосудистых растений, принадлежащих к 56 родам и 27 семействам. Всего же в петрофитных степях Жигулей зарегистрировано 400 видов высших сосудистых растений, что составляет примерно 1/3 от общего числа видов (1300), обнаруженных на территории Самарской Луки. В составе степных петрофитных сообществ встречается большинство реликтовых (*Aster alpinus* L., *Globularia punctata* Lapeyr.), эндемичных (*Euphorbia zhiduliensis* Prokh., *Gypsophila juzepczukii* Ikonn.) и редких видов растений резервата (*Scabiosa isetensis* L., *Polygala sibirica* L.) [2]. Выделенные растительные сообщества мы объединили в 6 формаций: песчаноковыльную, овсецовую (*Helictotrichon desertorum*), дерновинно-злаковую (*Stipa pennata*, *H. desertorum*), песчаноковыльную с участием кустарников, осоковую (*Carex pediformis*) и разнотравную формации. Сообщества первых трех формаций являются самыми распространенными, они отличаются сомкнутым ненарушенным растительным покровом и характеризуются доминированием плотнодерновинных злаков. Фитоценозы с участием кустарников встречаются повсеместно небольшими островками вблизи леса. Сообщества осоковой и разнотравной формации распространены на сильно щебнистых почвах и на участках, подверженных повышенной рекреационной нагрузке. Во всех сообществах плотнодерновинные злаки *S. pennata*, *H. desertorum* и осока *C. pediformis*, формируя мощные куртины, уменьшают подвижность щебнистого субстрата и принимают активное участие в образовании мелкозема на каменистых осыпях.

Описанные сообщества являются петрофитным вариантом луговых степей, о чем свидетельствует состав и структура описанных фитоценозов. Проанализировав полученные данные, можно так же сделать вывод, что состояние растительного покрова степей является удовлетворительным. Но сохранение сложившегося фитообразия возможно лишь при условии строгого поддержания установленного природоохранного режима в сочетании с традиционными формами природопользования.

## **Комплексный мониторинг почвы несанкционированных свалок города Астрахани**

*Горлова Анастасия Павловна*

*Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия*

*feya\_p\_90@mail.ru*

Предметом исследований являлось десять несанкционированных свалок, расположенных на территории города Астрахани, в отношении которых проводились микробиологический, физико-химический анализ и фитотестирование.

В ходе физико-химического анализа проводились измерения по следующим показателям: свинец, мышьяк, никель, кадмий, медь и ртуть. Содержание свинца превысило ПДК в образцах почвы пробы №1 и пробы №2 в 4 и 2,4 раза соответственно. Обе свалки расположены около дорог с активным движением транспорта, при этом в пробе №1 содержание свинца близко к показателю ОДК. Количество мышьяка в исследованных образцах почвы в пробах №2 и №7 незначительно превышает значение ПДК в 1,05 и 1,2 раза соответственно, но не превышают значения ОДК для глинистых почв. По всем остальным исследованным показателям значения ПДК и ОДК превышены не были. Результаты микробиологического анализа определялись по показателям: бактерии группы кишечной палочки, энтерококки, патогенные бактерии, яйца гельминтов. Из всех показателей превышение норматива качества наблюдалось по количеству только яиц гельминтов в двух пробах, расположенных в частном секторе. Фитотестирование проводилось в течение 7 дней, показателями являлись длина корня и число проросших семян. Наименьшее число проросших семян кресс-салата (25 %) и наименьшая длина корня (2,38 см) отмечались в пробе №1. Кроме того, внешний вид корешков в образце заметно хуже, чем в других и контрольном образцах. Данные результаты наглядно показывают ингибирующее воздействие свинца в почве на рост и развитие растений. В пробах №9 и №10 — почва со свалок частного сектора — установлены наибольшее число проросших семян (86 % и 88 %, соответственно) и самые длинные корни (3,28 и 3,34 см соответственно). Это связано с более близким положением к естественной среде, привнесение в почву свалок отходов органического характера.

В заключении следует отметить, что загрязнение почвы было отмечено по свинцу на свалках, расположенных вдоль дорог, что не имеет отношения к выбрасываемому мусору, а является результатом выброса автотранспорта. Большого воздействия на экосистему города несанкционированные свалки не оказывают, однако негативно сказываются на эстетическом виде города и любого другого места, где располагаются. Кроме того, по характеру мусора в основном на свалках располагается синтетический мусор: полиэтилен, целлофан, пластмассы и другие виды, которые имеют особое значение в загрязнении почвы, так как их разложение и выделение в почву загрязняющих веществ в данный момент не заметно.

### **Особенности микробной деградации нефтехимических поллютантов**

**высоконагруженных промышленных сточных вод**

*Дао Линь Тхи Тху, Девятияров Руслан Мансурович*

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*daothuylinh1986@gmail.com*

Производство стирола и окиси пропилена (СОП) нефтехимического комплекса ОАО «Нижнекамскнефтехим» сопряжено с образованием высококонцентрированных и токсичных сточных вод. Такие стоки не пригодны для очистки традиционными биологическими методами в аэротенках, т.к. уровень их органического загрязнения многократно (в 10–100 раз) превышает допустимую нагрузку на активный ил. Несмотря на крайне высокое загрязнение (ХПК от 4000 до 60000 мг О<sub>2</sub>/л) основные компоненты этих сточных вод представлены легкодоступными веществами: гликолями (моно- и дипропиленгликоли — до 65 %), спиртами (этанол, пропанол — до 15 %) и летучими соединениями (метилфенилкарбинол (МФК), ацетофенон (АЦФ) — до 19 %). Поэтому на предприятии предприняты попытки частичной биоочистки этих стоков в реакторах с иммобилизованной микрофлорой перед их поступлением в общезаводскую систему очистки сточных вод. Исследование особенностей микробного

кометаболизма компонентов сточных вод позволит повысить эффективность биологических реакторов на этапе предочистки, что и явилось целью данной работы.

Сточную воду, а также сочетание отдельных ее компонентов (моно-, дипропиленгликоль, этанол, МФК, АЦФ, бензол, стирол) испытали в качестве энергетических и ростовых субстратов для доминирующих изолятов аборигенного сообщества микроорганизмов, выделенных из реактора предварительной очистки промышленных стоков. Изменение оптической плотности при выращивании 10 отдельных исследуемых изолятов на жидкой минеральной среде с добавлением одного из перечисленных ксенобиотиков или самой сточной воды в концентрации 1 г/л позволило выявить закономерность снижения биодоступности загрязнений в ряду: моноэтиленгликоль, пропиленгликоль, диэтиленгликоль, стирол, АЦФ, толуол, дипропиленгликоль, МФК, бензол и сточная вода. При оценке кометаболизма отдельных соединений (1 г/л) на фоне легкодоступного пропиленгликоля (1 г/л) для большинства исследуемых изолятов интенсивность дыхания (доля образованного CO<sub>2</sub> в газовой фазе за 12 часов инкубирования, %) уменьшается в ряду: этанол (0,4–3,2 %), пропиленгликоль (0,5–2,7 %), дипропиленгликоль (0,3–2,7 %), АЦФ (0,5–1 %), МФК (0,1–1 %), неочищенная вода (0,4–0,6 %), бензол (0,2–0,6 %) и стирол (0,1–0,4 %). Таким образом, исходя из особенностей микробной деградации загрязнений следует, что гликоли оказывают стимулирующее действие на микрофлору реактора и могут дополнительно применяться в качестве косубстрата, тогда как летучие ароматические соединения, в особенности стирол, ингибируют дыхательную активность вплоть до полного ее исчезновения.

### **Изучение рекреационных нагрузок в национальных природных парках Украины (на примере НПП «Голосеевский»)**

*Дацюк Вадим Викторович*

*Институт ботаники НАН Украины им. Н.Г Холодного, Киев, Украина*

*vdacuk@ukr.net*

Исследовали влияние рекреационных нагрузок на экосистемы в национальных парках Украины. Основной задачей, которая требует решения в области рекреационных нагрузок, является нехватка квалифицированных специалистов в области ботаники, почвоведения, географии и других специальностей, которые должны работать совместно над вопросом оптимизации рекреационной деятельности на территориях НПП. На современном этапе природно-заповедного дела в Украине, уже ведутся подобные работы в отдельных национальных парках.

В НПП «Голосеевский» (4521,29 га), который находится на территории города Киева, нами проводятся исследования по определению стадий рекреационной дигрессии на природные экосистемы парка, изучению общего характера динамики растительного покрова. На мониторинговых площадках проводятся геоботанические описания, что дает возможность изучений изменений растительности в будущем. Картирование мониторинговых площадок позволит прогнозировать изменения растительности в зависимости от разных степеней рекреационных нагрузок в разных типах растительного покрова. В дальнейшем будет разработана схема смен растительных сообществ всех типов растительности территории парка и создана классификационная схема антропогенных изменений.

Разработка общегосударственной программы по обязательному и целенаправленному изучению рекреационных нагрузок в НПП и других категориях природно-заповедного фонда должна стать приоритетным заданием. Важным вопросом природоохранной деятельности является организация экологического просвещения (специальные курсы по управлению рекреационными нагрузками и агитационная работа в СМИ). Изучение рекреационных нагрузок должно осуществляться по методике, составленных для каждого НПП отдельно. Для каждого типа растительности, работа должна осуществляться в комплексном подходе к изучению данного вопроса. В результате исследований должны быть разработаны рекомендации по сбалансированному управлению НПП Украины.

## **Анализ зелёных насаждений в лесопарковых зонах города Астрахань и виды их заболеваний**

*Дроздова Алёна Евгеньевна*

*Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия*

*alenuchka\_1991@mail.ru*

Был проведён анализ состояния зеленых насаждений в «Братском саду», в «Морском саду» и в парке АГТУ города Астрахань, изучены их заболевания. Основные паркообразующие породы в Астрахани — вяз мелколистный (37,6 %), тополь пирамидальный (17,5 %), тополь белый (14 %), робиния белая (11 %), сирень обыкновенная (10 %), ива вавилонская (0,8 %), береза бородавчатая (1,8%), абрикос и вишня обыкновенная (0,4 %), липа мелколистная (7,9 %), ель и сосна обыкновенная (3 %), туя восточная (0,7 %), шиповник майский (8 %).

Состояние деревьев в городе Астрахань можно оценивать как неудовлетворительное, так как более 80 % деревьев имеют различные заболевания. Наибольшая заболеваемость наблюдается в возрастной группе деревьев 20–30 лет — 93,9 % больных растений. Основные заболевания растений — мучнистая роса (15 %), хлороз (75 %), черная пятнистость (3 %), антракноз (3 %), септориоз (4 %).

Для улучшения состояния «Братского сада», «Морского сада» и парка АГТУ города Астрахань рекомендуется разработка комплекса следующих мероприятий: посадка новых растений, обрезка кроны у деревьев, посадка кустарников и клумбовая высадка одно-, дву-, многолетних травянистых и декоративных растений, соответствующих лесорастительным условиям данной территории.

## **Возможность использования цитологического анализа при оценке экологического состояния города (на примере г.Барнаула)**

*Ерещенко Ольга Владимировна*

*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

*olga4ka\_asu@mail.ru*

В городах часто складывается неблагоприятная экологическая обстановка, что в значительной мере связано с ростом количества автомобилей и выбросов выхлопных газов от них. В условиях техногенной нагрузки происходят различные изменения морфологических, физиологических, биохимических и других характеристик, в том числе и цитогенетических. Чаще всего это адаптивные изменения, наблюдаемые при небольших концентрациях загрязнителей в окружающей среде. В качестве объекта исследований служила береза повислая. Сбор растительного материала проводили в точках, расположенных в районах города с различной интенсивностью техногенной нагрузки. Фертильность пыльцы определяли после окрашивания ее раствором Люголя.

Фертильность пыльцы является одним из важнейших признаков, характеризующих состояние окружающей среды. В условиях загрязнения увеличивается процент аномалий и наблюдается более широкий их спектр. Однако, не только атмосферные загрязнители оказывают негативное влияние на микроспоро- и гаметогенез, приводя к морфологическим и биохимическим изменениям пыльцы, но и индивидуальные особенности каждого дерева, а так же погодно-климатические условия вегетационного периода.

Варьирование пыльцы с высоким содержанием крахмала по годам существенно не отличалось. Сохранялась тенденция уменьшения количества фертильной пыльцы в точках, где наблюдается увеличение транспортной нагрузки. Так, например в 2012 г. средняя доля пыльцы составляла 93,36 %, что существенно выше, чем в 2010 и 2011 гг. (86,71 % и 86,51 % соответственно). Таким образом, признак «фертильность пыльцы» характеризуется узкой нормой реакции (коэффициент вариации не превышает 10 %), что позволяет выявить сбой генетических систем при возрастании техногенной нагрузки. Это делает возможным использование данного признака в биоиндикационных целях.

Морфологические и морфометрические характеристики пыльцы (диаметр, доля деформированных пыльцевых зерен) достоверно отличаются от контрольных значений в 30–35 % случаев, что указывает на возможность использования данного признака в условиях

г. Барнаула как дополнительного к другим признакам при значительном загрязнении окружающей среды.

**Динамика радиационной ситуации в населенных пунктах,  
прилегающих к Семипалатинскому ядерному полигону**

**Жакупова Шолпан Болатовна**

*НИИ радиационной медицины и экологии, Семей, Казахстан*

*zh.sholpan.88@mail.ru*

Деятельность Семипалатинского испытательного ядерного полигона (СИЯП), на котором за период 1949–1991 гг. было проведено 467 ядерных испытаний, стала причиной радиоактивного загрязнения обширных территорий. Одним из наиболее загрязненных является Абайский район Восточно-Казахстанской области, загрязнение которого обусловлено самым мощным наземным взрывом термоядерной бомбы (12.08.1953).

Цель работы — оценка динамики радиационной ситуации на территориях населенных пунктов Абайского района. Динамика представлена по результатам выкопировки частично сохранившегося архивного материала в НИИ радиационной медицины и экологии (1959–1990 гг.) и современных исследований (1995–2011 гг.).

Архивные данные показывают, что после запрета на проведение воздушных и наземных испытаний в 1962 г., процессов естественной дезактивации почв суммарный запас радиоактивных продуктов деления в объектах окружающей среды Абайского района систематически уменьшался. Так, к 1990 году удельная суммарная активность почвы уменьшилась в 4–6 раза, растительности в 6, воды до 279, молока и мяса до 11 раз. Концентрация Sr-90 и Cs-137 в поверхностном слое почвы снизилась до 2,6 и 4,7 раз соответственно. Выявлено увеличение концентрации Cs-137 в 1986 году, что можно объяснить увеличением глобального выпадения Cs-137 от аварии на Чернобыльской АЭС. Однако в результате анализа содержания радионуклидов в почве в 1994 г. установлено, что для слоя 0–5 см соотношение Cs-137 к Sr-90 составляет 0,937–3,5 при значениях глобальных выпадений 1,6–1,7.

В современный период уровни содержания Cs-137 в образцах почвы Абайского района составляют  $1,8 \cdot 10^2$ – $9 \cdot 10^3$  Бк/м<sup>2</sup>, что сопоставимо, либо немного ниже, чем предполагаемый местный глобальный уровень ( $3 \cdot 10^3$ – $7 \cdot 10^3$  Бк/м<sup>2</sup>). Содержание Pu-239, Pu-240 находится в пределах до  $2 \cdot 10^3$  Бк/м<sup>2</sup>, что в единицы–десятки раз выше предполагаемого глобального уровня (50 Бк/м<sup>2</sup>). Атомные отношения Pu-240/Pu-239 составляют 0,025–0,1.

Таким образом, анализ динамики радиационной ситуации населенных пунктов Абайского района, прилегающих к СИЯП, показывает, что удельная суммарная активность, концентрация Sr-90, Cs-137 в почве, растительности, продуктах питания и в воде снизились в десятки и сотни раз. Современная радиационная обстановка определяется и будет определяться в будущем  $\alpha$ -активными элементами.

**Результаты исследований разработанной технологии очистки сточных вод  
от соединений азота с использованием иммобилизованных микроорганизмов**

**Жукова Вероника Сергеевна**

*Киевский политехнический институт, Киев, Украина*

*veronika\_vv@ukr.net*

Проблема удаления соединений азота из сточных вод возникла в связи с увеличением их концентрации в сточных водах. Современные технологии биологической очистки сточных вод от соединений азота характеризуются значительными энерго-и материалозатратами и высоким объемом отходов.

Целью работы было исследование закономерностей процессов очистки сточных вод от соединений азота с использованием иммобилизованных микроорганизмов и разработка на этой основе технологии анаэробно-аэробной очистки с высокой эффективностью удаления

соединений азота при обеспечении действующих нормативов, с минимальными энергозатратами и малым объемом отходов.

В экспериментах использованы методы фотоколориметрии, потенциометрии, гравиметрии, рН-метрии, оптического микроскопирования. Для определения биоценоза биопленки носителя использовали оптическое микроскопирование с помощью биологического микроскопа исследовательского класса ULAB XSP-139TP с фото-видеовыходом.

В результате исследований было установлено, что при использовании разработанной технологии эффективность очистки сточных вод аммонийным азотом составляет 98,2–98,5 % и обеспечивается следующими значениями технологических показателей: гидравлическая нагрузка — 5,5–5,8 м<sup>3</sup>/(м<sup>3</sup>·сут); нагрузки по аммонийным азотом — 8–20 мг/(г·сут); окислительная мощность — 40–80 м<sup>3</sup>/(м<sup>3</sup>·сут), при начальных на аэробной стадии концентрациях аммонийного азота 11–32 мг/дм<sup>3</sup>. В результате исследования иммобилизованной на волокнистом носителе биопленки с помощью оптического микроскопирования установлено, что данная технология на разных стадиях очистки позволяет создать биоценоз гидробионтов, который обеспечивает не только очистку сточных вод от соединений азота, но и уменьшение количества избыточной биомассы до 0,5–0,7 г/(м<sup>3</sup>·сут). Установлено, что процесс очистки сточных вод в биореакторах с иммобилизованными микроорганизмами может осуществляться в условиях периодической работы очистных сооружений и изменения температуры наружного воздуха с самовосстановлению биомассы гидробионтов при обеспечении необходимых технологических режимов работы сооружений.

## **Стационарные источники загрязнения атмосферы и состояния здоровья населения Ульяновской области**

*Зелеев Дмитрий Фаритович*

*Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия*

*DFZelev07@yandex.ru*

Атмосферный воздух является жизненно важным компонентом окружающей среды. Особую актуальность для обеспечения должного качества окружающей среды получает прогноз уровня загрязненности воздуха. Цель работы — установление корреляции между прогнозируемым качеством воздуха и заболеваемостью населения Ульяновской области болезнями органов дыхания.

Исходными данными были материалы томов предельно допустимых выбросов 516 предприятий области, расчет проводился на программе УПРЗА «Эко-Центр», на основании методики ОНД-86.

Учтено 6574 источника выбросов загрязняющих веществ. В выбросах предприятий содержится 312 веществ и 27 групп суммации. В связи с ограничениями методики (прогноз достоверен в радиусе 100 км), область разбита на 4 части. Итог расчета — карты с изолиниями концентраций веществ и уровни загрязнения воздуха в 402 расчетных точках в населенных пунктах области.

По итогам расчетов, в южной части выделено 2 области с прогнозируемым превышением предельно допустимых концентраций (ПДК): окрестности п.Красносельск и р.п.Павловка, максимальный показатель — азота диоксид (43,6 ПДК). В Западной части области — 4 подобных территории: г.Барыш, г.Инза, станция Глотовка, пос.Карсун. Максимум значений получен для сажи — 29,8 ПДК. В Заволжской части формируются 3 территории: г.Димитровград, с.Средняя Якушка, р.п.Чердаклы. Превышения ПДК выявлены железа оксида, азота диоксида, бенз/а/пирена. В Центральной части — 4 территории: г.Ульяновск, р.п.Большие Ключищи и г.Новоульяновск, р.п.Майна, г.Сенгилей. Наибольшие концентрации формируются для сероводорода — до 90 ПДК. Качество воздуха на большей части территории области соответствует действующим нормативным требованиям.

В работе использовались данные о заболеваемости болезнями органов дыхания за 11 лет, в период 2000-2011 гг. Сравнивалась заболеваемость (на 1000 населения) по 9 болезням для 21 района области и концентрации 24 веществ. Корреляция находилась для 1540 пар столбцов данных. Корреляция подтверждается для болезней органов дыхания (в целом) и

астмы. Значимо, с вероятностью ошибки  $\alpha = 0,01$ , она подтверждается по линейному коэффициенту — для 32,3 % случаев, по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена — 12,3 %. Для большинства видов заболеваний зависимость не установлена. Загрязнение воздуха не является непосредственно причиной заболеваемости, но повышает её уровень при воздействии наравне со многими, влияющими на здоровье агентами.

### **Химические и морфологические показатели *Ceratophyllum demersum* L.**

**в биомониторинге природных вод**

**Ильяшенко Надежда Владимировна**

*Тверская государственная медицинская академия, Тверь, Россия*

*nadya\_bioecology@mail.ru*

Особое место среди растений-гидрофитов занимает роголистник темно-зелёный (*Ceratophyllum demersum* L.), важным преимуществом данного тест-объекта является скорость размножения, простота морфологического строения.

Эффективными методами изучения изменений на химическом и морфологическом уровнях в растениях являются Фурье-ИК спектроскопия, растровая электронная микроскопия (РЭМ) и рентгеновский микроанализ (РМА).

Сбор растений и забор воды на химический анализ производился в водоёмах на территории Тверской обл., которые делили по фактору близости к источнику загрязнения на две группы — фоновый (I — р. Межа, Центрально-лесной государственный природный биосферный заповедник) и загрязнённые (II — озеро-охладитель Удомля КАЭС, III — сточный канал ОАО «Редкинский опытный завод»).

ИК-спектры регистрировали на спектрометре «Equinox 55» Bruker. Образцы растений исследовали при увеличении в 500, 1000 раз на растровом электронном микроскопе JEOL 6610LV, РМА проводился с помощью микроанализа INCA Energy SEM. Был проведён химический анализ воды водоёмов произрастания растений с помощью спектрофлуориметра «Флюорат-02-панорама» и системы капиллярного электрофореза «Капель-105» (Люмэкс).

Результаты анализа воды из водоёмов произрастания роголистника показали наличие в пробах II, III поллютантов ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , фенолы, АПАВ, нефтепродукты) значительно превышавших фоновые значения (I). При сравнении ИК-спектров образцов роголистника из фонового и загрязнённых водоёмов отмечено значительное изменение химического состава растений. Спектры образцов растений из загрязнённых местообитаний (III) демонстрируют изменения на частотах:  $\sim 2514 \text{ см}^{-1}$ , обусловленные валентными колебаниями S-H групп;  $\sim 1794 \text{ см}^{-1}$  — валентными колебаниями C=O групп;  $\sim 876 \text{ см}^{-1}$  — валентными колебаниями S-O-C группы и  $\sim 712 \text{ см}^{-1}$  — валентными колебаниями C-S-C групп.

Методами РЭМ и РМА выявлены изменения в элементном составе, обнаружены деформация клеток эпидермиса, зафиксированы диатомовые водоросли (*Diatomea sp.*) на эпидермальном слое. Большое количество кремния, обнаруженного в образцах роголистника, связано с наличием кремнезёма в *Diatomea sp.* Отмечено появление на листьях роголистника (III) конкреций солей бария и марганца, что также согласуется с полученными данными рентгеновского анализа.

Анализ накопления фитомассой гидрофитов техногенных элементов показал, что с учётом зональности наибольшей способностью к накоплению химических элементов отличаются погруженные гидрофиты (*C. demersum*).

### **Влияние глобальных изменений климата на продуктивность агроэкосистем Украины**

**Йосипенко Надежда Васильевна, Чайка Владимир Николаевич**

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина*

*l3nadinka@ukr.net*

Актуальность проблемы потепления в настоящее время не вызывает сомнений. Данные контроля за окружающей средой свидетельствуют, что увеличение концентрации  $\text{CO}_2$  в атмосфере сопровождается повышением средней температуры воздуха у поверхности земли. В последние десятилетия по всей территории Украины наблюдается повышение среднегодовой

температуры на 0,3–0,6 °С (за 100 лет — на 0,7 °С), уменьшение количества зимних осадков, что должно существенно влиять на продуктивность культурных растений, биоразнообразие, фитосанитарное состояние агроценозов. Глобальные изменения климата увеличивают экологические риски для ведения интенсивного земледелия.

Цель наших исследований заключалась в выявлении экологических нарушений, которые уже регистрируются в агроэкосистемах в условиях потепления. Для анализа использовали эколого-статистический метод обработки многолетних баз данных, которые получены в условиях полей севооборота Драбовского стационара (Лесостепь Украины). При выращивании основных сельскохозяйственных культур использовались стандартные агротехнические приёмы, постоянно внедрялись новые высокопродуктивные сорта. Трендовый анализ свидетельствует, что за годы наблюдений среднегодовая температура выросла почти на 1 °С.

Анализ результатов 37-летних исследований продуктивности посевов кукурузы и озимого ячменя свидетельствует, что на фоне повышения среднегодовой температуры и количества осадков наблюдается тенденция к увеличению продуктивности посевов кукурузы и уменьшению — озимого ячменя. Это можно объяснить тем, что кукуруза имеет специфический, очень активный тип фотосинтеза (C<sub>4</sub>), благодаря которому в условиях повышения температуры растение оптимальным способом использует влагу и элементы питания в процессе формирования высокопродуктивных посевов. Ячмень является типичным представителем растений с C<sub>3</sub> типом фотосинтеза, при котором потери CO<sub>2</sub> на фотодыхание особенно увеличиваются при повышении температуры. Оптимум температуры для фотосинтеза у C<sub>3</sub>-растений 20–25 °С, тогда как у растений C<sub>4</sub> — 30–45 °С.

Проведен анализ результатов 33-летних наблюдений за продуктивностью посевов гороха и сахарной свеклы. Выявлена тенденция к заметному увеличению урожайности сахарной свеклы (на 25 %) и уменьшению — гороха (на 3,8 %).

С 1960 по 1994 г. средняя урожайность озимой пшеницы в севообороте существенно колебалась, что было тесно связано с естественным ходом показателей температуры и осадков, но наблюдалась стабильная тенденция увеличения урожайности посевов. После 1994 г. продуктивность посевов озимой пшеницы заметно уменьшилась, что тесно связано с увеличением среднегодовой температуры и увеличению продолжительности вегетационного сезона.

Полученные данные свидетельствуют, что получения стабильных и сравнительно высоких урожаев все больше зависит от широкого внедрения сортов, которые оптимально сочетают большую потенциальную урожайность с высокой устойчивостью к абиотическим стрессам.

### **Биоиндикационная оценка состояния среды в зоне воздействия Нюрбинского горно-обогатительного комбината**

*Капитонова Яна Рубириевна*

*Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия*

*ka.yana.ru@mail.ru*

Оценка качества среды является принципиально важной задачей, как при планировании, так и при осуществлении любых мероприятий по природопользованию, охране природы и обеспечению экологической безопасности. Приоритетность биологической оценки качества среды определяется, кроме интегральности, получением непосредственной характеристики здоровья среды, ее пригодности для живых организмов, в том числе и человека.

Материал собран летом 2007 г. на территории Западной Якутии в зоне воздействия Нюрбинского горно-обогатительного комбината (НГОК). Для оценки состояния среды использовали показатели флуктуирующей асимметрии (ФА) листа березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.). Оценивали признаки строения и жилкования листовой пластинки, собрано и проанализировано 3600 листьев из 36 точек.

Обследованы окраина карьеров «Нюрбинский» и «Ботуобинский», отвалы, берега хвостохранилища и водохранилища, территория обогатительных фабрик, дробильно-сортировочной установки, складов и других пунктов техногенного воздействия.

Величина показателя ФА в разных точках варьировала в пределах от 0,042 до 0,053.

Наиболее высокие показатели флуктуирующей асимметрии наблюдаются в шести точках, относящихся к категории «сильно загрязненные районы» (четвертый балл: 0,05–0,054). Это карьер трубки «Нюрбинской», участки рядом с дробильно-сортировочной установкой и проезжей частью внутрипромысловой дороги по которой ходит большегрузный автотранспорт, полигоном для захоронения и складирования отходов и обогатительной фабрикой № 15.

Среди остальных точек большинство относятся к категории «загрязненные районы» — показатель ФА от 0,045 до 0,049.

Минимальное значение показателя ФА наблюдается в биотопах, не подверженных прямому антропогенному воздействию. Например, в районе водохранилища и в лесу на удалении от промышленных предприятий. Судя по этим показателям, вне зоны техногенного воздействия, состояние окружающей среды в районе исследований соответствует природному эволюционно сложившемуся в этом регионе.

Таким образом, при техногенных нарушениях, характерных для алмазодобывающей промышленности, состояние березы плосколистной резко ухудшается, что свидетельствует о негативных изменениях качества среды.

### **Комплексная характеристика арычной воды в зоне влияния ТЭЦ-2 г. Алматы**

*Кенжебаев Нурсултан Амиржанович*

*Казахский Национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*nursultan.kenzhebaev.90@inbox.ru*

Исследования, связанные с изучением качества воды водоемов урбанизированных территорий, позволяют не только оценить реальную ситуацию, но и разработать программу реабилитации. Город Алматы характеризуется развитой системой арыков, воды которых могут поступать на пастбища, посевные земли, в более крупные водоемы, внося вклад в общий уровень загрязненности воды. Целью исследования явилась оценка влияния ТЭЦ-2 на показатели воды арычной системы, находящейся в зоне влияния тепловой станции.

Были использованы стандартные физико-химические методы исследования воды, цитогенетические на объекте *Allium cepa*. Исследования органолептических свойств воды показали, что уровень запаха составляет 1,7 баллов, цветность не превышает 15 градусов, мутность по коалину не более 1 мг/л, осадок и пена отсутствуют.

Температура воды была +7,3 °С (01.02.2013). Электропроводимость находилась в диапазоне, не отличающихся от нормативных показателей для открытых водоисточников ( $392,5 \pm 0,05$   $\mu\text{S}/\text{sm}$ ). Кислотный показатель воды — щелочной (7,9), концентрация растворенного кислорода равна 4,7 мг/дм<sup>3</sup>, БПК<sub>5</sub> составляет  $3,6 \pm 0,88$  мг О<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>.

Исследование концентрации нитратов и нитритов не выявило превышения ПДК. При этом отмечалось превышение ПДК фосфора в 4000 раз ( $0,4 \pm 0,04$  мг/л) и превышение концентрации фенолов в 2300 раз ( $2,3 \pm 0,2$  мг/л), что может свидетельствовать о биогенном загрязнении воды и о загрязнении воды продуктами сгорания топлива. Кроме того, выявлен определенный уровень концентрации аммония и катионных сурфактантов, как показателей загрязнения воды ПАВ.

Определение концентрации металлов в воде показало, что не отмечается превышение нормируемых показателей по следующим элементам: алюминия, железа, кобальта, марганца, меди, стронция и цинка. Однако отмечалось превышение ПДК кадмия в 2,1 раза ( $2,1 \pm 0,2 \times 10^{-3}$  мг/л) и никеля в 19,7 раза ( $1971,9 \pm 348,4 \times 10^{-3}$  мг/л). Цитогенетический анализ выявил достоверно значимое увеличение митотического индекса и определенный уровень хромосомных aberrации в клетках *Allium cepa*. Итак, вода арычной системы, находящейся в зоне влияния ТЭЦ-2 г. Алматы, относится к умеренно загрязненной.

**Дискриминантная модель для прогноза уровня токсичности  
по данным экотоксикологического мониторинга донных отложений**

**Клевлева Тамила Ринатовна**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*ta-kle@bk.ru*

Химический состав донных отложений (ДО) отражает особенности почв прилегающих территорий и долговременное антропогенное воздействие на сопредельные среды. Депонированные в ДО загрязняющие вещества в определенных условиях могут переходить в биодоступную форму и оказывать на гидробионтов токсическое воздействие.

В работе проведен анализ преобладающих факторов формирования токсичности ДО Куйбышевского водохранилища и ряда малых рек — притоков 2 порядка. Для расчета использовалась база данных экотоксикологического мониторинга ДО по содержанию Fe, Ni, Cr, Cd, Cu, Zn, Pb, нефтепродуктов, а также результаты токсикологических экспериментов на тест-объектах из разных трофических уровней (*Chlorella vulgaris* Beyerinck 1890, *Daphnia magna* Straus, 1820, *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1838).

Использование дискриминантного анализа показало, что по сочетанию проявлений токсичности и химическому составу данные классифицируются с точностью 55 %, точность классификации значительно повышается (до 80–88 %) при анализе данных для водохранилища и рек отдельно. Наибольший вклад в формирование токсичности ДО малых рек вносят Fe и Zn, что свидетельствует о преобладании механизма сорбции тяжелых металлов, в частности Zn, на гидроксидах Fe. Другим фактором токсичности для малых рек является содержание в ДО нефтепродуктов. В Куйбышевском водохранилище в роли основных классифицирующих факторов выступают Pb, Ni и содержание органического вещества.

Предложенный алгоритм оценки качества ДО с использованием функции желательности Харрингтона-Гелашвилли позволило использовать его результаты для выявления зависимостей токсикологического отклика от совокупного содержания в них металлов и нефтепродуктов.

Основными факторами формирования токсичности ДО малых рек являются металлы, имеющие сродство к сорбции на гидроксидах Fe, и нефтепродукты. В то время как в водохранилище токсичность определяется присутствием в ДО Pb, для которого характерна способность к комплексообразованию с органическими соединениями, и Ni, поступающий в окружающую среду при нефтедобыче (доминирующий сектор экономики Республики Татарстан).

Полученные в ходе дискриминантного анализа модели позволяют с надежностью до 94 % прогнозировать возможное комбинированное токсическое воздействие на гидробионтов тяжелых металлов и нефтепродуктов в составе ДО.

**Влияние источников углерода на эффективность удаления фосфатов из сточных вод**

**Козарь Марина Юрьевна**

*Национальный технический университет Украины «КПИ», Киев, Украина*

*marinakpi@gmail.com*

Высокий уровень содержания фосфатов в хозяйственно-бытовых сточных водах является острой проблемой последнего десятилетия, на протяжении которого наблюдается рост содержания фосфатов с 6–8 мг/дм<sup>3</sup> до 20–25 мг/дм<sup>3</sup>. Растворенный фосфор является основным лимитирующим веществом для развития «цветения» водоема, и в большей степени влияет на процесс эвтрофикации. Поэтому, для торможения процесса эвтрофикации необходимо, в первую очередь, удалять соединения фосфора.

Известно, что организмы накапливают фосфаты в виде внутриклеточных гранул полифосфата и сохраняют их как энергоноситель. В анаэробных условиях в присутствии продуктов брожения клетка высвобождает ортофосфат, используя энергию для накопления простых органических веществ в виде полигидроксиалканатов (ПГА) и поли-β-гидроксибутирата (ПГБ). В последующих аэробных условиях организмы, аккумулируют ортофосфаты и сохраняют в качестве полифосфатов. Накопивший избыток фосфора активный ил в анаэробных условиях имеет тенденцию к выделению фосфора в окружающую среду.

Это высвобождение составляет около 10–20 % от накопленных фосфатов и является предпосылкой для дальнейшего поглощения фосфора.

Целью работы было исследование эффективности удаления соединений фосфора из сточных вод при биологической очистке в анаэробно-аэробных биореакторах.

Исследования проводили в лаборатории при кафедре экобиотехнологии и биоэнергетике НТУУ «КПИ» на установке с анаэробным и аэробным биореакторами, отстойником. Активный ил был взят для исследования на Бортнической станции аэрации.

Следует отметить, что эффективность очистки зависит от вида органических веществ, содержащихся в сточной воде, ведь для процесса аккумуляции фосфатов необходимо наличие легкобиоразлагаемых веществ. Использование в модельном растворе в качестве источника углерода ацетата позволяет достигать эффективности удаления фосфатов более 70 %. Применяя многокомпонентный модельный раствор, содержащий простые и сложные углеводы эффективность за такой же период пребывания в анаэробном и аэробном биореакторах эффективность не превышает и 30 %, а для повышения эффективности необходимо увеличивать время пребывания в анаэробном биореакторе, что позволит получить летучие жирные кислоты для дальнейших процессов в аэробном биореакторе.

### **Развитие сети особо охраняемых природных территорий юга острова Сахалин**

*Корзников Кирилл Александрович*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*korzkir@mail.ru*

За последнее десятилетие территория, занятая особо охраняемыми природными территориями (ООПТ) в Сахалинской области, сократилась более чем на четверть. Существующие ООПТ не охватывают всего разнообразия экосистем и сообществ как элементов единого природно-территориального комплекса южного Сахалина.

Под южной частью Сахалина понимается треть острова площадью около 13 тыс. км<sup>2</sup>, с условной северной границей по линии проходящей приблизительно по параллели 48° 20' с. ш. На этой площади сосредоточено 24 памятника природы и 2 заказника регионального значения. Они могут быть классифицированы как уникальные одиночные природные и рукотворные объекты или как составные части островных экосистем. Во втором случае они представляют собой зональные, а зональные, реликтовые или уникальные природные сообщества.

При реформировании системы ООПТ предлагается учитывать закономерности распределения и особенности функционирования экосистем. Охрана особей отдельных видов нецелесообразна без охраны вмещающих их биоценозов. Взятые под охрану природные объекты должны являться репрезентативной моделью природной среды юга острова. Следуя такому подходу, оправданной видится опора на районирование растительного покрова.

Наименее нарушенные участки природных комплексов, отражающие зональную дифференциацию экосистем, станут своеобразным «каркасом» будущей сети ООПТ. Режим охраняемой территории необходим редким, уникальным экосистемам, выделяющимся на фоне зональных комплексов и одновременно являющимся резерватами биоразнообразия, в том числе реликтового. Это своего рода «узловые точки» сети. Статусом ООПТ должны обладать и одиночные природные объекты с высоким ландшафтно-эстетическим потенциалом, популярные с точки зрения туризма и рекреации, относительно независимые от остальной природоохранной сети, но представляющие интерес как самостоятельные достопримечательности.

В связи с этим высказывается ряд предложений по расширению границ, изменению режимов охраны, смене профилей, организации новых ООПТ и ликвидации старых, не справляющихся с заявленными при создании целями.

Высказанные пути реформирования сети ООПТ максимально компромиссны и являются тем минимумом мероприятий в сфере охраны природы, который бы удовлетворял требованию охвата многообразия экосистем юга Сахалина.

**Токсикологический контроль качества воды подземных источников  
питьевого водоснабжения населения**

**Краснер Ксения Вячеславовна, Петрова Надежда Александровна**

*Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия*

*botyazh@bio.uniuyar.ac.ru*

В связи с глобальным загрязнением поверхностных вод в настоящее время водоснабжение населения все в большей степени ориентируется на подземные воды. Однако в условиях растущей техногенной нагрузки и подземные воды подвергаются загрязнению. Цель настоящего исследования состояла в токсикологической оценке воды, используемой для питьевых нужд из родников и скважин 4-х муниципальных районов Ярославской области.

Для контроля токсичности воды применяли метод биотестирования, основанный на определении изменений выживаемости цериодафний за 48 часов в тестируемой пробе по сравнению с контролем. В каждом районе обследовано 15 подземных водоисточников в разные сезоны 2009–2012 годов.

Результаты показали, что вода некоторых подземных водоисточников проявляла токсичность, вызывая гибель более 20 % тест-объектов. В Некоузском районе токсичные пробы (гибель от 20 % до 50% рачков) составляли 30 %, очень токсичные (летальность 50 % и более особей) — 18 %. В Брейтовском районе количество токсичных и очень токсичных проб достигало соответственно 26 % и 18 %. В Мышкинском и Пошехонском районах токсичностью обладали соответственно 19 % и 14 % проб воды, очень токсичные — отсутствовали. Во всех районах более высокой токсичностью обладала вода скважин по сравнению с родниками.

Качество воды имеет сезонную динамику. Наибольшей токсичностью отличались пробы летнего периода, что, возможно, связано с климатическими особенностями области. Вода нескольких родников обладала токсическим эффектом во все сезоны года, что, вероятно, зависит от наличия локальных источников загрязнения, расположенных вблизи точек отбора.

На основании полученных результатов выживаемости цериодафний в тестируемой воде изученные водоисточники были ранжированы по уровням пригодности для питьевого водоснабжения.

Полученные данные позволяют заключить, что вода подземных источников изученных районов Ярославской области не всегда соответствует установленным токсикологическим нормам. В ряде случаев она не пригодна для питьевых целей без дополнительной очистки и термической обработки.

Загрязнение подземных вод влечет за собой целый ряд экологических и социальных последствий, поэтому не возникает сомнений в необходимости токсикологического контроля пресных подземных вод, тем более в местах, где они нередко являются практически единственным источником обеспечения населения питьевой водой высокого качества.

**Изучение влияния NO-доноров на формирование и устойчивость биопленок  
инженерных сооружений (на примере клеток *Escherichia coli*)**

**Купрюхина Анастасия Витальевна**

*Московский государственный машиностроительный университет, Москва, Россия*

*sova7373@ya.ru*

Бактериальные биоплёнки широко распространены в окружающей среде и представляют огромный интерес для современной фундаментальной и прикладной науки в связи с малой изученностью. Одной из особо остро стоящих проблем на современных предприятиях является наличие биопленки в системе трубопроводов, что напрямую влияет на их технические характеристики, приводит к износу и поломке, снижает срок эксплуатации оборудования. Обычные дезинфицирующие средства, такие как хлор и гипохлорит натрия, не могут удалить биопленку с поверхности металла, а постоянная механическая очистка — весьма затруднительный процесс. Современные антибиотики становятся все менее эффективными из-за развития микроорганизмами мультилекарственной резистентности, одним из определяющих факторов которой является способность к формированию биопленок. Поэтому поиск

эффективного средства борьбы с биопленками является актуальным и приоритетным.

Одним из новых направлений для решения этой глобальной проблемы является использование свойств биологически активной молекулы оксида азота (NO).

В отличие от традиционных антибиотиков, биологическая активность NO обусловлена его преимущественным взаимодействием с двумя главными мишенями — SH-группами и [Fe-S]-кластерами белков — повсеместно распространенными в клетке.

Целью настоящей работы являлось проведение первичного скрининга низкотоксичных NO-доноров различной молекулярной структуры в отношении способности ингибировать формирование биопленок в штаммах *E.coli* с известным генотипом с последующей возможностью применения полученных данных для решения проблем биопленок в широких областях промышленности и медицины.

В работе использован водный раствор NO-донора: S-нитрозоглутатион (GSNO), в качестве позитивного контроля выбран известный антибиотик ципрофлоксацин (CF). Изучены штаммы *E. coli* AB1157, *E. coli* MC4100 wt и *E. coli* MC4100 *iscA-/sufA-*. Различие бактериальных штаммов — в активности системы сборки железо-серных кластеров, как основной мишени для NO. Использована методика изучения формирования биопленок на основе колориметрической спектрофотометрии.

Изученный донор NO проявил положительную активность как ингибитор формирования биопленок и деструктор уже сформировавшихся биопленок.

Полученные результаты вносят вклад в понимание процессов формирования биопленок и способствуют развитию нового направления по выявлению перспективных NO-доноров в целях создания на их основе нового поколения антибактериальных препаратов широкого спектра действия.

### **Ценные флористические участки в Галичском районе Костромской области** **Леострин Артём Викторович**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*  
*artleo2008@gmail.com*

В полевые сезоны 2011–2012 гг. нами проводились работы по изучению флоры северо-запада Костромской области — одной из слабо изученных во флористическом отношении территорий региона. В ходе исследований особое внимание уделялось уточнению распространения редких и охраняемых видов растений. Полученные сведения позволят разрабатывать меры по охране этих видов.

Основываясь на полученных нами данных о местонахождениях охраняемых и редких в области видов сосудистых растений, были выделены 4 ценных во флористическом плане участка в окрестностях г. Галича. Все эти участки находятся в непосредственной близости от населенных пунктов, хозяйственных и промышленных объектов, следовательно, подвержены влиянию со стороны человека.

Всего для четырех рассмотренных участков нами отмечено 16 видов Красной книги Костромской области и 12 видов, редких в регионе. Все участки очень невелики по площади, но обладают достаточно большим видовым разнообразием. Перечислим их с кратким описанием (в скобках указано число охраняемых и редких в области видов, соответственно): 1. Долина р. Чёлсмы от ур. Подгорный до д. Акулинино — содержит участки хвойных лесов и луговых склонов (6, 7). 2. Окрестности г. Галича близ устья р. Средней — сырые луга и березняки на месте осушенного болота (9, 2). 3. Территория между д. Вахнецы и д. Лихарево — хвойные леса и участки луговой растительности (5, 3). 4. Территория близ д. Артёмьевское — сосновые леса на склоне (2, 3). Наиболее интересны местонахождения следующих видов: *Actaea erythrocarpa*, *Angelica palustris*, *Cacalia hastata*, *Eupatorium cannabinum*, *Gentiana cruciata*, *Hepatica nobilis*, *Herminium monorchis*, *Senecio tataricus*, *Trisetum sibiricum*, *Vicia pisiformis*.

Учитывая значительное видовое и ценотическое разнообразие на рассмотренных участках, можно предложить для них определенный охранный статус. При этом рационально не создавать новые ООПТ, а незначительно расширить границы уже существующих,

в частности Государственных природных заказников «Галичский» и «Средневский бобровыхухолевый», которые располагаются поблизости. Оба эти заказника ориентированы в первую очередь на охрану водных угодий, водной и околоводной фауны, но, по нашему мнению, их функции могут быть расширены с включением новых территорий.

### **Проблема паразитологического загрязнения окружающей среды города Барнаула**

*Лунева Надежда Александровна*

*Алтайский государственный аграрный университет, г. Барнаул, Россия*

*lunyovan@mail.ru*

Один из видов загрязнения — паразитологическое; он влечет за собой опасность заражения людей и животных инвазионными заболеваниями. В работе приведены результаты исследования объектов окружающей среды г. Барнаула (почва — 100 проб, вода — 50 проб, денежные знаки — 80 проб и общественный транспорт — 120 проб). В работе применяли специальные методики исследования: метод Н. А. Романенко (исследование почвы и воды), метод липкой ленты по Грэхему (общественный транспорт) и метод смывов (денежные знаки).

Почва г. Барнаула загрязнена яйцами гельминтов на  $27,9 \pm 0,17\%$ , в том числе  $20,1\%$  яиц токсокар и  $4,8\%$  яиц токсаскарисов. Яиц и личинок гельминтов в питьевой воде городской водопроводной сети не обнаружено. При исследовании твердых поверхностей общественного транспорта обнаружено, что из 120 проанализированных проб,  $39$  ( $46 \pm 8,4\%$ ) оказались положительными на наличие яиц гельминтов. Видовой состав обнаруженных возбудителей гельминтозов представлен, в основном, яйцами остриц, аскарисов, токсокар. Практически все исследованные денежные знаки обсеменены яйцами гельминтов. Из паразитарной ассоциации наиболее распространенными являются яйца остриц  $43 \pm 2\%$  из всех обнаруженных яиц гельминтов, далее идут яйца токсокар и аскарисов.

Таким образом, территория г. Барнаула по гельминтологическим показателям небезопасна для здоровья, что влечет за собой необходимость усовершенствования санитарно-гельминтологического мониторинга за объектами окружающей среды и разработки комплекса мер по санитарно-гельминтологической и ветеринарно-санитарной профилактике гельминтозов человека и животных. Важными шагами к решению этой проблемы являются мероприятия по сокращению численности безнадзорных животных, повышение социальной культуры и проведение просветительской работы среди населения.

### **Изменение активности каталазы чернозема обыкновенного под влиянием сочетанного загрязнения нефтью и переменным магнитным полем**

*Мазанко Мария Сергеевна*

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*Mary.bio@list.ru*

Ферментативная активность, как функциональная многофакторная почвенная биологическая характеристика, зависит от экологических факторов и свойств почвы. Исследованиями различных факторов установлено, что активность почвенных ферментов может служить дополнительным диагностическим показателем почвенного плодородия и его изменения в результате антропогенного воздействия.

Объектом исследования служил чернозём обыкновенный чернозем обыкновенный карбонатный южно-европейской фации. Почва для модельных экспериментов была отобрана из пахотного горизонта (0–20 см, пос. Персиановка). Почву высушивали до воздушно-сухого состояния, увлажняли до  $60\%$  от общей влагоемкости. Образцы загрязняли нефтью в количестве  $2, 5$  и  $10\%$  от общей массы почвы, и переменным магнитным полем промышленной частоты ( $50\text{Гц}$ ) индукцией  $300, 1500$  и  $3000$  мкТл так, чтобы в опыте присутствовали все варианты сочетаний загрязнений, а так же отдельно химические и отдельно электромагнитные загрязнения. Почву компостировали в н.у. в течение 10 суток. Активность каталазы измеряли по методу Галстяна.

Во всех случаях с увеличением массовой доли нефти в почве активность фермента снижалась. Электромагнитное загрязнение всех уровней индукции не оказывало достоверного

влияния на уровень активности каталазы, однако сочетанное загрязнение нефтью и ПеМП оказало влияние, отличное от просто нефтяного загрязнения.

Нефть концентрацией 2 % не оказала влияния на активность каталазы, однако дополнительное воздействие переменным магнитным полем влекло за собой снижение активности — на 20, 16 и 17 % ( $p < 0,05$ ) при индукции ПеМП 300, 1500 и 3000 мкТл соответственно.

Нефть в концентрации 5 % вызывал снижение активности исследуемого фермента на 33 %, сочетанное с ПеМП загрязнение вызывало сходные последствия — на 32 и 39 % ( $p < 0,05$ ) при ПеМП индукцией 1500 и 3000 мкТл. Однако при индукции ПеМП 300 мкТл активность каталазы упала всего на 13 % ( $p < 0,05$ ).

Аналогичная ситуация и с загрязнением нефтью 10 % от массы почвы. Отдельно нефтяное загрязнение вызвало снижение активности фермента на 47 % ( $p < 0,01$ ), его сочетание с электромагнитным полем индукцией 1500 мкТл — на 58 %, а индукцией 3000 мкТл — на 68 % ( $p < 0,01$ ). При этом сочетанное воздействие нефти и ПеМП индукцией 300 мкТл вызвало снижение активности всего на 35 % ( $p < 0,05$ ).

Сочетание электромагнитного излучения с химическим загрязнением снижает активность фермента по сравнению с только химическим загрязнением, однако переменное магнитное поле определённого уровня индукции (300 мкТл) способно, наоборот, сглаживать ингибирующее воздействие нефтяного загрязнения почвы.

**Перспективность использования генномодифицированных растений  
для фиторемедиации почвы  
Орлова Е.В, Степанова А.Ю.**

*Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, Россия  
ekatia@inbox.ru*

Одной из наиболее актуальных проблем является очистка почвы от органических загрязнителей, к которым относятся нефть и продукты ее переработки. Только по официальным данным, в России потери при добыче, транспортировке, хранении нефти и нефтепродуктов достигают от 18 до 23 млн. т. в год, а в мире теряется около 50 млн.т нефти и нефтепродуктов ежегодно. Для устранения нефти из почвы и продуктов ее переработки перспективно использовать фиторемедиацию. Такой способ очистки по сравнению с другими (механическими, физическими и химическими) является более дешевым, поскольку не требует каких-либо специальных дополнительных пространств, техники и, самое главное, экологичным, так как он не оказывает вредного воздействия на окружающую среду. Тем не менее, фиторемедиация имеет ряд недостатков, связанных с сезонностью использования растений и с более длительной очисткой почвы от поллютанта. С целью улучшения фиторемедиационных свойств, в нашей работе была предпринята попытка получения генетически трансформированных растений люцерны с геном *rhlA*, который кодирует фермент рамнозилтрансферазу, участвующую в биосинтезе биосурфактантов, т.е. рамнолипидов. Являясь наиболее эффективными природными поверхностно активными веществами, биосурфактанты используются для удаления гидрофобных веществ из загрязненных почв. Результаты экспериментальной работы, проведенной нами в лабораторных условиях, показали, что трансгенные растения люцерны оказались жизнеспособными к росту в почве, содержащей до 4 % нефти. При этом, если содержание углеводов в загрязненной почве за счет аборигенной микрофлоры сокращалось в течение 56 суток на 15 %, а при выращивании нетрансформированных растений люцерны на 49 %, то при культивировании полученных нами трансгенных растений — снижение содержания углеводов достигало величины в 73 %. Таким образом, результаты нашей работы показывают, что использование генетически трансформированных растений люцерны является перспективным приемом очистки нефтезагрязненных почвенных территорий.

## **Лесовосстановление в Алтайском крае (1996-2010гг)**

**Осипенко Алексей Евгеньевич**

*Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул, Россия*

*Barbossa\_92@mail.ru*

В целях содействия естественному лесовосстановлению, осуществляются следующие мероприятия: сохранение подроста и молодняка ценных древесных пород, минерализация поверхности почвы, огораживание площадей, расчистка гарей, агротехнические мероприятия, создание лесных культур. Цель работы: проанализировать объемы лесовосстановления в Алтайском крае за период 1996–2010 гг.

Объектом исследования выступают мероприятия по лесовосстановлению в Алтайском крае и их результаты за период 1996–2010 гг. В ходе исследований применялись аналитический, синтетический, сравнительный, статистический методы.

Площадь работ по лесовосстановлению в период с 1996–2010 г, увеличилась на 28 % (с 8498 до 10846 га). Введение молодняка в категорию хозяйственно ценных пород, на сегодняшний день сократилась, по сравнению с 1996 годом на 16 % (с 11257 до 9500 га). Площадь посадок лесообразующих культур уменьшилась с 1996 по 2010 год на 8 % (с 5258 до 4865 га). Содействие естественному возобновлению леса в Алтайском крае с 1996 по 2010 год увеличилось на 47 % (с 4120 до 6076 га). Средняя лесистость по краю стабильно увеличивалась на протяжении всего изучаемого периода. В 1996 году, лесистость составляла 21,1%, на сегодняшний день, лесистость составляет 22,6 % Площадь лесов Алтайского края за последние 15 лет увеличилась примерно на 188 тыс. га. (4,2 %). Общий запас древесины на сегодняшнее время составляет 539,06 млн. м<sup>3</sup>, а в 1995 году, запас древесины составлял 471,5 млн. м<sup>3</sup>. По сравнению с 1995 годом, средний годовой прирост увеличился на 3,02 млн. м<sup>3</sup> (27,3 %).

Лесовосстановление в Алтайском крае характеризуется увеличением следующих показателей: площади лесов в Алтайском крае — увеличение на 4,2 %, средний годовой прирост — увеличение на 27,3 %, запас древесины — увеличение 14,3 %, лесистость по краю — увеличение на 1,5 %. Наиболее интенсивно лесовосстановительные мероприятия проводились в период с 1999 по 2007 год. Столь активное наращивание темпов лесовосстановительных мероприятий понадобилось после пожара 1997 года. С 2007 года, наблюдается снижение объемов посадок леса на 8 % и ввода молодняка в число ценных лесохозяйственных пород на 16 %, что в дальнейшем может отрицательно отразиться на лесовосстановлении в Алтайском крае.

## **Оценка рекреационной нагрузки на прибрежные геосистемы некоторых малых водных объектов Челябинской группы**

**Пита Наталья Викторовна**

*Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия*

*Natalia-pita\_90@mail.ru*

В существующих условиях интенсивной трансформации большинства крупных водоёмов города Челябинска актуально изучение малых озёр как альтернативных гидрологических объектов, не подверженных прямому влиянию промышленности города. Цель работы: оценка рекреационной нагрузки на прибрежные ландшафты для рекомендации вариантов природообустройства прибрежных геосистем.

Ландшафтно-географические исследования проводились в летний период 2011–2012 годов с использованием методик Н.С. Казанской, Н.С. Исакова и ОСТ 56-100-95. В область изучения вошли 4 малых водоёма Челябинской группы, различающиеся между собой происхождением и морфологией.

*Озеро Б. Кременкуль.* В прибрежной 200-метровой зоне озера выделено 12 групп фаций. Преобладающей является группа фаций плоской, слабовсхолмленной территории с камышово-тростниковой и лугово-разнотравной растительностью на торфяно-болотных и черноземных почвах, также присутствуют березовые колки с шиповниковым и малиновым подлеском. Выделяется один участок с 5 стадией дигрессии — на севере водоёма. Рекреационная нагрузка превышает допустимые значения для геосистем (3-ю стадию дигрессии) на 66 % площади

прибрежных территорий. Средняя рекреационная плотность на данных участках равна 221 чел/га, что превышает психологический критерий допустимой антропогенной нагрузки на акватории для купания (100–200 чел/га).

*Озеро Кругленькое.* На территории прибрежной зоны озера преобладает группа фаций покатого склона с сильно деградированным луговым разнотравьем. Видовой состав растительности берегов озера крайне скуден. Рекреационная нагрузка превышает допустимые значения (5 стадия дигрессии) на 100% территории прибрежных ландшафтов.

*Карпов пруд.* В прибрежной полосе преобладает фация слегка покатого рельефа. Рекреационная нагрузка превышает допустимые значения на 47 % площади прибрежных геосистем.

*Изумрудный карьер.* Преобладающими являются фации пологого, местами покатого волнистого склона с сосновой с примесью березы растительностью на серых-лесных почвах. В западинах встречаются сильно деградированные заболоченные участки с рогозотростниковой растительностью. Рекреационная нагрузка превышает допустимые значения для геосистем на 50 % площади прибрежных ландшафтов. Рекреационная плотность на территории северо-западного берега карьера площадью 0,27 га составляет 107 чел/га, что превышает допустимую норму в 3,5 раза.

По результатам проведенных исследований сделаны выводы, что для организации пляжно-купального отдыха рекомендуется участок прибрежной территории на юго-западном берегу озера Б.Кременкуль. Максимальное количество человек, которое одновременно может находиться на территории без ущерба для ландшафта, составляет 500 чел. Для организации кемпинговых стоянок возможно использование восточного берега Карпового пруда. Рекреационная ёмкость данной территории составляет 50–70 чел./га. Вышеописанные участки отвечают требованиям, предъявляемым к организации мест массового отдыха. Озеро Кругленькое не подходит для рекреационного использования, т.к. берега имеют значительный уклон, растительность сильно деградирована и качество воды характеризуется как «сильно грязная». Прибрежно-территориальный комплекс Изумрудного карьера имеет высокую эстетическую ценность, однако неровность дна и отсутствие постепенных заходов в воду делает водоём непригодным для отдыха большинства категорий населения. В связи с этим, возможна планировка лесопарковой зоны на северо-восточном берегу карьера и примыкающей к нему части бора. Максимальная посещаемость лесопарка, с учетом норм, должна составлять не более 800 чел./сут.

## **Поглотительная способность лесов Челябинской области в отношении двуокси углерода**

*Пудинова Наталья Сергеевна*

*Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия*

*pudinova.nat@yandex.ru*

Исследовали ассимиляционный потенциал лесов Челябинской области в отношении двуокси углерода — парникового газа, образующегося вследствие антропогенной деятельности хозяйствующих субъектов, расположенных на территории области. Расчет поглотительной способности лесов проводили в зависимости от лесообразующей породы, площади основных лесообразующих древесных пород из общей структуры лесного фонда области и способности поглощения ими углекислоты с использованием методики, адаптированной к территориям со значительной антропогенной нагрузкой.

Экосистемы лесов связывают углерод путем ежегодного увеличения биомассы деревьев и добавлением опавших листьев в углеродное депо почвы. Когда деревья высажены, большая часть поглощенного ими углекислого газа используется для продуцирования биомассы растущего растения. В первые 30–40 лет роста деревья в большом количестве поглощают углекислый газ. По мере формирования экосистемы леса увеличивается количество органических веществ почвы и, соответственно, ее способность к поглощению углекислого газа, однако, когда экосистема полностью достигает зрелости, она практически полностью прекращает «работать» на его поглощение.

В результате выполненного анализа и последующих расчетов установлено, что способность поглощения углекислого газа лесными ресурсами на территории Челябинской области за год составляет около 11 млн. т, в то время как в области ежегодно его выбрасывается в атмосферу более 60 млн. т, значительная часть которого вырабатывается в металлургии, являющейся основой региональной экономики.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выбросы углекислого газа в Челябинской области существенно превышают ассимиляционный потенциал (экологическую емкость) её лесов, свидетельствуя тем самым о превышении антропогенной нагрузки на территорию, что не может не оказывать негативного воздействия как на процесс глобального потепления (изменения) климата, так и на качество здоровья населения области.

### **Морфофизиологические адаптации рыб в условиях антропогенного пресса**

**Романова Е.В., Спирина Е.В.**

*Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия, Ульяновск, Россия*

*alena\_romanova92@mail.ru*

Целью работы явилась оценка стабильности развития карася серебряного *Carassius auratus gibelio* Bloch. Материал был собран в течение летних месяцев 2010–2011 гг., изучено девять популяций. Шесть из них обитают в водоемах: пруд р.п. Тереньга, «Гусиное озеро» с. Рыновские Хутора Тереньгульского района, пруд «Паника» и р. Золотая с. Белозерье Карсунского района, озера «Озерки», «Татурайкино» Чердаклинского района, испытывающие на себе примерно одинаковое антропогенное воздействие. В качестве контроля (экологически чистые водоемы) выступали пруд с. Молвино Тереньгульского района, пруд с. Уренбаш Чердаклинского района, «Белое озеро» с. Загвозкино.

Оценку стабильности развития проводили при помощи показателя флуктуирующей асимметрии. Использовалась стандартная методика, разработанная в Институте биологии развития РАН. Анализировались признаки: число лучей в грудных и брюшных плавниках; число глоточных зубов; число чешуй в боковой линии. В качестве показателя асимметрии для межпопуляционного сравнения использовалась средняя частота асимметричного проявления на признак (ЧАПП).

Оценка стабильности развития в популяциях серебряного карася, обитающих в разных экологических условиях, дала следующие результаты: в пруду р.п. Тереньга средняя частота асимметричного проявления на признак, из девяти рассмотренных районов, оказалась наибольшей ( $0,806 \pm 0,080$ ), с меньшим значением этого показателя был пруд «Паника» ( $0,771 \pm 0,044$ ). В р. Золотая средняя частота асимметричного проявления на признак была равна  $0,491 \pm 0,035$ , а в озере «Татурайкино»  $0,460 \pm 0,055$ , в пруду «Озерки» значение было меньше ( $0,438 \pm 0,091$ ). Показатель стабильности развития в «Гусином озере» составил  $0,425 \pm 0,080$ ; средняя частота асимметричного проявления на признак в болоте с. Уренбаш равна  $0,400 \pm 0,047$ , в «Белом озере»  $0,342 \pm 0,050$  и в пруду с. Молвино значение показателя стабильности развития было наименьшим ( $0,225 \pm 0,079$ ).

Чтобы ориентировочно оценить степень отклонения состояния организма от нормы, удобно воспользоваться пятибалльной системой оценки А.Т. Чубинишвили, где первый балл соответствует условно нормальному, фоновому состоянию популяции, а пятый — критическому.

Наибольшие нарушения стабильности развития были обнаружены у серебряного карася, отловленных в пруду р.п. Тереньги, «Паника» они характеризуются пятым баллом, что соответствует критическому состоянию. Среди обследованных выборок наиболее благополучными оказалось состояние популяций из условно контрольных районов (пруд с. Молвино; «Белое озеро»), они характеризуются первым баллом (условно нормальное состояние). Значения показателя асимметрии, полученные для выборок из условно контрольных точек (пруд с. Молвино; «Белое озеро»), статистически значимо отличаются от значений, полученных в антропогенно-трансформированных водоемах ( $p < 0,05$ ). Использование показателей флуктуирующей асимметрии для оценки стабильности развития серебряного карася и индикации водоема целесообразно.

## **Оценка экологического риска для здоровья населения и окружающей среды от воздействия тяжелых металлов на территории г. Иваново и Ивановской области**

***Румянцев И.В., Дунаев А.М.***

*Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, Россия*

*igorek.rum@mail.ru*

Одним из основных объектов депонирования тяжелых металлов (ТМ) является почва. Обладая значительной аккумуляционной способностью, она может поглощать токсиканты и удерживать их на протяжении длительного времени. Загрязнение почвы опасно само по себе, но еще важнее вторичное загрязнение других сред металлами из почвы. Работа посвящена исследованию уровней риска для здоровья населения и окружающей среды от воздействия ТМ на территории г. Иваново и Ивановской области.

Для исследований отбирались пробы почвы по стандартным методикам. На территории города было заложено 54 точки пробоотбора, в то время как для области 45. Анализ содержания ТМ был выполнен методом атомной абсорбции. Определялись концентрации Pb, Cd, Cr, Co, Cu, Zn, Ni, Mn, Fe. Погрешность измерений составила 15–30 %.

Риски для здоровья населения были рассчитаны исходя из трех подходов: как вероятность наступления неблагоприятных событий, как экономический ущерб здоровью и как сокращение ожидаемой продолжительности жизни. Расчет был выполнен для четырех групп населения: все взрослое население, взрослые мужчины и женщины, а также дети. Величина экологического риска для окружающей среды (ОС) была найдена как математическое ожидание экономического ущерба.

Анализ полученных результатов дает основание говорить о значительном риске для здоровья населения в г. Иваново. Так например, средняя вероятность развития общетоксических неблагоприятных последствий составила  $2,19 \cdot 10^{-3}$ , что на порядок выше уровня приемлемого риска ( $1,5 \cdot 10^{-4}$ ). Суммарный экологический ущерб ОС г. Иваново составил 410 млрд. руб. В то же время в целом по Ивановской области общетоксический риск достиг значения  $3,02 \cdot 10^{-4}$ , что свидетельствует о существенном снижении уровня антропогенной нагрузки при переходе от урбанизированной территории к сельской местности. Данный факт подтверждается и величиной экологического ущерба для ОС (12 млрд. руб). Так же были рассчитаны величины среднего сокращения ожидаемой продолжительности жизни. Для города оно составило  $5,6 \cdot 10^{-2}$  лет (21 день), а для области  $7,84 \cdot 10^{-3}$  лет (3 дня). Обобщая, можно сделать вывод о существенном уровне риска как для окружающей среды, так и для здоровья населения от воздействия тяжелых металлов на территории г. Иваново и Ивановской области.

*Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, проект № 12-05-97516-р\_центр\_а.*

## **Лихеноиндикация в мониторинге состояния атмосферы урбоэкосистем**

***Сафранкова Екатерина Алексеевна***

*Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского, Брянск, Россия*

*safrankova\_k@bk.ru*

Метод лихеноиндикации относится к общей биоиндикации и позволяет выделить территории, подверженные воздействию загрязненного воздуха, что особенно важно для организации территориального планирования малых населенных пунктов. Цель исследования — инвентаризовать лихенофлору и провести оценку общего состояния атмосферы городской экосистемы методом лихеноиндикации на примере малых городов Брянской области. Лихеноиндикационные работы проводили в 7 городах области: в гг. Трубчевске, Жуковке, Севске, Новозыбкове, Сельцо, пгт Суземке, пгт Навле.

План-схему городов разбивали на сеть квадратов, в каждом из которых проводили геоботаническое описание лишайниковых группировок, в основном эпифитных. На основании геоботанических описаний лишайносинузий по Л.Г. Раменскому в модификации Х.Х. Трасса рассчитывали синтетический индекс полеотолерантности (ИП).

Общий видовой состав эпифитной (эпилитной) флоры лишайников, используемый для лишеноиндикации, представлен 36 видами, относящимися к 22 родам, 8 семействам. Ведущие семейства лишенофлоры — *Parmeliaceae*, *Physciaceae*, *Teloschistaceae* и *Lecanoraceae*. Среди выявленных морфологических отклонений у лишайников отмечена диспигментация талломов у *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., побурение слоевищ у *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Nav., мелкие размеры слоевищ многих видов. На периферии городов абсолютные значения общего проективного покрытия эпифитных лишайниковых сообществ всегда выше по сравнению с оживленными автотрассами, административными центрами городов, территорий около работающих предприятий, железнодорожных узлов и автовокзалов. В целом значения ИП в малых городах изменяется от  $5 \pm 0,10$  до  $8 \pm 0,028$ .

Рассчитанные ИП позволили выделить в городах две группы зон по общему состоянию атмосферы: смешанную зону и зону борьбы. Оценка изменения проективного покрытия лишайниковых ценозов в зависимости от степени антропогенной нагрузки рекомендована к использованию в качестве индикаторной величины для выявления сильной нарушенности общего состояния атмосферы. Для всех исследуемых урбоэкосистем установлены высокие значения ИП, благоприятной (нормальной) зоны не установлено.

### Содержание серы в ассимиляционных органах растений в условиях аэротехногенного загрязнения

**Сомов Всеволод Владимирович**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*vomos\_v\_v@mail.ru*

Основными ингредиентами атмосферных выбросов медно-никелевого комбината «Североникель» (Мурманская обл.) являются диоксид серы и полиметаллическая пыль, которые могут накапливаться в токсических для растений концентрациях. В связи с этим целью работы было определение содержания общей серы в ассимиляционных органах растений, произрастающих по градиенту аэротехногенной нагрузки.

В 2008 и 2011 гг. были отобраны образцы листьев (хвои текущего года) *Vaccinium uliginosum* L., *V. vitis-idaea* L., *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., *Empetrum hermaphroditum* Hagerup и *Pinus sylvestris* L. в лишайниковых сосновых лесах, удаленных от комбината «Североникель» на расстояние 65–80 (фоновые районы), 30 и 15 км. Во всех образцах было определено (в 3-кратной повторности) содержание общей серы турбидиметрическим методом.

Среди исследованных видов наименьшим содержанием серы в листьях отличаются *Vaccinium vitis-idaea* и *Arctostaphylos uva-ursi* [1050–1375 мг/кг абсолютно сухого вещества (АСВ)], а наибольшим — хвоя *Pinus sylvestris* (1500–2750 мг/кг АСВ); листья видов *Vaccinium uliginosum* и *Empetrum hermaphroditum* по содержанию общей серы (1685–1865 мг/кг АСВ) занимают промежуточное положение. По мере удаления от источника загрязнения содержание серы в ассимиляционных органах исследуемых видов достоверно различается или не различается, однако не выявлено закономерного изменения этого показателя по градиенту аэротехногенной нагрузки. Различия в содержании серы в образцах листьев (хвои) 2008 и 2011 гг. сборов в ряде случаев достоверны, в других — недостоверны.

Следует отметить, что сера — эссенциальный элемент, необходимый растению для нормальной жизнедеятельности, поэтому ее содержание в ассимиляционных органах определяется физиологическими потребностями растений в данном элементе. Незакономерное изменение содержания серы в листьях растений по мере приближения к источнику загрязнения свидетельствует об отсутствии связи между этими показателями.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что содержание общей серы в ассимиляционных органах растений, произрастающих на разном расстоянии от комбината «Североникель», варьирует в зависимости от видовой принадлежности растений и не связано с уровнем аэротехногенной нагрузки.

## **Влияние климатических факторов на горимость лесов**

### **Намского улуса Республики Саха (Якутия)**

*Стручков Петр Константинович*

*Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия*

*struchkov2014@bk.ru*

Проблема лесных пожаров — одна из древнейших в жизни человечества. Ежегодно на территории Якутии регистрируется свыше 800-1400 возгораний. Намский улус расположен в пределах Центрально-Якутской низменности, характеризуется резкоконтинентальным холодным климатом, повсеместным распространением многолетней мерзлоты. Основной лесообразующей породой региона является лиственница, формирующаяся в условиях периодического воздействия лесных пожаров разной интенсивности.

Нами изучена роль экологических факторов в возникновении лесных пожаров на территории Намского улуса. Исследования велись с 2008 г., проанализированы статистические данные с 1955 по 2012 г., данные спутникового мониторинга системы NOAA с 2000 по 2012 гг. взяты с сайта <http://lgi.ysn.ru>. Кроме того использован дендрохронологический метод реконструкции истории лесных пожаров.

В среднем ежегодно на территории Намского улуса регистрируется 17,69 пожаров на общей площади 779,71 га. Выявлена зависимость количества пожаров (N) и их площади (S), описываемая формулой  $S = 51,2N - 125,74$ . Выявлено 2 типа циклов горимости лесов: 3–4-летний и 6–7-летний, что согласуется с периодичностью засушливых годов. Выявлено, что при увеличении суммы осадков количество пожаров снижается и, наоборот. Коэффициент корреляции имеет отрицательное значение: от -0,32 до -0,36. Существующая зависимость количества пожаров (N) и суммы осадков за пожароопасный период ( $\Sigma$ ) описывается по формуле  $\Sigma = -0,82N + 141,3$ . Дендроклиматологические исследования на основе данных с участка аласа Бүтэйдээх (весна 2010 г.) позволили выявить обратную зависимость количества пожаров от ширины годичных колец. Сопоставление количества пожаров (N) и ширины годичных колец (L) позволило получить формулу зависимости между этими показателями:  $N = -394,69L^2 + 77,237L + 16,15$ .

Реконструированные по ширине годичных колец данные и сравнение их с данными огневых поранений деревьев в лесах вокруг аласа Бүтэйдээх показали, что лесные пожары в этом массиве в основном были в годы высокой пожарной опасности. В заключение следует сказать, что изучение показателей пожарной опасности в лесах Намского улуса позволит разработать научные основы прогнозирования и профилактики лесных пожаров в разных улусах Центральной Якутии.

## **Исследования корреляции дендрохронологических рядов в сосновых лесах**

### **Северо-Запада Вологодской области**

*Уткина Елизавета Сергеевна*

*Московский государственный университет леса, Москва, Россия*

*utkinaelizabetha@gmail.com*

В судебно-ботанических экспертизах для целей установление места происхождения срубленной древесины и для целей подтверждения принадлежности пня и ствола организму одного дерева можно использовать данные расчета коэффициентов корреляции между дендрохронологическими рядами. Согласно экспертной методике использовавшейся ВНИИСЭ Минюста СССР считалось, что коэффициент корреляции между кривыми роста различных частей ствола одного и того же дерева колеблется от +0,80 до +0,99. Значение коэффициента корреляции между наиболее сходными кривыми роста различных деревьев не превышает +0,60. Интервал значений коэффициента корреляции выше +0,60 и ниже +0,80 составлял «зону неопределенности».

Нами выполнялись исследования варьирования значений коэффициента корреляции между индексированными рядами радиального прироста деревьев из одного таксационного выдела. Для каждой пробной площади на основе 20 учетных деревьев была построена

эталонная хронология и на основе 10 учетных деревьев тестовая хронология. Хронологии индексировались отнесением ширины годичного кольца к средней ширине годичного кольца за пять лет. В ходе работ использовался специализированный программный комплекс, разработанный МГУ леса и НПСА «Здоровый лес». Всего были использованы данные по 39 пробным площадям и 1170 учетным деревьям.

Одним из наиболее значимых выводов является то, что зафиксировав значение коэффициента корреляции менее 0,60, можно будет с вероятностью 100 % утверждать, что партии древесины, по образцам с которых получена тестовая и эталонная хронология, имеют разную групповую принадлежность. Наличие коэффициента корреляции от 0,80 и более с вероятностью не менее 80 % будет говорить о возможности единой групповой принадлежности партий древесины. Полученные результаты будут использоваться для совершенствования методик судебно-ботанической экспертизы и систем добровольной лесной сертификации.

*Автор благодарит зав. кафедрой экологии и защиты МГУЛ В.А. Липаткина, доцента кафедры лесоустройства и охраны леса МГУЛ С.Б. Пальчикова и профессора кафедры ботаники и физиологии МГУЛ Д.Е. Румянцева за консультации и предоставленные для анализа материалы.*

## **Биогеохимический мониторинг водных объектов бассейна р. Кальмиус в черте г. Донецка**

***Фатюха Андрей Викторович***

*Донецкий национальный университет, Донецк, Украина*

*fatuha83@mail.ru*

Город Донецк — крупный индустриальный центр востока Украины. На территории города сосредоточено большое количество металлургических, машиностроительных, химических производств и угольных шахт. Общий ежегодный объем сточных вод, сбрасываемых в поверхностные водные объекты, составляет более 150 млн. м<sup>3</sup>; кроме того, в черте города находятся отвалы металлургического завода и терриконы угольных шахт. Вследствие этого водные объекты Донецка испытывают интенсивное и неоднородное по составу загрязнение.

Для решения задач биогеохимического мониторинга был использован ИСП-АЭС спектрометр Shimadzu ICPE-9000. Для первого этапа мониторинга были выбраны 46 точек, полностью охватывающих бассейн р. Кальмиус в черте города: 15 точек были расположены на водотоках, 36 точек — на водоемах, что говорит о сильной зарегулированности бассейна р. Кальмиус в черте г. Донецка. С марта по декабрь 2012 г. ежемесячно отбирались пробы воды, в которых анализировался элементный состав растворенных и взвешенных веществ. Всего определяли 33 приоритетных элемента (Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, V, W, Zn, Zr).

На основании полученных данных были определены группы водных объектов: фоновые — экологически благополучные водные объекты и критические — испытывающие интенсивное загрязнение по ряду техногенных элементов. Для дальнейших исследований определены фоновые концентрации химических элементов в воде (верхняя доверительная граница среднегодовых значений концентраций благополучных водных объектов). Основными точечными источниками загрязнения являются высокоминерализованные шахтные воды, формирующие 70 % водного стока бассейна реки Кальмиус в черте г. Донецка. К дифференцируемым диффузным источникам следует отнести терриконы и автомобильные магистрали.

Второй этап биогеохимического мониторинга будет включать исследование элементного состава гидробионтов и донных отложений в выделенных на первом этапе водных объектах. Полученные коэффициенты накопления и аккумуляции позволят рассчитать критические нагрузки приоритетных химических элементов на водные экосистемы бассейна р. Кальмиус в черте г. Донецка.

## Экологические проблемы подземного транспорта г. Москвы

*Цветкова А.С., Губонина З.И.*

*Московский государственный открытый университет им. В.С. Черномырдина, Москва, Россия*

*A.Tsvetkova@yandex.ru*

К одной из самых острых проблем города Москвы, прежде всего, надо отнести экологическую. Любой город такого масштаба и значения как Москва априори обречен на неблагоприятную экологическую обстановку.

Крупнейшей проблемой растущих и все снова и снова развивающихся городов является недостаток свободных территорий, необходимых для строительства новых объектов. Тем самым возникает необходимость интенсивного освоения городского подземного пространства. Освоение подземного пространства в транспортных целях в нашей стране и в мире все более активно влияет на формирование среды обитания на высокоурбанизированных территориях. Вместе с тем подземное размещение городских транспортных объектов обладает специфическими особенностями, среди которых: более высокие капитальные затраты, длительные сроки использования подземных сооружений, особые формы воздействия на окружающую среду и др.

Преимущественное развитие получают именно электрические виды транспорта (метрополитен), который наносит гораздо меньший ущерб природной среде. Развитие сети метрополитена благоприятно отражается на состоянии городской среды, позволяя снизить темпы развития менее экологичных видов городского транспорта.

В метрополитене поддерживается оптимальный микроклимат. За час здесь обеспечивается трехкратный воздухообмен. Однако воздух перегоняется за счет движения вагонов. Воздух в метро не менее загрязнен, чем на поверхности, так как фильтры на вентиляционную камеру можно поставить, только если воздух нагнетается принудительно, в московском же метрополитене ситуация иная.

Нет в метро ни кондиционеров, ни вентиляторов, ни ионизаторов воздуха. Хотя раньше были вентиляторы, которые располагались под сидением и включались машинистом при необходимости. Но эта система была разрушена в силу воспитания и культуры населения.

Не менее важная проблема метрополитена, в частности, московского, — уровень шумов в метро. Известно, что московский метрополитен — один из самых шумных во всем мире. А это далеко не хорошо сказывается на здоровье и самочувствии. Поезда метрополитена при движении на открытых участках создают шум, усиливающий общий шумовой фон города. Уровень шума от поездов метро в 7 метрах от оси пути значителен и составляет 80–85 дБ при скорости 40 километров в час. При увеличении скорости на 10 километров в час шум поездов возрастает на 3–4 дБ.

Спектр шума поезда метро — среднечастотный. Максимальный уровень звукового давления приходится на полосу частот 500 Гц. При движении на криволинейных участках колеса прижимаются к внутреннему рельсу, при этом возникает скрип с повышенным уровнем звукового давления в области высоких частот (около 4000 Гц), вызывающих крайне неприятное ощущение.

Вибрации, возникающие в тоннеле, через грунт передаются фундаменту ближайших зданий, возбуждая в них колебания различных конструктивных элементов. У людей, живущих в прилегающих районах, возникают беспокойство, нарушение сна, отдельных видов трудовой деятельности и много другое. Причем у жителей верхних этажей жалоб бывает больше, как это ни парадоксально. У рабочих может возникнуть профессиональное заболевание — вибрационная болезнь.

Конечно, многое делается для снижения шума и вибрации в метрополитене. Укладка длинномерных рельсов плетей, применение профилированных резиновых подрельсовых прокладок, укладка бетонного основания пути на резиновые прокладки — это чаще всего встречаемые меры. Не так давно появились новые составы «Русич», которые не такие шумные, приближены к европейским образцам, имеют принудительную вентиляцию, однако далеко не идеальны. Тем более, что таких вагонов пока еще слишком мало, чтобы проблема была хоть частично решена. Большинство московских вагонов — старые, стучат и скрипят на ходу.

По мнению экспертов, 30–40 минут в день, проведенных в вагонах старого типа, достаточно, чтобы навредить здоровью.

Московское метро — не самое полезное для здоровья место в городе. Химические исследования взятых в метро проб воздуха показали превышение предельно допустимой концентрации двуокиси азота, а также окиси и двуокиси углерода. Зафиксировано и нарушение санитарных норм по содержанию пыли. Оксиды азота и углерода не являются специфическими для метро загрязняющими веществами, они попадают сюда с поверхности. Вентиляционные шахты метро расположены вдоль автомагистралей, и отравленный транспортными выбросами воздух спускается в тоннели. 27 самых «грязных» станций (превышение ПДК в 1,4 раза) как раз и находятся в центре города, вблизи автодорог и привокзальных площадей. В столичном метрополитене обнаружены все возможные нарушения санитарных правил и требований к микроклимату производственных помещений. Работники машинных залов трудятся в условиях плохой вентиляции и повышенной на 5–6 градусов сверх нормы температуры воздуха, а концентрация смешанной пыли здесь превышает ПДК от 1,6 до 9,7 раз. Увеличение температуры воздуха (а замеры делались зимой и весной) отмечено даже на некоторых контрольно-пропускных пунктах и в кабинах дежурных по станции.

Соответствующие органы должны регулярно определять уровень вибрации, а организации и учреждения, являющиеся источниками вибрации, обязаны предусмотреть необходимые меры по ее снижению.

### **Проблема нефтяного загрязнения водных объектов**

#### **Самотлорского нефтегазового месторождения**

*Шакирова Юлия Булатовна*

*Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия*

*yulona1991@mail.ru*

Загрязнение водоёмов нефтью и нефтепромысловыми водами в зонах интенсивной нефтедобычи неизбежно приводит к деградации водных экосистем. По результатам обследования Самотлорского нефтегазового месторождения, имеющего размеры 65x40 км, выявлено 697 нефтезагрязнённых водных объектов общей площадью более 50 га.

Целью данной работы является обследование водных объектов на предмет наличия нефтяных загрязнений в поверхностном слое и в донных отложениях в количествах, превышающих нормативно допустимый уровень, а также разработка мероприятий по ликвидации нефтяных загрязнений.

В работе использовалась природоохранная нормативная документация (в том числе региональная), данные локального экологического мониторинга лаборатории ОАО «НишневартовскНИПИнефть», данные инвентаризации загрязнённых земель, выполненной по методике дешифрирования космоснимков высокого разрешения. Определение нефтепродуктов проведено методом ИК-спектрофотометрии, токсикологический анализ — на основе биотестирования.

В большинстве пунктов отбора проб поверхностных вод Самотлорского месторождения концентрация нефтепродуктов не превышает установленные нормативы и составляет 0,03 мг/л при ПДК 0,05 мг/л для рыбохозяйственных водоёмов. Содержание нефтепродуктов в донных отложениях варьирует в пределах < 50–54919 мг/кг, что превышает принятый региональным нормативом ПДУ (20 мг/кг) до 2745 раз, а фоновое содержание (2300 мг/кг) водных объектов на Самотлоре, характерное для водоёмов с органическими донными отложениями (сапропель, торф), до 23 раз. В работе предлагается комплекс мер по рекультивации водоёмов Самотлорского месторождения, заключающийся в биологической очистке донных отложений от нефти и нефтепродуктов с использованием бентосных животных.

По содержанию нефтепродуктов состояние донных отложений характеризуется нарастающими изменениями, обедняющими биотические (бентические) сообщества, выраженным обеднением донной экосистемы, нарастающим угнетением, а также резким угнетением. Результаты проведённого исследования свидетельствуют о необходимости

принятия срочных мер по рекультивации водных объектов с одновременным мониторингом состояния биоты, гидрохимического состава вод, донных отложений.

### **Изучение токсических эффектов гетероциклических соединений табачной вытяжки**

**Шиперова Е.А., Сагайдачная В.В.**

*Мурманский государственный гуманитарный университет, Мурманск, Россия*

*Shiperova.ewgenia@yandex.ru*

Целью исследования явилось изучение токсического эффекта циклических органических соединений, входящих в состав табачной вытяжки. На первом этапе исследования на основе качественного анализа токсических веществ и их предельно допустимых концентраций нами была выделена группа наиболее опасных отравляющих веществ, входящих в состав табачной вытяжки — гетероциклические вещества. На основе анализа физиологических эффектов токсикантов было предположено явление синергизма химических компонентов по воздействию на живой организм. В эксперименте использовали рыб семейства *Poeciliidae* (Гамбузиевые), в среду обитания которых вводились изучаемые токсические вещества необходимой концентрации.

Анализ отклонения поведенческих реакций показывает, что гиперемия жабр наиболее выражена у особей, содержащихся в растворах дифениламина (0,5 ПДК, 1 ПДК, 5 ПДК), бензола (5 ПДК). Конвульсивная работа жабр отмечена в среде с дифениламином и бензолом. Наименее выражены данные токсические эффекты в среде с фенолом (0,5 ПДК, 1 ПДК, 5 ПДК). Изменение общей двигательной активности, в наибольшей степени, отмечено у фенола, бензола и толуола (5 ПДК, 5 ПДК, 5 ПДК). Изменение характера перемещения так же более свойственны фенолу (1,5 ПДК), бензолу (5 ПДК), а так же дифениламину (5 ПДК), что может быть обусловлено его сильным токсическим воздействием на дыхательный аппарат гидробионтов. Потеря чувствительности наиболее ярко выражена в среде с фенолом (5 ПДК), бензолом (5 ПДК) и толуолом (1,5 ПДК).

Токсический эффект смесей изучаемых веществ по преобладанию токсического эффекта и характеру его проявления можно условно разделить на две группы: нервно-дыхательную (дифениламин + толуол) и чисто нервную (фенол + толуол). Первая группа характеризуется сильным токсическим эффектом в нарушении работы как дыхательной, так и нервной системы (гиперемия жабр до 52 % в сумме, конвульсивная работа жабр до 42 %, ОДА — 30 %, потеря чувствительности до 26 %). Эта смесь позволяет подтвердить явление синергизма. Во второй преобладает отклонение поведенческих реакций (ОДА — 28 %, потеря чувствительности — 32 %) в результате явления кумуляции и взаимоусиления токсического эффекта.

Исследование подтвердило выдвинутую гипотезу существования синергизма токсического эффекта ряда органических веществ, входящих в состав табачной вытяжки и выявить их кумуляцию. Полученные результаты позволяют говорить о сильном отравляющем эффекте не только никотина, как наиболее преобладающего токсиканта в составе табачной вытяжки, но и веществ с меньшей концентрацией, в частности циклических органических соединений, которые не уступают ему по токсическому эффекту.

### **Эффективная система обогащения экзоэлектрогенами анодной биопленки биоэлектрохимических систем**

**Щурская Екатерина Александровна**

*Национальный технический университет Украины «Киевский Политехнический институт»,*

*Киев, Украина*

*evdoksiya@gmail.com*

В течение последнего десятилетия в научных исследованиях все большую популярность приобретают биоэлектрохимические системы (БЭХС), способные генерировать водород или электрическую энергию с одновременной утилизацией сточных вод при использовании метаболических особенностей микроорганизмов-экзоэлектрогенов. Для обеспечения эффективности таких систем определяющую роль имеет ассоциация микроорганизмов

в анодной биопленке. Формирование биопленки является наиболее длительной стадией перед запуском БЭХС, так как для этого обычно используют активный ил и для обогащения биопленки экзоэлектрогенами необходимо значительное время. Разработка быстрой процедуры формирования биопленки на аноде и была задачей наших исследований.

Для инокуляции экзоэлектрогенов использовали первичную биопленку из действующей двухкамерной БЭХС, которую разбавляли от  $10^1$  до  $10^9$  раз в буферном растворе с последующей ее инкубацией в анаэробных условиях при температуре  $30\text{ }^\circ\text{C}$ . Для интенсификации роста экзоэлектрогенов в питательную среду ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 0,45 г/л; NaCl — 0,90 г/л;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,18 г;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  — 0,10 г;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  — 0,50 г;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1,50 г;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 2,19 г, следовые количества микроэлементов и витаминов) были добавлены  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  в качестве акцептора электронов и ацетат натрия в качестве донора электронов. Электрохимическую активность инокулированных культур исследовали в цилиндрической анаэробной БЭХС с двумя камерами, разделенными протонселективной мембраной и сравнивали с БЭХС, биопленку которой формировали традиционным путем.

Самым эффективным было разбавление первичной биопленки в  $10^5$  раз, именно в таких условиях концентрация клеток после культивирования была максимальной. Удельная мощность и кулоновская эффективность БЭХС с обогащенной биопленкой ( $156\text{ мВт/м}^2$ , 24 %) была выше, чем у БЭХС с первичной биопленкой ( $115\text{ мВт/м}^2$ , 17 %). Время запуска БЭХС с инокулированной биопленкой (84 ч) было короче, чем при традиционной процедуре формирования биопленки (105 ч).

Полученные результаты доказали, что описанная процедура формирования биопленки является весьма действенной для повышения эффективности БЭХС.

### **Лесовосстановление после пожаров**

*Эминова Диана Эдиковна*

*Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия*

*d.kaktus93@mail.ru*

На сегодняшний день проблема гибели леса занимает одно из первых мест по глобальным проблемам, после чего лес не восстанавливается десятки, сотни лет. Пожары наносят огромный вред лесному хозяйству: уменьшается прирост деревьев, ухудшается состав лесов, почвенные условия, гибнут животные, средой обитания которых является лес. Мировая статистика свидетельствует о том, что 97 % лесных пожаров происходит по вине человека и лишь 3 % — за счёт молний, главным образом шаровых. Пламя лесных пожаров стирает на своём пути флору, и фауну.

Лесные культуры (посев семян, плодов и(или) посадка сеянцев) по обычной технологии обеспечивают их приживаемость только в пределах 30–45 % и в последующем они растут очень медленно, многие из них выпадают в связи со сгоранием на территории микоризообразующего грибного компонента почвы (МГКП) после катастрофических лесных пожаров. Эти территории остаются опустошенными.

Методика приготовления смеси основана на использовании природных материалов (древесный уголь и почва) и их адгезии на активные части корней или же семена. Эти смеси готовятся для каждой территории отдельно, поскольку МГКП территориально и видоспецифичен. Характерной особенностью технологии является то, что гари не расчищаются, т.е. сгоревшие кустарники и деревья не удаляются, а оставляется как пища (легкодоступный углерод) для первых живых организмов гарей -пирогенных грибов, которые способствуют восстановлению прежней среды леса. Т.о. приготовленная смесь наносится на саженцы или же семена, а гифы проросших спор грибов обеспечивают семена или саженцы элементами минерального питания, водой, обеспечивая прочный контакт наподобие адгезии, что обеспечивает приживаемость культур и ускоренное воспроизводство леса.

Проведенные нами исследования позволили получить положительные результаты, использование данной технологии обеспечивает 100%-ую приживаемость и ускоренный рост посаженных культур. Посаженные по этой технологии саженцы Платана Восточного (*Platanus orientalis* L.) в Ботаническом саду ДГУ прижились и растут успешно.

На данный момент продукт полностью готов к использованию. Разработанная технология может быть использована как в лесном так и в сельском хозяйстве. Использование предлагаемой технологии позволяет минимизировать расходы в разы. Технология очень проста и экономична.

## Подсекция «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

### The effect of exogenous spermine on the functioning of antioxidant enzymes and proline metabolism in *Thellungiella salsuginea*

*Korolkova Diana Valerievna, Soshinkova T.N.*

*K.A.Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia*

*korolkova\_d\_v@mail.ru*

Polyamines (PA) (putrescine, spermidine, spermine (SPM)) are present in all compartments and organelles in plant cells, suggesting their involvement in the fundamental processes. PA is involved in the replication, transcription, translation, membrane stabilization, modulation of enzyme activity, regulation of genome expression, cell division and elongation. However, the contribution of PA metabolism in plant adaptation to many stress factors is not fully understood. It is known that the specific mechanism of adaptation in *Thellungiella salsuginea* under stress conditions is the accumulation of proline. In this work we have studied effects of exogenous SPM on proline metabolism and functioning of the antioxidant system in *Th. salsuginea*. Plants were grown in water culture in a phytotron chamber. After 6 weeks the nutrient solution was contributed by SPM in a concentration range from 0.2 mM to 1 mM, the control plants were not treated with SPM. 1 mM SPM in the culture medium caused a decrease in proline content and increase in proline dehydrogenase activity – a key enzyme of the proline catabolism. Same rise have happened in expression of genes *P5CS1* and *IP5CD*, encoding enzymes of proline metabolism. The pattern of observed changes confirms that proline is the major component of the defense system in *Th. salsuginea*. Slight increase in antioxidant enzyme activity was observed only for catalase and peroxidase activity, SOD isoforms was not changed. The marked differential changes were observed in the levels of gene transcripts encoding isoforms of ascorbate peroxidase: increase for *APX1*, *APX4* and reduce for *APX2*. These data demonstrate that in *Th. salsuginea*, grown in normal conditions, SPM added to the growth medium did not exert a strong pro-oxidant effect on plants. However, changes in the activity of antioxidant enzymes and the production of hydrogen peroxide caused by exogenous treatment of SPM result in changes in proline metabolism.

*This work was supported by RFBR 11-04-01305-a.*

### Исследование компонентов антиоксидантной защиты у газонных растений города Калининграда

*Артеменко Анастасия Андреевна<sup>1</sup>, Головина Е.Ю.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>МАОУ СОШ № 6 г. Калининград;*

*<sup>2</sup>Калининградский институт экономики, Калининград, Россия*

*art\_anastasia@mail.ru*

В связи ростом техногенной нагрузки на живые организмы особенно актуальным является изучение механизмов их адаптации к неблагоприятным факторам среды. Известно, что рутин и аскорбиновая кислота (АК) входят в систему защиты растений и являются антиоксидантами. Целью данной работы явилось исследование содержания АК и рутина в листьях некоторых газонных растений города Калининграда в зависимости от места произрастания. Объектами исследования служили растения — представители семейства бобовые (*Fabaceae*): клевер гибридный (*Trifolium hybridus* L.), клевер ползучий (*Trifolium repens* L.), люцерна хмелевидная (*Medicago lupulina* L.). Эти виды отличаются чувствительностью к газообразным загрязняющим атмосферный воздух веществам и по классификации Николаевского относятся к неустойчивым видам. Для исследования были заложены 32 пробные площадки в разных районах г. Калининграда, отличающихся по степени загрязнения почвогрунтов и воздуха. В качестве контроля пробы отбирались в Национальном парке "Куршская коса" в районе пос. Рыбачий. Содержание АК и рутин определяли методом титрования. Исследования проводились в течение 2010–2011 гг. Полученные данные обработаны статистически методом парных сравнений и представлены в виде средних арифметических значений. Обнаружено, что суммарное содержание АК и рутин в листьях газонных растений, произрастающих

в разных районах г. Калининграда видоспецифично: максимальный уровень (АК — 69,81 мкг/г, рутина — 2,9 мкг/г) отмечен у *Trifolium hybridus* L., а минимальный (АК — 24,09 мкг/г, рутина — 0,4 мкг/г) — у *Medicago lupulina* L. Повышенный пул исследуемых антиоксидантов был отмечен у растений, произрастающих вблизи центральных автомагистралей города с большим объемом транспортных выбросов. Возможно, это связано с тем, что по мере усиления антропогенного загрязнения окружающей среды происходит увеличение содержания антиоксидантов, что может являться одним из физиологических механизмов адаптации к неблагоприятным условиям. Таким образом, максимумы накопления исследуемых веществ наблюдались в листьях газонных растений, произрастающих на улицах, являющихся основными транспортными артериями города Калининграда. Высокий уровень компонентов антиоксидантной защиты можно использовать как тест — индикатор на загрязнение различными поллютантами. Повышенное содержание антиоксидантов может определять степень адаптационных способностей растений и позволяет выделить зоны с разным уровнем загрязнения.

### **Компонентный состав аромата срезанных роз в зависимости от состава питательного раствора**

*Артюшина Ирина Юрьевна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*  
*artuwina@mail.ru*

Современные сорта роз часто не имеют специфического запаха, что может быть связано с нехваткой доступного субстрата для биосинтеза пахучих веществ. Метаболическое влияние на цветочный аромат заключается в применении для питания растения композиции, содержащей предшественники цветочного аромата. Цель настоящей работы заключалась в определении действия таких предшественников цветочного аромата как бензойная, ацетилсалициловая кислоты и фенилаланин, при добавлении их в питательный раствор на изменение запаха срезанных роз. Для исследования использовали сорт роз Flash Night, обладающих слабым, невыраженным ароматом. Изменение аромата определяли по качественным и количественным характеристикам выделяемой розой смеси пахучих веществ, анализируя их методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии (FOCUS DSQ-11 (Финниган — США)). Для выделения летучих компонентов использовали твердофазную адсорбцию с последующей термической десорбцией. Для всех вариантов эксперимента было характерно наличие ацетофенона, бензальдегида, метилбензилового эфира, виниланизола и метиланизола, 3,5-диметокситолуола, 1,3,5-триметоксибензола, 3-гексенола и терпенов —  $\alpha$ - и  $\beta$ -пинена, камфена, кариофиллена, карена, лимонена, оцимена, мууролена и др. При добавлении в питательный раствор фенилаланина в смеси выделенных розой веществ появился новый компонент — анизол (метоксибензол) и исчезли бензиловый спирт, дигидро- $\beta$ -ионон и 2-гексаналь. Вариант с добавлением бензойной кислоты отличался от контрольного варианта появлением 2-гептанона, 2-этилнорборнана, метилбензоата, нонанала и метилэвгенола. Смесь пахучих компонентов, выделенных цветками роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты в питательный раствор, отличалась появлением 1-пентанола, 3-гексенала, ионана, ментола, бутилциклогексанона, карвона, диметилсалицилата и метилсалицилата. При увеличении концентрации предшественника в питательном растворе изменялось общее количество компонентов смеси: внесение ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл приводило к увеличению идентифицированных пахучих веществ на 28 % по сравнению с вариантом с меньшей концентрацией (1 мг/мл). Компонентный состав смеси пахучих веществ был одинаков вне зависимости от концентрации внесенного предшественника. Для варианта с внесением одинарной и двойной доз ацетилсалициловой кислоты основными компонентами аромата являлись лимонен, триметокситолуол, триметоксибензол, кариофиллен и  $\beta$ -мууролен. Количественное соотношение перечисленных компонентов сохранялось. Таким образом, добавление в питательный раствор для срезанных роз предшественников пахучих веществ, может влиять на запах за счет изменения состава выделяемой цветками смеси компонентов.

**Участие пролиновых аминопептидаз  
в регуляции биогенеза белков фотосинтетических комплексов**

**Баик Алина Святославовна**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*a\_baik@mail.ru*

Протеолиз N-концевых аминокислотных остатков полипептидов играет важную роль в стабильности и сборке клеточных белков, обеспечивая тонкую регуляцию их функциональной активности и качества на посттрансляционном уровне. В N-концевой протеолиз белков вовлечены пептидазы, различающиеся по своим функциональным свойствам, в том числе белки семейства пролинспецифичных аминопептидаз. Эта группа ферментов является важной составляющей избирательного протеолиза белков, поскольку гидролиз пептидной связи, образованной пролином может осуществляться лишь ограниченным числом ферментов. Пролиновые аминопептидазы Р (АМРР), катализирующие гидролиз пептидной связи, в образовании которой принимает участие иминогруппа пролина, являются металлопептидазами и относятся к М24 семейству. К настоящему времени наиболее охарактеризована пролиновая аминопептидаза Р гетеротрофной бактерии *Escherichia coli*. У растений и фотосинтезирующих бактерий пролиновые аминопептидазы до сих пор не изучены. Поиск гомологичных белков показал присутствие как минимум двух гомологов АМРР1 и АМРР2 у растения *Arabidopsis thaliana*, причём с различной локализацией белков, в митохондриях и хлоропластах клетки, соответственно, и одного гомолога (РерР) в клетках фотосинтезирующей цианобактерии *Synechocystis* sp. РСС6803. С использованием подхода «обратной» генетики, когда прямая инактивация гена, кодирующего целевой белок, позволяет выяснить его функцию, нами было показано возможное участие РерР в биогенезе белков фотосинтетического аппарата.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-04-00049.*

**Выяснение роли АБК-связывающих белков, кодируемых генами-гомологами  
*Arabidopsis thaliana*, в ответе растений на стрессовое воздействие**

**Барташевич Дарья Александровна**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*bartashevichda@gmail.com*

Одной из важнейших проблем современной физиологии растений является изучение механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. Многие аспекты физиологических ответов на действие различных стрессовых факторов, таких, например, как засуха, засоление, пониженные температуры, связаны с растительным гормоном — абсцизовой кислотой (АБК). К настоящему времени остаются до конца не изученными механизм действия АБК и факторы, вовлеченные в сигнальный и метаболический пути этого гормона. В работе изучались три гена-гомолога из *Arabidopsis thaliana*, кодирующие белки с неизвестной функцией и, как нами было показано, обладающие АБК-связывающими свойствами. С целью выяснения функций этих белков была изучена экспрессия генов-гомологов на уровне мРНК и белка в ответ на действие засоления (150 мМ NaCl), пониженной температуры (+4°C), а также на действие экзогенной АБК (10<sup>-6</sup> М) у 7-дневных растений дикого типа (экотип Columbia-0) и одинарных инсерционных мутантов по этим генам. С помощью ПЦР после обратной транскрипции было показано, что экспрессия всех трех генов на уровне мРНК увеличивалась по сравнению с контролем через 6 ч после начала действия стрессоров или обработки АБК, и достигала максимального значения через 12 ч. Динамику содержания белков-гомологов изучали при помощи вестерн-блот анализа с использованием полученных нами поликлональных антител. Показано, что содержание всех исследуемых белков начинало увеличиваться только на вторые сутки после обработки. При этом во всех экспериментах мутантные растения имели сходный с диким типом профиль экспрессии изучаемых генов как на уровне мРНК, так и на уровне белка. Таким образом, изучаемые нами гены-гомологи *A. thaliana*, кодирующие АБК-связывающие белки, являются стресс- и гормон-

индуцибельными. Достаточно поздняя их реакция на экзогенную АБК и стрессовое воздействие позволяет предположить их участие в процессах, связанных с клеточным ответом на действие данных факторов. Отсутствие различий в экспрессии генов у мутантов и растений дикого типа, возможно, объясняются выполнением этими белками сходных функций.

### **Салициловая кислота регулирует метаболическую активность митохондрий**

**Буцанец Павел Андреевич**

*Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*p.corbeau@list.ru*

Накоплено большое количество данных о физиологическом эффекте салициловой кислоты (СК) на дыхание и процессы трансформации энергии в митохондриях растений. Обладая свойствами протонофора, СК может воздействовать на генерацию трансмембранного электрического потенциала ( $\Delta\psi$ ) митохондрий и разобщать процесс окислительного фосфорилирования. В конце 80-х годов, при изучении термогенных тканей цветов ароидных было показано, что СК регулирует активность альтернативной терминальной оксидазы (АО). Однако вопрос о влиянии СК на метаболизм и физиологической роли в регуляции активности АО в нетермогенных тканях остается открытым. Объектом исследования были изолированные этиолированные семядоли проростков люпина желтого (*Lupinus luteus* L.). Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования. Дыхание митохондрий регистрировали по поглощению кислорода на приборе *Oxytherm* (*Hansatech Instruments, UK*). Вклад АО в общее дыхание митохондрий изучали методом ингибиторного анализа с применением KCN и салицилгидроксамовой кислоты. Изменение  $\Delta\psi$  регистрировали на спектрофотометре с использованием красителя сафранин. Эксперименты на интактных митохондриях показали, что добавление СК в реакционную ячейку тормозит поглощение кислорода при окислении НАД-зависимых субстратов в состоянии 3 и активирует в состоянии 4 достигая максимума при 5,0 мМ. Кроме того, СК снижала величину  $\Delta\psi$ , приводя к почти полной его диссипации при концентрации 5,0 мМ. Комплексные результаты позволяют утверждать, что при действии на интактные митохондрии в концентрациях до 5,0 мМ, СК является разобщителем окислительного фосфорилирования, а выше — ингибитором митохондриального дыхания. Экспозиция изолированных семядолей на растворе 1,0 мМ СК в течение 12 ч повышала скорость поглощения кислорода как в состоянии V3, так и V4 при окислении малата в присутствии глутамата. Кроме того, СК усиливала мощность АО в 2 раза по сравнению с контролем. Выдерживание семядолей на растворе 5,0 мМ СК не влияло на общую скорость дыхания митохондрий, ингибируя цитохромный путь окисления (ЦП) на 30 %, на фоне увеличения мощности АО. Таким образом, СК регулирует активность ЦП и АП, зависимое от концентрации и времени экспонирования семядолей на растворах фитогормона.

### **Фенольные соединения растений вида *Limonium gmelinii* и *Limonium tyrianthum***

**Гадецкая Анастасия Валерьевна**

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан*

*avg01.08@mail.ru*

Изучен состав фенольных соединений растений рода *Limonium* Mill, имеющих промышленные запасы на территории нашей страны. Показано наличие практически всех представителей класса флавоноидов (флавонолов, бифлавоноидов, проантоцианидинов и конденсированных танинов). Олигомерные проантоцианидины, которые находят применение в качестве биологически активных добавок к пище, являются действующими веществами растений вида *Limonium gmelinii* и *Limonium tyrianthum*. На основании химических, хроматографических и спектральных данных в растениях были идентифицированы флавоноиды, стильбены, фенолокислоты. В ходе исследования первоначально проводилась избирательная экстракция исследуемых объектов разнополярными растворителями, с целью удаления липофильных компонентов и балластных веществ растений, а также для достижения предварительного частичного разделения различных групп БАВ. Полученные фракции затем концентрировали под вакуумом в мягких условиях. Далее адсорбционным

хроматографированием на полиамиде, силикагеле и сеффадексе наряду с мономерными флаванами (1-4), димерными проантоцианидинами (5,6), были обнаружены различные гликозиды кверцетина и мирицетина. Мономерные флаваны были идентифицированы как (+)-галлокатехин (1), (-)-эпигаллокатехин (2), (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлат (3) и (-)-3,5,7,3',4',6'-гексаоксифлаван (4). Все эти вещества дают с ванилиновым реактивом и солями железа ( $Fe^{3+}$ ) характерное для флаванов окрашивание, димерные проантоцианидины (5,6) под действием 50%-ного раствора КОН расщепляются до флороглюцина и галловой кислоты, при нагревании с 2 н. HCl образуют антоцианидиновый краситель — дельфинидин ( $\lambda_{max}$  544 нм). В присутствии 0,01 н. HCl из вещества 5 образуется соединение 3, а из вещества 6 — соединение 4. Таким образом, димер 5 на основании физико-химических констант идентифицирован как 2R,3R,4R-(-)-эпигаллокатехин-(4 $\beta$ →8)-2R,3R-(-)-эпигаллокатехин-3-О-галлат, а димерный проантоцианидин 6 идентифицирован как 2R,3R,4R-(-)-эпигаллокатехин-(4 $\beta$ →8)-(-)-2R,3R,3,5,7,3',4',6'-гексаоксифлаван. Димерность флаванов подтверждает масса молекулярных ионов  $M^+$  987, соответствующая вычисленной для моно-ацетилперметилового эфира флавана 5 и  $M^+$  834 для диацетилперметилового эфира флавана 6. Интересно отметить, что противомикробная активность соединений в комплексе гораздо выше, чем в индивидуальном виде. Данные, полученные при их анализе, указывают на биохимическую связь представленных мономерных, димерных, олигомерных и полимерных продуктов. Выделение очищенных комплексов активных веществ в качестве биологически активных добавок к пище приобретает все большую важность на сегодняшний день как компонент здорового питания.

### **Активность ферментов компонентов антиоксидантной системы растений в условиях солевого стресса**

*Галактионова Мария Владимировна*

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*dvormar@mail.ru*

Засоленность почв — один из основных признаков неблагоприятного состояния земель, этот фактор присутствует практически во всех природных зонах. Адаптация растений к засолению является сложным интегральным процессом, протекающим на всех уровнях структурной организации растений и затрагивающим все функции растения. В последнее время в литературе, появилось значительное количество работ по влиянию засоления на образование активных форм кислорода (АФК) в клетках. АФК постоянно образуются в растительных и животных клетках. В настоящей работе была поставлена задача изучить активность ферментов антиоксидантной системы растений в условиях засоления. Объектом исследования служили семена пшеницы сорта «Станичный» урожая 2011 года, выращенные на слабозасоленных почвах. Семена проращивали на растворах 0,1М NaCl и 0,2 М NaCl в чашках Петри при температуре 25 °С. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Проведенные исследования показали: на контроле всхожесть составила 98 %, энергия прорастания — 99 %; при засолении 0,1 М NaCl всхожесть — 93 %, энергия прорастания — 95 %. Засоление 0,2 М NaCl — 65 % и 67 % соответственно. Активность каталазы возрастала с повышением концентрации соли в растворе: контроль — 0,2607мкат/л; 0,1М NaCl — 0,2819мкат/л; 0,2 М NaCl — 0,4237мкат/л. С увеличением концентрации соли менялось содержание МДА: (надземная часть растения) контроль — 0,107нмоль/мл; 0,1М NaCl — 0,093 нмоль/мл; 0,2 М NaCl — 0,063 нмоль/мл; (корни) контроль — 0,043 нмоль/мл; 0,1М NaCl — 0,081 нмоль/мл; 0,2 М NaCl — 0,097 нмоль/мл. Активность пероксидазы так же как и активность каталазы увеличивалась с повышением концентрации: (надземная часть) контроль — 31 Е/мг; 0,1 М NaCl — 50 Е/мг; 0,2 М NaCl — 72 Е/мг; (корни) контроль — 29 Е/мг; 0,1М NaCl — 47 Е/мг; 0,2М NaCl — 65 Е/мг. Таким образом, моделируемое засоление в концентрациях 0,1 М и 0,2 М вызывало снижение всхожести и энергии прорастания. Наблюдалось снижение содержания МДА в побегах и повышение количества МДА в корнях, активность каталазы возрастала по сравнению с контролем и в корнях и в надземной части. Активности пероксидазы увеличилась как в побегах так и в корнях.

## Антиоксидантная система плодов *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium uliginosum* L.

в процессе созревания

Деева Алла Михайловна

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*a\_makarevich@tut.by*

В стрессовых условиях для контролирования окислительных процессов необходима быстрая адаптация растения к условиям окружающей среды. Известно, что активность антиоксидантной системы растения может повышаться при воздействии стрессов различной природы. Уровень адаптации растений в значительной степени определяется соотношением уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантной системы. Для оценки изменения активности антиоксидантной системы плодов голубики в течение вегетационного периода мы измеряли величину активности одного из основных ферментов антиоксидантной защиты каталазы и содержание малонового диальдегида (МАД) в зеленых и спелых плодах 14 сортов *V. corymbosum* L.: Bluecrop, Bluegray, Bluerose, CarolinaBlue, Darrow, Duke, Elisabeth, HardyBlue, Herbert, Jersey, Nelson, Northblue, Northland, Patriot и *V. uliginosum* L. Установлено, что активность каталазы в зеленых плодах колеблется в пределах от  $16,8 \pm 0,9$  мМ  $H_2O_2$ /мл экстракта до  $144,8 \pm 1,9$  мМ  $H_2O_2$ /мл экстракта, тогда как в спелых плодах снижается, находясь в диапазоне от  $4,9 \pm 0,2$  мМ  $H_2O_2$ /мл экстракта до  $39,6 \pm 0,7$  мМ  $H_2O_2$ /мл экстракта. Активность каталазы в зеленых плодах выше в среднем в 2,5–5 раз, а для сорта Herbert в 29,5 раз. Коэффициент корреляции между показателями активность каталазы — содержание МАД в зеленых плодах равен — 0,5731, данный показатель для спелых ягод являлся незначимым. Как известно, высокий уровень формирования первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов сопровождается компенсаторной активацией антиоксидантной системы, о чем свидетельствовало повышение показателей активности каталазы в зеленых плодах. Созревание плодов, сопровождавшееся значительным увеличением количества антоцианов, приводило к уменьшению активности каталазы, что может косвенно свидетельствовать о роли антоцианидинов в системе антиоксидантной защиты растения. При этом наблюдаемое постоянство в уровне содержания МАД в плодах при их формировании и созревании свидетельствует о поддержании постоянства в функционировании антиоксидантной системы за счет попеременного действия как высокомолекулярных так и низко-молекулярных антиоксидантов: уменьшения активности ферментной защиты при повышении содержания основных низкомолекулярных антиоксидантов, таких как антоцианы в процессе созревания. Таким образом, показана роль антоцианов как высокоэффективных ловушек радикалов и их участие в антиоксидантной системе плодов голубики высокой и топяной.

### Особенности реакции тетраплоидной гречихи на низкоинтенсивное электромагнитное воздействие

<sup>1</sup>Еловская Нинель Анатольевна, <sup>2</sup>Пушкина Н. В.

<sup>1</sup>Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ Ядерных проблем БГУ, г. Минск, Беларусь

*tytsi\_92@mail.ru*

В Республике Беларусь остро стоит проблема повышения урожайности и устойчивости сельскохозяйственных растений к неблагоприятным факторам среды. Среди крупяных культур ведущее место занимает гречиха. Однако урожайности семян гречихи в условиях Республики Беларусь остается достаточно невысокой. В связи с этим возникла необходимость поиска эффективных, экологических и экономичных стимулирующих факторов, направленных на повышение агрономических качеств семян, устойчивости и урожайности данной культуры. В настоящее время много позитивных отзывов получила предпосевная физическая обработка семян, а именно электромагнитное излучение (ЭМИ). Это послужило отправной точкой для начала исследований. Обработка семян тетраплоидной гречихи сорта «Илия» низкоинтенсивным электромагнитным излучением СВЧ-диапазона производилась в НИИ

Ядерных проблем БГУ в трех режимах: Режим 1 (частота обработки 54–78 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 12 минут); Режим 3 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 8 минут). Были заложены лабораторные опыты по 50 семян в трехкратной повторности. Семена проращивали при интенсивном освещении и температуре 20–21 °С. Оценивались энергия прорастания, всхожесть, морфометрические показатели и содержание основных фотосинтетических пигментов на ранних этапах развития. Результаты были обработаны с помощью пакета программ Microsoft Excel. Показано, что все 3 Режима несколько снижают энергию прорастания по сравнению с контролем. Режим 1 повышает всхожесть семян (на 6 %), тогда как Режимы 2 и 3 снижают данный показатель на 6 % и 4 % относительно контроля. Установлено, что изучаемые режимы тормозят ростовые процессы корней. Однако Режимы 1 и 2 оказывают стимулирующее влияние на развитие надземных побегов. Выявлено, что все изученные режимы ЭМИ снижают уровень Хл *a* и каротиноидов. Режимы 1 и 2 повышают содержание Хл *b*, тогда как Режим 3 снижает данный показатель по сравнению с контролем. Таким образом, в ходе исследований установлена специфическая реакция тетраплоидной гречихи на ЭМИ воздействие. Анализ влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения СВЧ-диапазона на растения тетраплоидной гречихи показал, что данное воздействие было достаточно стрессогенным. Поэтому интенсивность и длительность воздействия режимов должна быть скорректирована.

### **Влияние 24-эпибрассинолида на морфометрические и биохимические показатели ячменя**

***Ефремова Ксения Витальевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*efremova-kseniya@mail.ru*

Брассиностероиды — класс гормонов, близких к животным стероидам, обнаруженные у многих высших растений. 24-эпибрассинолид (ЭБ) — фитогормон стероидного типа, обладающий высокой рострегулирующей и адаптогенной активностью при физиологических концентрациях. Исследования были выполнены на растениях ячменя (*Hordeum vulgare*, сорт Раушан). Были поставлены лабораторные эксперименты по изучению влияния различных концентраций 24-эпибрассинолида на прорастание семян, длину корня и морфологию тест-растений. Также выполнен вегетационный эксперимент по изучению влияния 24-эпибрассинолида в концентрациях  $10^{-7}$ – $10^{-6}$  М на рост и развитие растений ячменя в первые фазы онтогенеза. В свежем растительном материале определяли активность пероксидазы, содержание пигментов (хлорофилл (*a+b*), каротин) и процентное содержание белка. Методом биотеста установлено, что стимуляция ЭБ проявляется в концентрации  $<10^{-8}$  М, а в больших концентрациях ( $>10^{-7}$  М) проявляется его ингибирующее действие. Установлено, что на свету, под действием ЭБ в концентрации  $10^{-7}$  М синтез хлорофилла и каротиноидов ингибируется (ниже на 35,4 % и 4,9 % соответственно). В этиолированных проростках концентрация пигментов оказалась на порядок ниже, чем в условиях освещенности. Причем, тенденция к снижению содержания хлорофилла (*a+b*) с увеличением концентрации ЭБ сохранялась, а содержание каротиноидов увеличивалось (с 0,101 до 0,164 мг/100 г). В вегетационном эксперименте при воздействии концентрацией ЭБ  $10^{-7}$  М было получено увеличение биомассы на 21,2 % по сравнению с контролем. В диапазоне рабочих концентраций ( $10^{-9}$ – $10^{-6}$  М) установлены разнонаправленные эффекты в зависимости от концентрации. С повышением концентрации установлено ингибирующее действие ЭБ ( $\geq 10^{-7}$  М) на высоту растения ячменя и длину листа (снижение на 1,7 и 22,7 % по высоте и на 5,1 и 11,1 % по длине листа). Обработка растений ячменя в фазе трёх листьев при фолиарном воздействии разных концентраций ЭБ ( $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  М) в вегетационном эксперименте сопровождалась снижением содержания белка в надземной массе на 8,3 и 4,7 % соответственно, по сравнению с контролем. Выявлена зависимость между концентрацией эпибрассинолида и активностью фермента пероксидазы, которая в соответствии с концентрациями ЭБ ( $10^{-6}$  М и  $10^{-7}$  М) снижается на 69,6 % и 35,3 %, соответственно, относительно контроля.

## Особенности влияния ЭМИ на ранние этапы прорастания зернобобовых и лекарственных растений

Кайзинович Ксения Яковлевна, (Баханькова Е.А.)

Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка, Минск, Беларусь  
ksunchik20082008@yandex.ru

На сегодняшний день одной из актуальных проблем, которая стоит перед сельскохозяйственными производителями является несоответствие физиологического качества посевного материала требованиям современных интенсивных технологий возделывания кормовых и лекарственных культур, заключающееся в необходимости увеличения адаптивных свойств растений к неблагоприятным условиям и повышению урожайности. Поэтому данная работа предполагает исследование влияния различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) на семена, определение оптимальных экспозиций воздействия, увеличивающих скорость набухания, повышающих всхожесть, активизирующих ростовые процессы. В качестве объектов исследования были взяты семена растений *Lupinus angustifolius* и *Silybum marianum*, подвергшиеся ЭМ воздействию в различных частотных режимах в Институте ядерных проблем БГУ. Для люпина — Режим 1 (частота обработки 54–78 ГГц, время обработки 20 мин.); Режим 1\* (54–78 ГГц, 10 мин., без предварительного замачивания семян); Режим 1\* (54–78 ГГц, 10 мин., с замачиванием); Режим 3 (64–66 ГГц, 8 мин.); для расторопши — только Режим 1 и 3. Анализ скорости набухания семян выявил однозначную положительную реакцию растений на ЭМИ. В ходе опыта наблюдалось увеличение скорости набухания при всех режимах у люпина узколистного, но наиболее значимо под влиянием режима 1\* — на 19 % выше контрольных значений, и повышение данного показателя у расторопши пятнистой после воздействия режимом 3. В ходе исследований выявлена избирательная реакция люпина узколистного с. «Першацвет» и расторопши пятнистой с. «Шептуха» на режимы ЭМИ СВЧ-диапазона, проявившаяся в различной всхожести. Так люпин оказался наиболее отзывчивым на воздействие режимом 1\* (с предварительным замачиванием — 100 % всхожесть), тогда как режим 3 снижал всхожесть на 10 % по данным на 3-й день онтогенеза. У расторопши отмечено снижение всхожести после воздействия режимом 1 и стимуляция ростовых процессов при обработке режимом 3. Полученные данные свидетельствует о том, что низкоинтенсивное ЭМИ СВЧ-диапазона изменяет проницаемость мембран, возможно, образуя в них некие микротрещины, что в итоге вызывает изменения в скорости протекания метаболических реакций.

## Позиционный состав триацилглицеринов из масла семян подсолнечника (*Heliantus annuus* L.)

Кизеев Алексей Николаевич

Полярно-альпийский ботанический сад-институт имени Н.А. Аврорина  
Кольского научного центра РАН, Апатиты, Россия  
aleksei.kizeev@mail.ru

Подсолнечник является одной из важнейших масличных культур мира. Получаемое из его семян масло — ценный пищевой продукт и главный поставщик в организм человека полиненасыщенных высших жирных кислот, прием которых жизненно необходим. В последнее время большой интерес проявляется к изучению липидных компонентов новых сортов подсолнечника. Поэтому целью данной работы стало определение позиционно-типового и позиционно-видового состава триацилглицеринов, выделенных из масла семян подсолнечника (*Heliantus annuus* L.). Объектом изучения послужили семена скороспелого высокопродуктивного сорта подсолнечника Казачий, полученного специалистами Донской опытной станции им. Л.А. Жданова (Ростовская область) Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта. Исследования семян проводили в 2011 г. в Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева (ИФР) РАН (г. Москва). Состав триацилглицеринов определяли методом газо-жидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent Technologies (США). Результаты анализировали

с помощью системы сбора и обработки хроматографических данных GC\_MS/Enhanced (США). Установлено, что в триацилглицеринах содержались остатки ненасыщенных (U) жирных кислот — линолевой (C18:2) и олеиновой (C18:1). Из насыщенных (S) жирных кислот преобладали пальмитиновая (C16:0) и стеариновая (C18:0), которые могут участвовать в синтезе полиненасыщенных жирных кислот. Процент ненасыщенных жирных кислот был выше, чем насыщенных. В масле семян подсолнечника было определено большинство возможных типов триацилглицеринов: SSU, SUS, USU, SUU и U3. По относительному содержанию в масле доминировали типы триацилглицеринов U3, SUU и SUS. Остальные типы триацилглицеринов были обнаружены в меньшем количестве. В масле семян подсолнечника в позиционно-видовом составе у типа триацилглицеринов U3 преобладали виды ЛЛЮ, у типа SUU — ЛЛП, а у типа SUS — ПЛС и ПЛП. Таким образом, проведенные исследования позволили впервые получить полезную информацию о позиционно-типовом и позиционно-видовом составе триацилглицеринов, полученных из семян изучаемого сорта подсолнечника.

*Автор выражает глубокую признательность за помощь в проведении экспериментов сотруднику ИФР РАН и особую благодарность заведующему лаборатории липидного обмена растений, д.б.н. В.Д. Цыдендамбаеву.*

### **Роль клеточной стенки в поглощении $\text{Cu}^{2+}$ корнями растений (на примере *Triticum aestivum* L. и *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek)**

**Кушунина Мария Александровна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*lazymary@rambler.ru*

Депонирование ионов металлов в клеточной стенке (КС) растений в условиях загрязнения среды тяжёлыми металлами является эффективным механизмом их метаболической инактивации. Накопление меди в апопласте было показано в ряде исследований, однако полученные данные зачастую противоречивы. В настоящей работе проведено сравнительное исследование поглощения  $\text{Cu}^{2+}$  10-дневными растениями маша и пшеницы и изолированными из их корней клеточными стенками при концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в среде ( $C_{\text{Cu}}$ ) 10–100 мкМ. Определено, что при  $C_{\text{Cu}} = 10$  мкМ у пшеницы и маша адсорбционная способность КС различается мало, но в обоих вариантах количество ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , поглощенных корнями растений в пределах погрешности совпадает с количеством ионов, адсорбированных КС. Эти результаты позволяют заключить, что при этой концентрации депонирование  $\text{Cu}^{2+}$  в КС является основным механизмом защиты от проникновения избытка  $\text{Cu}^{2+}$  в клетки корня. Это заключение поддерживается данными об изменении содержания  $\text{Cu}^{2+}$  в надземных органах растений. И у пшеницы, и у маша отличия в этом показателе между контрольными и опытными растениями составляли не более 2%. С увеличением  $C_{\text{Cu}}$  до 50 мкМ доля ионов меди, адсорбированных КС маша и пшеницы, относительно общего количества меди, поглощенной корнями, снижается до 0,8 и 0,4, а при 100 мкМ — до 0,65 и 0,3 соответственно. Различная ионообменная способность КС исследуемых растений в отношении  $\text{Cu}^{2+}$  связана с разным содержанием в них карбоксильных групп полигалактуроновых кислот в составе пектиновых веществ, которые участвуют в связывании  $\text{Cu}^{2+}$ . Бобовые растения характеризуются большим содержанием этих функциональных групп, что и обуславливает более высокую долю апопластного поглощения меди в общем поглощении  $\text{Cu}^{2+}$  корнями маша по сравнению с пшеницей. Следует отметить, что КС корней маша даже при высоких концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$  в среде способны адсорбировать более половины катионов, поступивших в ткани корня. Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что депонирование  $\text{Cu}^{2+}$  в клеточные стенки корня служит механизмом детоксикации  $\text{Cu}^{2+}$  у растений маша и пшеницы, при этом его эффективность зависит от концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  в среде и вида растения.

## Проявление окислительного стресса в каллусных культурах огурца и редиса при действии тяжелых металлов

*Михайлова Ирина Дмитриевна*

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия*

*kariglazayi@yandex.ru*

Целью настоящей работы было изучение влияния ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ;  $\text{Pb}^{2+}$ ;  $\text{Ni}^{2+}$  на скорость генерации супероксидного анион-радикала ( $\text{O}_2^-$ ) и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в каллусной культуре огурца и редиса. Поверхностно стерилизованные семена огурца и редиса проращивали на мостиках, 7-дневные стерильные растения эксплантировали на питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую 2,4-Д (от 1 мг/л до 5 мг/л) и 6-БАП (от 0,5 мг/л до 2 мг/л), глицин, никотиновую кислоту и мезоинозит для образования каллусной ткани. Для оценки влияния тяжелых металлов (ТМ) на физиологические процессы каллусную ткань огурца и редиса гипокотильного происхождения, выращенную на среде МС без ТМ, пересаживали на среду с солями  $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (10 мкМ, 0,1 мМ, 1 мМ) и через 4 недели оценивали генерацию  $\text{O}_2^-$  и интенсивность ПОЛ в каллусах. Показано, что длительное выращивание каллусов огурца и редиса на среде с избытком ТМ в большинстве вариантов не индуцировало повышения генерации  $\text{O}_2^-$  (за исключением ионов  $\text{Zn}^{2+}$  для огурца и ионов  $\text{Pb}^{2+}$  для редиса). Возможно, что растущая в условиях хронического действия ТМ культура клеток адаптируется к ТМ, либо за счет селекционных процессов, либо путем биохимической адаптации. При действии ионов  $\text{Zn}^{2+}$  на генерацию  $\text{O}_2^-$  реакция каллусов редиса была парадоксальной — при всех использованных концентрациях показатели были ниже контроля; возможно, происходит ингибирование ферментных систем или систем транспорта электронов, участвующих в генерации  $\text{O}_2^-$ . Интенсивность ПОЛ отражает силу стрессового воздействия на растительные клетки, и по степени ее увеличения оценивают повреждение клеток и их мембран. В данном эксперименте оценивали влияние различных концентраций ТМ в среде выращивания на изменение уровня реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) соединений). На этой основе выявлено токсическое действие на каллусы огурца лишь некоторых ТМ —  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  (в концентрации 1 мМ). Во всех остальных вариантах интенсивность ПОЛ была ниже контроля. В то же время для каллусов редиса наибольшее негативное влияние оказали ионы  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  (в концентрации 10 мкМ).

*Выражаю благодарность научному руководителю профессору А.С. Лукаткину.*

## Локализация стресс-индуцируемых белков HlipA и HlipB в фотосинтетическом аппарате цианобактерий *Synechocystis PCC 6803*

*Мокерова Дарья Валерьевна*

*Институт биохимии имени А.Н. Баха Российской академии наук, Москва, Россия*

*daryamokerova@mail.ru*

В процессе эволюции фотосинтезирующие организмы выработали различные механизмы защиты от избыточного света, к ним относятся недавно обнаруженные белки — high-light induced proteins (HLIPs), которые индуцируются светом высокой интенсивности и относятся к мультигенному семейству светособирающих хлорофилл а/в-связывающих белков. Эти белки локализованы в тилакоидной мембране и имеют большое значение для выживания фотосинтезирующих организмов в условиях интенсивного света. Однако функции этих белков и их локализация в фотосинтетическом аппарате изучены недостаточно. Объектом исследования служили цианобактерии *Synechocystis PCC 6803*, любезно предоставленные кафедрой генетики МГУ. В отличие от высших растений комплекс фотосистемы 1 (ФС1) цианобактерий существует в тилакоидах в виде тримеров. Предполагают, что образование тримеров комплексов ФС1 необходимо для большей стабильности комплекса и защиты от фотодеструкции. Для проведения исследований использовали модифицированную методику выделения комплексов ФС1 и ФС2, а также тримеров ФС1 с помощью ионно-обменной хроматографии. Удалось выделить из цианобактерии интактные высоко активные тримеры комплексов ФС1. Активность ФС1 определяли на флуориметре DUAL-PAM-101 с приставкой ED-P700 DW-101 (Walf, Германия). С помощью электрофореза ПААГ подтверждена

интактность выделенных тримеров ФС1, содержащих все субъединицы комплекса. Методом вестерн-блоттинга удалось идентифицировать белки HlrA и HlrB в составе комплексов фотосистем. По полученным результатам можно сделать вывод о том, что стресс-индуцируемые белки HlrA и HlrB содержатся в тримерах комплексов ФС1. Предполагают, что исследуемые белки индуцируются светом высокой интенсивности, по другим данным они стимулируются нарушениями ФС1. Однако данное исследование показало, что HlrA и HlrB содержатся в комплексах фотосистем и при оптимальных условиях выращивания. Стрессовое воздействие сильного света вызывает более сильную индукцию исследуемых белков. Таким образом стресс-индуцируемые белки HlrA и HlrB локализованы в тримерах комплексов ФС1, что предполагает их участие в защите фотосинтетического аппарата цианобактерий от фотодеструкции. Возможно, что защитная функция HLR белков связана с наличием в их последовательности хлорофилл-связывающего домена.

### **Активность каталазы в проростках пшеницы на разнокачественном свете в условиях засоления и при действии тяжелых металлов**

*Мутугуллина Алина Ильдаровна*

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия  
mutugullina-alina@mail.ru*

Каталаза принадлежит к числу наиболее интенсивно изучаемых ферментов. Тем не менее работ по влиянию света различного спектрального состава на антиоксидантные ферменты в литературе практически не встречается. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование активности каталазы у проростков пшеницы при выращивании на разном качественном спектральном свете при засолении (NaCl) и действии тяжелых металлов (Cd, Cu). Объектом исследования служили семисуточные проростки пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Казанская 560. Растения выращивались в растильне, разделенной на три светоизолированных блока: 1 — белый свет (источник освещения — люминесцентные лампы ЛДС-40), 2 — синий свет (источник освещения люминесцентные лампы ЛГ-40, пик пропускания 420-460 нм), 3 — красный цвет (источник освещения — люминесцентные лампы ЛК-40, пик пропускания 620-640 нм) при 12-часовом фотопериоде. Проростки выращивали на водопроводной воде в кюветах (контроль). Засоление вызывали добавлением на третьи сутки в среду выращивания NaCl в концентрации 150 мМ. Действие тяжелых металлов было обусловлено CdSO<sub>4</sub> концентрацией 1мМ и CuSO<sub>4</sub> концентрацией 1мМ. В контрольном варианте наибольшая каталазная активность наблюдалась в листьях и не имела выраженной спектральной зависимости. При засолении наблюдали органоспецифическую реакцию активности каталазы, в листьях активность понижалась, а в корнях увеличивалась. Действие тяжелых металлов вызывало повышение каталазной активности в корнях вне зависимости от качества света. Ответная реакция листьев на воздействие тяжелыми металлами зависела от химической природы металла и имела выраженную спектральную зависимость. Возрастание активности каталазы было только у проростков с КС под воздействием меди. Таким образом, нами не было выявлено спектральной зависимости каталазной активности в корнях при засолении и действии тяжелых металлов. В листьях красный свет увеличивал активность каталазы при воздействии меди.

### **Жирнокислотный состав липидов и кормовая ценность растений Якутии**

*Нохсоров Василий Васильевич<sup>1</sup>, Столбикова Александра Вячеславовна<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия,*

*<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия*

*NohVasyaVas@mail.ru*

В последние годы особый интерес представляет изучение жирнокислотного состава одно- и многолетних кормовых травянистых растений. Известно, что устойчивость растительного организма к низкотемпературному стрессу приводит к формированию кормовой ценности растений в результате накопления в их клетках криопротекторов (белки, углеводы, липиды) и низко- и высокомолекулярных антиоксидантов. В связи с этим является актуальным изучение

жирнокислотного состава липидов у травянистых растений, произрастающих в криолитозоне Якутии. Методом газожидкостной хроматографии был изучен жирнокислотный состав липидов 4 видов кормовых растений произрастающих в Центральном и Верхоянском районах Якутии: *Avena sativa*, *Elytrigia repens*, *Equisetum variegatum* и *E. arvense*. Из представленных видов растений высокая степень ненасыщенных жирных кислот обусловлена, в основном, двумя кислотами — линолевой C18:2(n-6) и  $\alpha$ -линоленовой C18:3(n-3). Больше всего  $\alpha$ -линоленовой кислоты C18:3(n-3) наблюдалось у овса посевного (*Avena sativa*) 66,74 %, затем у хвоща пестрого (*Equisetum variegatum*) 39,65 % от суммы жирных кислот. Самое большое количество линолевой кислоты C18:2(n-6) среди исследуемых видов растений обнаружено в корневой системе пырея ползучего (*Elytrigia repens*) 34,99 %; содержание этой кислоты в зеленых листьях оказалось в 2 раза меньше и составило 15,57 % от суммы кислот. Меньше всего линолевой кислоты содержалось в побегах хвоща полевого (*Equisetum arvense*) 8,15 %. Известно, что именно биосинтез диеновых и триеновых кислот 18:2 $\omega$ 6 и 18:3 $\omega$ 3 осуществляет биохимическую адаптацию растений к низкой температуре. Из  $\omega$ 9-жирных кислот исследуемых растений обнаружены моноеновые кислоты — пальмитолеиновая C16:1(n-9), олеиновая C18:1(n-9) и эйкозаеновая C20:1(n-9). Самое большое содержание пальмитолеиновой и олеиновой кислот наблюдалось в корневой системе *Elytrigia repens* и составило 3,63 % от суммы ЖК для пальмитиновой кислоты. Эйкозаеновая кислота C20:1(n-9) среди исследуемых видов присутствовала только у хвощей. Также у хвощей обнаружена 5,11,14,17-эйкозатетраеновая кислота. Содержание C20:4 (5,11,14,17) кислоты у данных видов хвощей практически не отличались. Четыре ненасыщенные связи в этих жирных кислот могут существенно повышать устойчивость клеточных мембран к понижениям температур.

**Особенности биосинтеза запасных триацилглицеринов  
и низших алкиловых эфиров жирных кислот клетками суспензионной культуры  
бересклета Максимовича (*Euponymus maximoviczianus* Prokh.)**

**Сидоров Роман Александрович, Фоменков Артём Алексеевич**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*roman.sidorov@mail.ru*

Ранее мы показали, что некоторые растения рода *Euponymus* L. способны к синтезу необычных для высших растений низших алкиловых эфиров жирных кислот (НАЭЖК). Их синтез наиболее активно протекает в тканях ариллузов, которые обладают исключительно материнским генотипом. Для более детального изучения особенностей состава и возможных механизмов биосинтеза НАЭЖК, мы получили суспензионную культуру из тканей развивающихся ариллузов плодов бересклета Максимовича, которая поддерживается уже более года на среде SH (*Schenk & Hildebrandt*) и характеризуется индексом роста 4-5. Было установлено, что в хлороформных экстрактах из клеток суспензионной культуры присутствуют как триацилглицерины (ТАГ), так и НАЭЖК. Методом ГЖХ-МС мы изучили качественный и количественный состав жирных кислот (ЖК) в ТАГ и состав фракции НАЭЖК. В конце пассажа содержание ТАГ составляло 325-350, а НАЭЖК — 5,5-7 мкг/г сухого веса. Главными ЖК ТАГ клеток суспензионной культуры были 16:0 (13,2 %), 18:0 (4,1 %),  $\Delta$ 9-18:1 (6,1 %),  $\Delta$ 9,12-18:2 (45,3 %) и  $\Delta$ 9,12,15-18:3 (25,4 %); также в их состав входили 12:0, 14:0,  $\Delta$ 9-16:1,  $\Delta$ 11-18:1, 20:0 и 22:0 ЖК. Индекс ненасыщенности (ИН) ТАГ составил 1,775. В сравнении с суспензионными культурами, полученными из растений, которые не накапливают жирное масло во внесеменных частях плода, культура бересклета синтезирует на 1–2 порядка больше НАЭЖК (до 7 мкг/г сухого веса против 0,10–0,15 у *A. thaliana*). В отличие от НАЭЖК, выделенных из ариллузов зрелых плодов бересклета Максимовича, НАЭЖК из клеточной культуры помимо метиловых (МЭЖК), этиловых (ЭЭЖК) и *n*-бутиловых (БЭЖК) эфиров ЖК, содержали также *изо*-пропиловые (ИПЭЖК) эфиры 14:0 и 16:0 ЖК. БЭЖК и ИПЭЖК, как в интактных растениях, так и в культуре клеток обнаружены впервые. В течение всего периода субкультивирования фракции ИПЭЖК и БЭЖК содержали только насыщенные ЖК: 14:0, 16:0 и 18:0, в то время как в состав МЭЖК и ЭЭЖК помимо них входили также  $\Delta$ 9-18:1,  $\Delta$ 9,12-18:2 и  $\Delta$ 9,12,15-18:3 ЖК. ИН МЭЖК всегда был выше, чем ИН ЭЭЖК.

Наблюдаемые различия в ЖК-составе отдельных фракций НАЭЖК клеток суспензионной культуры позволяют предположить, что ИПЭЖК и БЭЖК, вероятно, синтезируются из одного пула ЖК, а ЭЭЖК и МЭЖК — из другого.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 12-04-31850.*

**Влияние гликозидов *Stevia rebaudiana* Bertony  
на молекулярную гетерогенность белков клеточной стенки**

**Стробыкина Анастасия Сергеевна**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия  
stasya-2102@yandex.ru*

Лектины относятся к самостоятельной группе белков — гликопротеинов, характерной особенностью которых является способность специфически и обратимо связывать углеводные лиганды. Они присущи всем живым организмам, поэтому изучение функций лектинов, которые для большинства из них остаются дискуссионными, имеет общебиологическое значение и привлекает пристальное внимание ученых. Объектом исследования являлись проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Мироновская 808 и Казанская 560. Изучалось влияние гликозидов, выделенных из листьев стевии: стевиолбиозида, стевиозида и ребаудиозида С, содержащие 2, 3 и 4 углеводных остатка, соответственно. Было выявлено наибольшее стимулирующее действие стевиозида на рост растений, активность растворимых лектинов и амилолитических ферментов, содержание суммарных белков, а также молекулярную гетерогенность лектинов клеточной стенки. Была обнаружена сортоспецифичность в полипептидном составе лектинов клеточной стенки. Обнаружено появление лектина 45 кД у сорта Казанская 560 при действии производных стевиозида, стимулирующих рост растений. Полученные данные могут свидетельствовать об участии этого лектина в регуляции ростовых процессов у растений озимой пшеницы. Показано появление лектина 61 кД у Мироновской 808 при действии соединений, повышающих морозоустойчивость растений. Этот факт позволяет говорить о важной роли данного белка в формировании морозоустойчивости озимой пшеницы.

**Сравнительная характеристика локусов *FRIGIDA* у культурных видов *Brassica***

**Фадина Оксана Алексеевна**

*ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Москва, Россия  
fadinaokcaha@gmail.com*

В регуляции перехода арабидопсиса к цветению под влиянием пониженных температур (вернализации) участвуют гены *FLOWERING LOCUS C* и *FRIGIDA (FRI)*, и взаимодействие сильных и слабых аллелей этих генов во многих случаях определяет время зацветания. Культурные виды *Brassica* представлены однолетними и двулетними жизненными формами, которые сильно различаются по времени зацветания. Несмотря на огромное экономическое значение этих растений, ген *FRI* у этих видов недостаточно изучен. Мы клонировали последовательности *FRI* из геномов диплоидных видов *B. rapa* (геном AA), *B. nigra* (BB) и *B. oleracea* (CC) и тетраплоидных видов *B. carinata* (BBCC), *B. juncea* (AABB) и *B. napus* (AACC) и сопоставили их с геномными и кДНК последовательностями из нескольких баз генетических данных. В отличие от арабидопсиса, у *Brassica* этот ген представлен двумя локусами — *FRI.a* и *FRI.b*. В пределах одного локуса и одного генома нуклеотидные последовательности *FRI* были сходны на 95–99 %, внутри каждого локуса при сравнении геномов А и С — на 87–94 %, а сходство последовательностей, принадлежащих двум разным локусам, в пределах одного генома не превышало 80 %. По своему строению ген *FRI.a Brassica* не отличается от *FRI A. thaliana*. Как и у арабидопсиса, белок FRIGIDA принадлежит к функциональному классу I, однако у *Brassica* характерная для FRIGIDA арабидопсиса биспиральная структура всегда встречается только в С-концевой части белка и отсутствует в N-концевой части белка у большинства гомологов FRIGIDAa. Последовательности *FRI* из диплоидных видов *B. rapa* и *B. oleracea* сохраняются в субгеномах А и С тетраплоидных

видов *B. carinata*, *B. juncea* и *B. napus* (96-99 % сходства). Филогенетический анализ консервативного домена *FRI.a* различает в семействе Brassicaceae два кластера, соответствующие линиям I (Camelineae) и II (Brassicaceae), а внутри последнего — последовательности, принадлежащие линиям *Brassica A/C* и *B*. Вероятно, дупликация локусов *FRI* и их дивергенция предшествовали видообразованию в роде *Brassica*.

**Нет перекрытия функций рецепторов этилена  
в контроле пролиферации культивируемых клеток**

**Фоменков Артём Алексеевич**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*artem.fomenkov@gmail.com*

Фитогормон этилен влияет на многие процессы в растениях, включая прорастание семян, старение органов, созревание плодов, гравитропизм и др. Что касается роли этилена в контроле пролиферации клеток растений, то имеющиеся данные весьма немногочисленны и противоречивы. Кроме того, активно исследуется вопрос о перекрытии или уникальности функций отдельных изоформ рецепторов этилена в формировании того или иного фенотипа (например, у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. пять изоформ). Для решения указанных задач мы использовали впервые полученные нами стабильно растущие суспензионные культуры клеток *A. thaliana* дикого типа и этилен-нечувствительного мутанта *etr1-1*, у которого рецептор ETR1 не способен связывать этилен. Колбы с суспензиями клеток закрывали бумажными фильтрами, помещали в газовые колокола, в которые вводили этилен (20 мкл/л), 1-метилциклопропен (1-МСП, 50 нл/л) — ингибитор связывания этилена с его рецепторами и смесь этих газов. Всю “конструкцию” устанавливали на качалку. Этилен немного повышал индекс роста (на 14 %) суспензии клеток дикого типа и в два раза у клеток мутанта, у всех суспензий 1-МСП и смесь этилена с 1-МСП снижали индекс роста на 20 % и 10 % соответственно. Доля ядер, синтезирующих ДНК (включение 5-этинил-2'-дезоксинуридина, выявляемое в Click-iT реакции с азидом Alexa Fluor 488) увеличивалась на 25 % под действием этилена в клетках *etr1-1* и у всех суспензий уменьшалась на 25–30 % в присутствии 1-МСП, при этом этилен частично снимал негативный эффект 1-МСП. Кроме того, ингибитор связывания этилена с рецепторами влиял на цитодифференцировку. Обычно в стандартных условиях выращивания культивируемые клетки *etr1-1* формируют трахеальные элементы, а в присутствии 1-МСП их количество возрастало в два раза. Таким образом, этилен позитивно влияет на пролиферацию культивируемых клеток *A. thaliana*, а наличие наиболее выраженного положительного эффекта этилена и отрицательного эффекта 1-МСП для клеток мутанта, у которых рецептор этилена ETR1 не способен связывать молекулы этих газов, указывает на вовлечённость в контроль пролиферации других рецепторов этилена.

*Работа частично поддержана грантами РФФИ № 11-04-01225 и № 11-04-01006.*

**Возможность участия цианобактерий в эволюции гормональной системы растений**

**Шевченко Галина Васильевна**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

*gshevchenko@mail.ru*

Общепринято, что хлоропласты произошли в результате эндоцитоза древних фотосинтезирующих цианобактерий в эукариотическую клетку. Хлоропласты являются одной из главных мишеней действия фитогормонов, поэтому активация цитокининами их биогенеза и ингибирование этого процесса абсцизовой кислотой (АБК) хорошо изучены. В хлоропластах были обнаружены цитокинин-связывающие белки (ЦСБ), участвующие в гормон-зависимой регуляции транскрипции, и АБК-связывающие белки (АСБ). Данные о наличии у цианобактерий гормональной системы или ее элементов долгое время отсутствовали. В последние годы в цианобактериях были идентифицированы эндогенные цитокинины и АБК, и показано влияние *транс*-зеатина на синтез РНК-полимеразы. В нашей работе впервые показано наличие ЦСБ с молекулярной массой 67 кДа в клетках *Synechocystis* sp. PCC 6803. Выделение ЦСБ67 *Synechocystis* проводили с помощью аффинной хроматографии и методом

иммуноаффинной хроматографии на сефарозе с иммобилизованными моноклональными антителами (Ат) к ЦСБ массой 70 кДа кукурузы. Идентификацию ЦСБ проводили с помощью антиидиотипических Ат к *транс*-зеатину, которые являются Ат к цитокинин-связывающему сайту белка. Для ЦСБ67 *Synechocystis* было показано его избирательное взаимодействие с *транс*-зеатином. Установлена активация в присутствии *транс*-зеатина и ЦСБ67 тотальной транскрипции *in vitro* в лизате цианобактерий. ЦСБ *Synechocystis* активировал транскрипцию в лизате хлоропластов листьев ячменя, а ЦСБ хлоропластов ячменя, как было показано ранее, участвовал в цитокинин-зависимой транскрипции в лизате клеток *Synechocystis*. Полученные результаты свидетельствуют, что ЦСБ *Synechocystis* имеет большое сходство с ЦСБ растений и может участвовать в гормон-зависимой регуляции транскрипции и цианобактерий и хлоропластов. Наряду с ЦСБ в клетках цианобактерий были выделены и АСБ с массами 23, 50, 60 и 67 кДа. Среди АСБ *Synechocystis* с помощью иммунологического анализа был выявлен гомолог АСБ люпина желтого Сір2.1, который кодируется АБК-регулируемым геном. Это говорит о высокой консервативности семейства белков Сір и присутствии его представителей у цианобактерий и высших растений. Была установлена активация транскрипции *in vitro* в лизате цианобактерий в присутствии АСБ *Synechocystis*. Это указывает на присутствие у цианобактерий молекулярных мишеней действия АБК, что представляет интерес с эволюционной точки зрения. Полученные результаты указывают на возможность привнесения в растительную клетку регуляторных систем цитокинина и АБК с древними цианобактериями — предшественниками хлоропластов.

*Работа частично поддержана грантами РФФИ №11-04-01008 и №10-04-00594.*

### **Адаптивные реакции растений на низкоинтенсивное ЭМИ**

***Шиш Светлана Николаевна***

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*cazonovacv@mail.ru*

В последнее время применение СВЧ ЭМИ для предпосевной обработки растений принимает все большие масштабы из-за выраженного стимулирующего их действия на ростовые процессы растений, однако специфические механизмы ЭМИ до конца не изучены. С целью выяснения характера адаптивных реакций растений *Calendula officinalis* к СВЧ ЭМИ различной интенсивности оценивались сдвиги в характере морфологических и физиолого-биохимических процессов в ходе онтогенеза. Для этого были проведены многочисленные полевые и лабораторные опыты, в результате которых получены данные об энергии прорастания, всхожести, морфологических параметрах, активности антиоксидантных ферментов и уровне ПОЛ у растений *Calendula officinalis*, подвергнутых ЭМИ. Контролем служили не обработанные растения. Эффект действия оценивался от обработки СВЧ ЭМИ в различных частотных режимах: Режим 1 (частота обработки 53,57–78,33 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 12 минут) и Режим 3 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 8 минут). В результате установили, что адаптивные реакции растения в ответ на ЭМИ разной интенсивности в конечном итоге проявляются в изменении всхожести и энергии прорастания растений, которые зависят от особенностей семенных покровов и химического состава семян. Максимальную скорость набухания имели семена прошедшие обработку Режимом 2, как следствие они имели большую энергию прорастания и всхожесть. Однако основную роль в адаптивных реакциях играют сдвиги биохимических процессов в начале роста, связанные с активностью антиоксидантных ферментов, с уровнем аскорбиновой кислоты и продуктов ПОЛ. Таким образом, ЭМИ разной интенсивности с одной стороны, они ускоряют биохимические процессы, позволяя растениям лучше противостоять негативным факторам среды, и как следствие повышают всхожесть и морфометрические параметры у *Calendula officinalis* (Режим 2), с другой, вызывают снижение ферментативной активности и замедление ростовых процессов (Режим 3). Поэтому частота, мощность и продолжительность ЭМИ должны корректироваться с учетом реакции конкретного растения на воздействие и ожидаемого эффекта от данного воздействия.

## Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортер галофита *Suaeda altissima* (L.) Pall

Шувалов Алексей Витальевич

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

laursen1243@mail.ru

Исследование посвящено функциональной идентификации и изучению свойств Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортера у галофита *Suaeda altissima*. Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортер относится к семейству мембранных белков CLC (chloride channel) члены которого выполняют важные функции у многих живых организмов. Идентифицировали Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортер путем регистрации ΔpCl-зависимого переноса H<sup>+</sup> через мембрану, используя два разных метода. С помощью одного из них ΔpCl-зависимый транспорт H<sup>+</sup> наблюдали по изменению дифференциальной абсорбции индикатора ΔpH акридинового оранжевого. Другой метод был основан на регистрации ΔpCl-зависимого защелачивания везикулярного люмена по возрастанию интенсивности флуоресценции рН-индикатора пиранина, предварительно загруженного в везикулы. Этот метод позволяет количественно определять изменения рН внутри везикул. Электрогенный характер Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-обмена был показан с помощью индикатора трансмембранного электрического потенциала (Δψ) сафранина О. Внесение Cl<sup>-</sup> в среду приводило к генерации отрицательного Δψ, величина которого зависела от сопутствующего катиона. Такой потенциал может быть движущей силой переноса H<sup>+</sup> из среды внутрь везикул. Однако при внесении Cl<sup>-</sup> с разными катионами во всех случаях наблюдалось защелачивание люмена. Полученный результат говорит о том, что наблюдавшееся ΔpCl-зависимое защелачивание люмена осуществляется Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортером. Это подтверждается также чувствительностью Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-обмена к ингибитору анионных транспортеров DIDS (IC<sub>50</sub> = 7 мкМ). Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-обмен обнаружил рН-зависимость с оптимумом рН 7,5, что близко рН цитоплазмы. Разделение мембран в непрерывном градиенте плотности йодиксанола и определение активностей ферментов-маркеров мембранных фракций показал приуроченность Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-обмена к аппарату Гольджи. Предполагается что эндосомы образующиеся из аппарата Гольджи и локализованный в них Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-антипортер вовлечены в загрузку тонопласта ионами Cl<sup>-</sup>, что должно иметь важное значение в хлоридном гомеостатировании цитоплазмы при засолении.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 12-04-00987-а.

## Подсекция «ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

### **The study of neuroprotective effectiveness of Sinestrol and Teucrium polium in neurodegenerative disorders induced by ovariectomy**

*Karen Simonyan, Vergine Chavushyan, Hasmik Galstyan*

*Orbeli Institute of Physiology NAS RA, Yerevan, Armenia*

*karensimonyan86@gmail.com*

The aim of this study was the electrophysiological and morphohistochemical study of hippocampal neurons (H), basal nucleus of Meynert (bnM) and temporal cortex (TC) at neurodegeneration induced by bilateral ovariectomy (OVX) of rats, as well as the neuroprotective effectiveness of pharmaceutical hormone replacement therapy Sinestrol and alternative herbal phytoestrogen-rich hydroponic Teucrium polium in this pathology.

Extracellular registration and mathematical analysis of spike activity was carried out on the basis of program, which provide the selection of spikes and exclusion of artefacts during high frequency stimulation by amplitude discrimination, which allows to evaluate not only tetanic, but also posttetanic activity. Morphohistochemical assays were carried out by method of revealing  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent acid phosphatase activity, which is an important criterion for revealing of morphofunctional state of the brain.

Electrophysiological criteria of anomalous spiking activity, as well as disruption in H-bnM-TC circuits after 8 weeks in OVX (control) group were identified. By morphohistochemical studies in the mentioned neurons was revealed the absence of the characteristic forms, reduction of density of location and the reduction of activity of acid phosphatase, which has an important role in metabolic processes of survive and self-reproduction.

After 8 weeks following OVX in group of intramuscular injection of Sinestrol and Teucrium polium (from the third to the sixth week of OVX) was recorded the induced spiking activity, indicating the neuroprotection: both share ratio of types of responses and parameters of peristimulus spiking activity of neurons of H-bnM-TC chain in a majority are identical with those in norm. It was revealed the characteristic increase of phosphatase activity with restoration of morphological pattern of dendrites and the density of neurons.

### **Взаимосвязь вязкости крови человека с уровнем эритроцитов, холестерина и фибриногена**

*Агаркова Светлана Александровна*

*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

*agar-aga@mail.ru*

К настоящему времени достаточно полно изучены вопросы изменения с возрастом центральной гемодинамики сосудов крупного калибра, морфофункциональные аспекты капиллярного кровообращения, однако при этом недостаточно освещены вопросы, касающиеся возрастных изменений реологических свойств крови и факторов, их определяющих. Существуют достаточно противоречивые данные относительно изменений вязкости крови с возрастом. Кроме того, не исследованы возрастные периоды до 18 лет. В связи с этим особую актуальность и значимость приобретает изучение реологии крови на разных этапах индивидуального развития человека.

В ходе исследования было произведено измерение вязкости крови при помощи медицинского капиллярного вискозиметра ВК — 4 у 185 человек мужского и женского пола разных возрастных групп. Для получения результатов анализов испытуемых (концентрация эритроцитов, уровень холестерина и фибриногена) велась работа с журналом и медицинскими картами. Данные были сгруппированы по возрастным периодам с учетом пола в соответствии со «Схемой возрастной периодизации онтогенеза человека», принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АПН СССР, изучены и проанализированы.

Зависимость вязкости крови от возраста человека носит S-образный характер. Вязкость имеет более низкие значения (3,57–3,66 сП) от периода раннего детства до второго детства,

достоверно повышается ( $p < 0,001$ ) и стабилизируется от подросткового до второго зрелого возраста (4,06–5,32 сП), незначительно изменяется в пожилом и старческом возрастных периодах (4,77–4,96 сП).

Возрастная динамика исследуемых клеточных и плазменных факторов выражается в том, что от периода раннего детства до второго детства содержание эритроцитов составляет  $(3,74-4,02) \times 10^{12}$  кл/л, холестерина — (3,52–4,02) ммоль/л, фибриногена — (2,85–2,91) г/л. Затем их содержание достоверно повышается ( $p < 0,001$ ) и от подросткового до второго зрелого периода концентрация эритроцитов составляет  $(4,25-5,04) \times 10^{12}$  кл/л, холестерина — (3,98–4,36) ммоль/л, фибриногена — (3,54–3,65) г/л. К пожилому и старческому возрасту изменения этих показателей не так значительны: содержание эритроцитов —  $(4,59-4,78) \times 10^{12}$  кл/л, холестерина — (4,54–4,57) ммоль/л, фибриногена — (3,30–3,77) г/л.

Половые различия в вязкости крови, концентрации эритроцитов, содержании холестерина и фибриногена наблюдаются в подростковом, юношеском и зрелом возрасте, нивелируются к пожилому возрастному периоду.

Корреляционный анализ всех возрастных групп одновременно выявил, что показатель вязкости крови связан сильной положительной связью с показателями содержания эритроцитов ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,001$ ) и холестерина ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ) и средней положительной связью — с показателем уровня фибриногена ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,001$ ).

Таким образом, вязкость крови, содержание эритроцитов, холестерина и фибриногена не претерпевают значительных изменений вплоть до подросткового возраста, когда начинается их достоверное повышение. В зрелом возрасте эти показатели стабилизируются, после чего имеют тенденцию к некоторому снижению у мужчин и повышению у женщин. При этом вязкость крови у лиц мужского пола во всех возрастных периодах выше, чем у лиц женского пола. Установлена максимальная зависимость вязкости от концентрации эритроцитов и уровня холестерина в крови, а также корреляция средней силы между вязкостью и уровнем фибриногена.

**Исследование минеральной воды месторождения Хар-Бурук  
на динамику нейтрофилов крови в экспериментальных повреждениях у белых крыс  
Абушинова Н.Н., Эльбикова А.А., Бадмаева С.Е., Бадмаева К.Е.**

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия  
edeeva\_saglara@mail.ru*

Современные исследования в области гастроэнтерологии направлены на поиск полифункциональных препаратов, воздействующих на различные патогенетические факторы, лежащие в основе язвенной болезни и в наименьшей мере вызывающие побочные эффекты. Особое внимание уделяется роли природных лечебных ресурсов в процессе поддержания гомеостаза слизистой оболочки ЖКТ. Целью работы было исследование влияния минеральной воды месторождения Хар-Бурук на экспериментальный ульцерогенез и постстрессорную динамику нейтрофилов у животных. Животные были предварительно разделены на две группы: контрольную и опытную: первая в течение 7-ми дней получала в качестве питья обычную воду, вторая — раствор минеральной воды месторождения Хар-Бурук (минерализация 1г/л). Этаноловые повреждения СОЖ вызывали внутрижелудочным введением 96° этанола, стрессорные — 30-минутным неизбегаемым плаванием ( $T_{\text{воды}} = 21 \text{ } ^\circ\text{C}$ ). Средняя площадь стрессорных язв у животных контрольной группы через 1 час после воздействия ульцерогенного фактора составила  $1,4 \pm 0,13 \text{ мм}^2$ , в опытной —  $0,6 \pm 0,11 \text{ мм}^2$ . Площадь этаноловых повреждений у животных контрольной и опытной группы составила  $54,7 \pm 3,8 \text{ мм}^2$  и  $22 \pm 1,7 \text{ мм}^2$  соответственно. Анализ нейтрофильного компонента после стрессорного воздействия показал, что в контрольной группе содержание нейтрофилов снизилось на 90 % по сравнению с нормой, в опытной группе — на 25 %. Кроме того, в опытной группе было обнаружено значительное преобладание нейтрофильного компонента над всеми остальными лейкоцитами ( $p < 0,001$ ), роль которого определяется участием в репарации поврежденных тканей за счет выработки коллагена и глюкозаминогликанов.

Таким образом, Хар-булукская минеральная вода повышала устойчивость слизистой желудка к действию таких ulcerогенных факторов как этанол и стресс.

Работа выполнена при поддержке гранта АВЦП «Диверсификация природопользования как стратегия эффективного бальнеологического освоения республики Калмыкия с использованием инновационных технологий компьютерного и ГИС-моделирования».

### **Влияние низкочастотной акустической стимуляции на интенсивность метаболизма человека**

*Аккизов Азамат Юсуфович*

*Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова, Нальчик, Россия  
akkizov@mail.ru*

Актуальной проблемой современной адаптационной физиологии является разработка методов эффективной и безопасной коррекции обмена веществ в экстремальных условиях. Определенные надежды в этом направлении возлагаются на низкочастотную акустическую стимуляцию. Интересной представилась экспериментальная проверка влияния такой стимуляции на интенсивность метаболизма в головном мозге и коже человека.

Исследование было проведено на практически здоровых студентах-добровольцах с соблюдением требований биоэтики. Испытуемые подвергались дистанционной низкочастотной акустической стимуляции однократно – в течение пяти минут. В качестве показателя интенсивности метаболизма с помощью анализатора медленной электрической активности «АМЕА» регистрировался уровень постоянного потенциала головного мозга и уровень постоянного потенциала кожи.

Было установлено, что пятиминутное воздействие низкочастотной акустической стимуляции на организм человека сопряжено со стабилизацией динамики уровня постоянного потенциала головного мозга и уровня постоянного потенциала кожи. Под стабилизацией подразумевается статистически достоверное уменьшение флуктуаций и нормализация абсолютных значений указанных параметров у большинства испытуемых. Схожесть реакций головного мозга и кожи на акустическую стимуляцию объясняется тесными физиологическими связями между этими двумя органами. Известно, что нервная и покровная система в эмбриональный период происходят из одного зачатка и образуют устойчивую функциональную систему в постэмбриональном периоде. Именно поэтому адаптационные сдвиги в этих системах зачастую схожи между собой, а патология нервной деятельности сопровождается кожными заболеваниями.

Из проведенного экспериментального исследования был сделан следующий вывод: пятиминутное дистанционное воздействие низкочастотной акустической стимуляции на организм человека сопряжено со стабилизацией интенсивности метаболизма его головного мозга и кожи. Эти данные подтверждают гипотезу о возможности дистанционного управления физиологическими функциями организма с помощью низкочастотных акустических сигналов.

### **Синтетические аналоги ноцицептина в регуляции стресс-вызванной анальгезии у крыс**

*Анохин Петр Константинович, Чеснокова Екатерина Алексеевна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
petranokhin@mail.ru*

Регуляция болевой чувствительности при стрессе является важной проблемой физиологии боли, анестезиологии, хирургии. Изменения болевых порогов от анальгезии до выраженной гипералгезии обеспечиваются сложным взаимодействием системы опиоид-зависимых и опиоид-независимых механизмов, одним из компонентов которой является ноцицептин. Задача настоящей работы состояла в исследовании влияния на болевую чувствительность в условиях стресса синтетических аналогов ноцицептина. Действующим участком молекулы ноцицептина является N-концевой тетрапептид Phe-Gly-Gly-Phe (FGGF). В настоящей работе мы исследовали влияние этого тетрапептида и его синтетического аналога Phe-Gly-Gly-Phe-Val-Gly-Pro (FGGF-VGP), синтезированного в Институте Молекулярной генетики РАН, на болевую чувствительность в условиях эмоционального стресса (иммобилизация в тесных домиках).

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Wister массой 250–300 г, Животных содержали в стандартных условиях: световой режим 12 ч:12 ч (включение света в 08:00 ч), температура 19–21 °С; свободный доступ к воде и пище.

Были использованы две схемы экспериментов. Первая — острое однократное введение пептидов крысам перед иммобилизацией, вторая — хроническое введение пептидов (в течение 7 дней крысам) с последующим изучением их отставленного эффекта на болевые пороги на фоне иммобилизации.

Для определения порогов болевой чувствительности в работе был использован тест «отдергивание хвоста» («tail-withdrawal», 54 °С).

На фоне введения как FGGF (1 мг/кг, внутривенно), так и FGGF-VGP стресс-вызванная анальгезия у животных была достоверно менее выражена, чем у крыс контрольной группы. При этом в отсутствие стресса оба пептида не изменяли пороги болевой чувствительности в тесте «tail-withdrawal» при однократном введении в дозе 1 мг/кг. Эффект подавления стресс-вызванной анальгезии был также обнаружен у животных, получавших пептиды хронически. Однако, в этом случае, эффект был менее выражен для FGGF. У крыс, получавших FGGF-VGP, анальгезия на фоне иммобилизации практически не развивалась. Максимальные различия между опытной и контрольной группой наблюдались через 60 мин после начала иммобилизации.

Отставленный эффект FGGF-VGP позволяет предполагать долговременные пластические изменения в мозге, связанные с его хроническим введением, а обнаруженное нами подавление стресс-вызванной анальгезии FGGF-VGP дает основания рассматривать этот пептид как перспективный регулятор опиат-зависимых процессов в мозге в норме и патологии.

### **Исследование представительства механорецепторов фолликулярно-синусного комплекса в первичной соматосенсорной коре мозга крысы**

*Ахметшина Д.Р.<sup>1</sup>, Валеева Г.Р.<sup>1</sup>, Насретдинов А.Р.<sup>1</sup>, Хазипов Р.Н.<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*<sup>2</sup>INSERM U901 – Inmed, Марсель, Франция*

*dinara\_ah15@mail.ru*

Вибриссы грызунов играют важную роль в исследовании окружающей среды и поведении животных. С помощью них грызуны могут быстро обнаруживать и распознавать объекты в своем окружении. Известно, что у крыс обработка информации, приходящей от вибрисс, происходит в первичной сенсорной коре, имеющей, как и у человека, соматотопическую организацию. Область сенсорной коры крысы, в которой находится представительство вибрисс, носит название баррел кортекс (barrel cortex), поскольку нейроны четвертого слоя данной области коры организованы в виде вертикальных колонок, или «бочонков» (barrels), аналогов структурно-функциональной колонки коры человека. Топичность организации сенсорной коры заключается в том, что нейроны каждого баррела реагируют на движение строго определенной вибриссы. Система вибрисса-«бочонков» широко используется в качестве модельной системы для исследования нейронных механизмов сложных когнитивных задач, процессов развития нервной системы. В своей работе мы пытаемся ответить на вопрос о том, существует ли топическая организация нейронов внутри отдельного «бочонка». Для каждой вибриссы характерно наличие фолликулярно-синусного комплекса (ФСК), в структуре которого имеются различные типы механорецепторов, чувствительных к движению вибрисс и прикосновению вибрисс к объектам. В наших экспериментах мы регистрируем ответы нейронов, расположенных внутри одного «бочонка», на электрическую и механическую стимуляцию чувствительных нервных окончаний различных областей ФСК вибриссы, имеющей представительство в данном «бочонке». Внеклеточная регистрация активности нейронов в соматосенсорной коре анестезированных крыс *in vivo* проводится с помощью линейных многоканальных электродов. Механическая стимуляция рецепторов ФСК осуществлялась посредством отклонения вибриссы в разных направлениях. Таким образом, мы определяем, отвечают ли нейроны, расположенные в определенной области «бочонка», на стимуляцию соответствующей области ФСК.

*Работа поддержана грантом Правительства РФ ведущим ученым №11.G34.31.0075.*

## Особенности сигнальных влияний активных форм кислорода на тромбоциты беременных женщин с гестозом: медикаментозная и немедикаментозная коррекция

Бакунович А.В.<sup>1</sup>, Жив А.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГНУ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*andy.bakunovich@gmail.com*

Гестоз (преэклампсия) — это осложнение беременности, которое возникает во второй ее половине и характеризуется нарушением функций жизненно важных органов и систем. Преэклампсия является одной из главных причин (25 %) гибели матери и плода практически во всех странах, включая высокоразвитые. Гестоз — заболевание невыясненной этиологии, которое имеет широкий спектр клинических проявлений.

Пусковым механизмом формирования преэклампсии является эндотелиальная дисфункция, сопряжённая с выраженными нарушениями в работе системы гемостаза, что проявляется в виде повышенной функциональной активности тромбоцитов, вазоконстрикции и гипертензии.

Теория оксидативного стресса, предполагающая возникновение необратимых повреждений тромбоцитов, являющихся пусковым механизмом преэклампсии, не нашла своего экспериментального подтверждения. В тромбоцитах при гестозе не отмечалось стойкого повышения внутриклеточного уровня  $Ca^{2+}$ . Тромбоциты также сохраняли чувствительность к сигнальному восприятию различных концентраций  $H_2O_2$  (0,01–5,0 мМ):  $H_2O_2$  в ультрамалых (сигнальных) концентрациях ингибировал АДФ-инициируемую агрегацию, а относительно высокие концентрации стимулировали агрегацию. Последствием действия очень высоких (0,01 М) концентраций  $H_2O_2$  являются деструктивные изменения в тромбоцитах, приводящие к их разрушению. Таким образом, цитотоксические и сигнальные эффекты низких концентраций  $H_2O_2$  на тромбоциты женщин с физиологически протекающей беременностью и с гестозами реализовались сходным образом. При гестозах отмечалась повышенная чувствительность тромбоцитов в области концентраций  $H_2O_2$ , вызывающих агрегацию. Особенностью сигнальных влияний таких малых молекул, как  $H_2O_2$ , является отсутствие белковых стереоспецифических рецепторов. Среди гипотетических мишеней действия активных форм кислорода (АФК), предполагается, существование неких структур на поверхности/внутри клетки, у которых, при действии на них молекул малой величины, происходит окисление SH-групп, что стимулирует проведение и реализацию регуляторного сигнала. При гестозах, вероятно происходит нарушение восприятия и трансляции сигнала.

Полученные данные позволили сделать заключение об отсутствии необратимых процессов в обмене  $Ca^{2+}$  и возможности коррекции изменений в системе гемостаза беременных с гестозом через сопряженные сигнальные пути. В частности, повышенная агрегация тромбоцитов у беременных с гестозом снижалась до нормы при использовании в качестве дезагрегантов солей  $Mg^{2+}$ , соединений  $(Na_2^+/Mg^{2+}) \cdot АТФ$  или диаденозинтетрафосфата ( $Ar_4A$ ), а также под воздействием переменных ЭМП, генерируемых аппаратом ГЕМОСПОК.

Обследования беременных женщин, проведенные с помощью метода газоразрядной визуализации, позволили выявить высокую степень стресса у беременных с гестозом. Были сделаны предположения о роли психологического стресса как первопричины заболевания.

Полученные данные позволяют сделать вывод о реализации при гестозе не цитолитических влияний АФК на тромбоциты, а об изменении их сигнально-регуляторных влияний. Это предполагает возможность пересмотра гипотезы о деструктивных воздействиях АФК на мембраны тромбоцитов, как о пусковом механизме развития гестоза, позволяя рассматривать изменения в системе «мать-плод» с позиций нарушения сигнальной регуляции.

Разработанные рекомендации по профилактике и методам терапевтических воздействий вошли в состав комплекса лечебных и профилактических мероприятий, широко внедрены в медицинскую практику, что позволило значительно снизить сроки пребывания беременных женщин с риском гестоза в период профилактического лечения и снизить материнскую и пренатальную смертность.

**Уровень иммуноэкспрессии Flt-1 в мотонейронах спинного мозга крыс после антиортостатического вывешивания задних конечностей**  
**Балтин М.Э.<sup>1</sup>, Резвяков П.Н.<sup>2</sup>, Нуруллин Л.Ф.<sup>2,3</sup>, Федянин А.О.<sup>1</sup>, Тяпкина О.В.<sup>1,2,3</sup>**  
<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия  
<sup>2</sup>Казанский государственный медицинский университет МЗиСР РФ, Казань, Россия  
<sup>3</sup>Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия  
*Baban.Vog@mail.ru*

В настоящее время большое внимание исследователей уделяется изучению нейропротективных свойств сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), независимых от сосудистого компонента, играющих роль регулятора нейрогенеза у взрослых особей. Показано, что VEGF воздействует на нейрональные и глиальные клетки, посредством активации рецепторов Flk-1 и Flt-1. В наших предшествующих экспериментах были выявлены ряд биохимических и функциональных изменений в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крыс после антиортостатического вывешивания задних конечностей (модель гипогравитации по Morey-Holton 2002). Было показано, что одним из компенсаторно-адаптационных механизмов, обеспечивающих выживание мотонейронов в условиях инактивации, является усиление иммуноэкспрессии белков теплового шока 25 и 70. Поэтому в данном исследовании проверяется предположение о роли рецептора VEGF — Flt-1 в мотонейронах при развитии гипогравитационного двигательного синдрома. С применением иммунофлуоресцентного окрашивания анализируется уровень иммуноэкспрессии Flt-1 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга крыс после 35-суточного антиортостатического «вывешивания». Исследование экспрессии Flt-1 выявило ядерную локализацию фермента в мотонейронах передних и боковых рогов спинного мозга, как у контрольных, так и подопытных у животных. Однако уровень флуоресценции был несколько выше у животных после 35 суток эксперимента. Таким образом, усиление уровня иммунофлуоресценции Flt-1 можно рассматривать как один из протекторных механизмов, обеспечивающих выживание мотонейронов в условиях развития гипогравитационного двигательного синдрома.

**Изучение влияния кандесартана и ресвератрола  
на двигательную активность мышей линии C57BL/6**

**Беляева Александра Викторовна**

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*Aleksandra447@yandex.ru*

**Введение.** В последнее время согласно статистике частота сердечно-сосудистых заболеваний возросла в несколько раз. В связи с этим разработана новых методов диагностики и лечения данных патологий, создание эффективных комбинаций препаратов является актуальным.

Кандесартан цилексетил используется в качестве антигипертензивного средства длительного действия, но обладает большим количеством побочных эффектов, поэтому в ходе проведения работы было изучено влияние комбинации сартана с более безопасным ресвератролом в различных дозировках и комбинациях на двигательную активность мышей с помощью прибора Opto-Varimex.

**Материалы и методы.** Для работы были взяты самцы мышей линии C57Bl/6 (20–25г), которых разделили на 6 групп: мышам 5-ти групп вводили кандесартан и ресвератрол в различных дозировках и комбинациях в течение 1 недели: группе 1 и 2 вводили кандесартан в дозах 3 мг/кг и 1,5 мг/кг соответственно. Мыши группы 3 получали кандесартан в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 1 мг/кг; животные группы 4 получали кандесартан в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 10 мг/кг, а мыши группы 5 — кандесартан в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрол в дозе 50 мг/кг, в то время как животные контрольной группы получали раствор 1%-го крахмала.

**Результаты.** В ходе проведения исследования было установлено, что кандесартан приводит к уменьшению таких показателей двигательной активности, как расстояние, пройденное животным, время, затраченное на передвижение и количество передвижений.

Также наблюдалось увеличение времени, проведенного в покое. На фоне введения кандесартана в дозе 1,5 мг/кг и ресвератрола в дозах 1 и 50 мг/кг наблюдалось увеличение расстояния, пройденного животным, времени, которое потребовалось на передвижения. У мышей, получавших комбинацию кандесартана с высокой дозой ресвератрола, уменьшался показатель, характеризующий время, проведенное в покое, и увеличивалось количество передвижений.

**Заключение.** Показано, что введение кандесартана цилексетила в течение 1 недели приводит к снижению двигательной активности у мышей линии C57Bl/6, в то время как комбинация сартана с ресвератролом восстанавливает исследуемые параметры двигательной активности животных.

### **Механизмы эндотелиальной дисфункции артерий почки у крыс с инсулин-зависимым сахарным диабетом**

**Болеева Галина Сергеевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*boleeva-msu@yandex.ru*

Ранние гемодинамические изменения в почке при сахарном диабете 1 типа (СД) являются фактором риска развития диабетической нефропатии. Такие изменения проявляются в виде гиперфльтрации, одной из причин которой служит изменение функции эндотелия в сосудах, лежащих проксимально от почечных клубочков. Целью данной работы было сравнение различных компонентов эндотелий-зависимой релаксации артерий почки в норме и при СД.

У самцов крыс Вистар вызывали СД путем введения стрептозотоцина, что приводило к стойкому повышению концентрации глюкозы в крови до 25–30 ммоль/л. Спустя 6 недель в изометрическом режиме регистрировали реакции междолевых артерий почки на ацетилхолин (АХ) на фоне сокращения, созданного с помощью фенилэфрина. Также исследовали реакции на АХ в присутствии ингибитора NO-синтазы L-NNA (100 мкМ) и ингибитора циклооксигеназы индометацина (1 мкМ).

Для группы СД в целом не наблюдалось изменения максимальной реакции артерий на АХ. Вместе с тем было видно отчетливое деление группы СД на 2 подгруппы: с расслаблением в 55 % (СД-1, n = 5) и 85 % (СД-2, n = 7) от исходного сокращения, при этом концентрация креатинина в крови у СД-1 была ниже, чем у СД-2, что может свидетельствовать о менее выраженном нарушении функции почек.

В присутствии L-NNA величина максимальной реакции на АХ у контрольных животных уменьшалась вдвое, у СД-1 — втрое, тогда как у СД-2 она не изменялась. Вопреки нашим ожиданиям, добавление к L-NNA индометацина приводило не к уменьшению, а к увеличению реакции на АХ, причем как у СД-1, так и у СД-2 такое влияние индометацина было менее выраженным, чем в контроле. В итоге, величина компонента реакции, который не зависит от активности NO-синтазы и циклооксигеназы, у СД-1 была намного меньше, а у группы СД-2 — больше, чем в контроле.

Таким образом, степень нарушения почечной функции у крыс с СД коррелирует с увеличением расслабления артерий почки под действием эндотелиального гиперполяризующего фактора. Кроме того, при СД уменьшено сокращение артерий под действием продуктов индуцируемого АХ метаболизма арахидоновой кислоты по циклооксигеназному пути.

## **Вариабельность иммунного ответа при хронической инфекции вирусом гепатита С**

**Вишневецкая Юлия Андреевна**

*Международный государственный экологический университет им. А.Д.Сахарова,*

*Минск, Беларусь*

*stk71016@yandex.ru*

Цель работы: анализ значимости связи между свойствами инфекционного агента (ИА) и тем или иным вариантом развития событий иммунного ответа (ИО), и ее отражения в иммунограммах.

Вирус гепатита С обладает такими свойствами, определяющими варианты ИО, как высокая антигенная изменчивость и иммуносупрессирующее действие в отношении клеток иммунной системы (ИС). С другой стороны на форме ИО сказывается его реализация на территории печени, где отмечается естественно низкий уровень экспрессии молекул МНС. Кроме того, ИО в отношении одного и того же ИА может различаться у разных индивидуумов в зависимости от генетических условий.

Исходя из вышесказанного, можно предположить развитие следующих вариантов ИО: 1) сопровождающиеся переходом на антигеннезависимые механизмы; 2) слабо выраженный или транзиторный Т-клеточный ИО; 3) полную ареактивность ИС; 4) переключение на альтернативные механизмы с вовлечением CD4<sup>+</sup> клеток. Для выявления предполагаемых механизмов мы изучили иммунограммы 50 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) различной клинико-биохимической активности (КБА).

Ключевым событием в группе пациентов с минимальной КБА стал выход в кровяное русло стимулированной субпопуляции CD8<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> НК, что может отражать активацию антигеннеспецифических киллинговых механизмов. В группе с умеренной КБА наблюдали увеличение относительного содержания ЦТЛ и развитие цитотоксической формы ИО, что хорошо согласуется с данными литературы, если предположить, что ХВГС умеренной КБА характеризуется дополнительным поступлением вируса в циркуляцию как следствие разрушения гепатоцитов, что также позволяет предположить его транзиторный характер. В группе пациентов с циррозом наблюдали усиление дисбаланса Т-клеточных субпопуляций, что может быть связано с вовлечением Т-хелперов в ИО, приводящим к их последующему апоптозу. Однако кроме естественной убыли лимфоцитов в рамках ИО в данной группе следует допустить возможность формирования иммунодефицита вследствие чрезмерной цитокиновой стимуляции лимфоцитов при недостаточной регенерации последних.

Таким образом, нам удалось обнаружить все сценарии ИО, которые были предположены исходя из свойств ИА. Однако, для того, чтобы утверждать, что связь между свойствами ИА и вариантом ИО настолько сильна, что возможным окажется выявление ИА по показателям иммунограммы, требуется проведение дополнительных исследований.

### **Сбалансированный рацион питания и функциональные показатели развивающегося организма**

**Волокитин<sup>1</sup> Е.О., Стукач<sup>1</sup> Ю.П., Целкова<sup>1</sup> И.В., Лобазова<sup>2</sup> И.Е., Вязова<sup>3</sup> Л.С., Хотянович<sup>1</sup> М.О.**

<sup>1</sup>*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь;*

<sup>2</sup>*Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь*

<sup>3</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*

*Pochta\_margo@mail.ru*

Недостаточная обеспеченность витаминами и минералами отрицательно отражается на обмене веществ, энергетическом статусе, заболеваемости, уровне возрастного развития, функционировании нервной и иммунной систем. Известно, что пищевые продукты (добавки), содержащие макро- и микронутриенты в физиологических дозах, являются важнейшей составляющей комплексной системы сохранения и восстановления здоровья. Особенно это в ранний период онтогенеза (детский возраст), когда происходит формирование генетически запрограммированных защитных систем, от деятельности которых зависит поддержание гомеостаза. В связи с этим актуальным представляется оценка интенсивности метаболизма,

поведенческой активности и когнитивных процессов у крыс, находящимся на рационе, включающем пищевые концентраты, обогащенные микронутриентами.

Опыты проводили на молодых (1 мес) белых крысах-самцах ( $n = 202$ ) с исходной массой тела  $100 \pm 10$  г. Регистрацию параметров основного обмена осуществляли методом непрямой калориметрии с помощью MM-100 (Metabolic Monitor, ИТС Life Science Inc., США). Оценку когнитивных способностей проводили с использованием крестообразного лабиринта (Plus-Maze, Stoelting, США).

Установлено, что при употреблении пищевых концентратов, обогащенных витамином В1, макроэлементами Na, Mg, P и микроэлементами Fe, Zn, наблюдалось увеличение интенсивности метаболизма, что может быть в ситуациях, требующих снижения массы тела за сравнительно короткий период. В процессе проведенных исследований продемонстрировано, что для таких ситуаций оптимальными диетами являются сахаристые кондитерские изделия, а также пищевые концентраты, обогащенные витамином С и одним из макроэлементов, например, кальцием. Добавление в пищевые концентраты витаминов группы В и А, макроэлементов Ca и P, а также микроэлементов Fe или Zn способствует мобилизации и увеличению когнитивных способностей, что целесообразно принять во внимание как факт, обосновывающий целесообразность применения такого комплекса витаминов, макро- и микроэлементов в продуктах питания для детей, страдающих врожденными или приобретенными патологиями когнитивных функций.

### **Влияние аналога ноцицептина FGGF-NH<sub>2</sub> на поведение детенышей белых крыс при остром интраназальном введении**

***Воронкова А.С., Чеснокова Е.А.***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*anast.voronkova@gmail.com*

Пептид ноцицептин является эндогенным лигандом рецептора ORL1, родственного опиоидам. При внутримозговом введении ноцицептина и его аналогов животным отмечены изменения уровня тревожности, болевой чувствительности, способности к обучению. Целью нашей работы стала оценка поведения детенышей белых крыс при остром интраназальном введении аналога ноцицептина FGGF-NH<sub>2</sub>.

Тетрапептид FGGF-NH<sub>2</sub> (амидированный N-концевой фрагмент ноцицептина) вводили интраназально в дозе 5 мг/кг за 20 минут до тестирования. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя (фосфатный буфер Соренсена). Растворитель был выбран исходя из литературных данных, согласно которым он способствует оптимальному прохождению пептидов через гематоэнцефалический барьер. Изменения ориентировочно-исследовательской активности и уровня тревожности крыс регистрировали в тесте «открытое поле со сменой освещенности» в возрасте 42 дней. Для тестирования способности к обучению с отрицательным подкреплением вырабатывали условную реакцию пассивного избегания в возрасте 52 дней. Болевую чувствительность животных оценивали в тестах «горячая пластина» и «сдавливание задней лапы» в возрасте 54 и 56 дней соответственно.

Показано, что в «открытом поле» у опытной группы по сравнению с контролем достоверно увеличено число стоек, заглядываний в «норки», выше активность в центре арены ( $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента). Следовательно, среди животных, получавших пептид, баланс оборонительной и ориентировочно-исследовательской мотивации смещен в сторону последней. При выработке условной реакции пассивного избегания у опытной группы животных было зарегистрировано достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек установки, а также увеличение времени в светлом отсеке ( $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента). Это говорит об улучшении обучения под воздействием пептида. При изучении болевой чувствительности в опытной группе крыс было показано достоверное увеличение латентного периода облизывания задней лапы в тесте «горячая пластина» и увеличения латентного периода отдергивания лапы в тесте «сдавливание задней лапы» ( $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента). Следовательно, опытные имели более высокий порог болевой чувствительности.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что при остром интраназальном введении в дозе 5 мг/кг тетрапептид FGGF-NH2 способен проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать анксиолитический и анальгетический эффект, а также улучшать обучение с отрицательным подкреплением.

### **Воздействие препарата Нуклео Ц.М.Ф. в центральной нервной системе**

*Геворгян Лилия Рафаеловна*

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели, Ереван, Армения*

*liliagevorgyan1988@gmail.com*

Повреждение клеточных мембран и нарушение метаболизма фосфолипидов играют важную роль в патофизиологии периферических нервов (ПН). Экспериментальные исследования продемонстрировали повышение потребности в пиримидиновых нуклеотидах при поражениях ПН. Изменение метаболизма фосфатидилхолина было признано в качестве одного из механизмов, запускающих сигнальный каскад апоптоза. Терапевтический эффект пиримидиновых нуклеотидов обусловлен их способностью ускорять и/или увеличивать синтез структурных фосфолипидов мембран, ведущих к регенерации аксонов и синапсов. Препарат Нуклео Ц.М.Ф. (Ferrer Internacional), содержащий цитидина монофосфат и уридина трифосфат, оказывает защитное и восстанавливающее действие при травмах ПН. Востребованы экспериментальные исследования эффектов Нуклео Ц.М.Ф.

Целью данного изучения явилось электрофизиологическое исследование динамики воздействия Нуклео Ц.М.Ф. в центральной нервной системе. В острых экспериментах на крысах-самцах Альбино ( $250 \pm 30$  г) зарегистрирована экстраклеточная спайковой активность одиночных мотонейронов (МН  $n=6$ ) поясничного отдела спинного мозга и нейронов латерального вестибулярного ядра (ЛВЯ  $n=6$ ) — центров спинального и супраспинального контроля седалищного нерва — до и после однократного в/м введения терапевтической дозы (0,94 мг/кг) Нуклео Ц.М.Ф. Усредненные данные программного математического анализа свидетельствуют об изменении частоты спайковой активности МН и нейронов ЛВЯ при высокочастотной стимуляции (50 Гц в течении 1 сек) седалищного нерва. С 15-ой минуты воздействия Нуклео ЦМФ регистрировали учащение пре- и постстимульного спайкинга МН, а также урежение пре- и учащение постстимульного спайкинга нейронов ЛВЯ. Восстановление исходного уровня вызванной спайковой активности наступало к 60-80 минутам после введения Нуклео Ц.М.Ф. По-видимому, мишенями воздействия Нуклео Ц.М.Ф. выступает каскад энзиматических реакций, ассоциированных с: усилением выделения нррейротрансмиттеров; модуляцией ионных каналов; сенситизацией/десенситизацией постсинаптических рецепторов глутамата и ГАМК; контролем вторичных мессенджеров. Стимулирующее воздействие Нуклео Ц.М.Ф. на систему возбуждительных и тормозных нейромедиаторов — важный компонент нейрональной пластичности и протекции.

### **Устойчивость пресноводной и морской морф трёхиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*) к стрессорам различной природы**

*Горелова Анастасия Алексеевна, Михалина Элеонора Анатольевна*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*gorelova.anatasya@gmail.com*

Трёхиглые колюшки — рыбы, населяющие прибрежные зоны морей северного полушария. Ввиду постепенного запреснения заливов Белого моря, некоторые популяции вынуждены выработать ряд быстрых адаптивных механизмов для обитания в среде с разной осмотичностью. Насколько стрессогенной является данная перестройка, на сегодня не известно.

Выраженность стереотипной поведенческой стресс-реакции является наиболее адекватным отражением степени физиологической адаптации различных морф трёхиглой колюшки к изменению внешней солёности.

Нам представлялось интересным при помощи стандартных методов изучения поведения оценить степень стрессогенности воды разной осмотичности для морской и пресноводной морф колюшки.

В работе использовались три группы по 10 экспериментальных животных: морская морфа (М); пресноводная морфа (П); морская морфа, в течение месяца содержащаяся в пресной воде. Поведение регистрировалось в тесте «открытое поле». Обработка видеозаписей проводилась с помощью п/о Noldus Ethovision XT, данных — с применением непараметрического критерия Краскелла-Уоллеса.

Было проведено три блока экспериментов: поведение каждой группы в воде с привычной солёностью («контроль»); на фоне «вещества стресса» (смыва дистиллированной воды с повреждённого эпидермиса); в условиях смены солёности.

При добавлении в воду «вещества стресса» наблюдалось стереотипное изменение поведения и морской, и пресноводной морф, принятое нами за эталон реакции стресса (снижение подвижности (М — 55 %, П — 50 % к контролю), увеличение ЛП отхода ото дна (М — 285 %, П — 455 %), уменьшение выходов в верхний сектор (М — 41 %)).

При помещении морской и пресноводной морф в воду с нехарактерной для них солёностью, обе демонстрировали развитие поведенческой стресс-реакции, однако морская морфа отвечала выраженными признаками стресса (подвижность — 61 %, выходы в верхний сектор — 43 %, время неподвижности — 226 % к контролю), тогда как пресноводная морфа чувствовала себя в морской воде относительно комфортно (увеличение времени неподвижности (131 %), остальные параметры без изменений).

Содержание морской морфы колюшки в пресной воде в течение месяца не приводит к поведенческой адаптации к новым условиям среды и даже усугубляет выраженность признаков стресса.

Таким образом, для данной морфы колюшки показана большая стрессогенность запреснения, а также недостаточность механизмов адаптации к происходящим изменениям солёности воды.

### **Влияния таурина на капилляры и на морфофункциональное состояние клеточных структур мозга крыс после иммобилизационного стресса**

*Даниелян Маргарита Арутюновна*

*Институт физиологии им.Л.А.Орбели НАН РА, Ереван, Армения*

*margaritadanielyan@rambler.ru*

Как известно, стресс — неспецифическая реакция организма, которая сопровождается выбросом катехоламинов в кровь, увеличением уровня циклических нуклеотидов в тканях и, как следствие, повышением глюкозы в крови, перегрузкой ионами кальция и т.п. Таурин задерживает выброс катехоламинов при стрессе и предотвращает рост циклических нуклеотидов. Он обладает антистрессорным действием, изменяет функциональные параметры центральной нервной системы. Целью исследований являлось морфогистохимическое изучение влияния таурина на клеточные структуры мозга крыс после иммобилизационного стресса. Изучение изменения диаметра капилляров мозга проводили после стресса при систематическом введении таурина (в течение 7 после стресса). Морфогистохимические исследования проводили методом выявления активности  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой кислой фосфатазы, а выявление микроциркуляторного русла — по кальций аденозинтрифосфатному методу Чилингаряна. Анализ морфометрических данных показал, что через 7 дней после стресса происходит сужение просвета капилляров мозга на 18,1 % по сравнению с нормой, а при введении таурина показатели приближаются к норме и сужение составляет 2,46 %. Гистохимические исследования свидетельствуют о дегенеративных изменениях, наблюдаемых, в основном, в коре больших полушарий мозга, гиппокампе, синем пятне и амигдале после иммобилизации. Поражение нейронов идет по типу центрального хроматолиза, наблюдается нарушение контуров клеток, укорочение отростков. У крыс, получавших таурин, на срезах вышеуказанных областей мозга отмечается резкое усиление фосфатазной активности, восстанавливаются размеры и форма клеток, у которых реагируют отростки и отчётливо выступает клеточная оболочка, ядра занимают центральное положение. Наблюдается тесные капилляр-клеточные взаимоотношения, усиление васкуляризации, нейроны контактируют с микрососудами. Внутрицитоплазматическая грануляция крупноглыбчатая и расположена обильно, вследствие

чего нейроны выглядят интенсивно окрашенными. Итак, таурин обладает ангиопротекторным свойством, вследствие чего в наших экспериментах после введения таурина наблюдалось приближение показателей диаметра капилляров мозга к норме. Морфометрические данные указывают на сосудорасширяющий эффект таурина на капилляры мозга. Морфогистохимические данные свидетельствуют о том, что после стресса под влиянием таурина наблюдаются положительные изменения структурных свойств нейронов и высокая фосфатазная активность (повышение метаболизма) в изучаемых областях мозга, что в целом определяет клеточное выживание и характерно для первично раздражённых нейронов, находящихся на пути восстановления.

### **Исследование миелостимулирующих свойств у соединений растительного происхождения Даутова Мирагуль, Карбаева Алмагуль**

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан  
mira06\_85@mail.ru*

В последние годы все большее развитие получают исследования, направленные на выделение из различных трав, семян, особенно лекарственных трав, морских водорослей, грибов, животных, различных микроорганизмов биологически активных субстанций, характеризующихся иммуномодулирующим действием. Исследовались свойства фитопрепаратов из растений: Солянокососник прикаспийский (*Halostachys caspia*) Poll Iter 1771, Свёда мелколистная (*Sueda microphylla*) Poll Illustr 1803, Климакоптера туполистная (*Climacoptera obtusifolia*) Schrenk 1956, Климакоптера шерстистая (*Climacoptera lanata*) Botsh 1956, Климакоптера толстоватая (*Climacoptera subcrassa*) Botsh 1956, водные и спиртовые экстракты. Материалом служили белые лабораторные крысы обоего пола, 6–7-месячного возраста, массой 210–280 г. 50 особей. Анализ крови проводили на гематологическом анализаторе. НСТ-тест нестимулированный проводили по общепринятой методике. Были получены следующие результаты: наибольшую активность показали спиртовые экстракты Солянокососника прикаспийского и Сведы мелколистной. Они стимулировали пролиферативную активность депрессированного кроветворного пула и стимулировали выброс иммунных клеток в периферическую кровь. При сравнении с контролем общий лейкоцитарный показатель в группе введения спиртового раствора Сведы мелколистной увеличился в 2,35 раза ( $p \leq 0,05$ ) и в сравнении с показателями группы введения препарата сравнения в 1,76 раза. Солянокососник прикаспийский увеличивал лейкоцитарный показатель в 1,99 раза в сравнении с контрольным показателем. Оба соединения увеличивали НСТ показатели четырехкратно при сопоставлении с контрольным показателем. В группе введения Солянокососника прикаспийского эритроцитарный пул восстанавливался уже на 4-ые сутки наблюдения, а гранулоцитарный лейкоцитарный показатель достигал на 10-ые сутки показателя интактных животных. Климакоптера туполистная (*Climacoptera obtusifolia*), Климакоптера шерстистая (*Climacoptera lanata*) не показали в данном эксперименте никаких положительных результатов.

Считаем что научные работы в области исследования иммуностимулирующих свойств Солянокососника прикаспийского (*Halostachys*) и Сведы мелколистной (*Sueda microphylla*) перспективны.

*Научному руководителю доценту кафедры биофизики и биомедицины Бактыбаевой Л.К. выражаю благодарность за помощь в проведении научно- исследовательской работы.*

### **Влияние обестатина и его фрагмента (1-4) на систему антиоксидантной защиты и уровень стресса у крыс**

*Девятов А.А., Хиразова Е.Э.*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
Sasha.92.jan@mail.ru*

Проблеме ожирения в последнее время уделяется особое внимание, поскольку это одна из наиболее актуальных проблем на сегодняшний день. С целью решения этой проблемы проводится активное изучение различных регуляторов аппетита, одним из которых является

обестатин. В нашей работе была поставлена цель исследовать влияние обестатина и его фрагмента (1-4) на систему антиоксидантной защиты и состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Работа проводилась на самцах белых нелинейных крыс средней массой 300 г. (n=62). Обестатин и его фрагмент (1-4) вводили интраназально в дозе 300 нмоль/кг однократно или в течение 5 суток. Забор крови для исследований осуществлялся через сутки и через неделю после окончания введения веществ. Активность системы антиоксидантной защиты оценивали по активности некоторых ферментов, по содержанию неферментативных антиоксидантов и маркеров окислительного стресса, а также по способности плазмы крови восстанавливать окисленное железо (метод FRAP). Состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси оценивали по содержанию кортикостерона в плазме крови.

При однократном введении обестатина статистически значимых отличий между контрольной и опытной группами по содержанию кортикостерона выявлено не было. Такой же результат был получен и при хроническом введении вещества. Также не было выявлено эффекта на содержание кортикостерона при однократном введении фрагмента обестатина (1-4). Из полученных результатов следует, что обестатин и его фрагмент (1-4) не влияют на состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Также не было выявлено эффектов обестатина и его фрагмента при остром и хроническом введении вещества на активность супероксиддисмутазы и каталазы, на содержание небелковых тиолов, церуллоплазмина, ТБК-активных продуктов и на способность восстанавливать железо.

Таким образом, ни обестатин, ни его фрагмент (1-4) не оказали каких-либо эффектов на функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и антиоксидантной систем. Данный результат мы расцениваем как положительный, так как действие обестатина на данные системы могло бы приводить к нежелательным побочным эффектам.

### **Исследование процессов эндоцитоза синаптических везикул в нервном окончании мышцы при экспериментальном сахарном диабете**

*Дмитриева Любовь Евгеньевна., Курмашова Е.Д., Яковлева О.В*

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

*frol\_e\_a@mail.ru*

Сахарный диабет (СД) — это группа эндокринных заболеваний, развивающихся вследствие недостаточности инсулина, в результате чего развивается гипергликемия, что приводит к изменениям во всех процессах, участвующих в обмене глюкозы в организме. Заболевание характеризуется осложнениями. Наиболее частое осложнение — нейропатии. Они могут быть вызваны изменениями в мышечной ткани и в нервно-мышечном синапсе. Целью работы явилось исследование процессов эндоцитоза в синаптических везикулах и уровня холестерина мышечных волокнах камбаловидной мышцы при экспериментальном сахарном диабете.

Для создания модели СД мы использовали аллоксан. Мышам из контрольной группы вводился физиологический раствор. Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах камбаловидной мышцы. Для окрашивания нервных окончаний использовали флуоресцентный краситель FM 1-43 (2–3 мкМ), который добавляли перед 15 минутной стимуляцией, с чередованием частот 10 Гц 10 сек. и 1 Гц 5 сек. Для выявления холестерина применяли флуоресцентный антибиотик филиппин III, связывающийся с холестерином в соотношении 1:1. Оценивали среднюю интенсивность свечения в относительных единицах (о.е.).

Свечение терминалей камбаловидной мышцы в контроле составило 74 о.е.  $\pm$  7 о.е (n = 40). Исследование влияния модели сахарного диабета на процессы эндоцитоза синаптических везикул показало, что в камбаловидной мышце не происходило достоверного увеличения свечения терминалей — 76 о.е.  $\pm$  5 о.е. (n = 46)

Окрашивание исследованных нами нервно мышечных препаратов с помощью филиппина III показало, что свечение камбаловидной мышцы в контроле составило 85 о.е.  $\pm$  15 о.е (n = 40). Исследование влияния модели сахарного диабета на липидные плотники мембран

в камбаловидной мышце не происходило достоверного увеличения свечения терминалей — 83 о.е. ± 10 о.е. (n = 46)

Таким образом, в аллоксановой модели сахарного диабета эндцитоз синаптических везикул в камбаловидной мышце остается на прежнем уровне мышцы. Липидный состав мышечных мембран не изменяется.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-97081-р\_поволжье.*

### **Динамика некоторых биохимических показателей крови крыс в условиях химического ожога пищевода I степени**

**Дмитрик Виктор Васильевич, Ищук Татьяна Васильевна, Раецкая Яна Борисовна,  
Остапченко Людмила Ивановна**

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина  
victordmytryk@gmail.ru*

На сегодняшний день существует ряд патологий и осложнений, возникающих после ожогов пищевода: рубцовая послеожоговая стриктура, деформации, коррозионный эзофагит, гастроэзофагальный рефлюкс и прочее. Следствием ожога пищевода является изменение биохимических показателей, и это является важным показателем функционального состояния организма. Целью работы было: воспроизвести в эксперименте на крысах модель химического ожога пищевода I-й степени и выяснить, как в динамике изменяется содержание креатинина, мочевины в условиях моделирования химического ожога пищевода.

В опытах использовали белых нелинейных половозрелых крыс, содержащихся на стандартном рационе вивария, животным экспериментально моделировали ожог пищевода раствором NaOH 10 %, декапитировали через 1, 3 и 7 суток после экспериментального моделирования ожога пищевода. Биохимические показатели определяли в сыворотке крови, которую получали центрифугированием при 1500 g 10 мин, исследования проводились с помощью биохимического анализатора *Humalyser 3000* с использованием набора для фотометрического колориметрического определения концентрации креатинина кинетическим методом без депротеинизации.

Впоследствии мы наблюдали следующие изменения: на 1, 3 и 7 сутки исследований уровень мочевины повышался в 1,24, 1,87 и 2,1 раза. Динамика изменений свидетельствует о тяжелом инфекционном процессе, потере жидкости, почечной недостаточности. Также нами был определен уровень креатинина в сыворотке крови крыс с химическим ожогом пищевода. В ходе исследования были получены следующие данные: экспериментальный ожог пищевода в период 1,3 и 7 суток приводит к значительным изменениям уровня креатинина. Показатель уровня креатинина обычно используется для характеристики токсического воздействия на организм и указывает на почечную недостаточность. Соответственно, экспериментальный ожог пищевода влиял на повышение уровня креатинина в сыворотке крови в период всего срока опыта, а именно: на 1, 3 и 7 сутки в 1,5–2,3 раза в сравнении с контрольными значениями.

Итак, нами была экспериментально разработана и подтверждена модель ожога пищевода крыс I степени, путем введения NaOH 10 %. Определено повышение содержания мочевины и креатинина с максимальным значением на 7 сутки, сравнительно с контрольными значениями в сыворотке крови крыс в условиях химического ожога пищевода.

### **Отставленные поведенческие эффекты неонатального введения AVP(6-9) детёнышам белых крыс**

**Дударёнок Алёна Петровна**

*Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
alencacrazybio1@rambler.ru*

S-концевая последовательность аргинин-вазопрессина — функционально важный участок для проявления поведенческих эффектов. В данной работе исследовалось влияние АВП(6-9) при хроническом неонатальном введении на ориентировочно-исследовательское поведение (ОИР) и уровень тревожности белых крыс. Животным опытной группы интраназально вводили

тетрапептид в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг в объеме 1 мкл/10 г веса, контрольной группе — эквивалентный объем растворителя. ОИР исследовали в тестах «норковая камера» (НК) и «открытое поле» (ОП) («бесстрессорная» (б/с) и «стрессогенная» (с/с) модификации), уровень тревожности — в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). При тестировании животных в возрасте 35–46 дней (препубертатный период) получены следующие результаты. В НК наблюдалось увеличение горизонтальной активности (для дозы 1,0 мкг/кг) и увеличение вертикальной активности (для дозы 10,0 мкг/кг). В ОПб/с отмечено увеличение горизонтальной и вертикальной активности, количества выходов на свет (для дозы 1,0 мкг/кг). Тест ОПс/с показал увеличение горизонтальной и вертикальной активности (для дозы 1,0 мкг/кг). В ПКЛ отметили увеличение вертикальной активности в темном отсеке для дозы 1,0 мкг/кг и её уменьшение для дозы 10,0; большее число выглядываний из темного отсека (для обеих доз). При тестировании животных в период полового созревания (49–60 дни жизни) получили в НК снижение груминга для обеих опытных групп; в ОПб/с — увеличение числа отходов от стенок (преимущественно для дозы 1,0 мкг/кг); в ОПс/с достоверных отличий между группами нет, но есть тенденция к повышению горизонтальной активности, особенно для дозы 1,0 мкг/кг. В ПКЛ для группы, которой вводили АВП(6-9) в дозировке 1,0 мкг/кг увеличилось время, проведенное в светлом отсеке и количество свешиваний.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что АВП(6-9) увеличивает уровень ОИР, в особенности в препубертатный период. В период полового созревания наблюдается снижение уровня тревожности. В обоих периодах наибольший эффект проявлялся при введении АВП(6-9) в дозе 1,0 мкг/кг по сравнению с 10,0 мкг/кг.

**Роль кальций-чувствительных рецепторов в сокращении миокарда крысы**  
**Дюкова Елена Алексеевна, Ситдикова Гузель Фаритовна, Schlueter Klaus-Dieter**  
*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*  
*Lena-Dyukova@mail.ru*

Ионы кальция играют важную роль в сердечной ткани. Высвобождение ионов Са из внутриклеточных Са-депо является ключевым фактором сокращения кардиомиоцитов. Недавние исследования выявили на мембране кардиомиоцитов Са-чувствительные рецепторы (Са-R), которые чувствительны к изменениям концентрации ионов Са вне клетки. Основным лигандом этого рецептора является кальций, а также полиамины. Целью нашей работы было изучение роли Са-R в регуляции сократимости миокарда крысы.

Эксперименты по определению сократимости проводились на изолированных полосках миокарда желудочков и предсердий и на культуре изолированных кардиомиоцитов желудочков. Сократительную активность полосок миокарда изучали на тензометрической установке, стимулируя препараты с частотой 0,1 Гц. Измеряли амплитуду сокращений. Изолированные кардиомиоциты стимулировали с частотой 2 Гц. Сократимость клеток исследовали при помощи специальной системы измерения клеточной длины. Сокращения клеток измерялись в процентах относительно их диастолической длины. Использовали неспецифический блокатор Са-R – NPS (100 мкМ на полосках миокарда и 10 мкМ на культуре кардиомиоцитов) и полиамины — путресцин и спермин (300 мкМ на полосках миокарда и 10 мкМ на кардиомиоцитах).

Аппликация путресцина достоверно увеличивала силу сокращения полосок миокарда желудочков до 32 % и сокращение изолированных кардиомиоцитов до 8 % относительно их диастолической длины. Аппликация спермина увеличивала силу сокращения полосок миокарда на 11 % и сократимость кардиомиоцитов на 7 %. Добавление неспецифического блокатора Са-R привело к достоверному снижению силы сокращения полок на 40 % и снижению сокращений изолированных кардиомиоцитов на 17 %.

Полученные данные свидетельствуют об участии Са-R в регуляции сократимости кардиомиоцитов желудочков.

## **Морфология толстого кишечника при экспериментальном ожирении у крыс**

*Ефименко Е.Ю., Польшакова А.С., Пинчук Н.А., Курик Е.Г., Фалалеева Т.М.*

*Университет им. Тараса Шевченка, Киев, Украина*

*elena\_sinica@ukr.net*

**Актуальность.** Проблема возникновения «болезней развитого общества», среди которых ожирение занимает не последнее место, становится актуальной во всем мире. Сегодня ожирение признано самостоятельным заболеванием, которое приводит к развитию целого ряда заболеваний, среди которых атеросклероз, гипертония, сахарный диабет, артрозы, грыжи позвоночных дисков и др. Ожирение также является одним из основных факторов риска развития болезней толстого кишечника, а именно: колитов различной этиологии, полипов, рака и др. В связи с этим, целью работы было исследовать морфологические изменения в толстом кишечнике крыс в условиях экспериментального ожирения, которое было вызвано гиперосмолярным раствором хлорида натрия.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены на 40 крысах обоего пола, которые были разделены на 3 группы. I — интактный контроль (4-х месячные крысы). Новорожденным крысам II и III группы подкожно в объеме 8 мкл/г вводили плацебо (физиологический раствор) или гиперосмолярный раствор хлорида натрия (3М) на 2, 4, 6, 8, 10 день жизни. Через 4 месяца у крыс всех групп был проведен анализ изменений массы тела. После чего животных декапитировали, выделяли и взвешивали висцеральный жир. Толстый кишечник исследовали с использованием стандартных гистологических методов.

**Результаты.** У крыс I и II группы значимых изменений в массе тела и висцерального жира не наблюдалось, толстый кишечник крыс имел типичное строение. У самок III группы масса тела и висцерального жира было больше, соответственно, на 139 % ( $p < 0,001$ ) и 258 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с I и II группами. В толстом кишечнике обнаружили умеренный отек, фибринозно-эритроцитарные тромбы и стазы эритроцитов в сосудах подслизистой и мышечной оболочек, полнокровие, умеренную полиморфно-клеточную инфильтрацию слизистой оболочки лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками. У самцов масса тела и висцерального жира превышала контрольные показатели в 1,8 и 2,4 раза соответственно. В стенке толстого кишечника самцов наблюдали образование эрозий, очаговой десквамации поверхностных слоев слизистой. Кроме того был обнаружен умеренный отек подслизистой оболочки, выраженная функциональная активность бокаловидных клеток и язва до мышечного слоя стенки (очаговый некроз слизистой, подслизистой оболочек с отторжением некротизированных тканей).

Итак, в условиях экспериментального ожирения, вызванного гиперосмолярным раствором хлорида натрия, наблюдались морфологические изменения в толстом кишечнике крыс, характерные для острого колита. У самцов отмечены более выраженные патологические изменения.

## **Механизмы сосудорасслабляющего действия агонистов 5HT1B- и 5HT2B-рецепторов серотонина**

*Жарких Ирина Леонидовна, Надеев Александр Дмитриевич, Кожевникова Любовь*

*Михайловна, Гончаров Николай Васильевич, Авдонин Павел Владимирович*

*Институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия*

*terekhina@rambler.ru*

В эндотелиальных и гладкомышечных клетках кровеносных сосудов экспрессируется несколько типов рецепторов серотонина (5HT-рецепторов). Ранее было показано (Кожевникова и соавт., 2009), что агонисты 5HT1B- и 5HT2B-рецепторов вызывают расслабление аорты и брыжеечной артерии крысы. Целью работы было исследование механизмов, лежащих в основе сосудорасслабляющего действия этих рецепторов.

Для активации 5HT1B- и 5HT2B-рецепторов использовали CGS12066B и BW723C, соответственно. Силу сокращения изолированных кольцевых фрагментов аорты крысы измеряли в изометрическом режиме. Изменения цитоплазматической концентрации ионов кальция ( $[Ca^{2+}]_{цит}$ ) в культивируемых эндотелиальных клетках (ЭК) пупочной вены человека регистрировали с помощью флуоресцентного зонда Calcium Green.

Агонисты 5HT1В- и 5HT2В-рецепторов CGS12066В и BW723С вызывают расслабление колец аорты и увеличение  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в ЭК. CGS12066В вызывает мобилизацию ионов кальция из внутриклеточных депо, не активируя вход кальция снаружи, тогда как BW723С запускает оба пути увеличения  $[Ca^{2+}]_{цит}$ . Скорость подъема  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в ответ на действие агонистов 5HT-рецепторов достоверно меньше, чем при действии активаторов других рецепторов в ЭК — гистамина, тромбина, АТФ. В опытах на сосудах установлено, что при действии агониста 5HT1В-рецепторов реализуется два механизма: расслабление низкими концентрациями (0,5–5 мкМ) CGS12066В блокируется ингибиторами NO-синтазы L-NAME и фосфолипазы С U73122, а эффекты высоких доз (10 мкМ и выше) не подавляются L-NAME и только частично подавляются U73122. Расслабление аорты под действием агониста 5HT2В-рецепторов BW723С ингибиторами NO-синтазы и фосфолипазы С не снимается. В отличие от этого, L-NAME и U73122 подавляют расслабление в ответ на карбахол, гистамин и агонист рецепторов тромбина. Ингибитор рианодинчувствительных каналов дантролен не влияет на расслабление в ответ на CGS12066В и BW723С.

Полученные данные свидетельствуют в пользу участия эндотелия в сосудорасслабляющем действии агонистов 5HT1В- и 5HT2В-рецепторов. Расслабление в ответ на активацию этих рецепторов происходит по специфическим для них механизмам, отличающимся от механизмов действия других вазодилаторных рецепторов.

*Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-01520-а и 11-04-01957-а.*

### **Участие активированного протеина С и тромбина в регуляции функций астроцитов**

*Иванова Анна Евгеньевна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*iris151@mail.ru*

Антикоагулянтная система протеина С (АПС) является поливалентной кофактор-зависимой системой: помимо регуляции свёртывания крови АПС обеспечивает противовоспалительную и цитопротекторную активность. Недавно было обнаружено нейропротекторное действие АПС в условиях гипоксии и инсульта, но данные о возможном действии АПС на другие важные клетки мозга — астроциты — отсутствуют. Вместе с тем известно, что многие патологические процессы головного мозга сопровождаются структурными и функциональными изменениями астроцитов, например, при реактивном астроглиозе. Показано, что данные изменения происходят под действием другой сериновой протеиназы гемостаза — тромбина, который появляется в мозговой ткани при травмах, ишемии, нейровоспалении. Поэтому целью нашего исследования явилось выявление возможной роли АПС в активации астроцитов, вызванной тромбином.

Исследования проводились на первичной культуре астроцитов, выделенных из коры головного мозга 1–2 дневных крысят линии Вистар. Пролиферацию клеток определяли методом МТТ через 24 ч после инкубации клеток с тромбином или с АПС и тромбином в различных концентрациях, уровень белка-маркёра астроглиоза S100В оценивали с помощью иммуноцитохимического метода и Вестерн блота.

Мы обнаружили, что АПС снижает тромбин-индуцированную активацию астроцитов, уровень белка S100В в клетках. На 14 дневной культуре астроцитов выявлено достоверное повышение уровня S100В в клетках, инкубационная среда которых содержала тромбин в концентрации 50 нМ (24 ч). В то же время присутствие 1 нМ АПС в среде астроцитов до и во время обработки тромбином приводило к снижению уровня S100В. Эти данные согласуются с результатами Вестерн блота. В соответствии с предыдущими исследованиями анализ МТТ показал, что число клеток, обработанных 50 нМ тромбина (24 ч), в два раза выше контрольного значения. Предобработка клеток 1 нМ и 10 нМ АПС предотвращала пролиферацию астроцитов, вызванную тромбином.

Кроме того, было выявлено увеличение уровня пустых полей в культуре астроцитов на 18–20 % при действии тромбина в концентрациях 10 и 100 нМ, а при коинкубации с АПС (10 нМ) количество свободных полей снижалось до контрольного.

С помощью специфических анти-EPСR антител иммуноцитохимически нами показано, что на GFAP-позитивных клетках экспрессируются специфические для АПС рецепторы. Данный факт указывает на возможность модуляции АПС функций астроцитов через собственный рецептор или через кооперацию рецепторов EPСR и PAR.

Итак, АПС предотвращает вызванную тромбином активацию астроцитов и, следовательно, оказывает не только нейропротекторное действие, но может также препятствовать активации астроцитов и астроглиозу при патологических состояниях. Наши результаты свидетельствуют о новых свойствах АПС как возможного эндогенного регулятора функций астроцитов.

### **Пробенецид не является селективным блокатором каналов паннексина 1 в артериальных сосудах мыши**

**Кирюхина Оксана Олеговна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*kcyu@yandex.ru*

Паннексины (*Panx*) — это мембранные белки, которые у беспозвоночных животных образуют межклеточные щелевые контакты. *Panx* экспрессируются и в клетках позвоночных, в этом случае их роль в межклеточной коммуникации не доказана, но установлено, что они могут быть одним из путей секреции АТФ, который выполняет роль ауто/паракринного регулятора клеточных функций. Недавно было показано, что пробенецид обладает способностью блокировать каналы *Panx*. В связи с этим ослабление сокращения сосудов под действием пробенецида связывают с его влиянием на секрецию АТФ через *Panx*. Целью данной работы было проверить правомочность такого объяснения вазорелаксирующего влияния пробенецида.

Работа была выполнена на препаратах подкожной артерии и мелких артерий брыжейки, полученных от половозрелых самцов мышей C57Bl/6 и мышей, нокаутных по гену *Panx1*, который является единственным *Panx* в большинстве артерий мыши. Сокращение артериальных сегментов регистрировали в изометрическом режиме с использованием системы wire myograph (DMT A/S, Дания).

У мышей C57Bl/6 пробенецид уменьшал чувствительность и величину максимального ответа обеих артерий на фенилэфрин (агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов), при этом его влияние в артериях брыжейки было более выраженным, чем в подкожной артерии. В обоих случаях эффекты пробенецида были сопоставимыми для артерий с интактным и удаленным эндотелием. Основываясь на предположении о селективности пробенецида, полученные результаты можно было бы связать с более высоким уровнем экспрессии *Panx* в гладкой мышце брыжеечных артерий по сравнению подкожной. Однако оказалось, что все описанные выше эффекты пробенецида воспроизводятся в экспериментах на артериях мышей, нокаутных по гену *Panx1*.

Таким образом, в артериях мыши пробенецид не является селективным блокатором *Panx1*. Это согласуется с данными литературы о наличии таких мишеней пробенецида как переносчики органических анионов и ионные каналы. Вазорелаксирующее действие пробенецида может быть связано с активацией неселективных катионных каналов TRPV2 на сенсорных нервных волокнах, плотность сплетения которых в артериях брыжейки больше, чем в других артериях.

### **Особенности произвольного управления дыхательными движениями при дыхании с неосознаваемым респираторным сопротивлением**

**Кичатов Кирилл Германович**

*Тверской государственный университет, Тверь, Россия*

*nearf1988@gmail.com*

У молодых женщин исследовалось влияние неосознаваемого добавочного инспираторно-экспираторного сопротивления на поведение торакального и абдоминального компонентов дыхательного аппарата при спонтанном и произвольном дыхании. Испытуемые как можно

точно воспроизводили заданный дыхательный объем, соответствующий усредненному спонтанному — со зрительным контролем, без зрительного контроля и без зрительного контроля при незаметно для них включенном сопротивлении на вдохе и выдохе — по 10 дыхательных циклов в каждой серии. Использован оригинальный компьютерный безмасочный пневмограф, регистрирующий в объемных единицах торакальные и абдоминальные составляющие дыхательного объема. Учитывались отклонения от уровня заданного объема — ошибки с его преувеличением, преуменьшением и их сумма (без учета знака отклонения). Испытуемые, используя зрительный контроль, достаточно точно воспроизводили заданный дыхательный объем с тенденцией к его приуменьшению за счет абдоминальной составляющей. Торакальная составляющая практически не меняется. При воспроизведении заданного объема без зрительного контроля тенденция к его приуменьшению несколько более выражена за счет и торакальной и абдоминальной составляющих. Переключение испытуемых на дыхание с добавочным неосознаваемым ими инспираторно-экспираторным сопротивлением сопровождалось статистически значимым преуменьшением заданного дыхательного объема за счет обоих его составляющих. Причем испытуемые в словесных отчетах приуменьшения дыхательного объема не отмечали.

Таким образом, выраженное преуменьшение заданного дыхательного объема при его воспроизведении при дыхании с добавочным неосознаваемым инспираторно-экспираторным сопротивлением подтверждает существующее предположение о том, что при произвольном контроле дыхательных движений в качестве обратной связи используется информация от проприоцепторов дыхательных мышц-инспираторов об их усилии при выполнении заданного объема. Воспроизведение заданного дыхательного объема без зрительного контроля осуществляется за счет и торакальных и абдоминальных дыхательных движений. Учитывая, что диафрагма практически лишена проприоцепторов, можно полагать, что при произвольном управлении дыхательными движениями используется и какая-то другая афферентная информация — вероятно, от сухожильных проприоцепторов брюшных мышц-экспираторов, а также от тактильных рецепторов кожи живота.

### **Роль летучих стероидов (на примере андростенона) в регуляции социального поведения у домового мыши**

***Ключникова Мария Александровна***

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия*

*klyuchnikova@gmail.com*

Содержание и баланс стероидных гормонов в организме млекопитающих отражают социальный и репродуктивный статус особи. Выделяемые в наружную среду метаболиты стероидных гормонов рассматривают в качестве кандидатов на роль химических сигналов. В качестве модельного сигнала в наших исследованиях был использован стероид гонадного происхождения андростенон (АНД). Мы применяли стандартные тесты для оценки поведения мышей; уровень гормонов в плазме крови определяли методом твердофазного ИФА (готовые наборы DRG). 25 мин предъявления запаха АНД (160 мкл, 0,025 %) самцам СВА/Lac ( $n = 16$ ) приводили к изменению некоторых показателей поведения. Самцы этой линии в норме предпочитают запах эстральной самки запаху самца. В стандартном тесте самцы после экспозиции к АНД не отдавали предпочтение запаху эстральной самки ( $p = 0,7$ ), а также чаще подходили к образцу запаха самца ( $p < 0,05$ ). В том же опыте у экспериментальной группы было отмечено увеличение ориентировочно-исследовательской активности животных (по числу стоек,  $p < 0,05$ ). Результаты проведенного теста на межсамцовую агрессию по совокупности тенденции (снижение доли агрессивных животных, увеличение латентного периода первой атаки) указывают на снижение уровня агрессивности самцов гетерогенной лабораторной популяции ( $n = 24$ ) в присутствии запаха АНД (0,1 %). В качестве биохимического коррелята изменений в поведении мы рассматриваем гормон тестостерон (Т). 30 мин экспозиция к 0,1 % АНД вызывала достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение Т в плазме крови у самцов мышей линии СВА/Lac ( $n = 8$ ). При этом уровень кортикостерона — основного биохимического показателя стрессированности животных, измеренный в тех же пробах, оставался неизменен. В другом

эксперименте АНД блокировал классический тестостероновый ответ самцов СВА/Лас ( $n = 16$ ) на химические сигналы эстральной самки. Быстрая реакция — снижение  $T$  в ответ на предъявление АНД объясняет тенденцию к снижению агрессивного поведения и предпочтения запаха эстральной самки. Повышенный уровень активности самцов в открытом поле после предъявлений АНД также можно связать с известным анксиолитическим действием тестостерона. Совокупность полученных нами данных свидетельствует о возможной феромональной роли летучих стероидов в регуляции социального поведения у домовых мыши.

*Поддержано грантами МК-709.2012.4 и РФФИ 12-04-32079 мол\_а.*

### **Роль оксида азота в фотоиндуцированном повреждении нейронов и глиальных клеток**

***Ковалева В.Д., Бережная Е.В., Рудковский М.В., Узденский А.Б.***

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, Ростов-на-Дону, Россия*

*veko1989@gmail.com*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) используется для разрушения злокачественных клеток в онкологии, в частности при лечении опухолей мозга. В настоящей работе была изучена роль NO-зависимых сигнальных процессов в фотодинамическом повреждении нейронов и глиальных клеток (ГК). Объектом исследования служил рецептор растяжения рака, состоящий из двух механорецепторных нейронов, окруженных глиальными клетками. Фотосенсибилизированные механорецепторные нейроны (МРН) речного рака облучались лазером. Некроз и апоптоз ГК и нейронов оценивали с помощью флуорохромирования иодидом пропидия и Hoechst-33342.

Контрольные нейроны, не подвергавшиеся никаким воздействиям, работали в темноте в среднем 6–8 часов. Спонтанный некроз нейронов и ГК, а также апоптоз ГК практически не наблюдался. NO-модуляторы в темновых условиях не влияли на продолжительность нейронной активности и некроз нейронов, а также на апоптоз и некроз ГК. Лазерное облучение или Фотосенс по-отдельности также не оказывали на нейроны и глию существенного влияния. ФД воздействие, на 96 % ( $p < 0,001$ ) сокращало длительность импульсации нейронов и увеличивало частоту некроза нейронов и ГК на 99 и 97 % ( $p < 0,001$ ), а также апоптоза ГК — на 88 % ( $p < 0,01$ ).

NO-генератор NONOate (100 мкМ) снижал процент некроза нейронов и ГК на 52 и 41 % ( $p < 0,05$ ). Кроме того, в присутствии 100 мкМ NONOate апоптоз ГК увеличивался на 39 % ( $p < 0,05$ ). Другой NO-генератор SNP (10 мкМ) снижал уровень ФД-индуцированного некроза ГК на 46 % ( $p < 0,05$ ) и проявлял сходные тенденции к изменению уровня некроза нейронов и апоптоза ГК.

Ингибитор нейрональной NO-синтазы, L-NAME (1 мМ) не влиял на уровень ФД-индуцированного некроза нейронов, но усиливал ФД-индуцированный некроз ГК на 16 % ( $p < 0,01$ ) и снижал уровень апоптоза глиии на 66 % ( $p < 0,05$ ). Ингибитор индуцибельной формы NO синтазы SMT (50 мкМ), как и L-NAME, сокращал уровень ФД-индуцированного апоптоза ГК на 41 % ( $p < 0,05$ ).

Известно, что NO может активировать гуанилатциклазу, участвующую в синтезе цГМФ, который, в свою очередь, активирует протеинкиназу G, регулирующую различные клеточные функции, включая и апоптоз. Для изучения потенциального участия PKG в ФД-индуцированных реакциях и смерти нейронов и ГК, мы использовали ингибитор этого фермента KT5823 (10 мкМ). В присутствии этого ингибитора наблюдалось достоверное снижение некроза ГК на 55 % ( $p < 0,05$ ). В темновых условиях KT5823 увеличивал уровень апоптоза ГК на 42 % ( $p < 0,05$ ). Однако при фотодинамическом воздействии он предотвращал фотоиндуцированное увеличение апоптоза ГК.

Таким образом, методом ингибиторного анализа было подтверждено антинекротное действие NO на ГК, а также участие нейрональной NO синтазы в защите ГК. Применение различных ингибиторов NO синтаз показало, что антинекротное действие NO, в частности на ГК, связано с активацией скорее нейрональной, чем индуцибельной изоформы фермента. Проапоптозный же эффект, напротив, в какой-то мере связан с активацией индуцибельной формы NO синтазы. Этот эффект, вероятно, может опосредоваться протеинкиназой G,

активируемой вследствие NO-зависимого синтеза цГМФ, поскольку ингибирование этой протеинкиназы снижало фотоиндуцированный апоптоз ГК.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-32089 и Минобрнауки №4.6142.2011.*

### **Электрические свойства нейронов вентрального таламуса новорожденных крысят**

**Королева К.С., Яковлев А.В., Хазипов Р.Н.**

*Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

*Институт Нейробиологии Средиземноморья, Марсель, Франция*

*kseniya.ks29061991@yandex.ru*

Таламус является главным интерфейсом между внешним миром и корой головного мозга млекопитающих животных. То, каким образом во время развития информация передается с сенсорной периферии в кору, критически зависит от значения мембранного потенциала нейронов релейного таламуса, и имеет важную роль в формировании так называемых кортикальных карт. В связи с этим, целью данной работы является определение истинного значения мембранного потенциала нейронов таламуса у новорожденных крысят.

Эксперименты проводились на срезах ВПМ ядра таламуса крысят во время первой недели после рождения. Значения мембранного потенциала были измерены с использованием метода регистрации одиночных ионных каналов НМДА типа в конфигурации «на клетке». В каждом эксперименте регистрация активности НМДА каналов проводилась на различных потенциалах на пэтч электроде в диапазоне от +20 до -120 мВ с шагом в 10 мВ.

На основании амплитуд токов через одиночные НМДА каналы, зарегистрированных при различных потенциалах на электроде, была определены вольт-амперные характеристики НМДА-токов для каждой клетки. Реверсия токов происходила при потенциале на электроде —  $73 \pm 1$  мВ ( $n = 15$ ). Эти значения соответствуют значению мембранного потенциала покоя в ВПМ нейронах. При анализе возрастной зависимости этого параметра нами не было обнаружено никаких достоверных изменений значения мембранного потенциала во время этого периода ( $R = 0,25 \pm 3,1$ ;  $n = 15$  клеток;  $P = 0,36$ ).

### **Исследование токсичности экстракта *Gratiola officinalis* L.**

**на лабораторных мышах и личинках хирономид**

**Курчатова Мария Николаевна, Наволокин Никита Александрович**

*Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского*

*Минздрава РФ, Саратов, Россия*

*kurchatova.marya@yandex.ru*

В настоящее время существуют разные методы оценки и определенные принципы подбора тест-объектов для анализа лекарственных средств природного происхождения (ЛСПП) в доклинических испытаниях на разных уровнях организации: организменном и клеточном; геномном, хромосомном и геномном. Показателями токсичности на организменном уровне служат значения полулетальных концентраций ( $LC_{50}$ ) или доз ( $LD_{50}$ ), характер кумуляции и др.

Цель настоящего исследования — оценить токсичность и характер кумуляции экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.), содержащего биофлавоноиды, на белых беспородных мышах и водных личинках двукрылых насекомых — *Chironomus riparius*.

Экстрагировались листья и цветки аврана лекарственного *Gratiola officinalis* L. Установление полулетальных доз ( $LD_{50}$ ) проводили на белых беспородных мышах, — полулетальных концентраций ( $LC_{50}$ ) и характер кумуляции — на личинках двукрылых насекомых — хирономидах *Chironomus riparius* Meigen, 1804.

Полулетальная доза ( $LD_{50}$ ) экстракта аврана на лабораторных мышах при внутрибрюшинном введении составила более 1500 мг/кг (2375 мг/кг). Полулетальная концентрация ( $LC_{50}$ ) экстракта, установленная на *Chironomus riparius* составила 2280 мг/л. Согласно классификации вредных веществ по степени токсичности и опасности исследуемый экстракт относится к IV классу токсичности (малотоксичные вещества). Экстракт аврана обладает слабой степенью кумуляции ( $TL_{50} < 12$ ).

## Изучение генотоксического действия нитрозодиметиламина с помощью метода ДНК-комет

*Ловинская Анна Владимировна, Касен Айдана Бекболаткызы,*

*Амержанова Динара Багдатовна*

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

*ankalav@mail.ru*

К проблемам, связанным с ракетно-космической деятельностью, следует отнести загрязнение окружающей среды отделяющимися частями ракет-носителей, а также токсическими компонентами ракетного топлива (гептил и его производные, азотный тетраоксид и др.). До настоящего времени широкое применение находит ракетное топливо на основе несимметричного диметилгидразина (НДМГ, гептил), высокотоксичного вещества 1-го класса опасности. Метаболитом НДМГ в окружающей среде является нитрозодиметиламин (НДМА), который в 10 раз токсичнее самого гептила. Достаточно хорошо изучены токсические свойства нитрозодиметиламина, однако, его ДНК-повреждающие эффекты практически неизвестны. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение генотоксического действия НДМА на экспериментальных животных.

Объектами исследования явились висцеральные органы (печень, селезенка, легкие, почки) лабораторных мышей. Определение генотоксического действия НДМА проводили с помощью щелочной вариации метода ДНК-комет. Для интоксикации животных использовали водные растворы НДМА. Введение ксенобиотика осуществляли внутривентриально в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг. Было использовано 25 мышей линии *BALB/cYwal* в возрасте 2–3 месяцев, содержащихся в стандартных условиях вивария. В каждой контрольной и опытных группах было по 5 мышей. Время воздействия составило 4 часа.

Степень повреждения ДНК клеток органов изучали в соответствии с рекомендациями «Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений».

В контроле содержание ДНК в «хвосте кометы» составляло 1,15 % (легкие), 0,96 % (селезенка), 1,23 % (почки), 1,51 % (печень). При введении мышам 10 мг/кг НДМА ДНК-повреждающая активность в клетках изучаемых органов проявлялась следующим образом: легкие, селезенка, почки, печень — 6,76 %; 6,67 %; 14,31 % и 11,32 % ДНК в хвосте кометы, соответственно, а при введении 20 мг/кг — 10,13 %; 14,91 %; 28,40 % и 28,96 %, соответственно. Как видно из полученных результатов увеличение дозы НДМА усиливает ДНК-повреждающее действие НДМА у мышей.

Таким образом, в результате проведенных исследований определены органы-мишени у экспериментальных грызунов при интоксикации НДМА. В печени, селезенке, почках и легких опытных животных выявлены генотоксические эффекты изучаемого ксенобиотика, проявляющиеся в одонитевых разрывах ДНК.

*Работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР № 0112РК00580.*

### **Влияние сероводорода на сократимость миокарда лягушки**

#### **в условиях активации мускариновых холинорецепторов**

*Мальцева Алина Григорьевна*

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*maltsewaalina@yandex.ru*

Сероводород ( $H_2S$ ), наряду с оксидом азота (NO) и монооксидом углерода (CO), принадлежит к новому классу эндогенных «газомедиаторов». Ранее нами было показано, что  $H_2S$  обладает отрицательным инотропным эффектом в миокарде лягушки и это влияние связано с изменением активности цАМФ-зависимого пути. Целью работы было исследование влияния  $H_2S$  на сократимость миокарда лягушки *Rana ridibunda* в условиях активации мускариновых холинорецепторов. В качестве донора  $H_2S$  использовали гидросульфид натрия (NaHS). Эксперименты по регистрации сократимости проводили на изолированных полосках миокарда лягушки с помощью 4-х канальной миографической установки (Biopac, США), согласно общепринятым подходам. Аппликация NaHS в концентрации 100 мкМ приводила к снижению силы сокращения полоски миокарда желудочка лягушки до  $68 \pm 4\%$  ( $n=13$ ,  $p < 0,05$ )

по отношению к контрольному уровню. Агонист мускариновых холинорецепторов карбахолин (0,01 мкМ) в части экспериментов понижал амплитуду сокращения до  $46 \pm 7\%$  ( $n = 10$ ,  $p < 0,05$ ). На фоне действия агониста аппликация NaHS (100 мкМ) не приводила к снижению, сила сокращений увеличилась до  $136 \pm 12\%$  ( $n = 10$ ,  $p > 0,05$ ). В другой части экспериментов аппликация карбахолина (0,01 мкМ) не приводила к изменению силы сокращения, она осталась на прежнем уровне, составив  $100,7 \pm 0,1\%$  ( $n = 7$ ,  $p < 0,05$ ). Дальнейшая аппликация NaHS (100 мкМ) на фоне действия агониста приводила к снижению силы сокращения до  $60 \pm 9\%$  ( $n = 7$ ,  $p < 0,05$ ), что не отличалось от эффекта NaHS в контроле. Согласно литературным данным для проявления отрицательного инотропного эффекта карбахолина необходима базовая активация аденилатциклазы, а отрицательный инотропный эффект стимуляции мускариновых рецепторов может быть связан с активацией цГМФ-зависимых фосфодиэстераз в результате активации синтеза NO и цГМФ. Предполагается, что цГМФ-зависимые механизмы участвуют в реализации отрицательного инотропного эффекта NaHS в миокарде лягушки.

*Научный руководитель — д-р биол. наук, проф. Ситдикова Г.Ф.*

**Изучение влияния мелатонина на развитие индуцированного цирроза печени с помощью анализа содержания 8-оксо-2'-дезоксигуанозина**  
**Мармий Н.В.<sup>2</sup>, Невредимова Т.С.<sup>1</sup>, Кулигина К.А.<sup>2</sup> Налобин Д.С.<sup>2</sup>, Чернышева М.Б.<sup>2</sup>, Василегина Ю.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В.Ломоносова*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*tarmiyuv@gmail.com*

Ряд исследований последнего времени показывает, что многие патологические процессы, такие как рак, цирроз, астма, артрит, воспалительные, нейродегенеративные и аутоиммунные заболевания, протекают на фоне выраженного окислительного стресса. Определение связи между изменениями уровня окислительного стресса и динамикой заболеваний является одной из наиболее интересных и актуальных задач в современном научном мире. Окислительным повреждениям подвергаются липиды, белки и, в конечном итоге, нуклеиновые кислоты. 8-оксо-2'-дезоксигуанозин является широко исследуемым продуктом воздействия активных форм кислорода на ДНК. В нашей лаборатории отработан метод измерения отношения [8-охо-dG]/[dG] с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с амперометрической детекцией.

В данной работе с помощью этого метода было изучено влияние мелатонина на развитие цирроза, искусственно вызванного регулярным введением четыреххлористого углерода у мышей линии C57BL/СВА. Эта модель соответствует вариантам токсического цирроза с постоянным поступлением провоцирующего фактора (в том числе, распространенному алкогольному поражению, лекарственному и вызванному работой с вредными веществами). Динамика развития заболевания, а также эффективность применения гормонального препарата — мелатонина, оценивалась с помощью отношения [8-охо-dG]/[dG] в ДНК, выделенной из печени испытуемых животных.

Исследуемый препарат на сегодняшний день на рынке используется только для лечения бессонницы и других сбоев суточного ритма. В связи с этим актуально исследование других аспектов применения мелатонина, в частности его антиоксидантного действия.

Животные были разделены на 5 групп: 1) контрольная группа (группа интактных животных) — животные не подвергались никаким стрессорным воздействиям; 2) опытная группа — животные, которым внутрибрюшинно вводили только персиковое масло; 3) опытная группа — животные, которым внутрибрюшинно вводили CCl<sub>4</sub>; 4) опытная группа — животные, которым внутрибрюшинно вводили CCl<sub>4</sub>, и поили мелатонином; 5) опытная группа — животные, которых поили мелатонином.

Результаты исследования показали изменение отношения [8-охо-dG]/[dG] в ДНК печени мышей под действием тетрахлорметана и мелатонина. Была проведена оценка возможности использования мелатонина в качестве антиоксидантного и гепатопротекторного препарата при остром токсическом воздействии на печень. Показана возможность использования 8-охо-dG

в качестве биомаркера при мониторинге течения заболевания, а также при проверке действия лекарственных препаратов.

### **Влияние неонатального введения флувоксамина на физическое развитие, поведение и серотонинергическую систему детенышей белых крыс**

**Мерчиева Светлана Анатольевна**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*svetlanamerchieva@yandex.ru*

Флувоксамин является селективным ингибитором обратного захвата серотонина. Препараты этой группы широко используются для лечения депрессивных расстройств, в том числе у беременных и кормящих женщин. Однако последствия перинатального воздействия этих препаратов на плод недостаточно изучены. Целью представленной работы явилось изучение эффектов хронического неонатального введения селективного ингибитора обратного захвата серотонина флувоксамина детенышам белых крыс.

Работа выполнена на детенышах белых беспородных крыс обоего пола. Каждый выводок крысят делили на 2 группы. Половине крысят с 1 по 14 день жизни ежедневно внутрибрюшинно вводили водный раствор флувоксамина (ФА) в дозе 10 мг/кг в объеме 2 мл/кг. Остальные животные получали ежедневные инъекции растворителя в аналогичном объеме. У крысят ежедневно регистрировали изменение массы тела и возраст открытия глаз. Часть животных в возрасте 15 дней декапитировали и затем методом ВЭЖХ измеряли содержание серотонина и его метаболита в различных структурах мозга. В возрасте 30 дней оценивали поведение животных в тесте открытое поле и тесте приподнятый крестообразный лабиринт.

Наши эксперименты показали, что процент летальности в группе с введением ФА был достоверно выше, чем в контроле. Кроме того, ФА приводил к достоверному снижению возраста открытия глаз у крысят обоего пола. У самцов крыс, получавших ФА, отмечалось замедление соматического роста с 6 по 19 день жизни. При этом масса тела самок, получавших инъекции ФА, значимо от контроля не отличалась. У животных, получавших ФА, было зарегистрировано увеличение содержания метаболита серотонина 5ГИУК в гиппокампе, стриатуме, гипоталамусе и фронтальной коре. Также было показано, что введение ФА приводит к увеличению уровня тревожности и снижению исследовательской активности крыс в возрасте 30 дней.

Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническое неонатальное введение ФА детенышам белых крыс влияет на физическое развитие, приводит к увеличению тревожности и снижению исследовательской активности. В основе наблюдаемых эффектов лежит изменение функциональной активности серотонинергической системы мозга. Эффекты препарата зависят от пола животных.

### **Роль Е-пептида механозависимого фактора роста в анаболическом сигналинге скелетной мышцы крысы в условиях регулярной физической нагрузки**

**Мирзоев Тимур Махмашарифович**

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

*tmirzoev@yandex.ru*

Из литературы известно, что Е-пептид механозависимого фактора роста рассматривается как аутокринный фактор роста, активирующий сателлитные (стволовые) мышечные клетки, принимающие участие в гипертрофии и восстановлении мышц. Однако в настоящее время вопрос о механизмах влияния Е-пептида на скелетную мышцу *in vivo* является малоизученным. В связи с этим, в рамках данной работы было проведено исследование влияния Е-пептида на анаболические сигнальные пути в *m. gastrocnemius medialis* крысы на фоне тренировки. В эксперименте было использовано 32 крысы, которые произвольным образом были разделены на следующие 4 группы: 1) «Контроль + ФР» (n = 10); 2) «Контроль + Е-пептид» (n = 10); 3) «Бег + ФР» (n = 6); 4) «Бег + Е-пептид» (n = 6). Где физраствор (ФР) выступал в качестве

плацебо. Крысы подвергались тренировкам 1 месяц 5 раз в неделю. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Методом вестерн-блоттинга было исследовано содержание анаболических маркеров p-p70S6K (сигнальный путь Akt-mTOR) и p-p90RSK (сигнальный путь ERK1/2).

Содержание p-p70S6k в группе «Бег+Е-пептид» было в 5,9 раза выше ( $p < 0,01$ ), чем в группе «Бег+физраствор» (контроль). В группах без физических нагрузок наблюдалась аналогичная тенденция при отсутствии достоверных изменений. Достоверных отличий по содержанию фосфорилированной рибосомальной киназы p90RSK в группах с введением Е-пептида выявлено не было. В группах без тренировки была отмечена недостоверная тенденция к увеличению количества p-p90RSK по сравнению с группой «Контроль+ФР», чего не наблюдалось в тренировавшихся группах.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что ответ внутриклеточных анаболических сигнальных систем на введение Е-пептида зависел от уровня мышечной активности. Так, при введении препарата Е-пептида на фоне физической нагрузки, прежде всего, активировался сигнальный путь Akt-mTOR-p70S6K, тогда как при его введении нетренированным животным наблюдалась активация каскада Erk1/2.

*Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-00504.*

## **Механизмы регуляции тонуса артерий брыжейки АМФ-активируемой протеинкиназой у крыс**

***Моргунова Галина Васильевна***

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*gvmorgunova@gmail.com*

Сравнительно недавно было показано, что АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК) играет регуляторную роль как в эндотелиальных, так и в гладкомышечных клетках артерий. Вазорелаксирующее влияние АМРК реализуется путем активации эндотелиальной NO-синтазы и ингибирования киназы легких цепей миозина в гладкой мышце. Однако такие данные были получены в основном на препаратах аорты или других артерий эластического типа, и почти нет данных о роли и механизмах влияния АМРК на тонус резистивных сосудов. **Целью** данной работы было исследовать участие АМРК в регуляции тонуса мелких артерий брыжейки, которые регулируют кровоснабжение тонкого кишечника.

В работе использовали самцов крыс Вистар массой тела 350–400 г. Из артерий брыжейки вырезали сегменты длиной 2 мм и закрепляли их в системе, предназначенной для регистрации реакций в изометрическом режиме (wire myograph, DMT A/S). Исследовали эффекты фармакологической активации АМРК с помощью вещества АICAR (100 мкМ, инкубация в течение 60 мин) на сокращение артерий, вызванное агонистом  $\alpha_1$ -адренорецепторов метоксамином (МХ).

Инкубация с АICAR значительно подавляла сократительные ответы артерий: максимальная реакция на МХ уменьшалась на 11 %, а концентрация МХ, соответствующая 50 % реакции ( $EC_{50}$ ) увеличивалась в 3,6 раза. В сосудах с удаленным эндотелием АICAR также приводил к уменьшению сокращения артерий на МХ, но его влияние было намного менее выраженным ( $EC_{50}$  увеличивалась всего в 1,5 раза, максимум реакции не изменялся). При ингибировании эндотелиальной NO-синтазы (L-NNA, 100 мкМ) эффект АICAR был меньше, чем в интактных сосудах, но больше, чем в сосудах без эндотелия (увеличение  $EC_{50}$  в 2,2 раза без изменения максимума реакции).

Таким образом, в артериях брыжейки релаксирующее влияние АМРК реализуется в основном на уровне эндотелия и лишь в незначительной степени на уровне гладкой мышцы. Активация АМРК приводит к увеличению продукции NO, а также других эндотелиальных релаксирующих факторов, природу которых мы планируем исследовать в ближайшее время.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 12-04-01665-а).*

## **Эффекты фрагментов обестатина на массу тела, пищевое и питьевое введение при однократном введении**

**Моторыкина Е.С., Хиразова Е.Э**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*  
*motorykina.katerina@gmail.com*

Обестатин — недавно открытый пептид, состоящий из 23 аминокислот, и предположительно являющийся одним из эндогенных регуляторов аппетита. В ряде работ показано анорексигенное действие обестатина (Zhang J.V. Science, 2005, V.310, P.996-999), тогда как в других исследованиях таких эффектов выявлено не было (Gourcerol. Peptides, 2006, V.27, T.11, P.2811-2819). В литературе встречаются достаточно противоречивые данные об эффектах фрагментов обестатина. По одним данным наибольшим анорексигенным эффектом обладает фрагмент 1-13 (Nagaraj S. Regul Pept. 2009. V.158. P.143-148), по другим — 11–23 (Subasinghage A.P. Peptides. 2010. V.31. №9. P.1697-1705). Анализа действий других фрагментов обестатина не проводилось. Целью данного исследования являлось изучение действия различных фрагментов обестатина на изменение массы тела, потребление пищи и воды в условиях *ad libitum* и на фоне депривации. Для изучения были выбраны фрагменты 1–4, 11–23 и 16–23. Эксперименты проводились на самцах белых крыс (n = 36) весом 250–300 г. Опытным животным интраназально вводили фрагменты обестатина в дозе 300 нмоль/кг. Контрольные животные получали соответствующий объем физиологического раствора. Через сутки и через 8 дней после введения веществ регистрировали уровень пищевой мотивации после 24 часовой пищевой депривации, а также измеряли уровень глюкозы после окончания пищевой депривации в динамике. В течение всего времени эксперимента проводили измерение массы тела животных, количество съеденной ими пищи и воды в условиях *ad libitum*.

При введении фрагмента 1–4 наблюдалось снижение массы на 1 сутки, а так же, начиная с 5 суток регистрации. Фрагмент 16–23 вызывал снижение массы тела на 1 сутки и с 5 по 8 сутки после введения. Тогда как введение фрагмента 11–23 не вызывало снижения массы тела. Анализ потребления воды выявил однонаправленное действие исследуемых фрагментов обестатина на данный показатель в сторону его снижения. Так введение фрагмента 1–4 приводило к значимому уменьшению потребления воды на 1, 7 и 8 сутки, фрагмент 11–23 снижал потребление питья на 3, 7 и 8 сутки, а фрагмент 16–23 на 1, 2 и 3 сутки после введения. Эффекты фрагментов обестатина на изменение потребления корма носили различный характер. Фрагменты 1–4 и 11–23 уменьшали потребление корма (на 2,4 сутки и 1,2,4 сутки соответственно), тогда как фрагмент 16–23 не оказывал никаких эффектов на данный показатель. Ни один из фрагментов не оказал влияние на уровень пищевой мотивации после депривации и на уровень глюкозы в крови.

Таким образом, эффекты фрагментов 1–4, 16–23 и 11–23 на массу тела, потребление корма и воды как правило носят однонаправленный характер, кроме того ни один из исследуемых фрагментов не оказал влияние на уровень пищевой мотивации и динамику изменения уровня глюкозы.

## **Особенности регуляции поступления ионов кальция в цитоплазму арахидоновой кислотой в клетках линии C2C12**

**Муслихов Эльдар Рамильевич**

*Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия*  
*eldr87@gmail.com*

Арахидоновая кислота (АК), вырабатываемая из фосфолипидов клеточных мембран, участвует в регуляции сигнальных белков в клетке. Кроме того, АК может участвовать в непосредственной регуляции некоторых процессов. Были выявлены специфически активируемые АК кальциевые каналы, названные ARC, в состав которых входит белок Orai3, детектируемый в клетках скелетной мускулатуры.

Целью нашей работы было определить возможные пути действия АК в скелетных миотубулах линии C2C12.

Исследования проводили на культурах клеток линии C2C12 (скелетные миобласты, полученные из бедра задней конечности мыши, коллекция АТСС). Дифференцировку вызывали заменой среды культивирования (DMEM), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, на среду, содержащую 2 % лошадиной сыворотки. Изменения концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) отслеживались при помощи флуоресцентного микроскопа с использованием кальциевого зонда Fura-2.

Было показано, что АК вызывает значительное повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в миотубулах C2C12. Этот эффект проявляется вне зависимости от содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  во внеклеточной среде, т.е. задействованы эндогенные источники — внутриклеточные депо. В недифференцированных миобластах той же линии, повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  при действии АК практически незаметно. Для определения мишени, на которую направлено действие АК, мы использовали блокаторы ряда каналов, осуществляющих выброс ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных депо: рианодин-чувствительных каналов (RyR), двупоровых каналов (TPC), а также фосфолипазы C (PLC), участвующей в активации инозитолтрифосфат-активируемых каналов. Значительное влияние на динамику изменения  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в ответ на действие АК оказывали ингибитор RyR — дантролен а также ингибитор PLC — U72122 (1-(6-((17 $\beta$ -3-methoxyestra-1,3,5(10)-trien-17-yl)amino)hexyl)-1H-pyrrole-2,5-dione). Однако, последний сам вызывал продолжительный подъем  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  в миотубулах.

Полученные данные указывают на то, что ключевую роль в повышении  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  при действии АК играют рианодин-чувствительные каналы саркоплазматического ретикулула. Схожее действие АК было показано и ранее на  $\beta$ -клетках, в которых, как известно, также присутствуют RyR.

### **Влияние сероводорода на активность кальций-активируемых калиевых каналов в культуре ГНЗ клеток гипофиза крысы**

*Мустафина А.Н., Гайфуллина А.Ш.*

*Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

*al-must@yandex.ru, gayfullina.a@mail.ru*

Сероводород ( $\text{H}_2\text{S}$ ) — газообразный посредник, синтезируемый эндогенно в клетках организма. Мишенями действия  $\text{H}_2\text{S}$  являются ионные каналы, транспортеры, ферменты. Са-активируемые К-каналы большой проводимости (ВК-каналы) играют важную роль в электрической активности возбудимых клеток. Культура ГНЗ клеток гипофиза крысы широко используется для исследования активности ВК каналов в естественных условиях. Целью работы было оценить эффекты  $\text{H}_2\text{S}$  на ВК каналы в культуре ГНЗ клеток с использованием метода регистрации одиночных ионных каналов.

Эксперименты проводились на культуре гипофизарных клеток крысы ГНЗ. Регистрировали ионные токи в режимах отведения whole-cell и активность одиночных ионных каналов в конфигурации outside-out. Стандартный внеклеточный раствор содержал в мМ: 145 NaCl, 5 KCl, 1 MgCl<sub>2</sub>, 1 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, pH 7.2, осмолярность 305 мОсм. Внутрипипеточный раствор содержал в мМ: 145 KCl, 1 MgCl<sub>2</sub>, 5 EGTA, 3,63 CaCl<sub>2</sub> (0,5 мкМ свободного  $\text{Ca}^{2+}$ ), 10 HEPES, pH 7,2. Ионные токи вызывались в ответ на серии деполяризующих импульсов от -60мВ до +150мВ с шагом в 20мВ.

Апликация донора  $\text{H}_2\text{S}$  NaHS в концентрации 300 мкМ во внеклеточный раствор приводила к значительному усилению выходящих калиевых токов в режиме регистрации whole-cell. Для выявления зависимости эффекта NaHS на активность ВК-каналов NaHS (300мкМ) апплицировали при различных потенциалах фиксации — от -30 до +30 мВ. Наибольшее увеличение токов наблюдалось на третьей минуте после добавления NaHS. Было предположено, что усиление выходящих токов связано с активацией ВК-каналов. В конфигурации outside-out регистрировали активность одиночных ВК-каналов.

Вероятность открытия каналов ( $P_o$ ) увеличивалась до  $126 \pm 9 \%$  при потенциале 0 мВ ( $n = 4$ ,  $P < 0,05$ ), до  $165 \pm 7 \%$  при потенциале +30 мВ ( $n = 5$ ,  $P < 0,05$ ), что указывает на то, что NaHS усиливает активность ВК-каналов потенциалзависимым образом. При этом амплитуда токов при действии NaHS не изменялась.

Таким образом, донор NaHS усиливает выходящие токи в культуре клеток GH3 гипофиза крысы и повышает активность ВК-каналов.

### **Эндотелий-зависимые механизмы сосудорасслабляющего действия пероксида водорода**

*Надеев Александр Дмитриевич, Жарких Ирина Леонидовна,  
Авдонин Павел Владимирович, Гончаров Николай Васильевич*

*Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия*

*nadeev87@mail.ru*

Активные формы кислорода (АФК), включая пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), изначально считавшиеся токсичными продуктами клеточного метаболизма, теперь признаны важными сигнальными молекулами в эндотелиальных и других клетках. Известно, что пероксид водорода может действовать как вазодилататор. В экспериментах *in vivo* было показано, что гиперпродукция  $H_2O_2$  в эндотелиальных клетках (ЭК) снижает давление. Механизм действия  $H_2O_2$  до конца не изучен. Целью данной работы было выяснить влияние  $H_2O_2$  на динамику изменений цитоплазматической концентрации ионов кальция ( $[Ca^{2+}]_{цит}$ ) в ЭК, а также исследовать модуляцию пероксидом водорода действия других вазодилататоров.

Силу сокращения изолированных кольцевых фрагментов аорты крысы измеряли в изометрическом режиме. Изменения  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в культивируемых ЭК пупочной вены человека регистрировали с помощью флуоресцентного зонда Calcium Green.

Нами установлено, что  $H_2O_2$  вызывает расслабление сосудов, предсокращенных норадреналином. Для выявления роли сосудистого эндотелия в этом процессе исследовали действие  $H_2O_2$  на динамику  $[Ca^{2+}]_{цит}$  в ЭК пупочной вены человека. Показано, что  $H_2O_2$  вызывает дозозависимое увеличение  $[Ca^{2+}]_{цит}$ . Это изменение не связано с входом кальция снаружи. Ингибитор двупоровых каналов Ned-19 подавлял увеличение  $[Ca^{2+}]_{цит}$ , вызванное аппликацией  $H_2O_2$ , что свидетельствует о мобилизации кальция из эндо/лизосомальных везикул. Кроме того, обнаружен эффект модуляции пероксидом водорода кальциевого ответа на различные вазодилаторные агонисты.  $H_2O_2$  потенцирует подъем  $[Ca^{2+}]_{цит}$  при воздействии агонистов 5HT1B- и 5HT2B-рецепторов CGS12066B и BW723C, агониста рецептора PAR1, а также при действии брадикинина. Отсутствие внешнего кальция не изменяет этот эффект. В то же время,  $H_2O_2$  подавляет подъем  $[Ca^{2+}]_{цит}$ , вызываемый гистамином.

Таким образом, вазодилаторное действие ПВ может быть связано с мобилизацией кальция в ЭК. Модулирующее действие ПВ на кальциевые ответы, вызванные различными вазодилаторами — важный шаг в понимании патогенеза различных сердечно-сосудистых патологий, связанных с гиперпродукцией АФК.

### **Влияние хронически потребляемых антиоксидантов флавоноида кверцетина и экстракта зеленого чая на окислительно-восстановительный баланс в крови крыс, подвергавшихся беговой нагрузке**

*Новожилов Артемий Викторович*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,*

*Санкт-Петербург, Россия*

*artnov20081@rambler.ru*

Необходимость использования антиоксидантов продиктована их способностью «улавливать» свободные радикалы, образующиеся в избыточном количестве при стрессовых воздействиях, и повреждающие клеточные структуры. Благодаря этому они способны повышать восстановительные способности тканей, что проявляется в экономии внутриклеточных и внеклеточных низкомолекулярных антиоксидантов и повышении активности антиоксидантных ферментов. Данная особенность может быть использована для противодействия окислительному стрессу в клетках и повышению работоспособности организма. Исследовалось влияние антиоксидантов на состояние антиоксидантной системы эритроцитов при регулярной беговой нагрузке у крыс (7 дней, 10 мин/день). Крысы были поделены на 4 группы: 1 — контроль, 2 — бег, 3 — бег + зеленый чай (действующие вещества:

катехины (эпигаллокатехин галлат)) (7 дней, 12 мг/кг в/ж), 4 — бег + кверцетин (7 дней, 20 мг/кг в/ж). На 7-й день крысы были подвергнуты бегу на тредмиле до отказа. Кровь собирали путем декапитации. В отмытых эритроцитах определяли концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) и активность ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (Кат), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР). Беговая нагрузка снижала активность Кат (-13 %), увеличивала активность СОД (+19 %) и повышала концентрацию ВГ (+19 %). Экстракт зеленого чая совместно с бегом повышал концентрацию ВГ на 18,3 %. Изменений в активности ферментов по сравнению с группой 2 не обнаружено. Кверцетин вызвал увеличение активности СОД, ГП и ГР (+20 %, +11,6 %, +15,7 %) и возрастание концентрации ВГ (+18,3 %) по сравнению с группой 3. Активность Кат понизилась на 16,6 %. Катехины экстракта зеленого чая оказали антиоксидантный эффект, выступив в качестве «ловушки» активных форм кислорода. Благодаря этому мощность системы низкомолекулярных внутриклеточных антиоксидантов была значительно повышена. Кверцетин обладал более сложным механизмом влияния на окислительно-восстановительный баланс крови. Наряду со способностью кверцетина «улавливать» свободные радикалы, он обладает свойством автоокисления с образованием семихинона. Последний конъюгирует с ВГ. В связи с повышенным оборотом ВГ в клетке возрастает активность ГП и ГР. Изменения активности других ферментов связаны, вероятно, со способностью продуктов самоокисления кверцетина вступать в окислительные процессы в клетках.

**Антиноцицептивный эффект сульфаминокислоты таурина  
при действии яда кавказской гюрзы (*Macrovipera lebetina obtusa*)**

**Оганесян М.Г., Дарбинян А.А.**

*Институт физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН, Ереван, Армения*

*mkrtychh@gmail.com*

Изучение механизмов действия яда змей в организме является интереснейшей проблемой протеомики и основой современных тенденций в области разработки и дизайна лекарственных препаратов широкого спектра. Известно, что яды змей, являясь функционально сбалансированным комплексом ферментативно активных и рецептор-блокирующих белков и полипептидов, оказывают разрушающее действие на организм жертвы. В частности яд кавказской гюрзы оказывает геморрагическое действие, разрушая кровеносные сосуды, приводит к внутрисосудистому свертыванию крови и многим другим повреждениям. Среди всего прочего, действие яда гюрзы приводит к развитию сильных болевых ощущений у человека и повышению уровня ноцицептивных ощущений у животных. Целью нашей работы было исследование антиноцицептивного эффекта таурина, сульфаминокислоты, обладающей антитоксическим действием против яда гюрзы. Эксперименты были проведены на 36 половозрелых самцах белых мышей. Исследования по определению латентного периода (ЛП) ноцицептивной реакции проводились с использованием прибора «Горячая пластина». ЛП определялся по лизанию задней лапы или по избегающему прыжку. Результаты исследований показали, что ЛП ноцицептивной реакции у животных, медицированных таурином на фоне в/б введения яда, был удлинён более, чем в два раза ( $48 \pm 4,6$  с против  $20 \pm 5,2$  с), по сравнению с ЛП животных, получивших только яд гюрзы. Предполагаемым механизмом действия может быть конъюгация таурина с высвобождаемой при действии яда арахидоновой кислотой, что приводит к появлению арахидоноилтаурина, взаимодействующего с TRPV1 и TRPV4 рецепторными системами. Антиноцицептивный эффект таурина, наряду с ангиопротекторным и антикоагуляционным действием, может быть использован для эффективной терапии укусов гюрзы и стать прототипом для дизайна и разработки противоболевых препаратов нового класса.

*Особая благодарность своему руководителю к.б.н. Восканяну Армену Вагинаковичу.*

## **Роль холестерина в эффектах активации бета2-адренорецепторов предсердий мыши**

***Петров Алексей Михайлович, Одношивкина Юлия Геннадьевна***

*Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

*fysio@rambler.ru*

Холестерин один из основных компонентов плазматических мембран, который участвует в регуляции толщины и текучести мембран, а также совместно со сфинголипидами организует специализированные микродомены — липидные плотники (рафты). Именно в плотниках концентрируется основная часть  $\beta$ 2-АР кардиомиоцитов. Ранее нами были обнаружены положительные инотропные эффекты активации  $\beta$ 2-адренорецепторов предсердий мыши селективным агонистом фенотеролом. В ответ на низкие дозы агониста (5 мкМ) наблюдалась отставленная реакция, а на высокие (50 мкМ) — повышение амплитуды сокращений происходило сразу после добавления фенотерола. С помощью тензометрического (установка фирмы AD Instruments) и флуоресцентных (микроскоп Olympus CX41, оснащенный независимыми двумя источниками возбуждающего света) методов исследовалась роль холестерина в эффектах активации  $\beta$ 2-адренорецепторов предсердий мыши фенотеролом (в концентрациях 5 и 50 мкМ). Для этого предварительно удаляли мембранный холестерин с помощью 5 мМ метил- $\beta$ -циклодекстрина (МЦД). Полуторачасовая инкубация в МЦД приводила к снижению содержания мембранного холестерина примерно на 35 % (оценено с помощью флуоресцентного антибиотика филипина III, который взаимодействует в соотношении 1 к 1 с молекулами мембранного холестерина). При этом регистрировалось увеличение как цитозольного систолического уровня  $\text{Ca}^{2+}$  (измерено с использованием флуоресцентного красителя Fluo-4 AM), так и продукции NO (флуоресцентный маркер DAF-FM). Последнее, вероятно, и опосредует снижение амплитуды сокращений под воздействием МЦД. Предварительная обработка МЦД существенно снижала положительные инотропные эффекты, вызываемые аппликациями 5 и 50 мкМ фенотерола. Это сопровождалось усилением продукции NO и ослаблением увеличения величины Ca-сигналов при активацией  $\beta$ 2-адренорецепторов. Следовательно, холестерин плазматических мембран регулирует внутриклеточные уровни ионов Ca и NO, и необходим для правильного сопряжения  $\beta$ 2-адренорецептора с внутриклеточными сигнальными каскадами, контролирующими сократительную функцию.

*Работа поддержана грантами МК-108.2013.4 и РФФИ №11-04-00422-а.*

## **Модификации молекулы прогестерона в 3 и 17 положениях**

**обеспечивают избирательность взаимодействия с мембранным рецептором прогестерона**

***Поликарпова Анна Вадимовна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*kairo911@gmail.com*

Стероидный гормон прогестерон абсолютно необходим для поддержания беременности, действуя на уровне транскрипции через ядерные рецепторы (nPR) и на посттранскрипционном уровне через мембранные рецепторы (mPR). Для выяснения вклада этих двух путей в действие гормона необходимо располагать избирательными агонистами и антагонистами соответствующих рецепторов. В настоящей работе производили сравнительный анализ взаимодействия с nPR и mPR впервые синтезированных в Институте органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН четырех производных прогестерона, содержащих заместители в 3 и 17 положениях молекулы гормона.

Для анализа лигандсвязывающих свойств человеческого мембранного рецептора прогестерона (hmPR) клетки пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* были трансформированы экспрессионными плазмидами с фрагментами генов трех изоформ hmPR. Лигандсвязывающие характеристики mPR $\alpha$ , mPR $\beta$  и mPR $\gamma$  в мембранной фракции клеток были получены с использованием метода конкурентного белковосвязывающего анализа с использованием [ $^3\text{H}$ ]-прогестерона. Параллельно, аналогичным методом проверяли сродство этих соединений к ядерному рецептору из матки беспородных крыс.

Результаты конкурентного анализа показали, что 3-О-метоксиминопрогестерон и 3-О-метоксимино-17-гидроксипрогестерон в виде E- и Z-эпимеров очень слабо

взаимодействуют с pPR (относительная конкурентная активность в диапазоне 0,1–1,0 % от активности прогестерона) при сопоставимом с прогестероном уровне к mPR. Эти данные указывают на то, что указанные модификации обеспечивают выраженную предпочтительность связывания с mPR. Использование соединений данной группы может способствовать более глубокому пониманию биологии прогестерона. Эти и подобные им аналоги прогестерона могут найти практическое применение в таких областях медицины, как акушерство и гинекология, терапия гормонзависимых опухолей и иммуносупрессия.

### **Гемодинамическое обеспечение двигательной активности у мышей**

***Попова Анфиса Сергеевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

*popova.anfisa@gmail.com*

Пребывание человека и животных в условиях невесомости приводит к существенному изменению гемодинамики, что является причиной снижения работоспособности после возвращения на Землю. Вегетативное обеспечение двигательной активности мышей исследовано мало, а данные о центральных гемодинамических показателях мышей в условиях микрогравитации и реадаптации к нормальной гравитации отсутствуют полностью. Эти вопросы будут исследованы в рамках планируемого на весну этого года космического проекта "БИОН-М" №1. В данной работе представлены результаты подготовки к исследованиям на мышах: исследованы реакции сердечно-сосудистой системы мышей при двигательной активности, а также проведено комплексное тестирование мышей с целью оценки изменения различных показателей во времени (30 сут).

Работу проводили на самцах мышей линии C57/BL, части из которых вживляли датчик артериального давления. Регистрацию сигнала осуществляли при помощи системы телеметрии (DSI, США). Систему PhenoMaster (TSE, Германия) использовали для непрерывной регистрации потребления корма и воды, двигательной активности в клетке и в беговом колесе, а также выработки навыков с положительным подкреплением. У животных также измеряли максимальную произвольную силу, время удержания на вращающемся стержне, переворачивания в падении и поведение в тесте "открытое поле". Обследование мышей проводили дважды — до и после 30 суточного перерыва, имитирующего полет на борту биоспутника.

Показано, что максимальная произвольная сила, тревожность, двигательная активность, потребление корма и воды, простые поведенческие реакции и рефлекс, в том числе вестибулярные, мало изменяются за 30 суток у половозрелых мышей и не различаются у животных со вживленными датчиками и без них. Для всех этих показателей характерна значительная индивидуальная вариабельность, которую необходимо учитывать при планировании и анализе результатов эксперимента. Навык пространственного распознавания сохраняется у мышей менее, чем в течение 30 суток. Определены характеристики зависимости гемодинамических показателей от величины двигательной активности у мышей, причем зависимость проявляется в комфортных для животных условиях, но не при проведении нагрузочных тестов. В последнем случае зависимость ЧСС от величины нагрузки маскирована вегетативной активацией, связанной со стрессом.

*Поддержано Программой фундаментальных исследований ОФФМ РАН.*

## **Исследование поведенческих особенностей крыс линии WAG/Rij**

**на протяжении первого месяца постнатального развития**

***Разумкина Е.В., Rogozinskaya Э.Я., Малышев А.В.***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*ev-razumkina@yandex.ru*

Крысы линии WAG/Rij являются уникальным модельным объектом за счет наличия двух патологий: генетически детерминированной абсансной эпилепсии и депрессии. Они характеризуются устойчивой спонтанной пик-волновой активностью, поэтому аудиогенная субпопуляция крыс данной линии — хорошая модель для исследования смешанной формы эпилепсии. Для электроэнцефалограммы (ЭЭГ) крыс линий WAG/Rij, так же как и для ЭЭГ пациентов с абсансной эпилепсией, характерны спонтанно возникающие генерализованные разряды пик-волна (7–9 Гц). Характерная пик-волновая активность, а также коморбидные поведенческие нарушения (ангедония, повышенная депрессивность и др.) проявляются только на 5–6 месяц жизни. О наличии патологических изменений в раннем возрасте (0–2 месяца) известно мало. Цель представленной работы заключалась в исследовании поведенческих особенностей крыс линии WAG/Rij на протяжении первого месяца постнатального развития и обнаружении предрасположенности к патологии в раннем возрасте.

В нашем исследовании было использовано 94 крысы линии WAG/Rij обоего пола. В качестве контроля использовались 84 белые лабораторные крысы. С ними проводили ряд неврологических и поведенческих тестов вплоть до возраста 50 дней, в том числе тесты, направленные на оценку социального взаимодействия.

Нами показано, что у крыс линии WAG/Rij по сравнению с контролем замедлено психомоторное и физическое развитие, повышены тревожность и депрессивность, снижена ориентировочно-исследовательская активность, изменено социальное взаимодействие. Также у крыс линии WAG/Rij нарушена ноцицепция и ухудшено обучение с отрицательным подкреплением. Ряд данных указывает на наличие стереотипии в поведении крыс линии WAG/Rij.

По результатам проделанной работы можно предположить, что развитие патологических процессов у крыс линии WAG/Rij начинается уже в течение первого месяца жизни. Зарегистрированная патологическая картина сходна по ряду показателей с картиной нарушений, выявленной нами ранее у крыс, страдающих расстройствами аутистического спектра. Изучение развития патологического очага у крыс линии WAG/Rij является очень важным, т.к. может помочь найти пути лечения эпилепсии и депрессии у человека.

## **Исследование детско-материнского взаимодействия крыс линии WAG/Rij**

***Рогозинская Э.Я., Разумкина Е.В., Малышев А.В.***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*elinamiss007@mail.ru*

Объектом нашего исследования стали детеныши крыс линии WAG/Rij в возрасте 9–15 дней. Они являются уникальным модельным объектом «двойной» патологий: генетически детерминированной абсансной эпилепсии и депрессии, которые проявляются в 5–6 месяцев. Параметры детско-материнского взаимодействия на данном модельном объекте ранее не изучались. Существует гипотеза, что вклад в развитие комплекса поведенческих нарушений у крыс линии WAG/Rij вносит дофаминергическая система мозга. Для ее исследования нами использовался клебоприд, селективный антагонист D2 рецепторов. В больших дозах (10–20 мг/кг) он используется как нейролептик и транквилизатор. Однако при снижении дозы до 0,1 мг/кг наблюдается значимое снижение зависимого от матери поведения, при этом параллельного снижения двигательной и исследовательской активности не происходит. Целью представленной работы стало исследование детско-материнского взаимодействия крыс линии WAG/Rij в норме и под воздействием клебоприда.

В представленной работе было использовано 50 контрольных крыс и 88 крыс линии WAG/Rij. С ними проводили ряд поведенческих тестов: определение двигательной активности детенышей крыс в возрасте 9 и 14 дней, тестирование «детского» (зависимого от матери)

поведения на 10 и 15 дни. На 15 день вводили клебоприд (внутрибрюшинно, в дозе 0,1 мг/кг, за 20 минут до повторного тестирования «детского» поведения).

Нами показано, что у крыс линии WAG/Rij по сравнению с контролем, снижены параметры детско-материнского взаимодействия. По результатам проделанной работы можно предположить, что развитие патологических процессов у крыс линии WAG/Rij начинается уже в течение первых двух недель жизни; было зарегистрировано негативное влияние клебоприда на уровень детской привязанности у крыс линии WAG/Rij. Полученные данные позволяют предположить, что дофаминергическая система крыс данной линии более чувствительна к фармакологическому воздействию, чем у контрольных животных.

Детско-материнское взаимодействие является одним из важнейших факторов нормального развития детенышей. Зарегистрированное нами снижение уровня детской привязанности у крыс линии WAG/Rij может само по себе являться фактором, стимулирующим дальнейшее развитие их патологического состояния.

### **Влияние продуцируемого эндотелием оксида азота на сократительные реакции артерий разных органов у крыс в раннем постнатальном онтогенезе**

*Софронова Светлана Ивановна*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*sofronova.mailbox@gmail.com*

Взросление организма млекопитающих сопряжено с глобальными изменениями в работе сердечно-сосудистой системы. Так, происходит повышение системного артериального давления, изменение механизмов регуляции сокращения гладкой мышцы сосудов и секреторной функции эндотелия. Ранее мы показали, что в подкожной артерии у 1–2-недельных крысят, в отличие от взрослых животных, тоническая продукция NO эндотелием приводит к ослаблению сократительных ответов. Кроме того, мы обнаружили, что содержание продуктов метаболизма NO в сыворотке крови новорожденных крысят значительно выше, чем у взрослых животных. В связи с этим данная работа была направлена на проверку гипотезы, что антиконстрикторное влияние NO проявляется не только в подкожной артерии, но и в сосудах большинства органов.

Эксперименты проводили на кольцевых препаратах подкожной артерии, мелких артериях почки, брыжейки и икроножной мышцы крыс в возрасте 2 нед., 4–5 нед. 10–12 нед. (взрослые). Изучали сокращение на метоксамин (MX, агонист  $\alpha_1$ -адренорецепторов) в изометрических условиях. Антиконстрикторный эффект NO оценивали по увеличению реакций сосудов в присутствии ингибитора NO-синтазы L-NNA по сравнению с неактивным аналогом D-NNA.

У животных всех возрастных групп инкубация артерий почки с L-NNA не изменяла их сократительный ответ на MX. Однако в аналогичных экспериментах на остальных трех типах артерий (брыжейки, икроножной мышцы и подкожной артерии) у 2-нед. крысят наблюдалось отчетливое повышение чувствительности к MX. Сенситизирующий эффект L-NNA уменьшался к 4-нед. возрасту, а в возрасте 10–12 нед. был минимальным в артериях брыжейки и отсутствовал в артерии икроножной мышцы и в подкожной артерии.

Таким образом, у новорожденных животных тоническая продукция NO эндотелием заметно ослабляет сократительные реакции артерий, приносящих кровь к коже, тонкому кишечнику и скелетным мышцам. Поскольку в эти сосудистые регионы поступает значительная доля сердечного выброса, антиконстрикторное влияние эндотелия может быть одной из причин низкого уровня артериального давления в первые недели после рождения. При созревании организма такое дилататорное влияние эндотелия постепенно исчезает, что согласуется с постепенным увеличением системного артериального давления до уровня взрослых животных.

**Влияние материнской депривации и неонатального хэндлинга  
на поведение детенышей белых крыс**

**Суханова Юлия Алексеевна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
sebentsova@list.ru*

Материнская депривация (отлучение детенышей от матери, МД) в ранний постнатальный период оказывает значительное влияние на развитие животных. Длительная хроническая МД вызывает долговременные негативные изменения поведения животных и рассматривается как модель неонатального стресса. Однако отставленные эффекты хронической МД недостаточно изучены и полученные результаты противоречивы. Разнообразие эффектов МД может быть связано с отличиями в протоколах экспериментов.

Целью представленной работы явилось сравнительное исследование отставленных эффектов хронической МД и неонатального хэндлинга (НХ) у детенышей белых крыс. Опыты проводились на детенышах нелинейных белых крыс обоего пола. Крысят каждого выводка делили на 3 группы — интактный контроль (ИК) (детеныши не изымались из гнезда до 28 дня жизни), МД (с 1 по 14 день крысята ежедневно помещались в индивидуальные боксы на 5 часов), НХ (с 1 по 14 день детеныши подвергались 15-минутному хэндлингу). Ежедневно регистрировали вес животных — в группах МД и НХ с 1-го, в группе ИК с 28 дня жизни. Параметры поведения крыс оценивали в тесте Открытое поле (в возрасте 30 дней). У крысят, подвергавшихся МД, в течение 2-х месяцев наблюдалось достоверное отставание по массе тела относительно групп НХ и ИК. Оценка уровня пищевой мотивации показала, что у крыс группы МД увеличен латентный период подхода к пище относительно других групп. При этом у крысят группы НХ отмечалось увеличение времени потребления и количества съеденной пищи. В тесте Открытое поле у животных, подвергавшихся МД, отмечалось снижение числа стоек и величины пробега относительно групп НХ и ИК. Изменения были более выражены при сравнении групп МД и НХ. Таким образом, ежедневная материнская депривация и неонатальный хэндлинг в течение первых недель жизни крыс приводят в дальнейшем к разнонаправленным изменениям скорости соматического роста, пищевой мотивации, тревожности и исследовательского поведения животных. Зарегистрированные изменения носят долговременный характер. Полученные данные свидетельствуют о необходимости учета всех используемых экспериментальных манипуляций при разработке адекватной модели неонатального стресса.

**Изменения материнского поведения белых крыс  
на фоне совместного введения налоксона и клебоприда**

**Танаева Ксения Кирилловна**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
ksetan@mail.ru*

Ранее нами разработана модель нарушения материнского поведения у самок крыс после острого и хронического введения селективного антагониста D2-рецепторов дофамина клебоприда. Также было показано активирующее действие опиоидного антагониста налоксона на проявления родительской мотивации. В данном исследовании проводили совместное введение обоих препаратов в эффективных дозах: за 30 минут до тестирования самки получали налоксон интраназально (1 мг/кг), а за 20 минут — клебоприд внутривентриально (0,2 мг/кг). Регистрацию материнского поведения проводили с 4 по 9 дни после родов, при этом на 5 и 7 дни самкам вводили препараты, а на 4, 6, 8 и 9 дни — физраствор. В ходе обработки усредняли значения параметров, полученные в дни с введением физраствора и препаратов. Тестирование родительских реакций проводили на арене открытого поля. Первые две минуты эксперимента оценивали уровень двигательной и исследовательской активности самок при красном освещении. Затем в центр арены помещали чашку Петри с тремя детенышами и в течение двух минут регистрировали латентные периоды и количество подходов самки к новорожденным и их переносов при красном свете. В течение следующих двух минут

аналогичные измерения проводили при ярком освещении. Ранее показано, что при введении только клебоприда наблюдается достоверное снижение среднего количества подходов к детенышам при ярком свете. При совместном введении препаратов самки совершали достоверно меньше подходов не только при ярком, но и при красном освещении. Кроме того, среднее значение латентного периода первого подхода при ярком свете было достоверно выше, существенно увеличены и латентные периоды переноса первого и третьего детеныша из центра арены. Таким образом, налоксон не заблокировал эффекты антагониста; более того, наблюдались признаки усиления депрессии материнского поведения. Возможно, это связано с тем, что на фоне клебоприда налоксон проявил свойства опиоидного агониста. Данный эффект более характерно для его относительно высоких доз налоксона — начиная с 5 мг/кг интраназально или 10 мг/кг внутривенно.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00756-а.*

### **Особенности субъективного восприятия и объективной реакции юношей на запах девушек в зависимости от сексуального опыта**

***Трасковский Вячеслав Владимирович***

*Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

*traskovskiy@mail.ru*

Для человека свойственна высокая вариабельность обонятельной чувствительности. В большинстве работ, посвященных изучению обонятельной функции, широко используются субъективные методы анализа: оценка силы, привлекательности и ассоциации к запахам, тогда как объективная сторона запахового восприятия изучена недостаточно. В настоящее время появились исследования, посвященные изучению изменения активности коры больших полушарий в ответ на предъявление запаховых стимулов.

В связи с этим целью работы явилось: изучение влияния полового опыта юношей на субъективную и объективную оценку интактных и замаскированных запахов девушек.

В исследовании донорами запахов были девушки. Сбор запаховых проб проводился в две фазы овариально-менструального цикла, с применением парфюмерией и без нее. Реципиентами запахов были юноши, имеющие различный половой опыт. Проводилось ольфакторное тестирование юношей с субъективной оценкой силы и привлекательности запаха и выявления изменений в электрической активности головного мозга в ответ на предъявление этих же запахов.

Установлено, что индивидуальная чувствительность юношей к запахам зависит от их сексуального опыта. Юноши, ведущие регулярную половую жизнь, достоверно лучше ( $p < 0,05$ ) ощущают естественные и замаскированные запахи девушек, чем юноши, не имеющие полового опыта. Они склонны оценивать телесные запахи как более интенсивные. Использование девушками духов приводит к повышению привлекательности их запахов для всех юношей, наиболее выраженной в нерцептивную фазу цикла. Применение духов с феромонами приводит к повышению привлекательности ( $p < 0,05$ ) запахов девушек для сексуально опытных юношей, тогда как юношам, не имеющим полового опыта, привлекательны девушки только в рецептивной фазе.

Фоновая ЭЭГ достоверно ( $p < 0,001$ ) различается у юношей, с разным половым опытом. ЭЭГ-реакции на запаховые стимулы у всех юношей сопровождаются снижением в альфа-диапазоне, что свидетельствует о внимании и бдительности на неосознаваемом уровне, это подтверждается доминированием альфа-1 и альфа-2 ритмов у юношей, не имеющих полового опыта, и доминированием альфа-2 ритма у юношей, ведущих регулярную половую жизнь.

**Исследование способностей к обучению мышей,  
различающихся по наследственной предрасположенности к каталепсии.**

**Влияние нейротрофического фактора мозга**

**Фурсенко Дария Викторовна, Хоцкин Никита Валерьевич**

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*cenzoored@gmail.com*

Обучение и память играют ключевую роль в жизни животных и человека. Многие нейродегенеративные процессы сопровождаются нарушением памяти и способности к обучению. Каталепсия, это состояние тонической неподвижности, которое в чрезмерно выраженной форме является синдромом нарушений функции мозга. Нейротрофический фактор мозга BDNF, участвующий в процессах формирования памяти, является перспективным методом лечения различных нейродегенеративных заболеваний. Показано, что BDNF уменьшает выраженность наследственной каталепсии у мышей. Целью данной работы было изучение способности к обучению мышей с различной предрасположенностью к каталепсии, выявление каталептической линии, страдающей нарушением памяти, и изучение влияния однократного введения BDNF на способность к обучению мышей этой линии.

Исследование проводили на половозрелых самцах мышей некаталептической линии AKR/J, и мышцах каталептических линий: CBA/Lac; ASC, полученной в ходе длительной селекции гибридов между CBA и AKR на каталепсию; AKR.CBA-D13Mit76 (D13), в которой фрагмент хромосомы 13, включающий главный ген каталепсии, был перенесен от CBA в геном AKR. Способность к обучению изучали в водном лабиринте Морриса в течение четырех дней (три теста в день). В каждом тесте определяли латентное время нахождения платформы, пройденный путь и суммарное расстояние до платформы. В отдельном эксперименте, мышам линии, показавшей наихудшие способности к обучению, вводили BDNF (300 нг/мышь) в левый желудочек мозга, контрольной группе вводили стерильную воду. Через неделю сравнивали динамику обучения в лабиринте Морриса.

Было выявлено, что показатели обучения у интактных мышей линии D13 хуже, чем у интактных мышей линий AKR, CBA и ASC, которые имеют выраженную динамику обучения, с уменьшением значений всех показателей. Конгенная линия D13 имеет значения латентного времени ( $p < 0,05$ ), пройденного пути ( $p < 0,05$ ) и суммарного расстояния ( $p < 0,05$ ) на четвертый день больше, чем у родительских линий. Введение BDNF улучшало динамику обучения у конгенной линии. По сравнению с контролем, латентное время ( $p < 0,001$ ), пройденный путь ( $p < 0,05$ ) и суммарное расстояние ( $p < 0,005$ ) достоверно меньше у опытной группы на четвертый день.

Таким образом, каталептическая линия AKR.CBA-D13Mit76 имеет нарушения в обучении, которые корректируются однократным введением BDNF.

**Влияние эндогенного и экзогенного ацетилхолина  
на кальциевый транзист в нервно-мышечном соединении лягушки**

**Хазиев Эдуард Фаритович**

*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия*

*eduard.khaziev@gmail.com*

В нервно-мышечном соединении ацетилхолин, освободившийся в синаптическую щель из холинергических нервных окончаний после их деполяризации потенциалом действия, вызывает не только генерацию постсинаптического потенциала, но и модулирует интенсивность процесса выделения последующих порций медиатора, активируя пресинаптические ауторецепторы. Эффекты эндогенного ацетилхолина воспроизводятся в экспериментах при добавлении в омывающий изолированный нервно-мышечный препарат экзогенного ацетилхолина или его аналогов, включая негидролизуемый холиномиметик карбахолин.

Действие ацетилхолина в нервно-мышечном соединении обусловлено его взаимодействием с ауторецепторами никотинового и мускаринового типа. Ранее было

показано, что угнетающий эффект карбахолина на  $\text{Ca}^{2+}$ -транзист связан с его действием как на никотиновые, так и на мускариновые рецепторы.

В данном исследовании изучали влияние экзогенного и эндогенного ацетилхолина на относительное изменение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ -транзист) в ответ на нервный импульс в нервной терминали изолированного нервно-мышечного препарата *m.cutaneus pectoris* озёрной лягушки. Оценку кальциевого транзиста производили при помощи флуоресцентного красителя Oregon Green Bapta 1. Загрузку красителя выполняли через культю нерва и осуществляли оптическую регистрацию  $\text{Ca}^{2+}$ -транзиста с помощью фотометрической установки на базе микроскопа Olympus BX-51.

Эксперименты показали, что при добавлении в раствор ацетилхолина в концентрации  $10^{-4}$  моль/л, кальциевый транзист достоверно снижается на 9%. Стоит заметить, что в синаптической щели присутствует фермент ацетилхолинэстераза, который расщепляет выделившийся в щели ацетилхолин, но концентрации  $10^{-4}$  моль/л ацетилхолин полностью не успевает расщепляться ацетилхолинэстеразой.

В следующей серии экспериментов повышали уровень эндогенного ацетилхолина блокадой ацетилхолинэстеразы прозеринном в концентрации  $10^{-6}$  моль/л. В этих экспериментальных условиях кальциевый транзист снижался на 13%, причем этот эффект снимался добавлением в раствор блокаторов никотиновых и мускариновых рецепторов д-тубокурарина и атропина в концентрациях  $10^{-5}$  моль/л и  $10^{-6}$  моль/л соответственно.

По результатам проведенных экспериментов можно заключить, что как экзогенный, так и эндогенный ацетилхолин могут участвовать в процессе регуляции входа кальция по принципу отрицательной обратной связи.

*Работа поддержана грантами РФФИ и «Ведущая научная школа».*

### **О наличии пуриnergических рецепторов в нейронах ЦНС *Helix albescens* Rossm**

***Чертаев Игорь Владимирович***

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

*5612178@ukr.net*

Известно, что пуриnergические рецепторы содержатся в нейронах центральной нервной системы (ЦНС) моллюсков *Aplysia californica* и *Limnaea stagnalis*, однако нет сведений о них в нейронах ЦНС используемого в нейрофизиологических исследованиях моллюска *Helix albescens* Rossm. Экспериментальные доказательства их наличия или отсутствия позволят правильно интерпретировать полученные на этом объекте результаты. Поэтому целью работы было выяснить, присутствуют ли пуриnergические рецепторы в нейронах ЦНС этого моллюска.

Регистрировали и сравнивали критерием Вилкоксона параметры электрических потенциалов 33 нейронов висцерального и правого париетального ганглиев ЦНС *Helix albescens* в фоне и в условиях приложения во внеклеточную среду сначала одного из веществ в концентрации  $5 \cdot 10^{-4}$  М (аспирин, ацетилсалицилат кобальта — АСК, ацетилсалицилат цинка — АСЦ), а затем раствора, содержащего это вещество и аденозинтрифосфат (АТФ) в концентрации  $5 \cdot 10^{-4}$  М. Выбор такой схемы эксперимента обусловлен тем, что АТФ — агонист  $P_2$  пуриnergических рецепторов, внутриклеточный синтез которого подавляют салицилаты.

По сравнению с фоном аспирин угнетал электрическую активность нейронов ( $n = 11$ ,  $p \leq 0,05$ ), снижая частоту генерации импульсов (ЧГИ) и амплитуду потенциалов. АСК ( $n = 11$ ) и АСЦ ( $n = 11$ ), оказывали активирующий эффект на электрическую активность, увеличивая ( $p \leq 0,01$ ) ЧГИ. Добавление АТФ во внеклеточную среду устраняло угнетение указанных параметров потенциалов исследуемых нейронов ( $n = 11$ ,  $p \leq 0,01$ ) аспирином и усиливало их активацию АСК ( $n = 11$ ,  $p \leq 0,05$ ) и АСЦ ( $n = 11$ ,  $p \leq 0,05$ ). При этом достоверно уменьшалась скорость нарастания суммарных выходящих трансмембранных ионных токов. Это указывает на ингибирующее действие АТФ на калиевые ионные каналы мембран. АТФ-зависимые калиевые ионные каналы известны в нейронах *Aplysia californica*.

Таким образом, явные различия в параметрах потенциалов исследованных нейронов ЦНС *Helix albescens* при недостатке во внеклеточной среде АТФ, вызванном нарушением его внутриклеточного синтеза салицилатами, и при добавлении АТФ свидетельствуют в пользу

наличия у них пуринаргических рецепторов. Этот факт следует учитывать при анализе экспериментальных результатов, полученных на нейронах ЦНС данного моллюска.

### **Коррекция нарушений, вызванных солями тяжелых металлов (Co, Mo, Cd) фармакологическими препаратами**

**Чсиева Мадина Олеговна, Адырхаева Заира Германовна**

*Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия  
madi-iron72@mail.ru*

В последнее время все острее стоит проблема загрязнения окружающей среды вредными компонентами, к числу которых, относятся некоторые тяжелые металлы. Особую группу вредных веществ образуют соли тяжелых металлов, которые в больших количествах содержатся в выхлопных газах автомобилей и других видах транспорта.

Работа посвящена изучению действия солей тяжелых металлов (Co, Mo, Cd) на память и ее коррекции с помощью фармакологических препаратов пиррацетама и тактивина. Для решения поставленной цели был определен ряд задач — изучить токсическое действие солей тяжелых металлов; исследовать возможность коррекции токсического воздействия солей тяжелых металлов фармакологическим препаратом ноотропом — пиррацетамом; исследовать возможность коррекции токсического воздействия солей тяжелых металлов фармакологическим препаратом иммуностимулятором — тактивинном.

Исследования проводились на 120 экземплярах белых беспородных крыс, которые были разделены на 12 групп по 10 особей. Препараты вводились внутривбрюшинно. Крыс содержали в свободном доступе к пище и воде.

В результате изучения токсического действия солей тяжелых металлов на формирование условно-рефлекторной памяти были получены данные, показывающие негативное токсическое воздействие солей тяжелых металлов на выработку навыка реакции избегания в используемой модели обучения и памяти у животных опытных групп по сравнению с контролем.

В результате исследований установлено, что психостимулятор — пиррацетам, не оказывает корректирующий механизм действия на фоне негативного токсического влияния солей тяжелых металлов; иммуностимулятор — тактивин облегчает процессы обучаемости и формирования памяти, но на фоне негативного воздействия солей тяжелых металлов оказывал незначительные корректирующие свойства.

*Авторы выражают огромную благодарность за всестороннюю поддержку и научное руководство к.б.н. Бокиевой Светлане Батырбековне.*

### **Особенности функционирования регуляторных Т-клеток человека в процессе старения**

**Чуров Алексей Викторович, Кравченко Полина Николаевна,**

**Жулай Галина Анатольевна**

*Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия  
achurov@yandex.ru*

Старение является одним из основных факторов риска развития распространенных клинических состояний и по-прежнему остается одним из наименее изученных вопросов биологии. Процесс старения затрагивает различные звенья иммунитета, однако особый интерес в этой связи представляет собой популяция регуляторных CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (Трег), поскольку нарушения численности или функций Трег-клеток были отмечены при аутоиммунных патологиях, длительно персистирующих инфекциях, опухолях, а частота этих заболеваний, как известно, увеличивается в пожилом возрасте.

Исследованы пробы периферической крови 26 здоровых доноров в возрасте от 29 до 75 лет. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием антител к мембранным антигенам CD4, CD25, CD127, CD45RO, CD39 и внутриклеточному транскрипционному фактору FoxP3 («Beckman Coulter», США).

Содержание Трег-клеток с фенотипами CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> и CD4<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> составило 20,60 ± 6,69 %, 1,61 ± 1,05 % и 7,39 ± 3,84 % соответственно (n = 26). Для изучения

возрастных различий обследуемые были поделены на группы: лица в возрасте до 45 лет и старше 45 лет. Согласно полученным данным, с возрастом увеличивается экспрессия FoxP3 — основного маркера Трег-клеток. Среди CD4-лимфоцитов с высокой экспрессией маркера CD25 (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>), численность FoxP3<sup>+</sup>-клеток в группе лиц старшего возраста было почти в полтора раза выше, чем у лиц более молодого возраста ( $p < 0,05$ ). Также с возрастом отмечается тенденция к росту численности клеток с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> ( $p > 0,05$ ). Отмечено увеличение численности клеток, экспрессирующих маркер CD45RO: содержание CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> лимфоцитов в группе лиц старшего возраста составило  $67,4 \pm 4,96$  %, тогда как в более молодой группе —  $44,8 \pm 4,51$  % ( $p < 0,05$ ). Содержание FoxP3 было наиболее высоким в популяции лимфоцитов CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>. Таким образом, с возрастом может происходить активация Трег-клеток, характеризующихся высоким уровнем экспрессии CD45RO<sup>+</sup> и FoxP3. Вероятно, лимфоциты памяти, численность которых возрастает в процессе старения, могут служить источником пула Трег-клеток, играющих существенную роль в патогенезе ряда заболеваний, ассоциированных с возрастом.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 12-04-31526 мол\_а.*

### **Изменение структуры энтеральной среды у мини-пигов по мере продвижения химуса по кишечнику**

***Шахмайкина Светлана Константиновна, Ксенофонтов Дмитрий Анатольевич,  
Басмат Анна Юрьевна***

*Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия  
semizzvetik@gmail.com*

В функционировании пищеварительной системы меньше всего изучены механизмы полостного пищеварения. В связи с этим мы изучали структуру химуса в разных отделах кишечника мини-пигов.

Образцы химуса, взятые из 12-ти перстной, тощей, подвздошной, слепой, ободочной и прямой кишок, фракционировали на пищевые частицы (ПЧ), растворимую (РФ) и плотную эндогенную (ПЭФ) фракции. Рассчитывали соотношение этих фракций в сухом и нативном химусе.

Установлено, что сухая масса цельного химуса в тонком кишечнике сохраняется в пределах 12–13 %, а в толстом отделе увеличивается до 22 %. В то же время, составные части химуса (ПЧ, РФ, ПЭФ) имеют выраженную динамику: процент ПЧ резко увеличивается от 12-ти перстной с 28 % до тощей кишки — 57 %, а в толстом отделе остается примерно на одном уровне, тогда как сухая масса РФ закономерно снижается от 12-ти перстной с 53 % до прямой кишки — 12 %. А ПЭФ остается примерно на одном уровне во всех отделах, колеблясь от 9 % до 19 %.

Однако, в нативном химусе на долю РФ и ПЭФ, составляющих единое целое, приходится от 82 % до 96 % объема, в то время, как пищевые частицы занимают только 4–17 %.

Таким образом, нами показано, что химус — это эндогенное структурированное образование, формирование которого обеспечивает гидратированная ПЭФ.

В классическом представлении полостной слизи (ПЭФ) приписывается только защитная роль. Полученные нами данные позволяют предположить, что ПЭФ выполняет и другие важные физиологические функции в процессе полостного пищеварения, изучение которых представляет большой теоретический интерес.

## **Спектральные компоненты частоты сердечных сокращений**

**как коррелируют внимания человека и связи между ними**

**Шульга Александр Владимирович, Куль Александр Васильевич**

*Национальный технический университет Украины «КПИ», Киев, Украина*

*a.shulga.v@gmail.com*

Способность человека к активному вниманию является неперенным условием любой продуктивной психической деятельности. Механизмы внимания опосредствуют алгоритм направленного психического процесса. Сосредоточение внимания вызывает определенные вегетативные изменения в организме человека, которые направлены, с одной стороны, на улучшение восприятия, внимания и памяти, а с другой — на обеспечение нужной энергией мыслительных процессов. Нами установлено, что при активации внимания и ожидания, угнетение дыхательной мышечной активности вызывает усиление дыхательной модуляции кардиоинтервалов (КИ). С изменением состояния внимания связывают изменения ЧСС в ответ на умственную нагрузку.

Считаем, что снижение ЧСС может сопровождать активационный этап внимания и фаза снижения ЧСС в условиях умственной деятельности может служить физиологическим "коррелятом" внимания. Напротив, ухудшение внимания в начале адаптации к экстремальным факторам, в том числе к изменениям сверхнизкочастотных колебаний атмосферного давления, по данным ряда авторов, коррелирует с повышением сердечного ритма. Возможность использования снижения ЧСС, как маркера ориентировочной реакции подтверждают электроэнцефалографические исследования. Во время длительного сосредоточения активируются механизмы сердечно-сосудистых реакций, сопровождающихся увеличением волн низкочастотный компонент (НЧ) модуляции кардиоинтервалов, в частности с периодом 21–23 с. Усиление дыхательной и сосудистой модуляции сердечного ритма во время более длительного умственной нагрузки рассматривают также, как электрографические компоненты ориентировочного рефлекса. Наоборот, их уменьшение интерпретируют, как оборонительный тип реакции на умственную нагрузку. Мы предполагаем, что величина и характер изменений НЧ компоненты во время состояния внимания могут быть связаны с психическим напряжением, вызванным информационной нагрузкой. Рост информационной нагрузки может быть причиной значительного уменьшения НЧ компоненты (0,1 Гц) по сравнению с меньшей информационной нагрузкой.

*Выражаем благодарность за оказанную помощь д.б.н., профессору Ю.П.Горго, а также к.б.н, старшему научному сотруднику Института физики НАН Украины.*

## **Сравнительный анализ реакции клеток ЦНС на интраназальное и интраперитонеальное введение высоких доз липополисахарида крысам**

**Щукина В.А., Харина О.В., Скоморохова Е.А.**

*НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия*

*Sch\_Viktoriya@mail.ru*

Эксперимент проводили на 30 самцах крысах Wistar. Животных случайным образом разделили на 3 группы. Животным первой группы вводили физиологический раствор (n = 6); второй — интраназально ЛПС (в дозе 1 мг/кг) (n = 12); третьей — внутрибрюшинно ЛПС (n = 12). В течение трех часов после введения ЛПС у животных измеряли температуру тела, а через 3 часа после инъекции изучали поведенческую реакцию крыс в тесте «Открытое поле». В клетках стриатума через 4 часа, 24 часа, 7 и 14 дней после инъекции ЛПС определяли уровень мРНК основных воспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ); iNOS, Iba-1 с помощью ПЦР в реальном времени.

Через час после инъекции ЛПС у животных наблюдалось повышение температуры тела на 2 градуса; эффект сохранялся до 4 часов. В тесте «Открытое поле» у всех животных, получавших ЛПС, отмечено снижение общей активности. Реакция клеток ЦНС на ЛПС во 2-й и 3-й группе была сходной. Через 4 часа у животных наблюдалось увеличение уровня мРНК TNF- $\alpha$  в 1,25 раза по сравнению с контролем; через 24 часа это значение составило 1,6.

Через 4 и 24 часа уровень мРНК ИЛ-1 $\beta$  у животных был в 2,5 (2-я группа) и в 1,5 (3-я группа) раза выше, чем в контроле. Через 7 и 14 дней уровень мРНК данных цитокинов также был повышен. Уровень мРНК iNOS через 4 часа после введения эндотоксина увеличился в 2 и 3 раза у животных 2-й и 3-й групп соответственно, а через 14 дней в 8 раз превышал контрольное значение. Через сутки во 2-й группе наблюдалось пятикратное увеличение уровня мРНК Iba-1 (маркер активации макроглии); через 7 дней уровень мРНК Iba-1 увеличился в 7 раз, а на 14 день — в 12 раз по сравнению с контролем в обеих группах. Таким образом, по исследуемым параметрам реакция клеток ЦНС на ЛПС при интраназальном и внутрибрюшинном способе введения практически не отличается.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-31065 мол\_а.*

**Анализ депрессивно-подобного поведения самцов крыс  
после однократного и хронического введения фрагмента 1-4 обестатина**

***Ягубова Светлана Сергеевна, Хиразова Елизавета Эдуардовна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*volha75@yandex.ru*

В настоящее время изучается применение обестатина в качестве одного из возможных анорексигенных пептидных регуляторов для решения проблемы избыточного веса. Ранее нами было показано, что фрагмент 1-4 наряду с обестатином влияет на ряд физиологических параметров крыс. В данной работе мы исследовали влияние данного фрагмента на уровень депрессивности у самцов белых крыс.

Самцам крыс линии Wistar весом 250–350 г (n = 91) однократно либо хронически (в течение пяти дней) интраназально в дозе 300 нмоль/кг вводили фрагмент обестатина 1-4 (FNAP). Контрольным животным вводили физиологический раствор. Уровень депрессивности регистрировали через сутки и через неделю после введения веществ в тесте «Принудительное плавание» (тест Порсолта).

Значимые ( $p < 0,05$ ) эффекты наблюдались только после однократного введения. Через сутки было зарегистрировано уменьшение латентного периода активного плавания (примерно на 70 % от контрольных значений). Через неделю были зарегистрированы: уменьшение латентного периода активного плавания (примерно на 60 %) и увеличение латентного периода иммобилизации (примерно на 20 %). Также через неделю регистрировалось увеличение суммарного времени активного плавания (примерно на 15 %), суммарное время пассивного плавания осталось практически неизменным.

Таким образом, было установлено, что однократное введение фрагмента обестатина 1-4 приводило к значимому снижению уровня депрессивности у крыс как через сутки после введения, так и через неделю, в то время как хроническое введение фрагмента не приводило к значимому изменению уровня депрессивности.

## Подсекция «ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

### Злаковые сообщества Черных земель Калмыкии

**Васькина Наталья Анатольевна**

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия*

*natalya.a.vaskina@mail.ru*

Наблюдения проведены в вегетационный сезон 2012 г. на территории, которая называется «Черные земли» и расположена в восточной части Республики Калмыкия. Согласно ботанико-географическому районированию эта территория относится к пустынной зоне. Для пустынной зоны характерной жизненной формой являются полукустарнички, преимущественно виды рода *Artemisia*. В настоящее время в растительном покрове зональных бурых полупустынных почв легкого гранулометрического состава преобладают не полынные, а злаковые растительные сообщества: тырсовоковыльные, ломкожитняковые.

Тырсовоковыльные (*Stipa capillata*) сообщества образуют растительные комплексы с лерхополынными и чернополынными фитоценозами на солонцах полупустынных либо формируют однородные контура. Кроме ковыля, в фитоценозах отмечены другие многолетние злаки *Festuca valesiaca*, *Agropyron fragile*, полукустарнички *Kochia prostrata*, *Artemisia lerchiana*. Весной между дернинами ковыля развиваются эфемероиды *Poa bulbosa* и *Carex stenophylla*, летом — однолетние виды *Ceratocarpus arenarius* и *Salsola australis*. Ломкожитняковые (*Agropyron fragile*) сообщества занимают меньшие площади по сравнению с тырсовоковыльными. Обычно их участие в растительном комплексе не превышает 30 %. Разнообразен видовой состав эфемеров, из которых наиболее обильны *Alyssum turkestanicum*, *Trigonella orthoceras*, *Senecio vernalis*, *Sisymbrium loeselii*. Из многолетних видов присутствуют эфемероиды *Poa bulbosa* и *Carex stenophylla*, полукустарничек *Artemisia lerchiana*. Перечисленные сообщества сформировались на месте зональных лерхополынных сообществ на участках, где растительность подвергалась воздействию огня, поскольку почки возобновления злаков меньше повреждаются при пожаре по сравнению с почками возобновления полыней.

Аналогичную ситуацию наблюдали на закрепленных песках, где лерхополынные сообщества сменились ломкожитняковыми. Травостой их формируют *Agropyron fragile*, *Salsola australis*, *Anisantha tectorum*, *Eragrostis minor*, *Artemisia scoparia*. Единично встречаются *Artemisia tschernieviana*, *Agriophyllum squarrosum*, *Corispermum aralo-caspicum*, *Achillea tenuifolia*, *Gypsophila paniculata*. На зарастающих песках распространены изреженные кияковые (*Leymus racemosus*) фитоценозы. В травостое отмечены *Artemisia tschernieviana*, *Corispermum aralo-caspicum*, *Salsola australis*, *Alhagi pseudalhagi*, *Gypsophila paniculata*, *Peganum harmala*, *Xanthium strumarium*.

### Анализ генетической дифференциации популяций сосны обыкновенной, произрастающих в условиях хронического облучения

**Волкова Полина Юрьевна**

*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной*

*радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия*

*volkova.obninsk@gmail.com*

В результате аварии на Чернобыльской АЭС радиоактивными выпадениями была загрязнена огромная территория, значительную часть которой занимают леса. В 30-км зоне аварии отмечалась массовая гибель сосны обыкновенной, поскольку этот вид отличается высокой радиочувствительностью. Однако до сих пор неясно, каковы эколого-генетические последствия воздействия хронического низкодозового излучения на природные популяции.

Было проведено исследование генетической дифференциации сосны обыкновенной на территориях Брянской области, загрязнённых в результате Чернобыльской аварии. При помощи метода вертикального электрофореза проанализирована генетическая структура популяций и изменчивость ряда ферментов антиоксидантной системы.

Оценивали три вида мутационных событий в изоферментных локусах. Наибольший вклад в общую частоту мутаций вносят нуль-мутации, реже встречаются мутации, меняющие структуру и заряд изофермента и дупликации. Мутации в контрольной популяции крайне редки, их частота соответствует уровню спонтанного мутагенеза изоферментных локусов у сосны обыкновенной. Средняя частота мутаций по трем ферментам достоверно ( $r = 99\%$ ,  $p < 0,01$ ) возрастает вместе с ростом поглощенной генеративными органами растений дозы.

Индексы фенотипического разнообразия в исследованных популяциях значительно отличаются от контроля. Доля редких морф резко возрастает в популяциях, населяющих загрязненные радионуклидами участки, что связано с появлением новых аллелей в нескольких ферментных системах. Эффективное число аллелей возрастает вместе с уровнем радиационного воздействия.

Оцененные по шести локусам трех ферментных систем величины наблюдаемой ( $H_o$ ) и ожидаемой ( $H_e$ ) гетерозиготности контрольной популяции близки к оценкам, полученным ранее для других видов сосен. Качественно иная картина имеет место для наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности экспериментальных популяций, которые возрастают вместе с уровнем радиоактивного загрязнения участков ( $r = 99\%$ ,  $p < 0,01$ ).

Наблюдаемый полиморфизм в генетических локусах ключевых ферментов антоксиантной системы может быть обусловлен оксидативным стрессом, вызванным хроническим радиационным воздействием. Таким образом, показано, что даже невысокие уровни хронического облучения (до 130 мГр/год) способны изменять генетическую структуру популяций сосны обыкновенной. В хронически облучаемых популяциях формируется потомство с высоким уровнем мутационной изменчивости, что может рассматриваться как адаптация исследуемых популяций к изменившимся условиям среды.

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 11-04-00670 и 11-04-97524).*

## **Особенности факторов среды и функциональных процессов у травянистых растений при пирогенной сукцессии леса в Среднем Приобье**

*Голубцова Олеся Сергеевна*

*Нижевартовский государственный гуманитарный университет, Нижевартовск, Россия*

*golubtsova-os@mail.ru*

Проблема лесных пожаров является крайне актуальной, в связи с интенсивной хозяйственной деятельностью человека на лесных территориях, развитием нефтегазового комплекса и как следствие — повышение риска возникновения пожаров.

Впервые на территории Среднего Приобья (Нижевартовский район, Ханты-Мансийский автономный округ-Югра) проведено комплексное исследование динамики комплекса абиотических факторов почвы и воздуха, биологической активности почв и функциональных особенностей травянистых растений видов-доминантов при пирогенной сукцессии леса. В работе использованы современные и классические методы почвенного анализа, определения ферментативной активности почв, фотосинтеза, содержания пигментов, биологической продуктивности, дыхания, водного режима растений. Проведен корреляционный анализ для выявления взаимосвязи физико-химических факторов среды с биологической активностью почв и их влияния на физиологические параметры растений.

Было выявлено, что в процессе пирогенной сукцессии от начальных этапов к последующим уменьшается интенсивность освещения, температура воздуха и почвы, ее плотность и восстановительный потенциал, количество зольных элементов в верхнем слое, подстилке и опаде, накопление сульфатов, аммиачного азота, магния, кальция. Сокращается биомасса растений, ассимиляционная площадь листьев, интенсивность фотосинтеза, общее содержание пигментов. Увеличивается влажность воздуха и почвы, ее окислительный потенциал, содержание кислорода, количество гумуса, численность микроорганизмов и грибов, целлюлозоразлагающая и протеазная активность почвы, интенсивность дыхания. Кислотность почвенного раствора меняется от кислой до слабокислой. Корреляционный анализ выявил высокую взаимосвязь численности микроорганизмов и грибов с содержанием минеральных

веществ в почве и ее температурой. Интенсивность фотосинтеза, транспирации и дыхания хорошо коррелировала с освещенностью, температурой и кислотностью почвы. Выявлена высокая зависимость между накоплением органического вещества на одно растение и биологической активностью почв на всех этапах послепожарного лесовосстановления.

**Оценка биомассы микрогруппировок живого напочвенного покрова  
липо-ельника крупнопоротникового (заповедник «Кологривский лес»)**

**Грозовская Ирина Сергеевна**

*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия  
irinagrozovskaya@gmail.com*

В настоящее время вопрос изучения продукционных способностей лесных экосистем остается особо актуальным. Напочвенный покров (травяно-кустарничковый и мохово-лишайниковый ярусы) как часть лесной экосистемы вносит значительный вклад в процессы образования и накопления органического вещества. К высокопродуктивным относят старовозрастные ельники и пихто-ельники, напочвенный покров которых образован видами высокотравья и крупных папоротников. Цель наших исследований — оценка биомассы напочвенного покрова старовозрастного липо-ельника крупнопоротникового, расположенного на территории заповедника «Кологривский лес» (Костромская область). Древесный ярус сообщества образован *Picea abies*, *Tilia cordata* с примесью *Abies sibirica*. Сомкнутость древесного яруса составляет 40 %. В напочвенном покрове доминируют *Dryopteris dilatata*, виды бореального мелкотравья (*Gymnocarpium dryopteris*, *Oxalis acetosella*, *Maianthemum bifolium*, *Stellaria holostea*), бореальный кустарничек *Vaccinium myrtillus*. Проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса составляет 70 %. Мохово-лишайниковый ярус слабо выражен.

Для определения биомассы мы заложили учетные площади размером 40×40 м<sup>2</sup> в трех удаленных друг от друга участках леса. В пределах учетных площадей, учитывая мозаичность напочвенного покрова, выделили 6 типов микрогруппировок видов, сходных по видовому составу: черничную, крупнопоротниковую, три бореально-мелкотравных с доминированием *Gymnocarpium dryopteris*, *Oxalis acetosella*, *Maianthemum bifolium* и бореально-неморальную с доминированием *Stellaria holostea*. В выделенных микрогруппировках с помощью рамки 25×25 см закладывали площадки. Всего для определения биомассы лесного напочвенного покрова в трех участках леса мы заложили 51 площадку. Надземную часть растений срезали на уровне почвы; подземную биомассу определяли методом монолитов.

По результатам исследований наибольшую биомассу имеет растительность крупнопоротниковой микрогруппировки (надземная биомасса составила 333 г/м<sup>2</sup>, подземная — 1161,4 г/м<sup>2</sup> сухого органического вещества). Для черничной микрогруппировки надземная биомасса растительности составляет 114,6 г/м<sup>2</sup>, подземная — 221,7 г/м<sup>2</sup>. Низкими значениями биомассы растительности отличаются бореально-мелкотравные микрогруппировки, из них наименьшую биомассу имеют микрогруппировки с доминированием *Oxalis acetosella* (надземная биомасса 17,8 г/м<sup>2</sup>, подземная — 29,7 г/м<sup>2</sup>) и *Maianthemum bifolium* (надземная биомасса 15,8 г/м<sup>2</sup>, подземная — 48,1 г/м<sup>2</sup>).

**Интенсивность микоризообразования пятилистника кустарничкового**

***Pentaphylloides fruticosa* (L.) O.Schwarz**

**Данилова Елена Даниловна, Баширова Раиса Минниуловна**

*Башкирский Государственный Университет, г.Уфа, Россия*

*ElenaDDanilova@yandex.ru*

Эндомикоризные (ЭМ) грибы являются альтернативой внесению больших количеств удобрений, стимулируют иммунную систему растения, защищая его от патогенов. ЭМ могут влиять на выход вторичных метаболитов при культивировании лекарственных растений. Учитывая изложенное, нами проведены исследования уровня микоризации лекарственного

растения лапчатки кустарниковой (курильский чай) *Potentilla fruticosa* (L.) O.Schwarz в зависимости от уровня плодородия почвы и влияния различных агротехнических приемов.

Сравнение различий показателей микоризообразования *P. fruticosa* местной формы и наиболее популярного сорта канадской селекции «*Gold finger*» показало, что интенсивность микоризной инфекции в микоризованных фрагментах корней и в корневой системе у растений местной формы выше, чем у сорта «*Gold finger*» ( $p < 0,05$ ).

Особый интерес вызывало влияние дренажа на процессы формирования симбиоза у местной формы *P. fruticosa*. Сравнение показателей микоризообразования варианта растений, выращенных при применении угольного дренажа демонстрирует стимулирующее действие древесного угля на обилие арбускул в микоризованных фрагментах корней  $a = 40,5 \pm 4,31 \%$  и  $a = 40,5 \pm 4,31 \%$  соответственно ( $p < 0,05$ ).

Встречаемость микоризной инфекции в корневой системе в июне выше, чем в июле ( $p < 0,05$ ). В августе встречаемость и интенсивность микоризной инфекции в корневой системе относительно июля возрастает.

В эксперименте отмечается максимальное содержание арбускул *P. fruticosa* в период минимального количества осадков — в июле месяце. Содержание арбускул в микоризованных фрагментах корней в июле ( $27,9 \pm 2,62$ ) выше, чем в августе ( $17,9 \pm 2,54$ ).

Сравнения показателей микоризообразования свидетельствует о влиянии содержания доступного фосфора на степень интенсивности микоризации корневой системы растений *P. fruticosa*. Так, на третьем участке, характеризующемся повышенным содержанием фосфора, встречаемость микоризной инфекции, содержание арбускул и везикул в корнях курильского чая ниже, чем на двух других. В корнях растений с первого участка, в почве которого не обнаружено наличие фосфора, обилие арбускул максимально.

### **Изучение экологии полупаразитических растений на примере погремка позднего (*Rhinanthus serotinus* L.) в заказнике «Предуралье» Пермского края**

**Казакова Анастасия Игоревна**

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

nasta472288813@yandex.ru

Выяснение биологической продуктивности луговых фитоценозов составляет научную основу рационального использования и улучшения лугов. Одна из причин низкой продуктивности сенокосов и пастбищ — развитие в травостое луговых полупаразитов. Поэтому изучение паразитизма у цветковых растений является актуальной и практически важной проблемой.

Объектом нашего исследования является *Rhinanthus serotinus* L. Предметом исследования — его фитоценотические связи, численность, биомасса и показатели семенного размножения.

Материалы собраны в августе 2011 года в заказнике «Предуралье». После рекогносцировочного обследования территории было проведено фитоценотическое описание 26 площадок с произрастанием *Rhinanthus serotinus* размером  $0,5 \text{ м}^2$  по методике А.Г. Воронова. На каждой из площадок отбирали пробы растительности с 5 участков размером  $10 \times 10 \text{ см}$  и точечную пробу почвы.

Агрохимический анализ почвы заключался в оценке рН солевой вытяжки потенциометрическим методом, содержания подвижного фосфора по А.Т. Кирсанову и органического вещества по Б.А. Никитину. Статистическая обработка данных проводилась методом корреляционного анализа.

В фитоценотическом окружении *Rhinanthus serotinus* выявлено 60 видов цветковых растений. Наиболее часто: *Pimpinella saxifraga*, *Galium mollugo*, *Festuca pratensis*.

Численность погремка позднего составила от 2 до 148 особей на  $1 \text{ м}^2$ . Между его численностью и кислотностью почвы наблюдалась слабая положительная связь. Концентрация фосфора и количество органического вещества в почве не влияли на распределение погремка. Численность погремка имела умеренную отрицательную корреляцию с проективным покрытием. Это позволяет судить о его биоиндикаторных свойствах.

Биомасса разнотравья и злаков имела слабую отрицательную связь с численностью погремка. Однако нельзя утверждать, что именно возрастание его численности является причиной снижения продуктивности фитоценозов, так как он селится на участках со сниженным проективным покрытием. На участках с более разреженным травостоем и высокой численностью погремка его растения имели меньшее число цветков и коробочек. На массу семян в большей степени оказывали влияние почвенные характеристики.

Таким образом, фитоценологические характеристики для погремка имеют большее значение, чем эдафические, в отношении численности и количества плодов, но не в отношении массы формирующихся плодов.

### **Эколого-биологическое изучение интродуцированных гледичий в условиях Волгоградской области**

**Климов Алексей Дмитриевич**

*Всероссийский НИИ агролесомелиорации РАСХН, Волгоград, Россия*

*vnialmi@yandex.ru*

Для повышения биоресурсного потенциала лесомелиоративных комплексов Волгоградской области значительный практический и теоретический интерес представляет род гледичия (*Gleditsia* L.) семейства цизальпиниевые.

Целью работы являлась изучение эколого-биологических особенностей представителей родового комплекса *Gleditsia* L. и выделение перспективных видов для обогащения лесомелиоративных комплексов Волгоградской области. Исследования проводились на базе ФГУП «Волгоградское». Объектами являлись шесть видов и одна форма гледичий.

В условиях Волгоградской области большинство видов не достигают высоты как в естественном ареале. Лучшим ростом в условиях сухой степи характеризуются североамериканские виды (г. обыкновенная и техасская). Распускание почек и начало роста побегов у гледичий происходит во второй декаде апреля при температуре выше 15 °С. Раньше — у г. китайской и японской. Период роста побегов зависит от погодных условий.

Оводнённость изученных видов в течение вегетационного периода изменялась незначительно, что указывает на их засухоустойчивость. Содержание воды в листьях в течение вегетации колеблется в пределах 68,5–57,4 %.

Выявлены различия при определении степени подготовки гледичий к перезимовке по изменению электрического сопротивления побегов. Лучшие показатели имели гледичии обыкновенная и ее бесколочковая форма, техасская, китайская, худшие — гледичия японская, и некоторые особи гледичии водяной. Гледичия каспийская и японская страдают от морозов больше, чем остальные виды, так как они заканчивают вегетацию относительно позже других — в октябре.

Цветение у гледичии обыкновенной и техасской, водяной наблюдалось в возрасте 5 лет, японской — 6, каспийской и китайской — 8 лет. Масса семян гледичии положительно коррелирует с количеством выпавших осадков и суммой активных температур в период их созревания. Сроки посева влияют как на грунтовую всхожесть, так и на рост сеянцев. Наиболее эффективным оказался весенний посев с предварительной обработкой семян кипятком

Для лесомелиоративных комплексов на светло-каштановых и каштановых почвах региона представляют интерес как наиболее зимостойкие и засухоустойчивые виды — гледичия каспийская, обыкновенная, техасская.

### **Особенности ценопопуляций *Artemisia lerchiana* в лерхопопынных сообществах пустынной зоны Калмыкии**

**Комолова Альмина Савровна**

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия*

*kom-almi@yandex.ru*

Полукустарничек *Artemisia lerchiana* является ценозообразующим видом растительных сообществ, приуроченных к разным типам почв на всей территории Калмыкии.

Цель исследований — влияние разных типов почв на состояние ценопопуляций *Artemisia lerchiana* в фитоценозах пустынной зоны республики. Наблюдения проведены в вегетационный сезон 2012г. в трех растительных сообществах: лерхополынном на зональных бурых полупустынных супесчаных почвах, лерхополынном на песках закрепленных, лерхополынном на солонцах полупустынных мелких. В соответствии с общепринятыми геоботаническими методами исследовались высота, диаметр куста, возрастное состояние и продуктивность ценопопуляций в фитоценозах.

Наибольшие средние значения высоты и диаметра куста (соответственно  $23,4 \pm 2,7$  см и  $11,6 \pm 0,7$  см) характерны для средневозрастных генеративных особей ценопопуляции полыни Лерха на песках закрепленных. Для ценопопуляции на солонцах мелких эти значения наименьшие ( $12,5 \pm 1,4$  см и  $9,8 \pm 0,7$  см), промежуточные значения у особей ценопопуляции полыни Лерха на зональных бурых полупустынных почвах ( $18,3 \pm 3,4$  см и  $10,1 \pm 0,9$  см).

Продуктивность ценопопуляций полыни Лерха в лерхополынном сообществе на солонцах мелких составила  $28,6 \pm 3,1$  г/м<sup>2</sup>; в лерхополынном сообществе на бурых полупустынных почвах —  $45,2 \pm 6,4$  г/м<sup>2</sup>; в лерхополынном сообществе на песках —  $52,3 \pm 5,1$  г/м<sup>2</sup>.

Возрастной спектр ценопопуляций *Artemisia lerchiana* на песках закрепленных и на зональных бурых полупустынных почвах включал особи различного возрастного состояния, причем преобладали генеративные особи. Следовательно, в этих популяциях происходит естественное возобновление растений, такие возрастные спектры по классификации Т.А. Работнова относятся к нормальному типу. Возрастной спектр ценопопуляции *Artemisia lerchiana* на солонцах мелких относится к регрессивному типу, так как в нем преобладают сенильные особи. Полученные нами результаты свидетельствуют, что наиболее благоприятные условия обитания для ценопопуляции полыни Лерха сложились в сообществах на песках, относительно неблагоприятные в сообществах на солонцах.

#### Сосновые леса участка «Верховья Суры» заповедника «Приволжская лесостепь»

*Кулакова Дарья Александровна*

*Пензенский государственный университет, Пенза, Россия*

*DA.Kulakova@mail.ru*

В нашем исследовании было проанализировано современное состояние сосновых лесов заповедного участка «Верховья Суры», отмечены их экологические особенности и приуроченность к элементам рельефа.

Участок расположен в восточной части Пензенской области в пределах лесостепных ландшафтов эрозионно-денудационных равнин Приволжской возвышенности. Характерной чертой денудационных поверхностей выравнивания является широкое распространение западных форм рельефа, имеющих суффузионное происхождение.

До включения участка в состав заповедника (в 1992 году) на его территории проводились рубки, заготовки смолы, производство скипидара и древесного угля, мелиоративные мероприятия, достаточно часто случались пожары.

Сосновые леса преобладают на территории участка и имеют как искусственное, так и естественное происхождения.

В пределах формации (*Pineta sylvestris*) по доминированию одной или нескольких эколого-ценотических групп в напочвенном покрове и с учетом результатов ординации геоботанических описаний были выделены группы ассоциаций.

*Pineta borealisherbosa* — располагаются на выровненных слабоволнистых поверхностях между западными формами рельефа. Ассоциации этой группы занимают наиболее увлажненные местообитания с относительно устойчивым увлажнением почв. В травяно-кустарничковом ярусе высококонстантны: *Orthilia secunda*, *Calamagrostis arundinacea*, *Rubus saxatilis*, *Vaccinium myrtillus*, *Molinia caerulea*, *Pyrola rotundifolia*, *Lycopodium annotinum*, *L. clavatum*. В 70 % описаний отмечено наличие мохового яруса из *Polytrichum commune*, *Dicranum scoparium*.

*Pineta pratorpineticolisherbosa* располагаются на верхних частях склонов южной экспозиции. Ассоциации этой группы занимают крайние позиции практически по всем

экологическим факторам среды — они являются самими сухими, наиболее переменными по увлажнению, светлыми, с наименее кислыми и наиболее богатыми по обобщенному солевому режиму почвами. В травяно-кустарничковом ярусе высококонстантны: *Calamagrostis epigeios*, *Carex praecox*, *Pulsatilla patens*, *Centaurea sumensis*, *Koeleria glauca*. Характерны напочвенные лишайники — наиболее часто встречается *Cladonia rangiferina*.

***Pineta pineticoli-herbosa*** — занимают небольшие по площади участки на верхних частях склонов северной, западной и восточной экспозиций. В травяно-кустарничковом ярусе высококонстантны: *Pteridium aquilinum*, *Hieracium umbellatum*, *Polygonatum odoratum*, *Potentilla argentea*, *Pulsatilla patens*.

***Pineta borealo-nemoralis-herbosa*** — занимают пологие склоны разных экспозиций. Именно в ассоциациях этой группы встречается *Juniperus communis*, *Lycopodium clavatum* — редкие виды для Пензенской области. Высококонстантны: *Fragaria vesca*, *Rubus saxatilis*, *Stellaria holostea*, *Trientalis europaea*, *Maianthemum bifolium*.

### Экологические особенности местообитаний *Hedysarum grandiflorum* Pall.

в южной части Приволжской возвышенности

Лаврентьев Михаил Васильевич

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

MihailLavrentev@yandex.ru

Для разработки эффективных мер по сохранению редких и охраняемых видов необходимо всестороннее изучение их биологии и экологии. В число редких и охраняемых видов входит копеечник крупноцветковый (*Hedysarum grandiflorum* Pall.), занесённый в «Красную книгу Российской Федерации» (2008) с категорией и статусом 3 в — редкий вид.

Целью данной работы являлась характеристика экологических особенностей местообитаний копеечника крупноцветкового в южной части Приволжской возвышенности, поскольку подобных исследований ранее не проводилось.

Исследование проводилось в полевые сезоны 2007–2012 гг. Изучено 23 фитоценоза в местообитаниях с различными экологическими условиями, в которых было заложено более 600 учётных площадок. Использовались стандартные методики описания фитоценозов и ценопопуляций. Экологические оптимумы и типы экологических режимов определялись по шкалам Л.Г. Раменского (1956) и Н.М. Матвеева (2006). Результаты обработаны общепринятыми статистическими методами.

Анализ результатов исследования показал, что максимальной жизненности ценопопуляции копеечника достигают при проективном покрытии копеечника более 12,4 % и глубине залегания почвообразующей породы (известняка, мергеля) от 4,0 до 11,5 см, а при залегании породы более 46,0 см особи копеечника не встретились. Амплитуда режимов увлажнения почв в фитоценозах с участием исследуемого вида по шкале Л.Г. Раменского колеблется от полупустынного (пустынно-степного) до лугово-степного (влажностепного) с преобладанием среднестепного (29–51, 38–44 (41)), по шкале Н.М. Матвеева — от сухого до суховатого с преобладанием суховатого (0.5–1 (1)). Амплитуда режимов богатства и засоленности почв по шкале Л.Г. Раменского — от бедных до богатых с преобладанием небогатых (мезотрофных) (4–15, 7–11,5 (9)), по шкале Н.М. Матвеева — от бедных (малопродуктивных) до богатых (продуктивных), с преобладанием среднебогатых (среднепродуктивных) (1–3 (2)). По световому режиму фитоценозы с участием копеечника относятся к осветлённым (4) (по шкале Н.М. Матвеева). Тип температурного режима изученных фитоценозов — умеренный (суббореальный) (3).

Результаты исследования могут быть полезны при интродукции и охране *H. grandiflorum*.

## Ценопопуляции *Pyrola rotundifolia* L. в южных гипоарктических тундрах северной Якутии

Попова Диана Николаевна

Северо-Восточный федеральный университет, Якутск, Россия

diananp-92@mail.ru

Грушанка круглолистная является симподиальным розеточным длиннокорневищным вечнозеленым растением. Произрастает в лесах, в тундре. Популяционно-биологические параметры вида в тундровых условиях ранее не изучались.

Нами изучены ценопопуляции (ЦП) вида в сообществах долин рек Анабар (Северо-Западная Якутия) и Колыма (Северо-Восточная Якутия) в сообществах южных гипоарктических тундр соответственно полигонально-валиковых мохово-лишайниковых тундрах. В 2011 и 2012 гг. изучались 8 ЦП по 10 параметров в окрестностях п. Юрюнг-Хая и 3 ЦП в нижней Колыме в окрестностях п. Походск. Для каждой особи определяли по Т.А. Работнову (1950) возрастные (онтогенетические) состояния и были построены онтогенетические спектры, вычислены средние морфометрические данные. На основании полученных параметров был построен тренд онтогенетической стратегии, выявлен тип жизненной стратегии растения. В тренде хорошо проявлены защитная и стрессовая компоненты. Изменение тренда связано с изменением значений IVC и  $g^2m$  по отдельным ЦП, которые зависят, от климатических условий. Так, увеличилась жизненность IVC ЦП 5 сухой мочажины и ЦП 4 ивового склона, и уменьшилось IVC ЦП 6 валика и ЦП 7 трещины дриадовой тундры.

Данные по сравнению тренда онтогенетической стратегии и значений IVC и  $g^2m$  за 2011–2012 гг. позволяют считать *Pyrola rotundifolia* в южной субарктической тундре имеет смешанную CR–стратегию.

В условиях Анабара в 2012 г. нами изучена онтогенетическая структура 5 ЦП грушанки круглолистной (3 молодые, 2 переходные). В целом, спектр онтогенетической структуры имеет бимодальный характер. Большое число имматурных и виргинильных особей в ЦП связано с вегетативным размножением, и характерно для длиннокорневищных растений. Плотность особей в ЦП меняется от 20,8 до 74 шт./0,25 м<sup>2</sup>.

ЦП около п. Походск оказались имеющими более высокие показатели жизненности, что связано с более южным положением, а также в связи с тем, что более высокие кустарники в этих условиях защищают вид, который лучше адаптирован именно к более южным условиям, чем гипоарктическая тундра.

## Флора и растительность оползневых склонов Лукерьянской овражной системы Кстовского района Нижегородской области и правых берегов рек Волги и Ветлуги

Соколова Марина Владимировна

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

sokolovabio@gmail.com

Изучение флористического состава и структуры фитоценозов эллювиально-деллювиальных типов местообитаний является актуальной проблемой геоботаники и экологии, однако этой проблеме в настоящее время посвящено мало работ.

Цель данной работы является изучение особенностей состава и структуры напочвенного покрова оползневых комплексов на территории Нижегородской области.

Для достижения поставленной цели решались задачи: (1) выделить ключевые ассоциации оползневых комплексов; (2) выявить видовой состав исследуемых сообществ; (3) проанализировать структуру флоры и растительности

Исследования проводились в 2009-2011 гг. на оползневых склонах Кстовского и Варнавинского районов Нижегородской области. В ходе работы было выполнено 111 геоботанических описаний площадью 10x10 м, проведено деление видов растений на эколого-ценотические группы, оценивалось видовое сходство ассоциаций с помощью коэффициент Жаккара, проводилось выявление структурных особенностей напочвенного покрова с помощью кластерного анализа.

Анализ флористического состава исследуемых территорий показал, что состав видов во многом зависит от особенностей территории, на которой они произрастают. Большое значение имеют экспозиция берега, наличие реки, а также антропогенное воздействие.

Сходство эколого-ценотических групп исследуемых участков связано со сходством условий произрастания. На изучаемых территориях наибольшее влияние оказывают растения группы влажных лугов. Большое экологическое разнообразие растений на исследуемых участках свидетельствует об интенсивно идущих сукцессионных процессах на данных территориях.

Кластерный анализ показал сходство оползневых ассоциаций в условиях одинаковой увлажнённости и отличие их от граничащих с ними не затронутых оползнем ассоциаций.

Наибольшей выживаемостью на послеоползневых склонах обладают *Ulmus glabra*, *Acer platanoides*, *A. negundo*, *Sorbus aucuparia*, *Tilia cordata*, различные виды рода *Salix*. Они будут рекомендованы для посадки на оползневых склонах города Кстово Нижегородской области.

### **Возрастная структура ценопопуляций кладохеты чистейшей в Республике Северная Осетия - Алания**

*Тертерян Люсине Андрониковна*

*Северо-Осетинский госуниверситет имени К.Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия*

*bootany@yandex.ru*

Кладохета чистейшая (*Cladochaeta candidissima* (Bieb.) DC.) — редкий исчезающий вид, кавказский эндемик. Для оценки состояния малоисследованного вида необходимо изучение особенностей его онтогенеза и возрастной структуры популяций.

Исследования проводили на четырех популяциях в бассейнах рек Ардон, Гизельдон и Терек, возрастные состояния популяций определяли на временных пробных площадях по Работнову.

Кладохета — стержнекорневой травянистый многолетник — обитает на песчано-галечных отложениях в поймах горных рек, реже встречается на глинистых почвах, типичный псаммофит и гелиофит. Размножается семенами и вегетативно.

Выявлено восемь возрастных состояний кладохеты от проростков до сенильных особей. Все исследованные популяции не зависят от внешнего заноса зачатков, инспермация осуществляется внутри популяций. Для трех популяций, независимо от экологических условий местопроизрастания, характерен одновершинный возрастной спектр с пиком в области молодых и средневозрастных генеративных особей. Эти популяции полночленные, нормальные, дефинитивные. У четвертой популяции пик приходится на средневозрастные и старовозрастные генеративные растения, при значительном участии ювенильных и виргинильных растений. Во всех четырех популяциях элиминация генеративных особей незначительна. В условиях РСО-А кладохета занимает территорию семенным способом и удерживает ее вегетативным.

По нашим данным большинство популяций в РСО-А дефинитивные, т.е. нормальные, достигшие равновесного состояния в естественных стабильных условиях произрастания. Фактором, периодически лимитирующим численность вида, являются экстремальные паводки, раз в 10-15 лет смывающие большую часть популяций в поймах рек. За межпаводковый период успевают сформироваться нормальные популяции, формирующие сложившийся ареал.

### **Мониторинг состояния растительного покрова природных кормовых угодий пустынной зоны на территории Калмыкии**

*Халгинова Баира Владимировна*

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия*

*norjunta@mail.ru*

Вся обширная территория пустынной зоны в пределах Республики Калмыкия является крупнейшим массивом естественных кормовых угодий. В последние годы значительная часть этой территории передана в аренду крестьянским (фермерским) хозяйствам. Осенью 2012 г. мы

провели мониторинг состояния растительного покрова крестьянских хозяйств в Хулхутинском сельском муниципальном объединении. Было проведено сплошное геоботаническое обследование 9648 га природных кормовых угодий 9 крестьянских хозяйств, в результате которого выявлены изменения в структуре растительного покрова и продуктивности сообществ.

Сравнение современного состояния растительности пустынных пастбищ с материалами геоботанического обследования угодий в 1993 г. показало, что только на 19 % обследованной территории типологический состав растительного покрова остался прежним. При этом на 20–25 % повысилась продуктивность сообществ — следствие снижения пастбищной нагрузки на участках, позволившее растениям использовать свой потенциал.

На остальной части территории лерхополынные (*Artemisia lerchiana*) сообщества на зональных бурых полупустынных почвах сменились ковыльными, эфемероидными и однолетниковыми сообществами. Такая трансформация растительности произошла вследствие пожаров, участвовавших в последние годы. При этом изменение структуры растительного покрова отдельных участков фермерских хозяйств определяется частотой пожаров. Если это был единственный пожар, после которого прошло 2–3 года, то доминируют ковыльные сообщества. Средняя продуктивность кормовых угодий участка практически не изменилась, но ковыльные пастбища более пригодны для выпаса крупного рогатого скота, чем для овец.

Если пожары на участке повторялись в течение двух-трех лет, то возникшие на месте лерхополынных сообществ ковыльные фитоценозы сменились сообществами с доминированием эфемероидов *Poa bulbosa* и *Carex stenophylla* либо однолетниковыми фитоценозами с доминированием *Anisantha tectorum* и *Eragrostis minor*. Средняя продуктивность кормовых угодий участка снизилась на 15–40 %, для восстановления травостоя необходимо снижение пастбищной нагрузки.

### **Сообщество высокотравного заболоченного ельника на территории памятника природы «Болото Рыжуха» (Неруссо-Деснянское Полесье, Брянская область)**

**Харлампиева Мария Владимировна**

*Брянский государственный университет имени И.Г. Петровского, Брянск, Россия*

*mariya\_harlampieva@mail.ru*

На низинных болотах лесной зоны климаксовые фитоценозы представлены высокотравными ельниками, практически исчезнувшими в результате мелиораций и торфоразработок. Поиск и изучение фитоценозов высокотравных ельников на низинных болотах, как рефугиумов фитобиоразнообразия — важнейшая задача комплексных эколого-биологических исследований в староосвоенных регионах. В ландшафтных комплексах памятника природы «Болото Рыжуха», растительный компонент которых относится к Полесской подпровинции Восточноевропейской широколиственной провинции, сохранились фрагменты таких фитоценозов. В работе использованы геоботанические методы исследований с учетом методов эколого-флористической классификации Ж. Браун-Бланке.

Сообщество высокотравного ельника выделено в отдельную ассоциацию, *Cirsio oleracei-Piceetum abietis* ass. nov. prov. Фитоценоз характеризуется мощным травяным ярусом (в среднем около 1,5 м высотой) и развитой мозаичностью. В горизонтальной структуре высокотравного ельника выделяются темные и светлые парцеллы. Светлые парцеллы, или «окна», формируются в результате вывалов деревьев. Темные парцеллы представляют собой сомкнутые группировки деревьев *Picea abies* (L.) Karst., *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Betula pubescens* Ehrh. На 100 м<sup>2</sup> ельников насчитывается в среднем 45 видов сосудистых растений. Общее видовое разнообразие — 90 видов. Высокотравный ельник отличается разнообразием эколого-ценотических групп, с преобладанием по числу видов бореальной, неморальной, влажно-луговой, черноольховой и травяно-болотной групп. В сообществе отмечено девять редких и спорадически встречающихся видов сосудистых растений, шесть из которых внесены в Красную книгу Брянской области, а одно (*Syrpidium calceolus* L.) — в Красную книгу России.

Итак, исследованный высокотравный ельник можно отнести к фитоценозам близким к климаксному типу по ряду признаков: 1) полночленности видового состава древесной

синузии; 2) выраженной оконной структуре в ярусе древостоя и развитой структуре микросайтов в напочвенном покрове; 3) устойчивому обороту поколений в популяциях большинства видов деревьев; 4) присутствию в травяном покрове видов, которые различаются по эколого-ценотической принадлежности; 5) большому участию редких видов растений; 6) относительно высоким значениям видового разнообразия.

### **Смолевка Акинфиева в Республике Северная Осетия-Алания**

*Цопанов Артур Васильевич*

*Северо-Осетинский госуниверситет имени К.Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия*

*bootany@yandex.ru*

В Республике Северная Осетия-Алания (РСО-А) находится классическое местообитание смолевки Акинфиева (*Silene akinfievii* Schmalh.). По литературным данным вид произрастает в верховьях реки Харес на моренах и скалах в диапазоне высот 1800–3200 м над ур. м., внесен в Красные книги России и РСО-А, за пределами Осетии отмечен на сопредельных территориях Кабардино-Балкарии и Грузии.

Нами изучаются эколого-биологические характеристики смолевки и ее распространение. Исследованиями уточнена нижняя граница обитания смолевки — 2300 м. Она не опускается ниже слияния рек Мосота (Харес) и Урсдон, где собственно и образуется река Харес.

Смолевка Акинфиева, травянистый многолетник, во всех местообитаниях встречается дискретно, небольшими группировками от 2–3 до 100–200 особей. Максимальная высота растения 30 см, цветет в июле-августе, семена созревают в августе-сентябре.

Вид размножается семенами, но ювенильных особей не обнаружено, количество виргинильных не превышает 20 %, сенильных до 5 %. По предварительным данным возраст генерирующих растений колеблется от 5–8 лет до 20 и более. Количество побегов на одном растении от 1 до 64, максимальное количество цветов на одном побеге — 20.

В местах произрастания смолевки выпасается крупный рогатый скот и лошади, сюда спускаются стада кавказского тура. На учетной площади зафиксировано вытаптывание смолевки (1 %) и скусывание растений (2 %), видимо выпасаемым скотом. Во время вызревания семян до 10 % коробочек повреждаются гусеницами.

Зона обитания смолевки в данном местонахождении невелика и простирается в радиусе 1–2,5 км от ледника. На малоподвижных мелкощебнистых моренах и скалах, расположена большая часть популяции (по рекогносцировочным подсчетам она не превышает 2–4 тыс. экз.).

Многолетний выпас скота влияния на популяцию не оказывает, рекреационное воздействие в данной высокогорной зоне незначительно и ограничено ее приграничным статусом. С 1998 года место произрастания смолевки Акинфиева находится на территории национального парка «Алания».

Изучаемая популяция находится в удовлетворительном состоянии и единственным лимитирующим фактором является узкая локализация вида, вытекающая, по всей видимости, из его биологических особенностей.

### **Видовой состав чернопопынных сообществ на мелких и средних солонцах**

*Эрендженова Яна Мергеновна*

*Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия*

*yana.erendzhenova@mail.ru*

Объекты исследования — фитоценозы с доминированием полыни черной: мятликово-чернопопынные на солонцах каштановых средних и камфоросмово-чернопопынные на солонцах каштановых мелких. Материалом для исследования послужили 12 описаний растительности, выполненные в 2012 г. на территории Ергенинской возвышенности в пределах Республики Калмыкия.

Мятликово-чернопопынные сообщества приурочены к солонцам каштановым средним. Общее количество высших растений, зарегистрированных в фитоценозах, составило 25 видов, относящихся к 10 семействам. Наиболее многовидовыми семействами являются: Chenopodiaceae (7 видов), Poaceae (5 видов), Brassicaceae (4 вида), Asteraceae (3 вида).

Сезонная динамика видового состава проявляется в смене видов, изменениях проективного покрытия всего травостоя и отдельных видов. Эфемеры — *Eremopyrum triticeum*, *Alyssum desertorum* и эфемероид *Poa bulbosa*, сменяются в летний сезон солянками: *Ceratocarpus arenarius*, *Petrosimonia brachiata*, достигающими максимального развития осенью. Во все сезоны сохраняются многолетние виды: *Artemisia pauciflora*, *Kochia prostrata*, *Camphorosma monspeliaca*.

Камфоросмово-чернополынные сообщества приурочены к солонцам каштановым мелким. Флористическое богатство сообществ — 20 видов высших растений, относящихся к 8 семействам, из которых многовидовыми являются Chenopodiaceae (7 видов), Brassicaceae (3 вида), Asteraceae (3 вида). Наибольшее видовое богатство характерно для камфоросмово-чернополынных сообществ в летний сезон — 19 видов, в весенний период отмечено 13 видов, к осени сохраняется 11 видов.

Сравнение видового состава исследованных сообществ показывает, что видовое богатство выше в мятликово-чернополынных сообществах, что связано с более благоприятными условиями обитания растений на солонцах средних по сравнению с условиями обитания в камфоросмово-чернополынных сообществах на мелких солонцах.

Количество общих видов — 20, коэффициент Жаккара между исследованными сообществами составил 0,67. В обоих сообществах наиболее многовидовым является семейство Chenopodiaceae, представленное полукустарничками *Kochia prostrata*, *Camphorosma monspeliaca* и *Anabasis aphylla*; однолетниками *Ceratocarpus arenarius*, *Bassia sedoides*, *Petrosimonia brachiata*, *Atriplex tatarica*.

**Роль двупоровых кальциевых каналов кислых эндо/лизосомальных везикул  
в регуляции поддержания спонтанного ритма сердечных сокращений**

**Федорова Елена Сергеевна**

*НИИ биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

*eskorneva@mail.ru*

Частота и сила сердечных сокращений определяется внешней нейроэндокринной регуляцией и спонтанной активностью пейсмэйкерных клеток сердца. Внутриклеточным мессенджером, активирующим сокращение кардиомиоцитов в ответ на нейроэндокринные факторы, является кальций. Ионы кальция поступают в цитоплазму мышечных клеток сердца из внешней среды через потенциалуправляемые каналы, а так же через рианодин-чувствительные каналы и каналы, активируемые инозитолтрифосфатом, из саркоплазматического ретикулума. В 2002 году был открыт новый внутриклеточный источник ионов кальция — кислые эндо/лизосомальные везикулы, выброс кальция из которых осуществляется через особый тип каналов — двупоровые каналы (TPC), активируемые NAADP. Физиологические функции чувствительных к NAADP TPC-каналов практически не изучены.

Целью нашей работы было выяснение возможного участия активируемых NAADP кальциевых каналов эндо/лизосомальных везикул в регуляции сократимости сердца. Эксперименты проводились на перфузируемом через канюлю изолированном сердце брюхоногого моллюска *Helix pomatia* ввиду того, что оно является исключительно удобным объектом, пригодным для длительной многочасовой регистрации сердечных сокращений в процессе разного рода воздействий. Нами показано, что проникающий через клеточную мембрану предшественник NAADP (NAADP-AM) в наномолярных концентрациях увеличивает частоту и амплитуду сокращений изолированного сердца моллюска и обеспечивает его спонтанную сократительную активность. Блокатор рецепторов NAADP transNED-19 обратимо устраняет этот эффект и подавляет спонтанную активность сердца полностью. Аналогичное действие оказывает бафиломицин A1, ингибитор протонной АТФазы кислых эндо/лизосомальных везикул, вызывающий потерю этими органеллами ионов кальция. В отличие от спонтанных, индуцируемые серотонином сокращения сердца *H. pomatia* не блокируются при воздействии антагониста NAADP transNED-19. Проведенные исследования впервые продемонстрировали роль NAADP-зависимого выброса кальция через двупоровые каналы эндо/лизосомальных везикул как механизма, обеспечивающего спонтанную работу сердца.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Подсекция « <b>Антропология</b> »	<b>3</b>
Подсекция « <b>Биология развития</b> »	<b>9</b>
Подсекция « <b>Биофизика, биоинженерия и нанобиотехнологии</b> »	<b>23</b>
Подсекция « <b>Биохимия</b> »	<b>46</b>
Подсекция « <b>Ботаника (высшие растения)</b> »	<b>58</b>
Подсекция « <b>Вирусология</b> »	<b>73</b>
Подсекция « <b>Генетика</b> »	<b>78</b>
Подсекция « <b>Гидробиология и общая экология</b> »	<b>98</b>
Подсекция « <b>Зоология беспозвоночных</b> »	<b>116</b>
Подсекция « <b>Зоология позвоночных</b> »	<b>132</b>
Подсекция « <b>Клеточная биология и гистология</b> »	<b>144</b>
Подсекция « <b>Микология и альгология</b> »	<b>164</b>
Подсекция « <b>Микробиология</b> »	<b>181</b>
Подсекция « <b>Молекулярная биология</b> »	<b>223</b>
Подсекция « <b>Нейрофизиология и физиология ВНД</b> »	<b>235</b>
Подсекция « <b>Охрана окружающей среды</b> »	<b>265</b>
Подсекция « <b>Физиология растений</b> »	<b>297</b>
Подсекция « <b>Физиология человека и животных</b> »	<b>313</b>
Подсекция « <b>Экология растений</b> »	<b>354</b>