ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ

Первая Всероссийская молодежная научная конференция, посвященная 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете

(Томск, 6-9 октября 2010 г.)



Издательство Томского университета 2010

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ИЗДАНИЯ «ТРУДЫ ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА»:

проф. Г.Е. Дунаевский — председатель коллегии, проректор ТГУ; с.н.с. М.Н. Баландин — ответственный редактор издания, зам. председателя коллегии; с.н.с. В.З. Башкатов — член коллегии

ЧЛЕНЫ КОЛЛЕГИИ, РУКОВОДИТЕЛИ НАУЧНЫХ РЕДАКЦИЙ ПО НАПРАВЛЕНИЯМ:

д.т.н., проф. А.А. Глазунов — научная редакция «Механика, математика»; д.т.н., проф. Э.Р. Шрагер — научная редакция «Механика, математика»; д.т.н., проф. А.М. Горцев — научная редакция «Информатика и кибернетика»; д.ф.-м.н., проф. В.Г. Багров — научная редакция «Физика»; д.ф.-м.н., проф. В.Г. Багров — научная редакция «Физика»; д.б.н., проф. Н.А. Кривова — научная редакция «Биология»; д.б.н., проф. С.П. Кулижский — научная редакция «Биология»; д.г.-м.н., проф. В.П. Парначев — научная редакция «Науки о Земле, химия»; к.х.н., доц. Ю.Г. Слижов — научная редакция «Науки о Земле, химия»; д.ф.пол.н., проф. Т.А. Демешкина — научная редакция «История, филология»; д.и.н., проф. В.П. Зиновьев — научная редакция «История, филология»; д.ы.н., проф. В.А. Уткин — научная редакция «Юридические и экономические науки»; д.ю.н., проф. В.А. Уткин — научная редакция «Философия, социология, психология, педагогика, искусствознание»; д.психол.н., проф. Э.В. Галажинский — научная редакция «Философия, социология, психология, педагогика, искусствознание»; д.психол.н., проф. Э.В. Галажинский — научная редакция «Философия, социология, психология, педагогика, искусствознание»

НАУЧНАЯ РЕДАКЦИЯ ТОМА:

д.б.н., проф. А.С. Ревушкин (ответственный редактор); д.б.н., проф. Н.С. Москвитина; к.б.н., ст. преп. Р.Т.-о. Багиров; м.н.с. А.А. Кузнецов (составитель)

Труды Томского государственного университета. – Т. 275. – Сер. Т78 биологическая: Фундаментальные и прикладные аспекты современной биологии. Материалы Первой Всероссийской молодежной научной конференции, посвященной 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2010. – 466 с.

ISBN 978-5-7511-1944-7

Представлены материалы Первой Всероссийской молодёжной научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты современной биологии», посвящённой 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете (6–9 октября 2010 г., Томск). В конференции принимали участие студенты, аспиранты, молодые и ведущие учёные ТГУ, других вузов и научных центров г. Томска, России и зарубежных стран.

Для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов, всех интересующихся современными проблемами биологии.

Издание осуществлено при финансовой поддержке РФФИ, проект №10-04-06818-моб г

УДК 57/59 ББК 28

Серия биологическая

К ЧИТАТЕЛЯМ «ТРУДОВ ТГУ»

Исторически сложилось так, что научные исследования в Томском государственном университете были начаты биологами. Это объясняется не только тем, что первым и в течение 10 лет единственным факультетом в Императорском Томском университете был медицинский, в рамках которого были созданы кафедры биологического профиля. За три года до приезда в Томск первых профессоров-медиков в 1885 г. в Томском университете на скромной должности учёного-садовника оказался известный уже в то время учёный ботаник Порфирий Никитич Крылов. Он был приглашён устроителем университета, попечителем Западно-Сибирского учебного округа В.М. Флоринским для создания ботанического сада и обустройства парка на университетской территории. Имея серьёзный опыт научных исследований и большое желание изучать растительный покров Сибири, П.Н. Крылов не ограничивается только созданием теплиц и оранжерей и посадкой растений в университетском парке, он начинает осуществление грандиозного плана исследовательской деятельности. С научных исследований П.Н. Крылова в 1885 г. началась славная история томской ботанической школы, в целом биологических исследований и вообще наука в Томском университете.

Корни многих научных направлений и современных достижений биологов ТГУ уходят в дореволюционный период истории университета и связаны с именами таких выдающихся учёных, как С.И. Коржинский, В.В. Сапожников, Н.Ф. Кащенко, М.Д. Рузский, А.С. Догель, А.А. Кулябко, К.Н. Виноградов, В.Н. Великий и др. В первые годы существования университета за короткое время была создана солидная материально-техническая база научных исследований в виде коллекций ботанического сада, ботанического музея (гербария), зоологического музея, оборудования лабораторий и кафедр, богатых фондов научной библиотеки. Более сложной на первых этапах была задача подготовки научных кадров, поскольку обучение биологов в Томском университете началось в 1917 г. на соответствующих отделениях открывшегося физико-математического факультета. Но профессора университета в дореволюционный период смогли привлечь к научным исследованиям студентов медицинского факультета, Томского технологического института, Сибирских высших женских курсов. Будучи студентами, молодые учёные не только изучали литературу и делали доклады, но и совершали ряд крупных научных экспедиций, публиковали научные статьи и монографии. В дальнейшем из них выросли крупные учёные-биологи (Б.К. Шишкин, В.В. Ревердатто, Л.П. Сергиевская, Л.А. Уткин и др.).

Характерной особенностью биологических исследований в Томском университете, проявившейся уже на первых этапах, были фундаментальность и высокий уровень научных исследований, соответствующих мировому. Свидетельством этого является

официальное признание заслуг томских биологов на зарубежных конференциях и в научных журналах.

Не обошли стороной Томский университет и «тёмные» страницы истории биологических исследований. К последним нужно отнести тяжёлое время гонений на идеологической почве по генетике, цитологии, геоботанике, дарвинизму. Но в эти же годы получены очень важные результаты по ряду прикладных проблем, связанных с развитием сельского хозяйства, поиском новых лекарственных средств, борьбой с паразитами и очагами инфекции. Продолжались и фундаментальные работы, в том числе открытие фитонцидов (Б.П. Токин), создание обобщающих работ по флоре и фауне (Л.П. Сергиевская, А.В. Положий, И.П. Лаптев, Б.Г. Иоганзен и др.), физиологии животных (В.А. Пегель). Вторая половина прошлого века связана с открытием новых направлений биологических исследований: биофизика, биохимия, радиобиология, экология, биогеоценология, биоресурсоведение.

Современный этап биологии в Томском университете отличается сочетанием традиционных направлений с новыми междисциплинарными и прикладными исследованиями, чему способствует взаимодействие научных подразделений ТГУ (Биологический институт, НИИ биологии и биофизики, Сибирский ботанический сад) с академическими институтами и наукоёмкими секторами экономики. Сохраняется и древняя традиция — рост и активная научная деятельность научной молодёжи при сохранении преемственности и связи поколений в рамках научных школ.

Представленные материалы научной конференции являются ярким подтверждением этого и, надеюсь, началом новой традиции формирования сообщества молодых биологов университетов, академических учреждений и производственных организаций.

Проректор по учебной работе, заведующий кафедрой ботаники Биологического института ТГУ, председатель Томского отделения Русского ботанического общества, профессор А.С. Ревушкин

TO THE READER

Historically, scientific research in Tomsk State University was started by biologists. This was not entirely due to the fact that the Medical Department was the first and the only department to be created in Tomsk Imperial University for 10 years, hosting within its framework specialized departments of biology. Three years prior to the arrival of the first medical professors to Tomsk in 1885, an already prominent botanist, Porfiriy Krylov, occupied a humble position of gardener. He was invited by the organizer of the University, the curator of the West-Siberian educational district, V. Florinsky for creating a botanical garden and laying out a park on campus. Having a wealth of experience in scientific research and a strong desire to study Siberian vegetation, P. Krylov did not restrict himself to setting up greenhouses and conservatories and planting trees in the University park, but embarked on an ambitious programme of scientific studies. It was P. Krylov's research in 1885 that gave rise to a proud history of Tomsk botanical school of thought, of botanical research as a whole and of scientific studies in Tomsk State University.

Numerous schools of thought and achievements of TSU biologists can be traced to pre-revolutionary period of its history and are associated with the names of such prominent scientists as S. Korzhinsky, V. Sapozhnikov, N. Kashienko, M. Ruzsky, A. Dogel, A. Kuliabko, C. Vinogradov, V. N. Veliky, etc. During the first few years of the University's existence a substantial material and technical base of scientific research was created, including the collections of the botanical garden, the botanical museum (the herbarium), the zoological museum, laboratory and specialized department equipment, extensive library funds. At first, training scientific personnel presented a bigger challenge, as instruction in biology in Tomsk university began in 1917 at appropriate sub-departments of the newly created Department of Physics and Mathematics. Nevertheless, in the prerevolutionary period the professors of the University managed to engage in scientific research the students of the Medical Department, Tomsk Technological Institute and Siberian University for Women. As students the young researchers not only studied literature and delivered reports, but conducted a series of major scientific expeditions, published scientific papers and monographs. Years later they grew up to become renewed biologists (B. Shishkin, V. Reverdatto, L. Serguievskaya. L. Utkin, etc.).

From the outset, fundamental nature and high level of scientific research compatible with international standards became characteristic of biological studies in Tomsk University. The official recognition of achievements of Tomsk biologists at international conferances and in scientific journals is a testimony to this. However, Tomsk University has not escaped the dark pages of history of biological research, such as the hard times of persecution of geneticists, cytologists, geobotanists and Darwinists on ideological grounds. But these years also saw some important results in a range of applied disciplines, associated with the development of agriculture, the pursuit of new medical treatment, the struggle against parasites and nidi of infection. Fundamental research continued to be carried out, including the discovery of phytoncides (B. Tokin), the creation of summarizing works on flora and fauna (L. Serguievskaya, A. Polozhiy, I. Laptev, B. Ioganzen, etc.), on

animal physiology (V. Peguel). The second half of the XX-th century is associated with the discovery of new directions of biological research: biophysics, biochemistry, radio-biology, ecology, biogeocenology, biological resource studies.

The present-day stage of biological studies in Tomsk university is notable for combining traditional directions with new interdisciplinary and applied research, facilitated by cooperation of scientific units of TSU (Institute of Biology, Research Institute for biology and biophysics, the Siberian botanical garden) with academic institutes and knowlege-intensive sectors of economy. The long-standing tradition of academic growth and active participation of young scientists in research along with respecting continuity across generations within schools of thought is also preserved. The reports from the scientific conference presented here are a clear evidence of this and, as I hope, signify the birth of a new tradition of forming a community of young biologists from universities, academic institutions and industrial organizations.

Vice Rector for Academic Affairs, head of specialized department of botany of the TSU Institute of Biology, president of the Tomsk branch of the Russian Botanical Society, professor A. Revushkin.



Серия биологическая

ПРИМЕНЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКИХ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИЗУЧЕНИИ ПЕРСПЕКТИВНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ *EUPATORIUM CANNABINUM* L.

Н.В. Бабичева, Т.Г. Харина, С.В. Пулькина

Представлен обзор основных подходов, связанных с использованием цитогенетических и анатомических методов в интродукционных исследованиях. У Eupatorium cannabinum L. в условиях культуры изучены анатомическое строение листовой пластинки, фертильность пыльцевых зерен, фазы развития цветка, микроспорогенез.

OPPORTUNITIES OF CYTOGENETIC AND ANATOMICAL METHODS APPLICATION IN STADYING OF PER

N.V. Babicheva, T.G. Kharina, S.V. Pulkina

The paper presents a review of main approaches related to use of cytogenetic and anatomical methods in introduction studies. The anatomic structure of a sheet plate, fertility of pollen grains, a phase of development of a flower and microsporogenesis in Eupatorium cannabinum L. was studied.

В настоящее время интродукция лекарственных растений приобретает большое значение, т.к. позволяет более рационально использовать дикорастущие полезные растения и обогащать культурную флору новыми ценными видами. Объектом исследования является представитель сем. Asteraceae — Eupatorium cannabinum L. Изучаемый вид содержит широкий спектр биологически активных веществ и издавна используется в народной медицине как потогонное, желчегонное, диуретическое, ранозаживляющее средство. Данный вид представляет большую ценность как перспективное лекарственное растение, что подтверждают фармакологические исследования, проведенные совместно с сотрудниками Научно-исследовательского института фармакологии Томского научного центра СО РАМН. Данный вид на территории России произрастает на большей территории европейской части и на Северном Кавказе. Интродукционные исследования изучаемого вида проводятся начиная с 2000 г. на территории экспериментального участка Сибирского ботанического сада и показали перспективу его выращивания в условиях юга Томской области.

Для интродукционного эксперимента большое значение имеют цитологические, генетические исследования, поскольку они направлены не только на решение вопросов систематики и филогении, но и для многих разделов прикладной биологии: рационального использования природных ресурсов, охраны окружающей среды, а также повышения продуктивности экосистем, особенно агроценозов. Данные по микроспорогенезу, развитию пыльцы и рыльца необходимы при интродукционных исследованиях, т.к. позволяют постичь сущность многообразных биологических процессов, связанных с размножением растений, выявить их потребность в

условиях внешней среды с самых ранних стадий развития, что особенно важно для растений, которые ранее не произрастали в исследуемом регионе [3].

Установлено, что E. cannabinum в условиях культуры проходит полный цикл сезонного развития. Данный вид относится к длительновегетирующим летнезимним растениям.

Эмбриологические исследования проводились, начиная с бутонов размером 2 мм и на цветках с установлением качественно различных фаз по признакам времени роста частей цветка, созревания рыльца для восприятия пыльцы. Для *E. cannabinum* выделено 2 фазы развития цветка: тычиночная и пестичная.

Тычиночная фаза протекает в бутоне и характеризуется ростом тычиночной нити соответственно увеличению размера бутона. На стадии рыхлого бутона пыльники начинают пыление. При расхождении лепестков венчика наблюдается замедление роста тычиночной нити и пыльников, и в стадии зрелого цветка пыльники увядают.

В пестичной фазе развития цветков выявлено 2 стадии роста пестика: рост завязи и увеличение столбика в бутоне и рост столбика в открытом цветке, причем рост пестика в бутоне идет в 3 этапа. На первом этапе — лопасти рыльца сомкнуты; на втором этапе с ростом бутона наблюдается рост столбика, лопасти рыльца остаются сомкнутыми, и на третьем этапе стадии рыхлого бутона лопасти рыльца раскрыты и появляется множество мелких сосочков. В это время наблюдается полное окрашивание лопастей рыльца перманганатом калия, что свидетельствует об их готовности к восприятию пыльцевых зерен. На стадии раскрытого цветка происходит закручивание лопастей рыльца при отсутствии их окрашивания, что говорит об окончании функционирования пестика, которое уже не способно воспринимать пыльцу [3].

При оценке цитогенетических характеристик вида показано, что вид является кариотипически стабильным, число хромосом равно 20. Установлены синхронное протекание мейоза в пределах цветка и отсутствие отклонений от нормального протекания процесса формирования микроспор [4]. Пыльцевые зерна $E.\ cannabinum\ L.\$ округлые, трехбороздные, с шипиками на поверхности. Диаметр пыльцевых зерен составляет 9.61 ± 0.33 мкм. Строение и величина пыльцевых зерен данного вида соответствует особенностям пыльцы энтомофильных растений. Фертильность пыльцевых зерен варьирует от $54\$ до $91\$ %.

В интродукционном эксперименте неотъемлемой частью являются анатомические исследования, поскольку позволяют объяснить некоторые биологические особенности вида, отличающиеся теми или иными структурными образованиями; судить о пластичности вида и успехе его интродукции; выявить анатомические особенности вида для идентификации лекарственного растительного сырья [2].

Выявлено, что листовая пластинка *E. cannabinum* имеет дорсовентральную структуру. Средняя толщина листовой пластинки не превышает 26,59±2,90 мкм, т.е. является «чрезвычайно тонкой» (согласно шкале Б.Р. Васильева, 1988). Снаружи лист покрыт эпидермой, состоящей из одного слоя клеток и принадлежащей к аномоцитному типу. Ширина клеток эпидермы на верхней поверхности листа до 2,98±0,42 мкм, на нижней – 2,90±0,46 мкм. Под верхней эпидермой листа располагается однослойный палисадный мезофилл, содержащий хлоропласты вдоль клеточных стенок. Клетки палисадного мезофилла вытянуто-овальной формы. Коэффициент палисадности «очень низкий» (<30 %) (согласно шкале Б.Р. Васильева, 1988). Губчатый мезофилл состоит из клеток округлой формы. Проводящие пучки закрытые коллатеральные. Устьица чечевицевидные, равноутолщенные, расположены на одном уровне с эпидермой. На эпидерме листа встречается несколько типов трихом: 1) многоклеточные, остроконические волоски с 1-2 клеточным основанием, с тонкими стенками; 2) железистые волоски округлой формы.

Таким образом, установлено, что в условиях юга Томской области *Е. саппаві- пит* регулярно вегетирует, цветет и плодоносит. Данный вид относится к длительновегетирующим летнезеленым растениям с зимним типом покоя. Выявлена его принадлежность к гигрофитной группе растений, на что указывают очень тонкое дорсовентральное строение листа, однослойная эпидерма, расположение устьиц на одном уровне с эпидермой и их отсутствие на верхней стороне листа. У вида установлена протерандрия. На стадии начала изгибания лопастей рыльца выявлена их готовность к восприятию пыльцевых зерен. Показаны стабильный кариотип и нормальный процесс микроспорогенеза, свидетельствующие о приспособлении данного вида к новым условиям произрастания.

- 1. Васильев Б.Р. Строение листа древесных растений различных климатических зон. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1988. 205 с.
- 2. *Тюрина Е.В.* Интродукция зонтичных в Сибири / Под ред. К.А. Соболевской. Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1978. 239 с.
- 3. *Харина Т.Г., Пулькина С.В.* Биологические особенности цветения некоторых лекарственных растений при интродукции в окрестностях города Томска // Роль ботанических садов в сохранении растительного мира Азиатской России. Новосибирск, 2006. С. 304–306.
- 4. *Харина Т.Г., Пулькина С.В., Бабичева Н.В.* Репродуктивный потенциал посконника коноплевидного (*Eupatorium cannabinum* L.) при интродукции в окрестностях г. Томска // Проблемы и стратегия сохранения биоразнообразия растительного мира Северной Азии. Новосибирск, 2009. С. 253–254.

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РАДИАЛЬНЫЙ ПРИРОСТ И АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ГОДИЧНЫХ КОЛЕЦ *LARIX SIBIRICA* LEDEB¹

Л.В. Белокопытова, Е.А. Бабушкина, Е.А. Ваганов

Исследовано влияние условий произрастания на формирование древесины лиственницы сибирской из различных топоэкологических условий в лесостепной зоне Хакасии. Проведен корреляционный анализ климатических параметров (средних температур и сумм осадков по десятидневкам) сезона роста и параметров структуры годичных колец древесины (ширины годичного кольца, радиального размера трахеид и толщины клеточной стенки).

INFLUENCE OF CLIMATIC FACTORS TO RADIAL GROWTH AND ANATOMIC STRUCTURE OF LARIX SIBIRICA LEDEB. TREE-RINGS

L.V. Belokopytova, E.A. Babushkina, E.A. Vaganov

Influence of growth conditions to the wood structure of siberian larch from various topoecological conditions in forest-steppe zone of Khakassia was researched. Correlation analysis of climatic parameters (average temperatures and precipitation amounts on ten-day periods) of growth season and structure parameters of wood rings (tree ring width, radial size of tracheids and thickness of cell walls) was made.

Годичные кольца являются интеграторами влияния внешних условий, изменяющихся со временем. Различные характеристики структуры годичных колец отражают условия разных промежутков сезона роста и по-разному регистрируют изменения в окружающей среде [1]. Гистометрические параметры древесины являются важным источником информации об особенностях отдельных сезонов роста деревьев и используются для более качественной и детальной реконструкции климатических условий.

В данной работе исследовано влияние климатических факторов на ширину годичного кольца и структуру древесины лиственницы сибирской ($Larix\ sibirica\ Ledeb$.) в Ширинском районе Республики Хакасия. Образцы древесины взяты с двух участков, различающихся по влажности (на южном склоне – Π 1, в пойме ручья – Π 2).

Сбор, транспортировка, первичная обработка кернов, измерение и стандартизация ширины годичных колец TRW проводились по стандартным методикам, принятым в дендрохронологии [2]. Анатомические клеточные характеристики древесины были измерены при помощи Image System по известной методике [3]. Полу-

¹ Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 08-04-000296, проекта СФУ (№ 1.7.09) и НШ-65610.2010.4.

ченные ряды радиальных размеров клеток D и толщины клеточных стенок СWT были нормированы (количество клеток в годичном кольце приведено к 15) [4]. Таким образом, были получены две локальных древесно-кольцевых хронологии и два набора локальных клеточных хронологий, охватывающих период с 1969 по 2008 г. Анализ связей климата с данными годичных колец проводился на основе поиска статистически значимых коэффициентов корреляции (сходства) между параметрами

Рассчитанные коэффициенты корреляции климатических факторов по декадам с параметрами древесины приведены на рис. 1 (подписаны значения коэффициентов, значимые на уровне р≤0,10). Так как климатические условия не влияют на анатомические параметры зрелых трахеид, коэффициенты корреляции соответствующей части сезона были исключены из рассмотрения. В связи с тем, что в структуре соседних клеток внешние условия отражаются сходным образом, на рисунке графики показаны выборочно.

На южном склоне ширина годичного кольца показывает отрицательную реакцию на повышение температуры, что связано с иссушением. В пойме же в начале сезона увлажнение достаточное, и реакция радиального прироста на тепло положительна. Однако к середине сезона водный стресс проявляется и здесь.

Влияние климата на клеточные хронологии более выражено и носит сложный характер. Так, на склоне радиальный размер клеток ранней древесины угнетается высокой температурой начала сезона, а поздней – стимулируется осадками начала июля.

Толщина клеточной стенки отрицательно реагирует на температуру всю первую половину сезона, положительное влияние летних осадков сдвинуто в раннюю древесину. Это связано со сроками процессов формирования древесины.

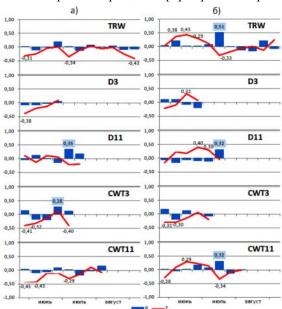


Рис. 1. Коэффициенты корреляции: a – южный склон; δ – пойма ручья

В пойме ручья климатический отклик в радиальном размере клеток такой же, как и в TRW. Толщина клеточной стенки в начале сезона подавляется под действи-

ем тепла, что может быть связано с увеличением доли ранней древесины в годичном кольце. В середине же сезона появляются признаки водного стресса.

Итак, в условиях климата лесостепной зоны Хакасии рост древесных растений зависит от сезонного хода температуры, динамики осадков, а также от микроэкологических условий произрастания.

Использование анатомических параметров клеток древесины позволяет выявить влияние климата более детально. Гистометрический анализ древесных растений, обитающих в различных топоэкологических условиях, показывает, что структура годичных колец может быть использована для экологического мониторинга, так как она регистрирует особенности климатических условий, трансформированных топологией мест произрастания, и динамические изменения в среде обитания, и изменения в ней могут служить основой для восстановления условий роста растений.

- 1. Vaganov E.A., Hughes M.K., Shashkin A.V. Growth dynamics of conifere-tree: images of past and future environments. Berlin: Hiedelberg; New York, USA: Springer-Verlag, 2006.
- 2. Шиятов С.Г. и др. Методы дендрохронологии. Ч. І. Основы дендрохронологии. Сбор и получение древесно-кольцевой информации. Красноярск: КрасГУ, 2000. 80 с.
- 3. *Силкин П.П.* Анализ микроструктуры и химического состава годичных колец в дендрологических исследованиях // Проблемы современной дендрологии: Матер. Междунар. конф. М., 2009. С. 645–651
- 4. Vaganov E.A. The traheidogram method in tree-ring analysis and its application. Methods of Dendrochronology // Appl. in the Environmental Sciences. Cluwer Acad. Publ., 1990. p. 63–75.

Серия биологическая

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОБЕГА НЕКОТОРЫХ ВЕРЕСКОВЫХ ПРИ ПЕРЕХОДЕ К ПАРАЗИТИЗМУ

Ю.А. Бобров

Выделены структурно-функциональные зоны побега формирования некоторых вересковых. Показана смена зон под влиянием усиления связи с микосимбионтом.

CHANGE OF SHOOT STRUCTURE OF SOME ERICACEAE BY TRANSITION TO PARASITISM

Yu.A. Bobrov

Zones of shoot of some Ericaceae are sorted up. Change of these zones under influence of intensification of connections with micosymbiont is shown.

При распространении растений из регионов с бессезонным климатом в страны климата сезонного первичный длительно и непрерывно нарастающий слабоспециализированный побег превратился в моноподиальную ось, сложенную годичными или элементарными побегами, слагающими те или иные функциональные зоны. Специализация участков побегов в своём самом ярком выражении описана W. Troll (1964) и дополнена его последователями [2—4 и др.]. В настоящем сообщении мы поставили цель на материале структурно-функционального зонирования монокарпических побегов нескольких видов вересковых показать, как изменяются данные зоны в пределах морфологического ряда преобразований жизненных форм от кустарников к гетеротрофным травам.

Объектами исследования явились следующие виды сем. Ericaceae – Chimaphila umbellata (L.) W. Barton, Orthilia secunda (L.) House, Pyrola chlorantha Sw., P. aphylla Sm. Они были изучены в природе (2001–2010 гг.) на территории европейской части РФ и в Приморском крае (кроме P. aphylla). По всем видам проанализированы фонды гербариев LE, MOSP, MW, SYCO, SYCT, VLA, YOLA и ряда гербарных коллекций, а также критически изучены литературные данные.

Концепция выделения структурно-функциональных зон, применяемая обычно для моноциклических побегов, расширена нами для описания монокарпического побега различной цикличности, причём как побега травянистых растений, так и древесных. В то же время рассмотрению подверглись только побеги формирования как побеги, имеющие наибольшее значение для сложения структуры особи. Из выделенных нами [5] двух линий трансформации биоморф здесь рассмотрена только корневищная: длиннокорневищный кустарничек — длиннокорневищное фотосинтезирующее травянистое растение — длиннокорневищное нефотосинтезирующее травянистое растение.

Побег формирования длиннокорневищных грушанковых – подземно-надземный, сложенный несколькими подземными годичными побегами, несколькими надземными элементарными вегетативными побегами и одним надземным элемен-

тарным вегетативно-генеративным побегом. Число годичных побегов, повидимому, закреплено генетически; элементарных – зависит от условий среды.

Типичная формула структурно-функциональных зон длиннокорневищного кустарничка $Ch.\ umbellata$ — H3T (нижняя зона торможения) — 3B (зона возобновления) — C3T (средняя зона торможения) — 3O (зона обогащения) — B3T (верхняя зона торможения) — BC (верхушечное соцветие). Боковые побеги формируются из пазушных почек практически любого элементарного вегетативного побега, но наибольшее их число приурочено к первому и последнему. При этом на уровне первого побега образуются новые побеги формирования, а на уровне последнего — побеги дополнения, поэтому первую зону мы рассматриваем как зону возобновления, вторую — как зону обогащения.

У другого длиннокорневищного кустарничка подсемейства O. secunda с примерно равной встречаемостью отмечаются следующие две формулы (названия зон, кроме отдельно указанных, те же):

H3T → 3B → C3T → H3O (нижняя зона обогащения) → $B3T_1$ → C3O (средняя зона обогащения)

$$\rightarrow$$
B3T₂ \rightarrow BC;
H3T \rightarrow 3B \rightarrow C3T \rightarrow H3O \rightarrow B3T \rightarrow BC.

Первый вариант формулы практически повторяет формулу структуры побега *Ch. umbellata* (следует отметить, что зона обогащения побега *Ch. umbellata* составлена, по сути, из НЗО и СЗО), но здесь единая зона обогащения разделяется на две части небольшой по объёму зоной торможения. Во втором варианте есть только нижняя зона обогащения и значительная по размеру зона торможения.

Типичных формул структуры побегов длиннокорневищного фотосинтезирующего травянистого растения типа *P. chlorantha* также две:

$$H3T \rightarrow 3B \rightarrow C3T \rightarrow C3O \rightarrow B3T \rightarrow BC;$$

 $H3T \rightarrow 3B \rightarrow 3T (C3T + B3T) \rightarrow BC;$

Первая из них относительно сходна со вторым вариантом строения побега *O. secunda*, отличаясь только несколько более сдвинутым по побегу вверх положением зоны обогащения; вторая показывает, что побегов дополнения может совсем не быть, т.е. зона обогащения полностью отсутствует.

Для длиннокорневищного нефотосинтезирующего травянистого растения типа *P. aphylla* характерна следующая формула:

$$H3T \rightarrow 3B \rightarrow B3T \rightarrow BC$$
.

В строении подземно-надземных побегов этого растения полностью отсутствуют элементарные вегетативные побеги, поэтому зона торможения представлена только самой верхней её частью.

В рамках выделенной нами линии трансформации жизненных форм под влиянием всё усиливающейся связи с микосимбионтом можно представить следующий ряд преобразований структурно-функционального зонирования подземнонадземного побега грушанковых:

$$\begin{array}{c} \text{H3T} \rightarrow \text{3B} \rightarrow \text{C3T} \rightarrow \text{3O} \text{ (H3O+C3O)} \rightarrow \text{B3T} \rightarrow \text{B3O} \rightarrow \text{BC}; \\ \text{H3T} \rightarrow \text{3B} \rightarrow \text{C3T} \rightarrow \text{H3O} \rightarrow \text{B3T}_1 \rightarrow \text{C3O} \rightarrow \text{B3T}_2 \rightarrow \text{BC}; \\ \text{H3T} \rightarrow \text{3B} \rightarrow \text{C3T} \rightarrow \text{H3O} \rightarrow \text{B3T} \rightarrow \text{BC}; \\ \text{H3T} \rightarrow \text{3B} \rightarrow \text{3T} \text{ (C3T+B3T)} \rightarrow \text{BC}; \\ \text{H3T} \rightarrow \text{3B} \rightarrow \text{B3T} \rightarrow \text{BC}. \end{array}$$

При этом происходит переход от рассеянного способа образования боковых надземных побегов, характерного для кустарничков, к формированию специализированных зон, смещение этих зон вниз по побегу, а затем их выпадение. Интересно, что трансформации при этом подвергается только надземная часть побега, подземная же, состоящая, по сути, из двух зон (НЗТ и ЗВ), остаётся неизменной.

Таким образом, в корневищной линии трансформации жизненных форм вересковых под влиянием микосимбионта происходит обеднение структурнофункционального зонирования побегов в их надземной части.

- 1. Troll W. Die Infloreszenzen. Bd. 1. Jena, 1964. 615 S.
- 2. Серебрякова Т.И. Морфогенез побегов и эволюция жизненных форм злаков. М., 1971.
- 3. *Мусина Л.С.* Эколого-морфологические взаимоотношения стержнекорневых и кистекорневых жизненных форм трав в некоторых группах сложноцветных: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1977
- 4. *Борисова И.В., Попова Г.А.* Разнообразие функционально-зональной структуры побегов многолетних трав // Бот. журн. 1990. Т. 75, № 10. С. 1420–1426.
 - 5. Бобров Ю.А. Грушанковые России. Киров, 2009.

Том 275 Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ХВОЙНЫМИ РАСТЕНИЯМИ МАМОНТОВСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ

Л.В. Ганюшкин, М.В. Филимонова, Л.Ф. Шепелева

Рассмотрены видовые особенности аккумуляции тяжелых металлов и микроэлементов в хвойных растениях западносибирской тайги в условиях нефтяного загрязнения.

CHARACTERISTICS OF ACCUMULATION OF TRACE ELEMENTS CONIFERS MAMONTOV DEPOSITS IN OIL POLLUTION

L.V. Ganyushkin, M.V. Filimonova, L.F. Shepeleva

This article discusses the features of species accumulation of heavy metals and trace elements in conifers of the West Siberian taiga under intense anthropogenic pressure on the example of petroleum contamination.

Территория Западной Сибири в течение последних 30–35 лет подвержена значительному антропогенному воздействию, которое, в первую очередь, связано с разработкой нефтяных и газовых месторождений. Одним из значимых является Мамонтовское месторождение, которое располагается в подзоне средней тайги. В 2006 г. на месторождении произошла авария – разрыв трубопровода, сопровождающийся значительным нефтяным разливом. Большое количество нефти попало в окружающую среду. Специфика местности такова, что гидрофильные вещества, содержавшиеся в нефти, с током грунтовых вод распространились на достаточно обширную территорию. В числе таких веществ, несомненно, оказались и соли тяжелых металлов.

Сбор материала проводился в сентябре 2008 г. в непосредственной близости от территории нефтяного разлива. Исследовались представители следующих видов: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), сосна сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour), пихта сибирская (*Abies sibirica* Ledeb). Отбор проб производился в пятикратной повторности на расстоянии 150–160 м от видимой границы разлива. Отбор образцов и подготовка к анализу проводились в соответствии с методическими рекомендациями «Определение химического состава растительных материалов» [1, 2].

В качестве контрольных растений были взяты образцы, отобранные на территории Барсовой Горы. Эта территория в достаточной степени удалена от источников антропогенного воздействия и располагается на возвышенности, что минимизирует вероятность привнесения загрязняющих агентов грунтовыми водами.

Определение суммы флавоноидов проводилось в соответствии с методической разработкой Ленинградского химико-фармацевтического института. Метод основан на цветной реакции с хлоридом алюминия. Исследование микроэлементного

состава производилось на атомно-адсорбционном спектрометре МГА-915 по стандартной методике.

Как видно из полученных данных (табл. 1), исследуемые образцы характеризуются значительным повышением концентрации тяжелых металлов относительно контроля. И если повышенные концентрации железа, меди, цинка и марганца типичны для растений данного региона, то высокий уровень концентрации кадмия, никеля и свинца свидетельствует об угнетенном состоянии растений. Кадмий и свинец являются для растений токсичными поллютантами. Даже незначительное содержание их в растениях, как правило, приводит к длительному стрессу, а в дальнейшем и к гибели.

Одним из биомаркеров угнетенности растений является высокий уровень содержания флавоноидных соединений в листьях растений. Многие флавоноидные соединения являются вторичными метаболитами антиоксидантной системы растений. Их повышенный уровень свидетельствует об усиленной работе антиоксидантной системы растений в целом и о высокой степени специфической резистентности к имеющимся стресс-факторам в частности. Уровень содержания флавоноидных соединений в исследуемых растениях представлен в табл. 2. Относительно контрольных образцов все растения, собранные на территории Мамонтовского месторождения, отличаются повышенным уровнем содержания флавоноидных соединений.

Таблица 1

Содержание микроэлементов в образцах растений

Мамонтовского месторождения, мкг/г

Элемент	Сосна обыкно-	Сосна сибир- ская	Пихта	Контроль
цинк	234,1±1,9	378,27±2,6	345,64±1,2	214,31±2,4
Никель	48,52±0,2	35,7±0,2	58,4±0,4	2,97±0,15
Марганец	1649,3±14,2	2162±7,3	1561,3±5,8	1674,5±12,3
Железо	884,3±8,3	1041,7±12,6	1204,9±11,1	983,6±9,2
Хром	6,87±0,2	8,23±0,2	7,66±0,5	5,23±0,2
Медь	267±4,2	321,5±7,1	171,8±3,8	226,313±29,3
Свинец	0,62±0,002	3,14±0,25	1,43±0,2	0,76±0,03
Кадмий	7,13±0,3	1,84±0,1	0,64±0,09	0,38±0,01

 ${\it Ta6лица~2}$ Содержание флавоноидов в образцах растений Мамонтовского месторождения

Название растения	Количество флавоноидов
Сосна сибирская	1,1±0,04
Пихта	1,2±0,15
Сосна обыкновенная	1,47±0,2
Контроль	0,61±0,1

Обнаружена сильная положительная корреляция между уровнем флавоноидных соединений и содержанием свинца, хрома и никеля в образцах хвойных. Это является косвенным свидетельством высокой техногенной нагрузки на растения. В целом на месте разлива наблюдается восстановительная сукцессия растительного покрова, однако, как видно из представленных данных, до полного восстановления растительного сообщества еще далеко.

Максимальным уровнем накопления кадмия характеризуется сосна обыкновенная, более всего свинца содержали образцы сосны сибирской, а наибольшим уровнем содержания никеля характеризовались растения пихты. Выявленная положительная корреляция между уровнем флавоноидных соединений и концентрацией некоторых тяжелых металлов позволяет использовать данный параметр при определении степени загрязненности территории.

- 1. *Карпин В.А., Гвоздь Н.Г., Соколов С.В.* Комплексный территориальный медико-экологический мониторинг Ханты-Мансийского автономного округа: Метод. рекомендации для экологов и врачей. Сургут: Изд-во СурГУ, 2001. 16 с.
- 2. Шепелева Л.Ф., Филимонова М.В. Биохимия растительного сырья в условиях техногенных ландшафтов ХМАО: синтез низкомолекулярных антиоксидантов и накопление микроэлементов. Томск: ТМЛ-Пресс, 2008. 118 с.

Том 275 Серия биологическая

ПРОДУКТИВНОСТЬ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ, ПРОИЗРАСТАЮШЕЙ НА МЕРЗЛОТНОЙ ПОЧВЕ

О.Г. Горохова, А.П. Чевычелов, Т.С. Коробкова

Приведены результаты опытов по влиянию минеральных и органических удобрений на урожайность и показатели фотосинтетической продуктивности трех сортов смородины черной, произрастающей на мерэлотной почве. Во всех удобренных вариантах опыта получено статистически достоверное повышение продуктивности исследуемых сортов смородины черной.

EFFICIENCY OF THE CURRENT BLACK GROWING ON FROZEN SOIL

O.G. Gorokhova, A.P. Chevychelov, T.S. Korobkova

Data of tests on the effect of mineral and organic fertilizers on yield and indicators of photosynthetic efficiency of three varieties of the black currant growing on frozen soil are considered. In all test variants with fertilizers statistically reliable increase of efficiency of investigated varieties of the black currant were received.

Известно, что смородина черная является одним из основных видов пищевых и лекарственных растений. На накопление питательных веществ в ягодах и их химический состав существенно влияют условия питания растений [1]. Продуктивность растений является итогом всего метаболизма, в котором определенным образом сбалансированы процессы образования органического вещества и его расходования на рост, дыхание и другие жизненно важные процессы, идущие с затратой энергии [2]. В повышении урожайности важная роль принадлежит интенсивности и чистой продуктивности фотосинтеза.

Исследования проводились на плодово-ягодном участке Якутского ботанического сада ИБПК СО РАН в окрестностях г. Якутска, в условиях полевого опыта в 2008-2009 гг. Почва опытного участка - мерзлотная лугово-черноземная малогумусная, низкообеспеченная подвижными формами калия и азота, и высоко - фосфора. Объектами исследования являлись три сорта смородины черной селекции разных НИИ: альго (Якутский НИИ сельского хозяйства, Якутск), Омская (Сибирский НИИ сельского хозяйства СО Россельхозакадемии, Омск), Надежда (НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко СО Россельхозакадемии, Барнаул). Возраст кустов всех исследуемых сортов – 7-8 лет. NPK – полное минеральное удобрение – вносилось в дозе: азот – 90, фосфор – 60, калий – 60 кг/га. Комплексное микроудобрение: бор -1,0; цинк -20,0; медь -5,0; кобальт -1,0; марганец -10,0; молибден -1.0 кг/га. Перегной вносился из расчета дозы 60 т/га. В качестве минеральных удобрений использовали мочевину с содержанием N – 46 %, аммофос – $P_2O_5 - 52$ % и N – 12 %, а также сульфат калия – $K_2O - 53$ %. Микроэлементы вносились в виде следующих веществ: борной кислоты, хлорида цинка, медного купороса, сульфата кобальта, перманганата калия, молибдата аммония. Повторность опытов трехкратная. Результаты определения урожайности и показателей фотосинтетической продуктивности были обработаны дисперсионным методом анализа [3]. Полученные результаты представлены в табл. 1, 2.

В наблюдаемые годы отмечали значительную разницу в прибавке урожайности всех трех сортов смородины черной (см. табл. 1). Среди исследованных сортов наибольшей продуктивностью характеризовался местный сорт Альго (2297–6350 г). Причем наибольшая абсолютная урожайность в 2008 и 2009 гг. наблюдалась в варианте с внесением перегноя на фоне NPK и составляла 3547 и 6350 г соответственно. Также растения этого сорта смородины хорошо отзывались на внесение микроэлементов (3237–5133 г).

 ${\it Таблица~1}$ Урожайность смородины черной в 2008—2009 гг.

Вариант	Средняя урожайность с куста, г	Прибавка				
Бариант	средняя урожаиность с куста, г	Γ	%			
	Сорт Альго					
Контроль, без удобрений	2297* / 4200	ı	_			
$N_{90}P_{60}K_{60}$	3153 / 4950	856 / 750	37 / 18			
$N_{90}P_{60}K_{60}$ + перегной	3547 / 6350	1250 / 2150	54 / 51			
$N_{90}P_{60}K_{60}$ + микроэлементы	3237 / 5133	940 / 933	41 / 22			
HCP _{0,5}	_	494 / 366	_			
Сорт Омская						
Контроль, без удобрений	1830 / 3183	ı	_			
$N_{90}P_{60}K_{60}$	2347 / 3667	517 / 484	28 / 15			
HCP _{0,5}	-	467 / 435	-			
Сорт Надежда						
Контроль, без удобрений	1813 / 3383	_	-			
$N_{90}P_{60}K_{60}$	2523 / 3733	710 / 350	39 / 10			
HCP _{0,5}	-	215 / 215	_			

^{*}Здесь и далее в таблицах слева от черты приведены данные, полученные в $2008~\Gamma$., справа – в $2009~\Gamma$.

Повышение урожайности смородины черной связано с изменением чистой продуктивности фотосинтеза (ЧПФ, Γ/m^2 -сут) и фотосинтетического потенциала продуктивности (Δ ФП, m^2 -сут). В абсолютном отношении максимальное изменение ЧПФ и Δ ФП в исследуемые годы показала смородина черная сорта Альго (см. табл. 2). При этом потенциал продуктивности всех исследуемых сортов на удобренных вариантах понижался, т.е. уменьшалось время, необходимое для формирования урожая.

Таблица 2
Показатели фотосинтетической пролуктивности сморолины черной в 2008–2009 гг

Показатели фотосинтетическои продуктивности смородины чернои в 2008–2009 гг.							
	****	ΔФП,	Разница с контролем				
Вариант	ЧПФ,		ΨПФ		ΔΦΠ		
	г/м ² ·сут	м ² ·сут	г/м ² ·сут	%	м ² ·сут	%	
1	2	3	4	5	6	7	
Сорт Альго							
Контроль, без удобрения	17,4* / 19,3	8,0 / 7,2	_	-	_	-	
$N_{90}P_{60}K_{60}$	25,1 / 28,6	5,6 / 4,9	7,7 / 9,3	44,3 / 48,2	2,4 / 2,3	30,0 / 31,9	
HCP _{0,5}	_	_	1,9 / 1,3	_	1,2 / 0,3	_	

Окончание табл.2

1	2	3	4	5	6	7	
		Сорт	Омская				
Контроль, без удобрения	14,8 / 16,4	9,5 / 8,6	ı	I	I	ı	
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀	15,5 / 17,2	9,0 / 8,1	0,7 / 0,8	4,7 / 4,9	0,5 / 0,5	5,3 / 5,8	
HCP _{0,5}	-	-	0,3 / 0,2	-	0,2 / 0,4	-	
	Сорт Надежда						
Контроль, без удобрения	16,0 / 17,0	8,8 / 8,2	-	-	-	-	
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀	16,8 / 18,8	8,3 / 7,4	0,8 / 1,8	5,0 / 10,6	0,5 / 0,8	5,7 / 9,8	
HCP _{0,5}	_	_	0,2 / 0,5	-	0,1 / 0,3	_	

Таким образом, применение минеральных и органических удобрений дает возможность существенно повысить продуктивность смородины черной, произрастающей на мерзлотной малоплодородной почве. За наблюдаемые годы урожайность всех исследуемых сортов повысилась. Максимальные статистически достоверные относительные прибавки урожая в 2008 г. (41–54 %) и в 2009 г. (22–51 %) отмечены для сорта якутской селекции Альго на вариантах с применением микро-элементов и перегноя на фоне NPK соответственно. Абсолютные значения чистой продуктивности фотосинтеза и фотосинтетического потенциала свидетельствуют о более высокой продуктивности местного сорта Альго по сравнению с инорайонными сортами.

- 1. Северин В.Ф. Черная смородина в Сибири: технология выращивания, заготовка и переработка. М.: Росагропромиздат, 1988. 93 с.
- 2. *Программа* и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел: Издво ВНИИСПК, 1999. 608 с.
 - 3. Петухов М.П., Панова Е.И., Дудина Н.Х. Агрохимия и система удобрений. М.: Колос, 1979. 392 с.

Серия биологическая

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ БОТАНИЧЕСКОГО ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «КОЛЫВАНСКИЙ БОРОК» (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ, КУРЬИНСКИЙ РАЙОН)

А.Е. Гребенникова, М.М. Силантьева

Раскрывается понятие «ботанический памятник природы». Дается современная экологическая оценка памятника природы «Колыванский борок».

ASSESSMENT OF ECOLOGICAL STATE OF BOTANICAL NATURE MONUMENT «KOLYVANSKY BOROK» (ALTAI TERRITORY, KURINSKY DISTRICT)

A.E. Grebennikova, M.M. Silantyeva

Explains the notion of a botanical nature monument. Gives a modern ecological assessment of the nature monument «Kolyvansky Borok».

Памятники природы – это особо охраняемые территории, которые предназначены для сохранения уникальных, невосполнимых, ценных в экологическом, научном, культурном и эстетическом отношениях природных комплексов, а также объектов естественного и искусственного происхождения.

В Алтайском крае к категории памятники природы юридически отнесено 143 памятника природы краевого значения [5]. Среди них обособлены группы: геологические, гидрологические (водные), ботанические [2].

Подробнее рассмотрим ботанические памятники природы.

Ботанические памятники природы — это места произрастания ценных, реликтовых, редких и исчезающих или типичных для данной местности видов растений, лесные массивы и участки леса, особо ценные по своим характеристикам (породный состав, продуктивность, генетические качества, строение насаждений и т.п.), а также образцы выдающихся достижений лесохозяйственной науки и практики, отдельные объекты живой природы (деревья-долгожители и деревья, имеющие историко-мемориальное значение, растения причудливых форм, единичные экземпляры экзотов и реликтов).

В зависимости от объекта охраны такие памятники природы можно подразделить на три основные группы: 1) видовые памятники природы (охране подлежат одновидовые объекты, в Алтайском крае таких памятников природы всего 4); 2) искусственные насаждения рекреационного назначения и дендрологические; 3) природные комплексы с естественными растительными сообществами.

Одним из ботанических памятников природы с комплексами естественных растительных сообществ является «Колыванский борок», который расположен в Курьинском районе, в окрестностях с. Колывань. Данный памятник природы объявлен постановлением администрации Алтайского края № 234 от 13.04.1998 г.

Площадь, занимаемая памятником природы, составляет 9 462 га, охранная зона не выделена.

Южной границей Колыванского борка служит р. Локтёвка, северо-западной – р. Перекличная в пределах Курьинского района, северо-восточной – р. Суётка в пределах Краснощёковского района (борок частично заходит на территорию Краснощёковского района). На западе граница проходит по отрогам Колыванского хребта, на востоке простираются сельхозугодья и оз. Белое. Центром является Круглый борок.

Территория, занятая Колыванским борком, представляет довольно ровный участок с редкими выходами скальных пород. Почвы горно-лесные темно-серые и серые оподзоленные, глинистые тяжелосуглинистые на суглинисто-щебнистых делювиальных отложениях, а также горные черноземы выщелоченные высоко- и среднегумусные средне- и маломощные (смытые) [3].

Колыванский борок представляет собой эталон коренной растительности подтаёжного подпояса северной покатости Алтае-Саянской горной области — берёзовососновый орляково-осочковый лес. В настоящее время данное сообщество находится на грани исчезновения, характеризуясь высокими показателями флористического богатства (около 750 видов) и видовой насыщенности (90–100 видов на 100 m^2). Является одним из основных фитоценотических центров сосредоточения лесной сибирской флоры, а также местообитанием некоторых эндемичных алтаесаянских видов, редких в Сибири, и видов, занесённых в Красную книгу Российской Федерации [1, 3].

Древесный ярус разновозрастный, образован сосной обыкновенной (Pinus sylvestris) с примесью березы (Betula pendula). Кустарниковый ярус состоит из рябины (Sorbus sibirica), черемухи (Padus avium), караганы (Caragana arborescens) и таволги (Spiraea chamaedryfolia).

Травяной ярус подразделяется на два-три подъяруса.

В первом подъярусе доминируют орляк обыкновенный (*Pteridium aquilinum*), вейник тростниковый (*Calamagrostis arundinacea*).

Второй подъярує образуют осока большехвостая (*Carex macroura*), костяника (*Rubus saxatilis*) (доминанты), хвощ луговой (*Equisetum pretense*), герань ложносибирская (*Geranium pseudosibiricum*), ирис русский (*Iris ruthenica*), примула крупночашечковая (*Primula macrocalyx*). В третьем подъярусе постоянно присутствуют подмаренник Крылова (*Galium krylovii*), фиалка одноцветковая (*Viola uniflora*), майник двулистный (*Maianthemum bifolium*) [1].

В пределах памятника природы встречаются башмачок настоящий (*Cypripedium calceolus*), занесенный в Красную книгу РФ (2008), дремлик зимовниковый (*Epipactis helleborine*) и дремлик болотный (*E. palustris*), лилия почтиволосистая (*Lilium pilosiusculum*). Довольно обычны реликты миоцен-плиоценовых широколиственных лесов: подмаренник Крылова (*Galium krylovii*), чистец лесной (*Stachys sylvatica*), незабудка Крылова (*Myosotis krylovii*), овсяница гигантская (*Festuca gigantea*) [4].

Подобные растительные сообщества служат резервом для восстановления уничтоженных и трансформированных экосистем и могут рассматриваться как мировое природное наследие. При этом на большей части ареала произрастания они уничтожены в результате сплошных рубок. Подвержены интенсивной рекреации (экологически чистое состояние воздушного бассейна хорошо подходит для лечения дыхательных путей и легочных заболеваний).

С целью сохранения подобных растительных сообществ проводится оценка воздействия намечаемой хозяйственной и иной деятельности на окружающую среду. Этот процесс способствует принятию экологически ориентированного управленческого решения о реализации намечаемой хозяйственной и иной деятельности посредством определения возможных неблагоприятных воздействий, оценки экологических последствий, разработки мер по уменьшению и предотвращению воздействий. В соответствии с такой оценкой на территории данного памятника природы рекомендуется следующий режим **охраны:** запрещается любая хозяйственная и иная деятельность, угрожающая состоянию и сохранности охраняемых природных комплексов и объектов, в том числе рубки главного пользования; сбор редких и исчезающих видов растений; промысловая заготовка лекарственных растений; разработка полезных ископаемых; строительство зданий, сооружений, линий электропередач, прочих коммуникаций; взрывные работы.

В качестве мероприятий по сохранению и улучшению состояния памятника природы рекомендуется своевременно осуществлять лесотехнические мероприятия, а также контроль за состоянием памятника природы [3].

- 1. Зеленая книга Сибири: Редкие и нуждающиеся в охране растительные сообщества. Новосибирск: Наука. Сиб. изд. фирма РАН, 1996. 396 с.
 - 2. Красная книга Алтайского края. Особо охраняемые территории. Барнаул, 2002. 339 с.
- 3. *Силантыева М.М.* Колыванский борок // Красная книга Алтайского края. Особо охраняемые природные территории. Барнаул, 2009. С. 220–221.
- 4. Силантыва М.М., Гребенникова А.Е. Редкие и исчезающие виды растений на территории памятников природы Алтайского края // Флора и растительность антропогенно нарушенных территорий. Кемерово: Ирбис, 2010. Вып. 6. С. 89–92.
- 5. Силантьева М.М., Дубров А.Н., Бондаревская С.А. и др. Инвентаризация как один из этапов мониторинга памятников природы в Алтайском крае // Мониторинг биоразнообразия на особо охраняемых природных территориях. Барнаул, 2010. С. 33–38.

Серия биологическая

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДВУХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ARABIDOPSIS С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ПАНМИКСИИ

М.В. Грицких, О.М. Федоренко, Л.В. Топчиева, О.Н. Лебедева

Обсуждаются вопросы о роли генетического полиморфизма и величине популяционногенетического разнообразия видов растений с разной системой воспроизведения. Рассматривается уровень генетической изменчивости периферических популяций.

COMPARATIVE STUDY OF THE NATURAL POPULATIONS' GENETIC STRUCTURE OF TWO ARABIDOPSIS SPECIES WITH DIFFERENT LEVEL OF PANMIXIA

M.V. Gritskikh, O.M. Fedorenko, L.V. Topchieva, O.N. Lebedeva

Genetic polymorphism role and level in the plant populations with different systems are discussed. The research estimates the level of genetic diversity in the marginal populations.

Генетическое разнообразие является основой адаптивных и эволющионных изменений в популяциях, и вместе с тем выступает одним из важнейших факторов их устойчивости [1, 2]. Поэтому вопросы о роли генетического полиморфизма и механизмах поддержания этого вида изменчивости составляют одну из центральных проблем популяционной генетики. Объем генетического разнообразия и распределение его внутри и между популяциями часто связаны с такими факторами, как величина ареала и система воспроизведения видов. Известно, что перекрестноопыляющиеся виды растений имеют более высокий уровень разнообразия по сравнению с самоопыляющимися, причем большую его часть составляет внутрипопуляционная компонента [1]. Аутбредные виды формируют панмиктичные популяции с высоким уровнем генетического разнообразия, который поддерживается благодаря постоянному перекомбинированию генетического материала при скрещиваниях. У инбредных видов, наоборот, уровень панмиксии значительно снижен. Популяции таких видов уступают панмиктичным в генетическом разнообразии, величина которого отражает запас их эволюционной и адаптационной пластичности [2]. Сравнение близкородственных перекрестноопыляемых и самоопыляющихся видов растений будет способствовать пониманию влияния системы скрещивания на становление генетической изменчивости.

В настоящей работе представлены результаты изучения особенностей генетической структуры природных популяций двух родственных видов растений с разной степенью панмиксии с использованием RAPD-маркеров: резухи каменистой (Arabidopsis lyrata ssp. petraea (L.) O'Kane & Al-Shehbaz) – облигатного перекрестноопыляемого вида и резушки Таля (Arabidopsis thaliana (L.) Heynh.) – высокосамофертильной модельной системы.

Проанализированы семь популяций *А. thaliana*, расположенных на северной границе ареала вида, и популяция *А. l. petraea*. Выделение ДНК из листьев 30 взрослых растений каждой популяции проводили по протоколу Мёллера и др.

[3]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли с помощью шести RAPD-праймеров произвольных последовательностей: № 2 (5'-GTGTCGAGTC-3'), № 4 (5'-AGGTCTGACG-3'), № 7 (5'-GTCGATCGAG-3'), № 8 (5'-CGAGCCGATC-3'), № OPC-5 (5'-GATGACCGCC-3'), № P-01D (5'-AGCAGCGTCG-3'), («Синтол», Россия). Амплификацию ДНК проводили по следующему температурному профилю: начальная денатурация 2 мин при 94 °C, следующие 35 циклов — по схеме 94 °C (60 c), 35 °C (40 c), 72 °C (40 c) и конечная элонгация — 10 мин при 72 °C.

В результате было выявлено, что популяция $A.\ l.\ petraea$ имеет более высокий уровень генетического разнообразия по сравнению с популяциями $A.\ thaliana$ (таблица). Очевидно, это различие обусловлено биологическими особенностями размножения видов. Кластерный анализ, проведенный методом UPGMA на основе значений генетических дистанций Нея (D_N) , показал обособленное положение двух видов: популяция $A.\ l.\ petraea$ образует отдельное плечо, а все популяции $A.\ thaliana$ формируют один большой кластер (рис. 1). Однако небольшая величина генетических дистанций между исследуемыми популяциями (среднее $D_N=0,494$) подтверждает тесное родство двух видов $-A.\ thaliana$ и $A.\ l.\ petraea$.

В природных популяциях A. thaliana, расположенных на северной периферии ареала вида, объем генетического разнообразия оказался высоким, что не характерно для самоопылителей, но сопоставимым с установленным ранее с помощью аллозимного метода [4], т.е. в 2–2,5 раза выше по сравнению с популяциями центральной части ареала [5] (см. таблицу). Однако две самые северные популяции арабидопсиса, находящиеся в районе г. Медвежьегорска и пос. Кончезеро, проявили значительно более низкий уровень изменчивости по доле полиморфных локусов ($P_{95\%}$) и ожидаемой гетерозиготности (H_{exp}) по сравнению с остальными популяциями (см. таблицу).

Показатели генетического разнообразия в северных природных популяциях Arabidopsis

Популяция	Географические координаты, с.ш. Р _{95 %} ,		P _{99%} , %	H_{exp}	
RAPD-	анализ, карельские і	популяции А.	thaliana		
Климецкий	61°49′	44,63	47,93	$0,164 \pm 0,018$	
Шуйская	62°00′	34,71	39,67	$0,121 \pm 0,016$	
Царевичи	62°01′	48,76	48,76	$0,170 \pm 0,017$	
Косалма	62°01′	29,75	36,36	$0,110 \pm 0,016$	
Радколье	62°05′	56,20	66,12	$0,205 \pm 0,017$	
Кончезеро	62°08′	17,36	23,97	$0,048 \pm 0,010$	
Медвежьегорск	62°55′	14,88	33,06	$0,063 \pm 0,018$	
Среднее	-	35,18	42,27	$0,126 \pm 0,016$	
RAPD-анализ, карельская популяция A. l. petraea					
Медвежьегорск	62°55′	48,43	62,50	$0,169 \pm 0,019$	
Аллозимный анализ					
Карельские популяции A thaliana [4]	61°16′ – 62°12′	35,00	43,70	$0,124 \pm 0,056$	
Британские популяции A. thaliana [5]	54°00′	-	16,50	0,055	

Примечание. $P_{95\%}$ и $P_{99\%}$, %, — доля полиморфных локусов при 95 %-м и 99 %-м критериях, соответственно; H_{exp} — ожидаемая гетерозиготность.

Предполагается, что высокий популяционный полиморфизм арабидопсиса в северной части его ареала может быть связан с жесткими экологическими условиями произрастания. Результаты исследования позволяют отметить также некоторую широтную границу, севернее которой наблюдается резкое (почти в 2 раза) сокращение генетического разнообразия. Вероятно, это происходит за счет выживания относительно немногих, наиболее приспособленных генотипов, устойчивых к неблагоприятным условиям среды. Генетические различия природных популяций А. thaliana связаны, по-видимому, с широтой мест произрастания растений, о чем свидетельствует обособленное положение на дендрограмме самой северной популяции — Медвежьегорск.

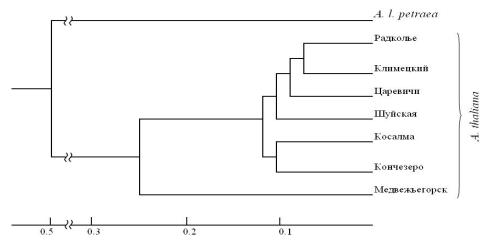


Рис. 1. Дендрограмма генетических различий северных природных популяций *A. thaliana* и *A. l. petraea,* построенная на основе генетических дистанций Нея

Существенное влияние на генетическую структуру популяций оказывают также локальные микроклиматические условия произрастания растений на островах и материке, характеризующиеся своеобразием микроэволюционных процессов. Полученные данные дополняют теоретические представления о генетическом разнообразии периферических популяций.

- 1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.
- 2. Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
- 3. Möller E.M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H.H. // Nucl. Acids Res. 1992. Vol. 20. № 22. P. 6115–6116.
- 4. Φ едоренко О.М., Савушкин А.И., Олимпиенко Г.С. Генетическое разнообразие природных популяций Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. в Карелии // Генетика. 2001. Т. 37, № 2. С. 223–229.
- 5. Abbot R.J., Gomes M.F. Population genetic structure and outcrossing rate of Arabidopsis thaiana (L.) Heynh // Heredity. 1989. Vol. 62, Part 3. P. 411–418.

Серия биологическая

АНАЛИЗ ФЛОРЫ МЕЗОФИЛЬНЫХ ТРАВЯНИСТЫХ ЛЕСОВ КУЗНЕЦКОЙ КОТЛОВИНЫ

А.Ф. Гуляева

Дается краткая характеристика истории изучения Кемеровской области. Проводится таксономический, экологический, хорологический и биоморфологический анализ флоры мезофильных травянистых лесов Кузнецкой котловины.

THE ANALYSIS OF FLORA OF MODERATELY DAMP GRASSY WOODS OF THE KUZNETSK HOLLOW

A.F. Gulyaeva

In article the short characteristic of history of studying of the Kemerovo area is given. It is spent structural, ecological, territorial and the biomorphological analysis of flora of moderately damp grassy woods of the Kuznetsk hollow.

Изучением флоры и растительности Кемеровской области занималось большое количество ученых и натуралистов на протяжении более трехсот лет [2]. Первым посетившим эту территорию по указу Петра I в 1721 г. был Д.Г. Миссершмидт. Позднее здесь работал целый ряд великих ученых: И.Н. Гмелин, С.П. Крашенинников, И.П. Фальк, П.С. Паллас, А.А. Бунге и др. Большой вклад в изучение флоры и растительности области внес основатель сибирской ботанической школы П.Н. Крылов, а также его ученики: В.В. Ревердатто, Л.Ф. Ревердатто, А.В. Куминова. Изучением лесов Кузбасса занимались Г.В. Крылов и Ю.П. Хлонов. На современном этапе (со второй половины XX в.) изучением растительности Кемеровской области занимались и продолжают заниматься сотрудники Томского государственного университета, Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, Кемеровского ботанического сада, Кузбасской государственной педагогической академии и Кемеровского государственного университета: А.В. Положий, Э.Д. Крапивкина, Г.П. Будникова, И.М. Красноборов, В.П. Седельников, Т.В. Мальцева, Н.Н. Лащинский-мл., Н.С. Звягина и др. [4].

Кузнецкая котловина, самая крупная геоморфологическая структура Кузбасса, расположена на северо-западе области. По сравнению с таежными районами, в пределах региона, территория котловины является очень густо заселенной, что связано с тем, что здесь сосредоточены основные промышленные узлы области.

В связи с высокой антропогенной нагрузкой и деструктивным воздействием человека на растительные сообщества возникает необходимость выявления и всестороннего изучения еще не затронутых этой деятельностью районов, а также выделение территорий, особо нуждающихся в охране.

Объектом исследования являются мезофильные травянистые леса Кузнецкой котловины.

Цель данной работы – проведение таксономического, хорологического, экологического и биоморфологического анализа флоры.

В основу работы легли собственные гербарные сборы автора, а также гербарные материалы, собранные сотрудниками Лаборатории геосистемных исследований ЦСБС СО РАН и Кузбасской государственной педагогической академии. При планировании маршрутного обследования Кузнецкой котловины использовался анализ топографической карты масштаба 1:25000 для выявления наиболее интересных местообитаний по признакам рельефа. Для экологического анализа ценофлоры использовалась классификация, основанная на отношении растений к обеспечению водой, для выделения жизненных форм – классификация И.Г. Серебрякова (1962–1964). В ходе анализа были использованы также работы: Н.Н. Лащинского (2007–2009), Флора Сибири (1987–2003, т. 1–14).

При исследовании мезофильных травянистых лесов Кузнецкой котловины зарегистрировано 384 вида сосудистых растений, относящихся к 229 родам и 66 семействам.

Преобладающей древесной породой является береза повислая — *Betula pendula* Roth., средний диаметр 26 см, высота 18 м. Кроме березы, значительна примесь осины — *Populus tremula* L. и пихты — *Abies sibirica* Ledeb. Отмечается многочисленное возобновление березы и осины, пихта возобновляется слабо.

Общая таксономическая структура говорит о преобладании цветковых растений (94,5 %), из которых двудольные составляют 76,8 %, а однодольные — 18,7 %; а также о пониженном участии сосудистых споровых (4,2 %) и голосеменных растений (1,3 %), что характерно и для других бореальных флор Голарктики [1 и др.].

На долю 10 ведущих семейств приходится 60,8 % видового состава. В целом набор ведущих семейств характерен для большинства бореальных флор (таблица). Наиболее богато представлены такие семейства, как *Asteraceae*, *Poaceae* и *Rosaceae*.

Семейство	Количество видов	Количество видов от общего состава, %
Asteraceae	50	13,0
Poaceae	32	8,3
Rosaceae	30	7,8
Ranunculaceae	27	7
Fabaceae	21	5,4
Apiaceae	18	4,7
Caryophyllaceae	16	4,2
Lamiaceae	15	3,9
Liliaceae	13	3,4
Scrophulariaceae	12	3,1
ВСЕГО:	234	60,8

Участие ведущих семейств по количеству видов

Отражением исторического процесса формирования флоры является современное распространение слагающих ее видов [9]. При определении характера ареалов видов ценофлоры за основу взяты их типы ареалов, применяемые многими авторами при изучении флоры Сибири [1, 3].

Преобладающее положение занимают виды евразийской группы ареалов, число которых достигает 181 видов (47,1 %), составляющие основу изучаемой ценофлоры. Внутри группы можно выделить собственно евразийские виды (135), евросибирские (21), евро-западноазиатские (15) и евразийско-атлантические (10).

Группа видов с азиатским типом ареалов достаточно обширна и составляет 100 видов, или 26,0 % от общего видового богатства флоры. В состав группы вхо-

дят виды собственно азиатского распространения (49), североазиатского типа ареала (27), южносибирские (18), западноазиатские (5) и восточноазиатские, представленные 1 видом (рис. 1).

Голарктическая группа насчитывает 80 видов (20,8 %). В составе этой группы представлены растения всех основных местообитаний на территории флоры.

Мультирегиональная группа ареалов включает в себя 22 вида (5,7 %). Представителями этой группы в данной флоре являются, главным образом, виды-сорняки, распространение которых связано с деятельностью человека. *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, также относящийся к мультирегиональной группе ареалов, является неморальным плиоценовым реликтом.



Рис. 1. Соотношение ареалогических групп видов растений мезофильных травянистых лесов Кузнецкой котловины

При выделении экологических групп использовалась классификация, основанная на отношении растений к степени увлажненности среды. В связи с этим выделено четыре основных и две дополнительные группы. В качестве средних условий увлажнения были выбраны условия настоящего суходольного луга, согласно Т.А. Работнову [8].

Наибольший удельный вес имеют мезофиты (46,4 %), что говорит о мезофитном характере данной флоры. На долю растений, предпочитающих местообитания с избыточным увлажнением (гигрофиты, мезогигрофиты, гидрофиты), приходится 32,2 % всей флоры.

Соотношение биоморфологических групп сосудистых растений является одним из важнейших показателей, характеризующих приспособленность растений к различным факторам окружающей среды. Нами проведен анализ всех видов растений, составляющих мезофильные травянистые леса Кузнецкой котловины, по жизненным формам. Общее количество жизненных форм включает 14 групп. Биоморфологический анализ показал, что наземные травянистые — 344 вида (89,7 %) — значительно преобладают над древесными и полудревесными формами — 40 видов (10,2 %). Среди древесных форм доминируют кустарники — 22 вида (5,7 %) над деревьями — 8 видов (2,1 %), полукустарниками и кустарничками. Древесные растения, включающие 29 видов (7,5 %), преобладают над полудревесными — 10 видов (2,6 %).

В группе наземных травянистых растений многолетники преобладают над однолетниками, что является общим свойством для всех бореальных флор [11].

Зональную принадлежность флоры отражает преобладание короткорневищных, длиннокорневищных биоморф над наземными травянистыми многолетниками с другими биоморфологическими признаками [10 и др.]. Короткокорневищные многолетники тяготеют к лесостепным сообществам, а длиннокорневищные – к таежным сообществам. Большое количество биоморфологических групп является свидетельством разнообразия экотопов.

Таким образом, флора высших сосудистых растений мезофильных травянистых лесов Кузнецкой котловины насчитывает 384 вида, относящихся к 229 родам и 66 семействам. По спектру ведущих семейств данная флора относится к типу флор бореальной области. В ареалогическом отношении основу флоры слагают три группы видов: евразийская, азиатская и голарктическая. Около половины флоры составляют виды, типичные для экологических условий мезофильных травянистых лесов, что отражает современные климатические условия региона.

- 1. *Антипова Е.М.* Флора восточного (Ирша-Бородинского) участка зоны КАТЭКа: Дис. ... канд. биол. наук. На правах рукописи. Новосибирск, 1989. 263 с.
- 2. *Красноборов И.М.* Исследователи флоры Кемеровской области // Бот. исследования Сибири и Казахстана. Вып. 12. Барнаул; Кемерово, 2006. С. 134–147.
 - 3. Куминова А.В. Растительность Кемеровской области. Новосибирск, 1950. 167 с.
- 4. *Крапивкина Э.Д.* Кемеровская область. Ч. 1. Природа и население. Коллективная монография / Под ред. В.П. Удодова. Новокузнецк, 2008. С. 68–78.
- 5. Лащинский Н.Н., Лащинская Н.В. Высшие сосудистые растения // Флора Салаирского кряжа. Новосибирск, 2007. С. 155–251.
- 6. Определитель растений Кемеровской области / Сост. И.М. Красноборов, Э.Д. Крапивкина и др. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 477 с.
 - 7. Полевая геоботаника. Т. 3. М.; Л.: Наука, 1964. 146 с.
 - 8. Работнов Т.А. Экология луговых трав. М.: Изд-во МГУ, 1985. 176 с.
- 9. Седельников В.П. Флора и растительность высокогорий Кузнецкого Алатау. Новосибирск: Наука, 1979. 168 с.
 - 10. Серебряков И.Г. Экологическая морфология растений. М.: Высшая школа, 1962. 378 с.
- 11. *Юрцев Б.А.* Флора Сунтар-Хаята. Проблемы истории высокогорных ландшафтов северовостока Сибири. Л.: Наука, 1968. 235 с.
 - 12. Флора Сибири. Т. 1–14. Новосибирск; Томск: Наука. Сиб. отд-ние, 1987–2003.

Серия биологическая

СТРУКТУРА МОНОКАРПИЧЕСКОГО ПОБЕГА SOLANUM DULCAMARA L. (SOLANACEAE)

И.А. Журавлёва, Ю.А. Бобров

Рассмотрена морфологическая структура двух типов монокарпических побегов. Выявлено сходство и различие этих побегов.

STRUCTURE OF MONOCARPIC SHOOT OF SOLANUM DULCAMARA L. (SOLANACEAE)

I.A. Zhuravleva, Yu.A. Bobrov

Morphological structure of two types of monocarpic shoots is examined. Likeness and difference of these shoots are revealed.

Solanum dulcamara L. (паслён сладко-горький) — листопадный лиановидный полукустарник с деревянистым ползучим корневищем. Стебли извилистые, у основания древеснеющие. Листья цельные или рассеченные, яйцевидной или ланцетной формы. Цветки от белого до лилового цвета. Плод — ярко-красная яйцевидная ягода. А.И. Пояркова (1981) S. dulcamara включает в подрод Solanum, в секцию Dulcamara (Dun.) Віttег. Естественный ареал вида охватывает всю Европу и часть Западной Сибири; как заносное встречается в Предкавказье, Средней Азии и Северной Америке, где местами натурализовался [1].

Большинство авторов [2–6 и др.] едины во мнении, что *S. dulcamara* – многолетник; являясь при этом поликарпиком, он состоит из ряда монокарпических побегов, образующих симподиально нарастающую ось. Структурно-функциональное зонирование монокарпических побегов и стало объектом нашего внимания. Для этого изучены материалы собственных сборов, сделанных в Кировской области в 2009–2010 гг., а также фонды гербарной коллекции ВятГГУ и гербариев МW, SYCO, SYCT, IBIW, MOSP. Всего просмотрено более тысячи осей побегов.

- У *S. dulcamara* мы выделили два типа монокарпических побегов: побеги, развивающиеся из почки регулярного возобновления (побеги n-го порядка), и побеги замещения, развивающиеся из пазушной почки на приросте этого года (побеги n+1 и последующих порядков ветвления). Структура данных монокарпических побегов различна.
- 1. Побег, развивающийся из почки регулярного возобновления, состоит из 9—14 метамеров с удлиненными междоузлиями, в узле которых располагаются почка и лист. Заканчивается побег терминальным соцветием. В процессе роста он одревесневает и под своей тяжестью полегает основанием, однако верхушка продолжает ортотропное нарастание. В результате полегания на стебле могут образовываться внеузловые придаточные корни. В конце вегетационного периода часть побега n-го порядка отмирает, остается лишь одревесневшая часть с почками регулярного возобновления, которые тронутся в рост на следующий год.

Исходя из представлений W. Troll (1964) с последующими дополнениями [8, 9], в составе побега многолетних растений принято выделять ряд структурнофункциональных зон (СФЗ). Мы выделили следующие СФЗ у этого монокарпического побега: зона верхушечного соцветия (ВС), зона обогащения (ЗО), средняя зона торможения (СЗТ), зона возобновления (ЗВ) и нижняя зона торможения (НЗТ) (рис. 1, а). В состав НЗТ входят 1–2 метамера (в их узлах находятся катафиллы и паракатафиллы). ЗВ представлена 5–7 метамерами, почки которых развиваются на следующий год (в узлах метамеров этой зоны — паракатафиллы и листья срединной формации). Между ЗО и ЗВ располагается СЗТ, куда входят 1–2 метамера с листьями срединной формации, пазушные почки которых не трогаются в рост. ЗО представлена 1–2 метамерами с листьями срединной формации, из пазушных почек которых развиваются побеги обогащения. Побег заканчивается ВС — терминальным абрактеозным многоярусным неравнобоким дихазием.

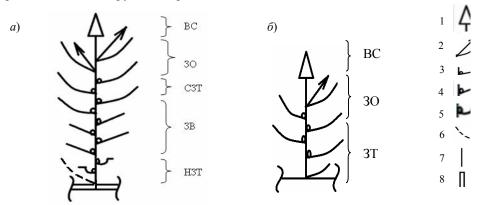


Рис. 1. Структурно-функциональные зоны монокарпического побега n-го (a) и n+1-го порядка (δ) : BC — верхушечное соцветие; 3О — зона обогащения; C3T — средняя зона торможения; 3В — зона возобновления; H3T — нижняя зона торможения; 3Т — зона торможения. Условные обозначения: I — соцветие; 2 — лист срединной формации с побегом n+1-го порядка; 3 — лист срединной формации с пазушной почкой (ПП); 4 — лист переходного типа с ПП; 5 — катафилл с ПП; 6 — отмерший лист; 7 — побег этого года; 8 — побег прошлого года

2. Побеги n+1 и последующих порядков ветвления, образующиеся в этом году, в отличие от побега n-го порядка, — силлептические (иногда — пролептические), состоящие из 5–7 метамеров с удлинёнными междоузлиями. В узлах метамеров располагаются почка и лист срединной формации. Эти побеги не полегают; в конце вегетационного периода отмирают полностью.

В структуре этого типа побегов мы выделили три СФ3: ВС, 3О и зону торможения (3Т) (рис. 1, δ). В состав 3Т входят 4–6 метамеров побега, почки которых не трогаются в рост. 3О представлена 1–2 метамерами побега, из пазушных почек которого развиваются побеги обогащения. ВС – терминальный абрактеозный многоярусный неравнобокий дихазий. В отличие от побега n-го порядка, данный тип монокарпического побега не имеет 3B, так как он полностью отмирает в конце вегетационного периода.

Таким образом, монокарпические побеги Solanum dulcamara отличаются числом метамеров и структурно-функциональным зонированием. У побегов n+1 и последующих порядков ветвления метамеров меньше, отсутствует зона возобновления, есть одна зона торможения, которая, вероятно, гомологична средней зоне торможения побегов n-го порядка, так как в узлах слагающих её метамеров находятся листья срединной формации.

- 1. *Пояркова А.И. Solanaceae* // Флора европейской части СССР / Под ред. А.А. Федорова. Л., 1981. Т. 5. С. 179–201.
- 2.~Aбрамова~T.И.~Solanaceae // Флора Нижнего Дона / Под ред. Г.М. Зозулина, В.В. Федяева. Ростов н/Д, 1985, Ч. 2. С. 8–21.
- 3. *Аветисян В.Е. Solanaceae* // Флора Армении / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. Ереван, 1987. Т. 8. С. 166–186.
- 4. *Барбарич А.И. Solanaceae* // Определитель высших растений Украины / Под ред. Ю.Н. Прокудина. Киев, 1987. С. 278–281.
- 5. Салмина Н.П. Solanaceae // Горчаковский П.Л. с соавт. Определитель сосудистых растений Среднего Урала. М.: Наука, 1994. С. 379–381.
- 6. Скворцов В.Э. Атлас-определитель сосудистых растений таежной зоны Европейской России. М., 2000.
 - 7. Troll W. Die Infloreszenzen. Bd. 1. Jena, 1964. 615 S.
- 8. *Борисова И.В., Попова Г.А.* Разнообразие функционально-зональной структуры побегов многолетних трав // Бот. журнал. 1990. Т. 75, №10. С. 1420–1426.
- 9. *Мусина Л.С.* Эколого-морфологические взаимоотношения стержнекорневых и кистекорневых жизненных форм трав в некоторых группах сложноцветных: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1977. 14 с.

Том 275 Серия биологическая

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ В РОССИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ КОЛЛЕКЦИИ СТРАСТОЦВЕТОВ И ЕЁ СОХРАНЕНИЕ В КУЛЬТУРЕ *EX SITU*

А.А. Кириллов, Г.Л. Коломейцева

Рассматриваются история культуры страстоцветов, краткие итоги культивирования, необходимость разработки методов in vitro и перспективные направления селекции.

THE PRECONDITIONS OF MAKING THE PASSIFLORA NATIONAL COLLECTION IN RUSSIA AND CONSERVATION EX SITU

A.A. Kirillov, G.L. Kolomeitseva

The article considers the history and results of Passiflora cultivation, the necessity of developing methods of in vitro culture and perspective direction of hybridization.

Род страстоцвет (*Passiflora* L.) сегодня насчитывает 537 видов, распространённых, главным образом, в Центральной и Южной Америке. Род представлен травянистыми или полуодревесневающими растениями, большей частью лианами, лазающими посредством усиков, с очередными цельными или лопастными листьями, имеющими прилистники. Цветки одиночные либо в соцветиях различного типа с тремя (реже двумя) брактеями, в основном 5-членные, чаще с двойным околоцветником. Привенчик (корона) в виде каймы, бугорков или нитей. Тычинок пять, завязь из трёх плодолистиков на андрогинофоре, реже гинофоре [4].

Вопросам всестороннего изучения страстоцвета посвящено не так уж много литературы. В основном это путеводители и каталоги растений ботанических садов, а также статьи в популярных изданиях.

Целью данной работы было создание наиболее репрезентативной коллекции представителей рода *Passiflora ex situ* в Фондовой оранжерее Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН.

Мы поставили перед собой следующие задачи:

- 1) комплектование коллекции;
- 2) усовершенствование методов оранжерейного культивирования и оздоровления посадочного материала;
 - 3) разработка биотехнологических методик культивирования;
 - 4) получение межвидовых декоративных и плодовых гибридов.

Страстоцветы известны с 1612 г. Самый первый вид – Passiflora incarnata L. – был введён в культуру в Париже. Чуть позже, в 1625 г., был интродуцирован *P. caerulea* L., а за ним последовали *P. foetida* L., P. laurifolia L., P. lutea L., *P. suberosa* L. и другие виды.

Эти растения были чрезвычайно популярны в викторианской Англии, после чего интерес к ним в значительной мере угас. Но с начала 90-х годов XX в. страсто-

цвет снова приобрёл популярность в Европе, что подтверждается появлением обширной специализированной литературы, двух журналов и многочисленных дискуссионных онлайн-групп, интерес которых обращен к этому роду. Рост спроса на частные ботанические экскурсии вызвал настоящий бум в туристической индустрии. Увеличилось число энтузиастов, которые вводят в культивирование виды, привезённые из своих экспедиций [8].

В России же страстоцвет был малоизвестен в любительском цветоводстве и выращивался лишь в ботанических садах. История его культуры в нашей стране начинается с 1812 г., когда в Никитском ботаническом саду в культуру был введен *P. caerulea* L.. Как пишет Л.И. Улейская (1996), этот вид до настоящего времени остаётся единственным зимующим страстоцветом открытого грунта. В дальнейшем там же были введены в культуру *P. biflora* Lam., *P. serratifolia* L., *P. alata* Curtis, *P. aurantia* G. Forster, *P. ciliata* Ait., *P. caerulea tenuifolia* hort. и *P. holosericea* L., а чуть позднее, в 1818 г., – *P. rubra* Lam. и *P. edulis* Sims. Некоторые из этих видов рекомендовали к выращиванию в открытом грунте в летнее время.

Представительная коллекция страстоцветов была также собрана в БИН им. В.Л. Комарова РАН, где сегодня культивируется более сорока видов и гибридов этих растений [1].

С 2008 г. нами были начаты интродукционные работы по созданию представительной коллекции страстоцветов в Фондовой оранжерее ГБС РАН. Ранее коллекция включала 7 видов и 2 гибрида [2]. Сегодня собрано 130 таксонов, среди которых 94 вида и 36 плодовых и декоративных гибридов. Наиболее интересными для итродукционной работы являются 24 таксона, полученных из естественных популяций, а также 3 вида, включённых в программу Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП). Сегодня это самая крупная коллекция страстоцветов в России, которая представлена на главной выставочной площадке Москвы и входит в десятку крупнейших национальных коллекций страстоцветов мира.

Пока ещё не столь длительная по времени, но тщательная и кропотливая работа с коллекцией выявила некоторые серьёзные проблемы содержания страстоцветов в оранжерейных условиях. Прежде всего, это восприимчивость многих таксонов к почвенным бактериям и корневым нематодам, ингибирующие воздействие высоких температур на протекание генеративной фазы, а также лиановидный габитус, требующий зачастую высоких опорных конструкций для формирования взрослых цветущих экземпляров.

Особый аспект нашей деятельности направлен на разработку биотехнологических методов культуры *in vitro* для оздоровления маточных растений от вирусов различной природы. Некоторые из них не оказывают существенного влияния на цветение и плодоношение страстоцветов, преимущественно это относится к декоративным гибридам. Но переносимый тлёй мозаичный вирус (CABMV) и древесный вирус страстоцвета (PWV) наносят большой вред промышленному плодоводству и заражают соседние естественные популяции (Pinto, 2010). Метод культуры ткани может быть использован также и в селекционной работе, например, для сохранения уникальных генотипов, погибающих при использовании традиционных методов селекции и ускорения процесса получения и размножения полиплоидных форм.

Интересной и достойной особого внимания нам представляется селекционная работа с этой культурой. История гибридизации страстоцветов началась в 1821 г., когда англичанин Томас Милн создал первый гибрид – *P. х violacea 'Sabine'*. Любопытно отметить, что он всё ещё не угратил своей популярности и предлагается в некоторых европейских питомниках. К числу ранних гибридов относятся также широко известные сегодня *P. х bellotii* (1824) и *P. х colvillii* (1825). Причём гибрид *P. х bellotii* вследствие уникальной бело-розовой окраски венчика пользуется особым вниманием среди российских коллекционеров. К сожалению, генофонд гибридных

пассифлор был существенно обеднен в XX в., и многие из первых гибридов не смогли дожить до наших дней. Во время Первой и Второй мировых войн люди вынуждены были бросать свои коллекции, а ботанические сады — сокращать затраты на содержание растений в зимний период. Это привело к потере многих замечательных гибридов, которые могли бы внести достойный вклад в создание новых сортов.

Активная селекционная деятельность продолжается и по сей день: сегодня создано свыше 420 гибридов, официально зарегистрированных в международном обществе пассифлористов – Passiflora Societies International [7].

В основе нашей селекционной работы как с плодовой, так и с декоративной культурой страстоцвета лежит представление о характере индивидуальной изменчивости перспективных видов, сложившееся на основе осмысления литературных данных и собственного исследовательского опыта. Особый интерес для нас представляют виды, прошедшие так называемую фазу «народной селекции». Именно здесь были отобраны наиболее удачные культивары — собранные в различных географических условиях, из разного исходного материала и с разными биологическими и хозяйственными свойствами. Взаимное скрещивание между подобранными таким способом родительскими парами, по нашему мнению, не просто обогатит генофонд культурных форм страстоцвета, но станет первым важным шагом к созданию совершенно новой группы межвидовых плодовых гибридов. Проведение селекционной деятельности в условиях Фондовой оранжереи поможет минимизировать негативные климатические факторы и сосредоточить внимание на характеристиках качества плодов, степени самосовместимости и скороплодности межвидовых гибридов.

Анализ показал, что для успешного культивирования, а также для проведения селекционной и фитосанитарной работы с представителями рода пассифлора необходимо опираться на солидную научную и технологическую базу. Все искомые условия — наличие соответствующего климатрона, биотехнологических лабораторий, карантинных оранжерей и статус Фондовой оранжереи (традиционно распространяющей посадочный материал тропических растений по России) имеются в ГБС им. Н.В. Цицина РАН, именно поэтому работа над созданием и научным изучением национальной коллекции страстоцветов здесь будет проходить на высоком профессиональном уровне.

- 1. Арнаутов Н.Н., Арнаутова У.М., Васильева И.М. Каталог оранжерейных растений Ботанического института им. В.Л. Комарова. СПб.: Росток, 2003. С. 61.
 - 2. Головкин Б.Н. Комнатные растения: Справочник М., 1989. С. 303–305.
- 3. Улейская Л.И. Перспективы интродукции страстоцвета (*Passiflora* L.) в Никитском ботаническом саду // Труды Первой Всерос. конф. по ботаническому ресурсоведению. СПб., 1996. С. 135–136.
- 4. Feuillet C. and MacDougal, J.M. Passifloraceae // K. Kubitzki, ed. The families and genera of vascular plants IX: Springer. Berlin, 2006. P. 270–281.
- 5. Martin F. W., Nakasone H. Y. The Edible Species of Passiflora // Economic Botany. 1970. Vol. 24, No. 3. P. 333-343
- 6. Pinto A., Monteiro-Hara A., Stipp L., Mendes B. In vitro organogenesis of Passiflora alata // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2010. Vol. 46. P. 28–33.
- 7. Vanderplank R.J.R. A statistical look at the genus Passiflora // Passiflora, The Journal and Newsletter of the Passiflora Society. 2007. Vol. 17, № 1. P. 14–15.
- 8. Ulmer T., MacDougal J.M. Passiflora, Passionflowers of the World. Portland, Cambridge: Timber Press, 2004. P. 15–26.
- 9. Список страстоцветов, включенных в The IUCN Red List of Threatened Species [Электронный ресурс] URL: http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/search

Серия биологическая

К ИЗУЧЕНИЮ ЭПИЛИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ ТОМСКОЙ ГОРОДСКОЙ АГЛОМЕРАЦИИ

В.В. Конева

Впервые для территории города Томска приводится предварительный список эпилитных лишайников, насчитывающий 18 видов.

TO STUDYING EPILITIC LICHENS OF AGGLOMERATION OF TOMSK

V.V. Koneva

For the first time for Tomsk area the preliminary list epilitic lichens, including 18 species is resulted.

В настоящее время актуальна проблема оценки воздействия на окружающую среду с помощью биологических объектов, т.е. биоиндикация. Считается, что использование метода биоиндикации позволяет решать задачи экологического мониторинга в тех случаях, когда совокупность факторов антропогенного давления на биоценозы трудно или неудобно измерять непосредственно [1]. В мировой практике и в России уже многие десятки лет для оценки уровня атмосферного загрязнения применяются методы лихеноиндикации. Эти методы, основаны на изучении изменения структуры лишайниковых сообществ и состава лихенобиоты под воздействием загрязнения. При проведении лихеноиндикационнных исследований базой являются флористические и ценотические исследования. На территории г. Томска лихеноиндикационных исследований не проводилось, а сведения о видовом разнообразии лишайников отсутствуют.

В течение 2003 г., а также в июле 2010 г. нами было проведено предварительное обследование лишайников скальных выходов, расположенных на территории Томской городской агломерации . Для города Томска упоминается о наличии двух скальных выходов. Один из них находится в окрестности пос. Восточный (56 °27'38''N – 85 °00'48''E) – это обнажение древних пород на левом берегу р. Ушайки, правого притока р. Томи. В обнажении вскрываются нижнекаменно-угольные глинистые сланцы и песчаники, обнажение разбито рядом трещин, заполненных единичными жилами молочно-белого кварца. Мощность кварцевых жил составляет в пределах обнажения не более 10–15 см. Незадернованный участок протяженностью около 10–13 м высотой до 5 м. Склон используется как легкодоступная учебная альпинистская трасса, рядом расположены садовые участки.

Номенклатура приводится в соответствии с данными базы «Index Fungorum» [2]. В результате исследования было выявлено 18 видов эпилитных лишайников: Acarospora fuscata (Röhl.) Arnold, A. impressula Th. Fr f. tominiana (H. Magn.)

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 10-04-90801 – моб ст).

N.S. Golubk., A. jeniseiensis H. Magn., A. macrospora (Hepp) Bagl., A. smaragdula (Wahlenb.) A. Massal., Caloplaca flavovirescens (Wulf.) Dalla Torre et Sarnth., Collema limosum (Ach.) Ach., Diploschistes muscorum (Scop.) R. Sant., Lecanora dispersa (Pers.) Sommerf, L. frustulosa (Dicks.) Ach., L. muralis (Schreb.) Rabenh., Lecidella stigmatea (Ach.) Hertel et Leuckert, Phaeophysia sciastra (Ach.) Moberg, Physcia caesia (Hoffm.) Fürnr., P. phaea (Tuck.) J.W. Thomson, Rhizocarpon grande (Flörke) Arnold, Xanthoparmelia somloënsis (Gyeln.) Hale, X. polycarpa (Hoffm.) Rieber.

Второй скальный выход находится почти в центре г. Томска, в районе ул. Обруб, также в пойме р. Ушайки. К сожалению, берег реки в этом месте используется местными жителями в качестве свалки, и его исследование не представляется возможным. Кроме того, эпилитные лишайники были собраны в районе Академгородка и в районе Академическом — на отдельных камнях лесного склона и на основании каменно-железного забора. Это виды из родов *Thelidium, Buellia, Caloplaca, Lecanora* и, возможно, *Physcia* и *Aspicilia*. Однако образцы находятся в обработке и в настоящий момент видовая принадлежность достоверно не выяснена.

Автор выражает искреннюю благодарность доктору биол. наук, профессору Н.В. Седельниковой за полную проверку всех определенных и идентификацию особо трудных образцов. А также И.К. Коневу за организацию и проведение экспедиционных работ и Е.В. Романовой за консультации по проблемам лихеноиндикации.

^{1.} Шитиков В.К., Розенберг Г.С., Зинченко Т.Д. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. 463 с.

^{2.} Index Fungorum [Электронный ресурс] URL: http://www.indexfungorum.org/

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РОДА *WOODSIA* НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ¹

А.А. Кузнецов

Приводится обзор основных литературных источников, посвящённых изучению систематики и распространению видов Woodsia на территории Сибири начиная с XIX в.

THE STUDY OF THE GENUS WOODSIA IN SIBERIA

A.A. Kuznetsov

The paper provides an overview of the basic literature on the study of taxonomy and distribution of Woodsia in Siberia, starting from the XIX century.

Изучение рода *Woodsia* s.l. на территории Сибири началось в период составления первых региональных флористических сводок. Первой такой работой стала «Flora Altaica», в которой указывается 17 видов папоротников [29]. Род *Woodsia* в ней, наряду с другими папоротниками, включён в порядок *Filices verae* и представлен одним видом — *W. ilvensis* R.Br.

В более поздней работе С. Ledebour'а – «Flora Rossica» для территории Сибири им приводится 28 видов папоротников, из них 5 видов отнесены к роду *Woodsia: W. ilvensis* R.Br., *W. hyperborean* R.Br., *W. pilosella* Rupr., *W. glabella* R.Br., *W. asplenioides* R.Br. [30].

В работе Н. Турчанинова «Flora Baicalensi-Dahurica», род *Woodsia* представлен двумя видами — *W. ilvensis* R.Br. и *W. glabella* R.Br. [33]. Также им упоминается вид *W. asplenioides* Rupr. как предположительно встречающийся в Даурии, но в то же время ему достоверно неизвестный.

Н. Printz в 1921 г. для территории Саян приводит *W. ilvensis* (L.) R.Br. с двумя подвидами – *W. ilvensis* subsp. *rufidula* (Koch) Aschers. et Graebn и *W. ilvensis* subsp. *alpina* (Bolton) Aschers. et Graebn [32]. Позднее эти подвиды *W. ilvensis* (L.) R.Br. приведены П.Н. Крыловым в работах «Флора Алтая и Томской губернии» [5] и «Флора Западной Сибири» [6], а также Л.П. Сергиевской во «Флоре Забайкалья» [11].

В 1925 г. А.В. Фомин описывает новые для Сибири разновидности и формы видов Woodsia – W. ilvensis var. acuminata Fomin, W. glabella f. rotundata Fomin, W. glabella f. heterophylla Turcz. ex Fomin, W. glabella f. pinnatifida Fomin [28]. В 1930 г. А.В. Фомин во «Флоре Сибири и Дальнего Востока» для территории Сибири приводит Woodsia в составе 3 видов и 6 разновидностей: W. glabella R.Br., включая var. rotundata Fomin, var. heterophylla Turcz., var. pinnatifida Fomin; W. alpina Gray,

 $^{^1}$ Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (проекты № 10-04-90713 моб_ст и № 10-04-00637а).

включая var. *pseudoglabella* Christ.; *W. ilvensis* R.Br. включая var. *acuminata* Fomin, var. *calcarea* Fomin [15]. Эти же виды, но уже без упоминания разновидностей, отмечаются А.В. Фоминым для Сибири в 1934 г. во «Флоре СССР» [16].

Для территории Сибири, особенно её южных регионов, объём рода *Woodsia*, приводимый отечественными ботаниками, долгое время оставался практически неизменным и варьировал от 2-3 до 4 видов, включая *W. subcordata* Turcz. [1, 8–11, 18], приводимую для Красноярского края и Восточной Сибири, и *W. manchuriensis* Hook. [18], приводимую для Красноярского края. Изменениям подвергались лишь внутривидовые таксоны. Так, В.Н. Сипливинский (1974) в «Заметках о байкальской флоре» возводит в ранг видового таксона *W. ilvensis* var. *acuminata* Fomin – *W. acuminata* (Fomin) Sipl. [12].

Первая монографическая работа, посвящённая изучению не только видового состава папоротников, но и их эколого-биологических особенностей на территории Южной Сибири, была проведена И.И. Гуреевой [2]. В результате этого исследования из состава флоры были исключены W. alpina (Bolt.) Gray и W. manchuriensis Hook. и восстановлена в ранге вида W. asplenioides Rupr.

В 1985 г. А.И. Шмаков в «Конспекте папоротников флоры Алтайского края» публикует новые виды Woodsia, прежде рассматривавшиеся в категории внутривидовых таксонов: W. calcarea (Fomin) Schmakov, W. pinnatifida Schmakov, W. heterophylla Turcz. ex Fomin (Schmakov) [19]. В 1992 г. А.И. Шмаков в систематическом обзоре папоротников Алтая, Тянь-Шаня и Семиречья род Woodsia представляет в составе одноимённой секции, состоящей из двух серий: Ilvensis Schmakov и Glabellae Schmakov [20]. В первую серию вошли виды: W. ilvensis, W. calcarea, W. acuminata; во вторую: W. glabella, W. pinnatifida, W. heterophylla. В качестве вида гибридного происхождения приводится W. alpina по единственной находке с территории Северного Тянь-Шаня.

В 1993 г. Н.В. Степанов, проводя исследования птеридофлоры Западного Саяна, предложил свой вариант номенклатурных преобразований приводимых для территории Южной Сибири таксонов *Woodsia* [13]. Для данной территории он принимает *W. glabella* R.Br. s.l. и *W. ilvensis* (L.) R.Br. s.l., выделяя подвиды: *W. glabella* subsp. *asplenioides* (Rupr.) Stepanov, *W. glabella* subsp. *pinnatifida* (Fomin) Stepanov, *W. glabella* subsp. *glabella*. К последнему типовому подвиду он относит *W. heterophylla* (Turcz. ex Fomin) Schmakov. Им же описана новая разновидность *W. ilvensis* var. *taigischensis* Stepanov, которая была поднята нами до ранга вида – *W. taigischensis* (Stepanov) A.A. Kuznetsov [7].

Иное понимание объёма рода отражено Н.В. Степановым во «Флоре Саян» (2003), где им приводятся 5 видов: W. asiatica, W. calcarea, W. glabella, W. ilvensis, W. pinnatifida [14].

В обзоре видов семейства Woodsiaceae в Евразии А.И. Шмаковым и А.Я. Киселёвым (1995) для территории Сибири приводятся 8 видов Woodsia в составе секции Woodsia Ма и двух подсекций: Ilvensis Ching, Glabellae Schmakov [26]. К первой подсекции им отнесены 4 вида серии Ilvensis Schmakov (W. calcarea, W. acuminata, W. ilvensis, W. asiatica), ко второй подсекции им отнесены 4 вида (W. glabella, W. asplenioides, W. heterophylla, W. pinnatifida). Впервые для территории России, для районов Западной и Восточной Сибири, авторами был описан вид — W. asiatica Schmakov et Kiselev, который в этом же году приводится А.И. Шмаковым в «Конспекте папоротников Алтая, Тянь-Шаня и Семиречья» [21] наряду с W. acuminata, W. ilvensis, W. calcarea, W. glabella, W. pinnatifida, W. heterophylla, W. alpina.

В 1996 г. А.И. Шмаковым в «Конспекте папоротников Алтая» приводится уже 6 видов Woodsia: W. calcarea, W. acuminata, W. ilvensis, W. asiatica, W. heterophylla, W. pinnatifida [22]. Эти же виды упоминаются А.И. Шмаковым для Сибирского региона в «Определителе папоротников России» [23].

В 2003 г. в работе, посвящённой таксономической ревизии семейства *Woodsiaceae* в Евразии, А.И. Шмаков дополнительно приводит для Западной Сибири *W. intermedia* Rupr., для Восточной Сибири – *W. subcordata* и сводит *W. pinnatifida* (Fomin) Schmakov в синонимы *W. heterophylla* (Turcz. ex Fomin) Schmakov [31]. Таким образом, в «Определителе растений Алтайского края» (2003) им приводится уже 5 видов *Woodsia* [24]. В последней обработке папоротников для «Флоры Алтая» (2005) А.И. Шмаков дополнительно к пяти ранее приводимым видам добавляет *W. glabella* R.Br. с указанием трёх мест сбора [25].

Не все систематики признают объём рода Woodsia, предлагаемый А.И. Шмаковым для территории Сибири. Так, в работе, посвящённой исследованиям равноспоровых папоротников Южной Сибири, И.И. Гуреева (2001) приводит в составе рода Woodsia 3 вида: W. ilvensis, W. glabella, W. asplenioides, причём в пределах первых двух И.И. Гуреева признаёт первоначально описанные А.В. Фоминым (1925, 1930) разновидности [4, 15, 28]. Для вида W. ilvensis (L.) R.Br. И.И. Гуреева приводит 2 разновидности (W. ilvensis var. acuminata Fomin, W. ilvensis var. calcarea Fomin) и делает предположение, что эти разновидности являются экологическими формами [3] или экотипами [4] полиморфного вида с широкой экологической амплитудой. Она считает, что эти габитуально отличные формы не обнаруживают самостоятельных ареалов или чёткой экологической приуроченности, встречаясь в пределах южносибирского участка ареала W. ilvensis. По аналогии с предыдущим видом И.И. Гуреева рассматривает и W. glabella, приводя для севера Средней Сибири типичную разновидность – W. glabella var. glabella и две разновидности в пределах Южной Сибири – W. glabella var. pinnatifida Fomin и W. glabella var. heterophylla Turcz. Ex Fomin [4].

В 2005 г. Н.Н. Цвелёв в работе «О роде *Woodsia* R.Br. (Woodsiaceae, Polypodiophyta)» проводит критическую ревизию всего рода [17]. Результатом работы становится сведение в синонимы *W. ilvensis — W. calcarea* и *W. asiatica*, как видов описанных по мелким особям с более рассечёнными пластинками вай, ареалы которых совпадают с ареалом *W. ilvensis*. В типовую секцию *Woodsia* среди видов, встречающихся на территории Сибири, Н.Н. Цвелёв помещает *W. ilvensis*, *W. acuminata*, *W. subcordata*; в секцию *Glabellae* (Schmakov) Tzvel. — *W. glabella* и *W. pinnatifida*. В синонимы последнего вида он сводит *W. heterophylla* как незаконную комбинацию.

Во втором издании «Определителя папоротников России» [27] А.И. Шмаков представляет несколько иное виденье объёма рода Woodsia, чем в первом издании [23]. Для Сибири он отмечает 11 видов, из которых 6 — приводившиеся в первом издании (W. calcarea, W. acuminata, W. ilvensis, W. asiatica, W. heterophylla, W. pinnatifida) и 5 — не приводившиеся (W. asplenioides, W. glabella, W. alpina, W. intermedia, W. subcordata). Таким образом, автором была вновь восстановлена W. pinnatifida, наряду с W. heterophylla.

- 1. Бусик В.В. Woodsia (Athyriaceae) // Флора Центральной Сибири. Новосибирск, 1979. Т. 1. С. 26–27.
- 2. *Гуреева И.И*. Папоротники во флоре Южной Сибири: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 1984. 19 с.
- 3. Гуреева И.И. Равноспоровые папоротники Южной Сибири (вопросы систематики, происхождения, биоморфологии, популяционной биологии): Автореф. дис. . . . д-ра биол. наук. Новосибирск, 1997. 33 с.
- 4. Гуреева И.И. Равноспоровые папоротники Южной Сибири. Систематика, происхождение, биоморфология, популяционная биология. Томск, 2001. 158 с.
- 5. *Крылов П.Н.* Класс *Filicales*. Папоротниковые // Флора Алтая и Томской губернии. Томск, 1914. Т. 6. С. 1763–1814.
 - 6. $\mathit{Крылов}$ П.Н. Класс $\mathit{Filicales}$ // Флора Западной Сибири. Томск, 1927. Вып. 1. С. 1–48.

- 7. *Кузнецов А.А. Woodsia taigischensis* (Stepanov) А.А. Kuznetsov новая комбинация для таксона из Западного Саяна // Систематические заметки по материалам Гербария им. П.Н. Крылова при Томском государственном университете. 2010. № 102. С. 7–9.
 - 8. Малышев Л.И. Высокогорная флора Восточного Саяна. М.; Л., 1965. 368 с.
 - 9. Положий А.В. Woodsia (Athyriaceae) // Флора Красноярского края. Томск, 1983. С. 28–31.
- 10. Ревердатто В.В., Сергиевская Л.П. Конспект приенисейской флоры. Томск, 1937. Вып. 1. С. 12–22.
 - 11. Сергиевская Л.П. Флора Забайкалья. Томск, 1966. Т. 1. 93 с.
- 12. Сипливинский В.Н. Заметки о байкальской флоре, 2 // Новости систематики высших растений. Л., 1974. Т. 11. С. 327–337.
- 13. Степанов Н.В. Новые и редкие таксоны папоротников из Западного Саяна // Сибирский биологический журнал. 1993. Вып. 1. С. 46–50.
 - 14. Степанов Н.В. Флора Саян. Красноярск, 2003. 328 с.
- 15. Фомин А.В. Filices. Папоротникообразные // Флора Сибири и Дальнего Востока. Л., 1930. Вып. 5. С. 1–228.
 - 16. Фомин А.В. Класс Filicales // Флора СССР. Л., 1934. Т. 1. С. 16-100.
- 17. *Цвелёв Н.Н.* О роде *Woodsia* R.Br. (Woodsiaceae, Polypodiophyta) // Новости систематики высших растений. СПб., 2004. Т. 37. С. 33–46.
 - 18. Черепнин Л.М. Флора южной части Красноярского края. Красноярск, 1957. Вып. 1. С. 3-57.
 - 19. Шмаков А.И. Конспект папоротников флоры Алтайского края. Барнаул, 1985. 13 с.
- 20. Шмаков А.И. Папоротники Алтая, Тянь-Шаня и Семиречья: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1992. 16 с.
- 21. Шмаков А.И. Конспект папоротников Алтая, Тянь-Шаня и Семиречья // Флора и растительность Алтая. Барнаул, 1995. С. 35–53.
- 22. Шмаков А.И. Конспект папоротников Алтая // Флора и растительность Алтая. Барнаул, 1996. С. 25–52.
 - 23. Шмаков А.И. Определитель папоротников России. Барнаул, 1999. 108 с.
- 24. Шмаков А.И. Woodsiaceae // Определитель растений Алтайского края. Новосибирск, 2003. C. 46–47.
 - 25. Шмаков А.И. Woodsiaceae // Флора Алтая. Барнаул, 2005. Т. 1. С. 223–232.
 - 26. Шмаков А.И., Киселев А.Я. Обзор видов семейства Woodsiaceae Евразии. Барнаул, 1995. 89 с.
 - 27. Шмаков А.И. Определитель папоротников России: 2-е изд., перераб. и доп. Барнаул, 2009. 126 с.
- 28. Fomin A.W. De varietatibus at que formis Woodsiarum in Sibiria crescentium // Изв. Киевского ботанического сада. 1925. Вып. 3. Р. 3–7.
 - 29. Ledebour C.F. Classis XXIV. Cryptogamia // Flora Altaica. Berolini, 1833. Vol. 4. S. 320-330.
 - 30. Ledebour C.F. Ordo CXLVI. Filices // Flora Rossica. Stuttgartiae, 1853. Vol. 4. S. 504–530.
- 31. Shmakov A.I. Review of the Family Woodsiaceae (Diels) Herter of Eurasia // Pteridology in the New Millennium. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Academic Publishers, 2003. P. 49–64.
- 32. *Printz H.* The vegetation of the Siberian-Mongolian frontiers (The Sayansk region) // Aktietrykkerieti Trondhjem, 1921. 458 p.
- 33. *Turczaninov N.* Ordo XCV. Filices // Flora Baicalensi-Dahurica. Mosquae, 1856. Vol. II. Fasc. 2. P. 362–374.

Серия биологическая

ПРИНЦИПЫ ПРОЕКТИРОВАНИЯ АРОМАТИЧЕСКОГО САДА

Л.В. Куровская, Г.А. Шестакова

Приведена краткая история возникновения ароматических садов и их функционального назначения. Разработаны основные рекомендации по созданию ароматических садов.

PRINCIPLES OF FRAGRANCE GARDEN DESIGN

L.V. Kurovskaya, G.A. Shestakova

The present research contains brief fragrance garden history. Developed basic guidelines for creating fragrance gardens.

Ароматические сады достаточно распространены за рубежом и имеют древнюю историю. В настоящее время всё больше специалистов из России и стран СНГ обращают своё внимание к проектированию подобных садов, так как они способствуют снятию стресса у жителей мегаполисов, активизируют различные участки головного мозга, способствуют реабилитации организма и улучшению качества жизни людей с ограниченными возможностями.

Целью настоящей работы являлось исследование предпосылок возникновения ароматических садов и разработка рекомендаций по проектированию сада ароматов с учетом его посещения людьми с ограниченными возможностями.

История возникновения ароматических садов имеет глубокие корни и связана с выращиванием пряно-ароматических и лекарственных трав.

Пряности — это разнообразные части растений, обладающие каждая специфическим устойчивым ароматом (запахом), разной степенью жгучести и отчасти привкусом. В Древней Греции пряности назывались aromatico, что значило «благовонные, ароматные травы» [1].

В древнейших цивилизациях Востока – в Китае, Индии, Египте – первые упоминания о пряностях встречаются около 5 тыс. лет тому назад. Аир, например, был известен в Египте в 3000 г. до н. э., а корица описана в Китае в 2700 г. до н.э. Древние греки и особенно римляне знали большинство известных нам теперь экзотических пряностей и, кроме того, некоторые совершенно вышедшие теперь из употребления вроде нарда и коста. Из Южной Азии они получали черный перец, корицу, кассию, гвоздику, имбирь, со Среднего Востока – асафетиду, из Африки – мирру и амомум, из Малой Азии – шафран, из Средиземноморья – лавровый лист и либанотис (иссоп) [1].

Из пряно-ароматических растений египтяне научились получать эфирные масла, которые использовали для бальзамирования фараонов. Была известна перегонка растений с паром в Китае, Индии, Персии, Древней Греции и в Древнем Риме. В XV в. в Европе уже пользовались эфирными маслами лаванды, розы, шалфея, а в

следующем столетии изготовляли около 100 различных эфирных масел, которые активно применяли в парфюмерии и медицине [2].

«Золотым веком» пряностей считают эпоху Возрождения. Увлечение пряноароматическими растениями становится все более широким, в это время опубликованы многочисленные травники.

В Средние века в Европе появляются монастырские сады, в которых, помимо плодовых, аптекарских, кухонных растений, особое предпочтение отдавали выращиванию душистых трав для освежения воздуха в жилище. Эти сады имели небольшие размеры и простую планировку. Огороженные стенами, они размещались во внутренних двориках, тесно примыкая к храму. Квадратные или прямоугольные садики разделялись крест-накрест мощеными дорожками, ориентированными по сторонам света. Сад, отделенный стенами от греха и вмешательства темных сил, символизировал рай. Садовые растения наделялись мистической силой и аллегорической символикой [3].

Современные сады ароматов также зачастую имеют в своей основе квадратное или прямоугольное пространство и формируются из прямоугольных или округлых модулей [4].

Аналогично планировочной схеме монастырских садов закладывались аптекарские огороды. В России начало разведения аптекарских огородов относится к концу XVI в. В 1704 г. по инициативе Петра I был заложен Петербургский аптекарский огород, который в 1714 г. дал начало Императорскому ботаническому саду [5].

Впоследствии по приказу Петра I во всех крупных городах при военных госпиталях были созданы аптекарские огороды, которые являлись плантациями лекарственных растений и служили базой для поставки лекарственного сырья в казенные аптеки.

Таким образом, можно выделить два направления, которые способствовали по-явлению ароматических садов:

- 1) выращивание пряно-ароматических растений, которые употреблялись в качестве приправ при приготовлении пищи (шафран, фенхель, кресс-салат, укроп, чеснок, кориандр, лук, тмин, анис, петрушка, мята перечная и др.);
- 2) выращивание лекарственных растений для последующего приготовления настоев, микстур, бальзамов и душистых масел (тимьян, чеснок, шалфей, мальва, алтей, любисток, полынь, роза, шафран, можжевельник, лаванда, валериана и др.).

Ароматический сад, наряду с водными, японскими и китайскими садами, часто бывает представлен как самостоятельный элемент в ботанических садах и арборетумах (ботанический сад Кирстенбош (Кейптаун, ЮАР), ботанический сад Бруклина (США), Red Butte Garden & Arboretum (Солт-Лейк-Сити, США), ботанический сад Денвера (США), ботанический сад Сан-Франциско (США) и др.).

Сад ароматов является обязательным звеном в системе сенсорного сада. Сенсорный сад предназначен для улучшения восприимчивости органов чувств и может проектироваться в двух вариантах: как система отдельных садов для каждого органа чувств (зрения, обоняния, слуха, осязания, вкуса) либо для комплексного восприятия всеми органами чувств.

Наряду с основной функцией – активизацией органов обоняния, в зависимости от назначения, ароматный сад может использоваться для образовательных целей, для заготовки сырья лекарственных и пряных растений, для снятия усталости и напряжения. Ароматические сады можно классифицировать по психологическому воздействию на расслабляющие и стимулирующие.

Сад ароматов может быть элементом частного сада либо располагаться в городском парке, ботаническом саду или лечебно-оздоровительном комплексе. Особенно актуально создание сада ароматов при лечебных учреждениях для людей с ограниченными возможностями. Например, общеизвестно, что инвалиды по зре-

нию обладают повышенной чувствительностью к запахам, звукам, тактильным ощущениям. Не имея возможности увидеть красоту сада, в ароматическом саду они могут насладиться букетом запахов. Например, если оценивать розу с точки зрения её восприятия слабовидящим человеком, то приоритетное значение приобретает не окраска цветка, а его аромат, бархатная фактура лепестков, форма бутона. В мировом сообществе очень трепетно и внимательно относятся к инвалидам и стараются сделать их жизнь более комфортной и насыщенной. В нашей стране к этой проблеме тоже начинает формироваться правильное гуманное отношение, и специалисты по садово-парковому строительству могут внести свою лепту созданием сенсорных садов, оборудованных специальными пандусами, широкими дорожками с ровным мощением и пр. В Москве, Оренбурге, Екатеринбурге и других городах России и стран СНГ разрабатываются проекты ароматических садов, в том числе для людей с ограниченными возможностями [4, 6]. Некоторые из них уже реализованы.

Минимальная ширина дорожки для обеспечения проезда кресел-каталок должна быть 150 см. Для облегчения доступа к растениям делают приподнятые клумбы. Они позволяют с более близкого расстояния рассмотреть растения, почувствовать их запах и потрогать листву.

Для обеспечения наиболее полного раскрытия функций ароматического сада необходимо установить в нём понятные и информативные стенды и указатели. На наш взгляд, наиболее удобны для иностранцев и людей широкого возрастного диапазона символьные указатели. Некоторые растения могут обладать не только приятным ароматом, но и иметь интересную фактуру листьев, гремящие или шуршащие листья и плоды. Около таких растений можно также установить символьные указатели (например, с изображением руки – можно потрогать).

Многие растения наиболее сильно проявляют свой аромат, если сорвать листик и помять его в руках. Это также нужно учитывать при подборе растений и работе с посетителями. В этом случае желательно, чтобы растения имели обильную листву и легко восстанавливали вегетативную массу. А при проведении групповых экскурсий нужно рекомендовать, чтобы экскурсанты срывали 1-3 листика на группу и потом передавали друг другу для знакомства с ароматом.

Информационные стенды и буклеты с фотографиями, историческими сведениями, списком растений, схемой сада будут очень полезны всем посетителям и повысят посещаемость сада. Также очень информативны аудиогиды, которые могут рассказать о практическом значении и целебных свойствах тех или иных видов пряно-ароматических растений и помогут ориентироваться в саду людям со слабым зрением.

Анализируя зарубежный опыт создания ароматических садов, можно выделить следующие основные правила:

- 1) расположение ароматического сада на солнечных, защищенных от ветра участках:
- 2) посадка по периметру сада живых изгородей из хвойных растений и растений с ароматными цветками и корой;
- 3) наличие больших площадей мощения, которые днём нагреваются и способствуют усилению аромата, исходящего от окружающих растений;
 - 4) применение приподнятых клумб;
- 5) посев ароматных растений (например, тимьяна) между плитками мощения и в качестве бордюра вдоль дорожек;
- 6) использование неприхотливых и декоративных видов и сортов растений, устойчивых к вытаптыванию и обрыву листьев;
- 7) подбор соседних видов растений, гармонично сочетающихся по запаху и имеющих сходные по своим свойствам ароматы;
 - 8) чередование растений с разным периодом цветения;

- 9) осторожное применение растений, способных вызвать аллергию у восприимчивых людей (злаки, ромашка, полынь);
- 10) посадка нейтральных видов растений между основными культурами сада ароматов;
- 11) обеспечение постоянного комплексного ухода за растениями сада на высоком агротехническом уровне;
- 12) разработка информационных материалов и подбор элементов благоустройства с учетом посетителей разных возрастных групп и с ограниченными возможностями.

- 1. *Похлебкин В.В.* Всё о пряностях. Виды, свойства, применение. М.: Пищевая промышленность, 1975. 208 с.
- 2. Золотова И. История пряностей [Электронный ресурс]: URL: http://www.afrodita.kiev.ua/index.cgi?r=8&id=141.
- 3. Вергунов А.П. Монастыри: природа и люди / А.П. Вергунов, В.А. Горохов. М.: Изд-во журн. «Москва», 2006.621 с.
- 4. *Куштуев К.В.* Проект ландшафтной экспозиции сад ароматов ГБС РАН // Ландшафтная архитектура в ботанических садах и дендропарках (22–25 июня 2010 г.). М., 2010. С. 159–163.
- 5. Агудина Л.А., Евсеева Н.Н., Ланина В.В., Чеснокова С.Я. Аптекарский огород как элемент садово-паркового ландшафта русского усадебного стиля // Проблемы озеленения крупных городов: альманах / Под общ. ред. Х.Г. Якубова. Вып. 12. М.: Прима-М, 2007. С. 210–211.
- 6. Нигматянова С.Э., Нигматянов М.М., Стецук Н.П. Особенности проектирования «Сада чувств» на территории ботанического сада Оренбургского государственного университета // Ландшафтная архитектура в ботанических садах и дендропарках. (22–25 июня 2010 г.). М., 2010. С. 103–111.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОГО ШКАЛИРОВАНИЯ В СРАВНИТЕЛЬНОЙ ФЛОРИСТИКЕ¹

А.С. Мочалов

Раскрывается общее понятие метода многомерного шкалирования и приводится пример его применения при сравнении флор.

APPLICATION OF MULTIDIMENSIONAL SCALING IN COM-PARATIVE FLORISTICS

A.S. Mochalov

Reveals the general concept of multidimensional scaling method and an example of its use in comparing floras.

В связи с возросшими возможностями использования компьютеров в биологических исследованиях большое значение получают неметрические методы машинного анализа плохо определенных так называемых «рыхлых» структур и представление информации о них в форме, приспособленной для восприятия исследователем [1]. К этой области относятся, в частности, методы многомерного шкалирования, позволяющие «изображать» систему объектов с матрицей расстояний или сходства произвольной природы и размерности совокупностью точек в M-мерном пространстве с минимальным искажением, в смысле того или иного критерия, первоначальной матрицы расстояний. При М, равной, 2 объекты представляются в виде точек на плоскости, что очень удобно для визуального анализа. Первоначально эти методы был разработаны для финансовых расчетов, наиболее подробно суть многомногомерного шкалирования изложена М. Дейвисоном [2]. В биологии этот способ применим, в первую очередь, для анализа корреляционных матриц, так как позволяет изобразить отношения между признаками в наглядной форме и служит хорошим дополнением к другим, более формальным средствам их исследования [1].

Допустим, имеется конечное множество объектов X и матрица R расстояний или мер сходства между ними, а также произвольное представление C объектов множества X в виде точек на плоскости с координатами $x_I, y_I, ..., x_N, y_N$. Введем расстояние между точками i и j:

$$c_{ij} = \sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}$$
.

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 10-04-90835 – моб ст).

Определим критерий различия между множеством X и его представлением на плоскости в виде

$$H(X,C) = \sum_{i,j} (f(r_{ij}) - c_{ij})^2,$$

где f – некоторое монотонное преобразование.

В методах многомерного шкалирования ищется такое представление C^* , для которого функция H принимает наименьшее возможное значение. Это приводит к задаче минимизации H как функции многих переменных $x_1, ..., x_N, y_1, ..., y_N$. Формальные способы расчета достоверности в данном случае отсутствуют, и размерность пространства представлений можно выбирать произвольно. Формальных критериев выбора размерности не существует [1].

Помимо этого, для получения более наглядных и убедительных результатов при обработке матрицы дивергенции можно использовать одновременно методы *К*-средних и многомерного шкалирования [1]. Весьма наглядные результаты показывает метод многомерного шкалирования в комбинации с корреляционным анализом. В частности, используя этот алгоритм, можно показывать наиболее характерные для видов признаки (Ефимов, устное сообщение). При этом принадлежность исследуемого образца к тому или иному виду рассматривается как дополнительный признак (0 – образец не принадлежит виду, 1 – образец принадлежит к виду).

Перспективы применения методов многомерного шкалирования очень высоки, они служат достойной альтернативой не только более популярным пока дискриминантному и факторному анализам, результаты которых во многих случаях не пересекаются с многомерным шкалированием, но и методам парногруппового среднеарифметического связывания в сравнительной флористике, результаты которого в значительной степени дополняют. Нами использовалось двумерное шкалирование при сравнительном анализе птеридофлор Урала. Все расчеты проводились в программе PAST, для построения более наглядных графиков в некоторых случаях использовался пакет программ STATISTICA 6.0.

При сравнительном анализе флор (птеридофлор) методами многомерного шкалирования таблица присутствия-отсутствия видов представляется в виде нулей и единиц (0 – отсутствие вида во флоре, 1 – присутствие вида во флоре). Полученная матрица транспонируется таким образом, что для каждой конкретной флоры (в нашем случае птеридофлоры) присутствие или отсутствие каждого вида становится признаком, имеющим соответствующее значение 0 или 1. Используя метод двумерного шкалирования, выбираем меру сходства (коэффициент Жаккара или меру включения Симпсона) и получаем координаты каждой конкретной флоры на осях Х и У и минимальное расстояние между ними, по которым строим график и оцениваем связь флор (птеридофлор). Методы многомерного шкалирования более чем другие удачно подходят для реализации идей Б.А. Юрцева [3, 4] о неравнозначности видов во флорах. В перспективе при таком подходе к анализу не обязательно ограничиваться лишь абсолютными значениями (0 или 1), вполне возможен сравнительный анализ с оцененным весом того или оного вида в каждой конкретной флоре. Например, уникальные виды для конкретной флоры будут иметь больший вес по сравнению с банальными или наоборот.

Анализируя сравнение птеридофлор Урала и прилегающих равнинных территорий, можно сделать вывод о более показательном отображении результатов многомерного шкалирования по сравнению с парногрупповым среднеарифметическим связыванием и более точные результаты (рис. 1, 2).

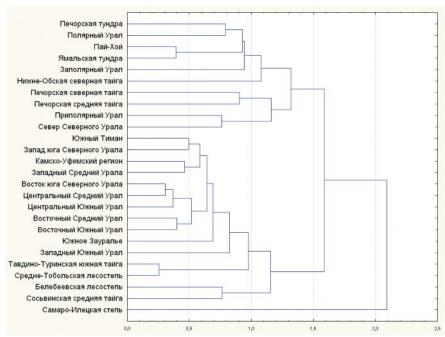


Рис. 1. Граф сходства районов птеридофлоры Урала, построенный методом парногруппового среднеарифметического связывания с использованием коэффициента Жаккара

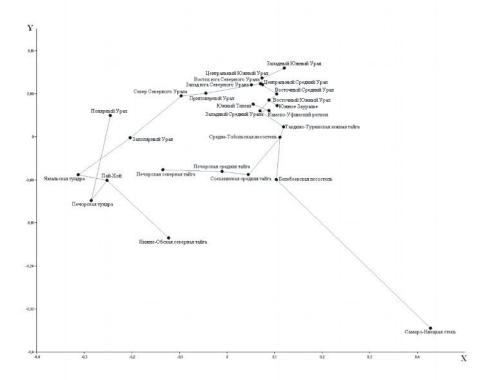


Рис. 2. Граф сходства районов птеридофлоры Урала, построенный методом двумерного шкалирования с использованием коэффициента Жаккара

Так при парногрупповым среднеарифметическом связывании птеридофлоры Белебеевской лесостепи и Сосьвинской средней тайги попадают в один кластер, что достаточно трудно объяснить. Но при многомерном шкалировании видно, что связь этих птеридофлор осуществляется только через птеридофлору Средне-Тобольской лесостепи, что вполне логично.

- 1. *Ефимов В.М., Ковалева В.Ю.* Многомерный анализ биологических данных: Учеб. пособие. Томск: $T\Gamma Y$, 2005. 95 с.
 - 2. Дэйвисон М. Многомерное шкалирование. М.: Финансы и статистика, 1988. 254 с.
- 3. *Юрцева Б.А.* Эколого-географическая структура биологического разнообразия и стратегия его учета и охраны // Биологическое разнообразие: подходы к изучению и сохранению. СПб., 1992. С. 7–21.
- 4. *Юрцева Б.А.* Предисловие // Изучение биологического разнообразия методами сравнительной флористики. СПб.: НИИХ СПбГУ, 1998. С. 3–9.

Серия биологическая

МИКРОФЛОРА ТУНДРОВЫХ ПОЧВ ЗАПАДНО-СИБИРСКОЙ РАВНИНЫ

П.А. Никитич

Рассматриваются микробиологический состав и численность микроорганизмов тундровых почв Западно-Сибирской равнины. Показана специфика микрофлоры, связанная с условиями почвообразования.

TUNDRA SOIL'S MICROFLORA OF THE WEST SIBERIAN PLAIN

P.A. Nikitich

The structure and number of tundra soil's microorganisms of the West Siberian Plain and specificity of microflora depending on soil formation conditions are considered in this work.

Одним из важнейших факторов почвообразования являются микроорганизмы, ферменты которых участвуют в процессах трансформации органических и неорганических веществ, а именно гумификации, гумусообразования, минерализации и т.д.

В целом почвенная микрофлора хорошо изучена, за исключением почв Севера. Микроорганизмы почв тундры исследованы в основном рекогносцировочно и лишь в связи с изучением почв и вод (преимущественно озер). Но уже в силу непосредственной зависимости микроорганизмов от среды, и особенно от почв и растительности, можно утверждать об их специфичности. Почвенные микроорганизмы тундровой зоны развиваются в условиях низких температур, высокой степени увлажненности, низких значений окислительно-восстановительного потенциала и недостатка питательных веществ. Это обусловливает их сравнительно низкую биологическую активность [1].

Исследователи отмечают, что в тундровых почвах подавляющее число форм бактерий неспоровых (более 40 видов) с включением палочковидных, спорообразующих бактерий мало. Распределение актиномицетов весьма неравномерно и неповсеместно – от практического отсутствия до нескольких сотен тысяч на 1 г почвы. Также немного грибов (от 0,7 до десятков тысяч на 1 г почвы), но они отмечаются во всех почвах [1].

В почвах тундры очень мало микроорганизмов – активаторов растений. Крайне непостоянно и вообще мало число нитрифицирующих бактерий. Почти отсутствует азотобактер. Анаэробные фиксаторы азота – олигонитрофилы – встречаются в среднем от 10 до 100 тыс. на 1 г почвы. К целлюлозоразлагающим относятся в основном грибы, в меньшей степени актиномицеты. Активность в разложении клетчатки у микроорганизмов тундр весьма низкая, что связано с жесткими почвенноклиматическими условиями, в том числе длительной зимой, когда затухает жизнедеятельность микроорганизмов.

1,5

Относительно большую роль играют грибы, особенно род Penicilium. Он менее требователен к кислородному питанию и поэтому встречается не только на поверхности, но и по всему почвенному профилю, в том числе и в более кислых почвах.

Многие микроорганизмы способны адаптироваться к новым ландшафтно-экологическим условиям. В тундре обнаружены бактерии, грибы и дрожжи, ставшие психрофильными, т.е. приобретшие способность к росту при отрицательных температурах. Оптимум их развития лежит в пределах от -8 до $+20^{\circ}$, в то время как у непсихрофилов оптимум роста выше $-20-35^{\circ}$. Приобретение психрофильных свойств не отражается на изменении структуры клеток микроорганизмов, но меняются поведение и структурная специфичность ферментов, а также замедляется синтез белка.

Ниже приводится характеристика состава микроорганизмов на примере дерново-глеевой и тундрово-глеевой почв, исследуемых Е.Н. Мишустиным и В.А. Мирзоевой [2, 3]. В дерново-глеевой, кроме бактерий, встречаются представители других групп микроорганизмов: актиномицеты, микроскопические почвенные грибы, дрожжи (таблица).

	Глубина, см	Гумус, %	Общее количество	Спорообразующие бактерии	Актиномицеты	Грибы
			бактерий			
	0–5	31,0	2960	5,4	19,0	70,0
	5-10	2,5	1057	4,7	11,0	25,0
	20-30	2,2	450	3,0	2,0	4,0

0,5

0,5

40-50

70 - 80

1,0

100

Содержание микроорганизмов в профиле дерново-глеевой почвы тундры, тыс./г почвы (по Мишустину, 1966)

Из приведенных данных следует, что почвы тундры бедны бациллами и актиномицетами. В целом соотношение микроскопических грибов в профиле почв различно. Так, например, в горизонте А тундрово-глеевой почвы содержание представителей рода Penicillium, согласно Е.Н. Мишустину и В.А. Мирзоевой [2, 3], составляет 72 % от общего количества; Trichoderma – 3 %; Fusarium – 1 %; Mucorales – 8 %; *Mucor ramannianus* – 6 %; Dematium – 10 %; представители рода Aspergillus полностью отсутствуют. Также отмечается значительное содержание дрожжей. В максимальном количестве они содержатся в образцах торфа верховых болот и представлены родами Torula, Rhodotorula, Oidium и Dematium [2]. Среди бактерий много палочковидных – 29–40 % от общего числа микроорганизмов. Среди неспорообразующих бактерий Е.Н. Мишустин [2] выделяет *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas punctatum, Bact. lactis, Bact. vulgare, Bact. litorale, Bact. guttatum, Bact. formosum* и *Bact. vinosum, Pseudobacterium violaceum*, различные виды, относящиеся к родам Achromobacter и Flavobacterium.

Отмечается большая численность микрококков, которые в тундровых почвах представлены пигментными формами, близкими к Micrococcus ochraceus, Micr. roseus, Micr. aurantiacus, Micr. subcitreus, Micr. albus, Micr. cereus, Micr. candidus, Micr. flavus. Микобактерии представлены в почвах видами Mycobacterium citreum, Mycob. album, Mycob. phlei, Mycob. lacticolum, Mycob. brevicale, Mycob. globiforme.

Таким образом, специфика почвенной микрофлоры тундры проявляется в преобладании неспорообразующих бактерий над другими микробами и в снижении количества физиологических групп микроорганизмов (нитрификаторов, целлюлозоразлагающих грибов и некоторых других) по сравнению с почвами более теплых фаций, что обусловлено низкими температурами, длительной зимой, глубоким

промерзанием, высокой степенью увлажнения, кислотностью и другими свойствами почв.

- 1. Пармузин Ю.П. Тундролесье СССР. М.: Мысль, 1979. С. 295 с.
- 2. *Мишустин Е.Н.* Географический фактор, почвенные типы и их микробное население // Микрофлора почв северной и средней части СССР. М.: Наука, 1966. С. 3–12.
- 3. *Мишустин Е.Н., Мирзоева В.А.* Географический фактор, почвенные типы и их микробное население // Микрофлора почв северной и средней части СССР. М.: Наука, 1966. С. 24–53.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *LEMNACEAE* S.F. GRAY

Л.А. Никифоров, Л.Г. Бабешина

Дано морфологическое описание представителей семейства Lemnaceae S.F. Gray, распространенных на территории Западной Сибири. С помощью электронно-ионного сканирующего микроскопа проведено исследование анатомического строения Lemna minor L. (ряска малая). В результате выявлены диагностические признаки растения.

FEATURES OF A MORFOLOGO-ANATOMIC STRUCTURE OF SOME REPRESENTATIVES OF FAMILY LEMNACEAE S.F. GRAY

L.A. Nikiforov, L.G. Babeshina

The morphological description of representatives of family Lemnaceae S.F. Gray extended to territories of Western Siberia. By means of an electron-ionic scanning microscope research of anatomic structure Lemna minor L. Diagnostic signs of a plant are As a result revealed.

Представители семейства *Lemnaceae* S.F. Gray (рясковых) являются самыми маленькими в царстве цветковых растений, их величина редко превышает 1 см. Поэтому не удивительно, что до начала XVIII в. ряску относили к водорослям. И только в 1710 г. итальянский ботаник А. Валиснери впервые обнаружил у этого растения микроскопические цветки.

Семейство *Lemnaceae* включает 6 родов и до 40 видов. Представители семейства встречаются на всех континентах в пресных водоемах [1, 4]. Наиболее широко они распространены в Северной и Южной Америке, Европе, Южной Азии, Южной и Центральной Африке, на юге Австралии. Из указанных видов примерно половина обитает в тропиках и субтропиках, остальные — в умеренном климате. В регионе Западной Сибири указанное семейство представлено двумя родами: *Lemna L.* (ряска) и *Spirodela Schleid*. (многокоренник).

Особый интерес вызывает использование Lemna minor L. (ряска малая) в качестве лекарственного растения. В литературе достаточно часто можно встретить информацию о ее применении для лечения витилиго, профилактики бронхиальной астмы, частых простудных заболеваний и разных видов аллергии. Лекарственные формы, используемые в народной медицине из травы L. minor проявляют жаропонижающие, мочегонные, десенсибилизирующие, желчегонные, противоглистные и антимикробные свойства [3, 6, 7]. Достаточно убедительно сегодня доказаны и противогрибковые свойства L. minor. Суммарные комплексы, выделенные из этого растения, проявляют выраженный противогрибковый эффект (1,9-15,6) мкг/мл) в

отношении возбудителей наружных микозов: Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Microsporum canis [2, 5].

Интересным является опыт специалистов в области фармации из Чехии, которые доказали, что пектин лемнан, содержащийся в этом растении, способствует лечению витилиго. Содержащийся в лемнане фрагмент гетерогликаногалактуронана является сильным иммуномодулятором, что повышает сопротивляемость организма к различным негативным воздействиям на человека. Предлагаемые таблетки идут под названием «Vitilem» и рекомендуются для лечения витилиго со сроком годности 3 года. Отмеченные свойства этого растения дают основание считать необходимым проведение глубоких исследований по фармакологии, химии, морфологии и анатомии растения.

Целью настоящей работы явилось выявление диагностических признаков L. minor на основе сравнительных морфологических, а также анатомических исследований.

Объекты и методы исследования

Объектами являлись Lemna minor L., L. trisulca L., Spirodela polyrhyza (L.) Schleid., собранные в водоемах Западной Сибири.

Морфологические исследования проводились по методикам, изложенным в $\Gamma\Phi$ XI, вып. 1.

Для анатомического исследования образцы L. minor растения фиксировали на двустороннем канцелярском скотче и рассматривали на электронно-ионном сканирующем микроскопе $Quanta\ 200\ 3D$. Образцы исследовали в режиме высокого вакуума, поверхность образцов сканировали при ускоряющем напряжении $20\ \mathrm{kB}$, с увеличением $\times 600-3000$.

Результаты исследования

Из рода *Spirodela* встречается один вид – *S. polyrhyza (L.) Schleid.* (многокоренник обыкновенный). Данный вид является обычным представителем водоемов со стоячей и медленнотекущей водой: в озерах, старицах, прудах. Листецы, плавающие на поверхности воды, округлые или округлоэллиптические, цельнокрайные, толстоватые, плоские, непрозрачные, 3–6 мм длиной и до 5 мм шириной, сверху зеленые, снизу красноватые или красновато-фиолетовые, с пучком корешков, отрастающих от центра листеца в числе 3–5. Ветвление происходит только с одной стороны, дочерние листецы вскоре отделяются от материнского растения.

Род Lemna на территории Западной Сибири представлен двумя широко распространенными (кроме арктических районов) видами: $L.\ trisulca\ L.\ ($ ряска трехдольная) и $L.\ minor\ L.\ ($ ряска малая), которые часто обитают рядом с $S.\ polyrhyza.$

L. trisuica — это растение, погруженное в воду и лишь во время цветения всплывающее на поверхность. Листецы продолговатые 5–10 мм длиной и 2–3 мм шириной, полупрозрачные, зеленые, с нитивидными корешками и тремя жилками, цельнокрайные, к верхушке суженные и здесь слегка выямчатопильчатые. Верхушка тупоусеченная, основание клиновидноокруглое, вдруг суженное в довольно длинную (до 10 мм) линейную ножку, выступающую из кармашка материнского экземпляра. Растения остаются долго соединенными между собой, образуя значительные группы.

L. minor – многолетнее плавающее на поверхности воды растение. Листецы зеленые, плоские, эллиптические или округлые, 3–4,5 мм длиной и 2–3 мм шириной, цельнокрайные, толстоватые и непрозрачные. На нижней стороне они плоские, с длинным (13,5–18 мм) нитевидным корешком, на верхней – слегка выпуклые или слабокилевидные. На нижней стороне они плоские. *L. minor* часто образует группы из 3–6 особей, ветвление происходит с одной стороны листеца.

В результате анатомического исследования было установлено, что клетки верхнего эпидермиса $L.\ minor$ разно направленные, многоугольные, слабоизвилистые, до почти прямостенных. Листец эпистоматического типа, устьица многочисленные с 6-8 побочными клетками (аномоцитный тип), направлены поперек листеца. Клетки нижнего эпидермиса сильноизвилистые.

Ножка листеца покрыта прямостенными, вытянутыми вдоль ее длины прямоугольными клетками. Поверхность корешка представлена на рис. 1 рядами многоугольных, прямостенных клеток.

Место прикрепления ножки дочернего растения овальное, выполнено радиально расположенными мелкими многоугольными прямостенными клетками.

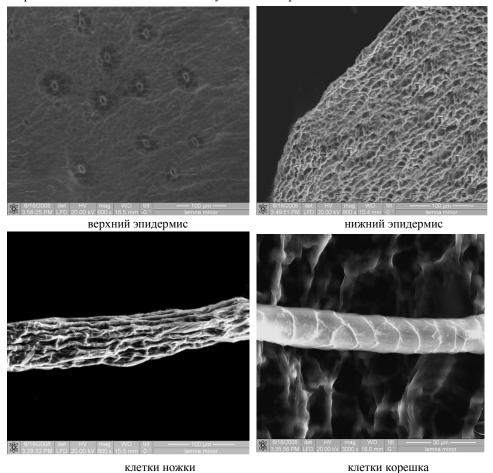


Рис. 1. Диагностические признаки анатомического строения Lemna minor

Выводы

Дано морфологическое описание представителей семейства $Lemnaceae\ S.F.$ Gray, распространенных на территории Западной Сибири. Основываясь на результатах исследования методом световой и электронной микроскопии, были описаны диагностические признаки $L.\ minor.$

- 1. *Губанов И.А.,Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н.* Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 1. Папоротники, хвощи, плауны, голосеменные, покрытосеменные (однодольные). М.: Т-во научных изданий КМК; Ин-т технологических исследований. 2002. С. 526.
- 2. Дмитрук С.Е. Грибковые заболевания и альтернативные возможности фитотерапии/ С.Е. Дмитрук, Н.Э. Коломиец, В.С. Дмитрук, О.А. Мальцева // Бюл. СО РАМН. Новосибирск, 2001. №3. С. 43.
 - 3. *Елина Г.А.* Аптека на болоте: путешествие в неизвестный мир. СПб.: Наука, 1993. С. 276–280.
- 4. $\mathit{Жизнь}$ растений: В 6 т. / Гл. ред. А.Л. Тахтаджян. Т. 6. Цветковые растения/ Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.:Просвещение. 1982. С. 493.
- 5. Коломиец Н.Э. Поиск новых источников антигрибковых препаратов/ Н.Э. Коломиец, О.А. Мальцева, С.Е. Дмитрук, С.Н. Ефимов // Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности: Матер. докл. Междунар. науч. конф. Томск, 2000. С. 34–35.
 - 6. Кортиков В.Н., Кортиков А.В. Лекарственные растения. М.: Рольф; Айрис-пресс, 1998. 768 с.
- 7. *Черепнин В.Л.* Пищевые растения Сибири / Отв. ред. Л.К. Поздняков. Новосибирск: Наука. Сиб. отд., 1987. С. 176

Серия биологическая

ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СКАБИОЗЫ

Б.Д. Норбоева, Г.Б. Ендонова, С.В. Гомбоева

Scabiosa comosa Fisch.ex Roem. et Schult. широко распространена на территории России в Восточной Сибири: Енисейский район (юг), Ангаро-Саянский (юго-восток), Даурский район, а за пределами встречается в Северной Монголии. 7-глюкозид лютеолина, выделенный из цветков Scabiosa ochroleuca, в эксперименте обладает противовоспалительными свойствами. Водно-спиртовая настойка из семян проявляет антиамебную активность. Была исследована антимикробная активность водной настойки скабиозы венечной. В ходе исследований было установлено, что экстракты из скабиозы венечной обладают высокой физиологической активностью по отношению к кишечной палочке E.coli и Bacillus subtilis.

DETECTION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY SCABIOSA

B.D. Norboeva, G.B. Endonova, S.V. Gomboeva

Scabiosa comosa Fisch.ex Roem. et Schult. prevalent in Russia in eastern Siberia: Yenisei region (south), Angara-Sayan (south-east), White-naped region and beyond is found in northern Mongolia. 7 – glucoside luteolin, isolated from the flowers of Scabiosa ochroleuca, the experiment has anti-inflammatory properties. Water – alcohol tincture from seeds showing antiamebnuyu activity. We investigated the antimicrobial activity of aqueous infusion scabiosa coronary. During the research it was found that extracts from scabiosa coronary possess high physiological activity in relation to E.coli and Bac. subtilis.

Растительность Бурятии отличается исключительным своеобразием. Здесь встречаются таежные, степные, высокогорные и другие виды растений. Большой интерес представляет изучение растений, издавна используемых в тибетской и народной медицине. К таким относится представитель семейства Dipsacaceae – *Scabiosa comosa* (скабиоза венечная).

Сем. Dipsacaceae включает 7 родов и 250 видов, из них во флоре России встречается около 70. На территории Бурятии произрастает 2 рода: Scabiosa и Knautia.

Род Скабиоза (Scabiosa) включает около 100 видов, встречающихся в Евразии и Африке, главным образом в Средиземноморье. В России известны 30 видов, многие из них — на Кавказе. Иногда засоряют посевы. Все скабиозы — хорошие медоносы. Некоторые скабиозы используются в цветоводстве, особенно многолетняя скабиоза кавказская и однолетняя скабиоза пурпурная.

Scabiosa comosa Fisch. ex Roem. et Schult. широко распространена на территории России в Восточной Сибири: Енисейский район (юг), Ангаро-Саянский (юговосток), Даурский район, а за пределами встречается в Северной Монголии.

Широкий спектр биологической активности обусловлен богатством химического состава. Основными действующими веществами являются флавоноиды, сапонины, дубильные вещества, алкалоиды, кумарины.

Скабиоза венечная растет в различных по составу и структуре сообществах, но чаще разнотравно-злаковых. В составе травянистой растительности здесь встречаются виды ксерофильного типа, с преобладанием *Stipa baicalensis*, S. *sibirica*, *Thymus baicalensis*, *Artemisia frigida*, *Poa pratensis*, *Aster alpinus*.

Экологические условия, определяющие существование и развитие скабиозы, – континентальный и суровый климат: значительные колебания дневных и ночных температур воздуха, интенсивная инсоляция, маломощный и щебнистый почвенный покров. В таких условиях обитания у скабиозы венечной выработались специфические признаки, способствующие предохранению растения от чрезмерного высыхания и перегрева.

Скабиоза венечная и скабиоза бледно-желтая – широко известные в народной и традиционной тибетской медицине растения.

В монгольской медицине скабиоза применяется при болезнях почек, мочевого пузыря и мочевыводящих путей, как диуретическое и потогонное [1].

В народной медицине отвар из надземной части применяют при диарее, туберкулезе легких, респираторных инфекциях, болезнях горла, ревматизме и лихорадке [2], как жаропонижающее; как спазмолитическое; наружно – при геморрое, выпадении прямой кишки, чесотке, нарывах, для выведения бородавок. Полифенольный комплекс в эксперименте проявляет антиоксидантные и лечебные свойства при гепатите [3].

Соцветия скабиозы венечной в тибетской медицине используются при заболеваниях органов желудочно-кишечного тракта; входят в состав сбора, применяемого при заболеваниях печени, гепатите, пневмонии [4].

7-глюкозид лютеолина, выделенный из цветков *Scabiosa ochroleuca*, в эксперименте обладает противовоспалительными свойствами [5]. Водно-спиртовая настойка из семян проявляет антиамебную активность.

Таким образом, оба вида скабиозы обладают широким спектром терапевтического действия, обусловленного присутствием различных биологически активных веществ, в связи с чем представляют несомненный интерес для более углубленного исследования.

В литературе имеются также сведения о спазмолитической, желчегонной [6], противовоспалительной активности биологически активных веществ скабиозы венечной и с. бледно-желтой.

Сухой экстракт *Scabiosa comosa* является желчегонным средством и может применяться при заболеваниях печени с преобладанием синдрома цитолиза.

Растительное сырье с. венечной и с. бледно-желтой собирали в фазу цветения в разных районах Бурятии, различающихся по природным условиям естественного произрастания.

Мы исследовали антимикробную активность водной настойки скабиозы венечной. Настойки готовили в соотношении 1: 10. Об антимикробной активности экстрактов скабиозы венечной судили по отношению к тест-культурам *Bacillus subtilis* (грамположительный вид) и *Escherichia coli* (грамотрицательный вид), методами бумажных дисков и желобка [7].

В ходе исследований было установлено, что экстракты из скабиозы венечной обладают высокой физиологической активностью по отношению к указанным микроорганизмам.

Так, экстракты скабиозы венечной подавляют рост кишечной палочки *E.coli* и задерживают развитие *Bacillus subtilis*. Следовательно, водную настойку из надземной части скабиозы венечной можно рекомендовать для дальнейших углубленных исследований с целью получения активных противомикробных средств.

- 1. Хайдав Ц., Алтанчимэг Б., Варламова Т.С. Лекарственные растения в монгольской народной медицине. 2-е изд. Улан-Батор, 1985. 390 с.
- 2. *Николаева Г.Г., Даргаева Т.Д.* К фитохимическому исследованию скабиозы венечной // Экспериментальные исследования биологически активных веществ лекарственных препаратов растительного и минерального происхождения. Улан-Удэ, 1979. С. 9–11.

- 3. *Николаев С.М.* Полифенольные комплексы при повреждении гепатобилиарной системы // Биологическое действие веществ природного происхождения. Улан-Удэ, 1983. С. 149–154.
- 4. *Резанова О.И.*, *Найдакова Ц.А*. Химический состав *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roem. et Schult // Растительные ресурсы. 1974. Т. 10, вып. 3. С. 379–382.
- 5. Земцова Г.Н., Шинкаренко А.Л. Тритерпеновые гликозиды из скабиозы бледно-желтой (Scabiosa ochroleuca L.) // Тез. докл. 2-го Всерос. съезда фармацевтов. М., 1969. С. 55.
- 6. *Тимурбатор Н., Хайдав Ц., Чулуунчимэг Д. и др.* Изучение желчегонного действия сухого экстракта *Scabiosa comosa* // Биологически активные вещества и перспектива их применения в здравоохранении. Улан-Удэ, 2001. С. 58–59.
- 7. Данилова Т.Е., Инешина Е.Г., Прудова Л.Ю. Антибиотическая активность микроорганизмов. Улан-Удэ: ВСГТУ, 1997. 78 с.

Серия биологическая

ЗИГНЕМОВЫЕ ВОДОРОСЛИ (*ZYGNEMATALES*) СЕВЕРНЫХ РАЙОНОВ ЗАПАДНО-СИБИРСКОЙ РАВНИНЫ

А.Г. Окуловская, Б.Ф. Свириденко

Приведены результаты рекогносцировочного изучения таксономического состава, морфологии, экологии и распространения зигнемовых водорослей, полученные в 2006—2009 гг. на территории Ямало-Ненецкого и Ханты-Мансийского автономных округов Тюменской области.

ZYGNEMATALES ALGAE (ZYGNEMATALES) OF THE NORTHERN AREAS OF THE WEST SIBERIAN PLAIN

A.G. Okulovskaya, B.F. Sviridenko

The results of a survey study of the taxonomic composition, morphology, ecology and distribution of zygnematales algae obtained in 2006–2009 in the Yamalo-Nenets and the Khanty-Mansi Autonomous Districts of the Tyumen Region are discussed.

Порядок Zygnematales на севере Западной Сибири остаётся не изученной группой водорослей. В сводке А.Ф. Лукницкой [1] по конъюгатам севера России в связи с отсутствием сборов фертильных стадий зигнемовых водорослей для севера Сибири указаны единичные местонахождения 3 таксонов родового уровня. Изучение зигнемовых затруднено из-за преобладания у них стерильных стадий в течение основной части вегетационного сезона. Специальное исследование зигнемовых водорослей на Западно-Сибирской равнине представляет актуальную задачу. В 2006-2009 гг. было обследовано свыше 50 участков акваторий разнотипных водных объектов Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО) в бассейнах рек Пур и Таз (лесотундровая зона и север лесной зоны) и свыше 120 участков акваторий в Ханты-Мансийском автономном округе (ХМАО) в бассейне р. Обь (средняя часть лесной зоны). Цель работ состояла в выявлении таксономического разнообразия, географии, экологии и ценотической роли зигнемовых водорослей. Проведённые гидроботанические работы показали, что зигнемовые широко распространены на севере Западно-Сибирской равнины. Всего зигнемовые собраны в 26 пунктах. Фертильные образцы 8 видов зигнемовых из 4 родов и 3 семейств получены только в 11 пунктах. Определение образцов выполнено по Л.А. Рундиной [2]. Отдельные местонахождения зигнемовых были опубликованы ранее [3]. Местообитания зигнемовых отличались мелководностью (0,1-0,4 м), песчано-илистыми грунтами. Поверхностные воды региона имеют гидрокарбонатно-кальциевый состав (минерализация 0,03-0,2 г/дм³), нейтральную реакцию (рН 6,5-7,5), малую общую жёсткость $(0,2-2,5 \text{ мг-экв./дм}^3)$ и высокое содержание общего железа (0,5-5,0 мг/л). Приводим местонахождения видов зигнемовых водорослей, обнаруженных в фертильном состоянии (с указанием размеров вегетативных клеток и зигоспор, типов конъюгации). Микрофотографии получены при использовании микроскопов «Микмед», МБИ-3 и цифровой фотокамеры Canon (рис. 1, a—3).

Семейство Zygnemataceae.

1. *Zygnema leiospermum* De Bary. Клетки $81,4\pm6,2$ мкм дл., $30,3\pm0,9$ мкм шир.; конъюгация лестничная; зигоспоры $39,8\pm2,8$ мкм дл., $28,8\pm0,9$ мкм шир. ХМАО, г. Сургут, водохранилище Сайма ($61^{\circ}14'$ с.ш., $73^{\circ}25'$ в.д.), 16.09.2008; там же, 26.08.2009 (см. рис. 1, a).

Семейство Mougeotiaceae.

- **2.** *Mougeotia genuflexa* (Dillv.) Ад. Клетки 150,2 \pm 19,9 мкм дл., 27,3 \pm 1,0 мкм шир.; конъюгация боковая и лестничная; зигоспоры 48,9 \pm 2,7 мкм дл., 34,1 \pm 2,5 мкм шир. ХМАО, Сургутский р-н, долина р. Лямин, пойменное озеро (62°09' с.ш., 70°14' в.д.), 17.07.2007 (образец собран Г.М. Кукуричкиным); Сургутский р-н, водохранилище на р. Чёрная (61°20' с.ш., 73°22' в.д.), 25.08.2009 (см. рис. 1, δ).
- **3.** *Mougeotia laetevirens* (A.Br.) Wittr. Клетки $284,7\pm55,7$ мкм дл., $28,4\pm1,1$ мкм шир.; конъюгация лестничная; зигоспоры $62,5\pm11,1$ мкм дл., $51,1\pm11,1$ мкм шир. XMAO, Ханты-Мансийский р-н, пойма р. Сеуль, временный водоём $(61^{\circ}20' \text{ с.ш.}, 67^{\circ}45' \text{ в.д.}), 08.07.2009 (см. рис. <math>1, s$).

Семейство Spirogyraceae.

4. *Spirogyra decimina* (Müll.) Кütz. Клетки 227±12,4 мкм дл., 34,2±6,2 мкм шир.; хлоропласт 1; конъюгация лестничная и боковая; зигоспоры 56,8±2,8 мкм дл., 29,3±3,4 мкм шир. ЯНАО, Пуровский р-н, озеро на водоразделе рек Пур и Таз (66°30' с.ш., 79°21' в.д.); 24.08.2009; Красноселькупский р-н, посёлок Газ-Сале, канава в пойме р. Таз (67°22' с.ш., 78°59' в.д.), 02.08.2009. ХМАО, г. Сургут, водохранилище Сайма (61°14' с.ш., 73°25' в.д.), 26.08.2009; Сургутский р-н, водохранилище на р. Чёрная, (61°20' с.ш., 73°22' в.д.), 25.08.2009; Нефтеюганский р-н, долина р. Обь, временный водоём на нефтезагрязнённом участке (61°10' с.ш., 73°01' в.д.), 27.09.2009 (см. рис. 1, *г*).

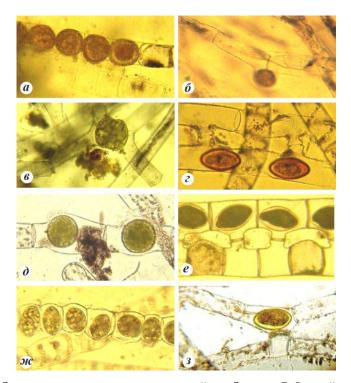


Рис. 1. Зигнемовые водоросли из северных районов Западно-Сибирской равнины: a-Zygnema leiospermum; b-Mougeotia genuflexa; b-Mougeotia laetevirens; b-Mougeotia decimina; b-Spirogyra pellucida; b-Spirogyra setiformis; b-Spirogyra varians; b-Spirogyra varians vari

- **5.** *Spirogyra pellucida* (Hass.) G.S.West. Клетки 323,8 \pm 5,8 мкм дл., 47,7 \pm 1,8 мкм шир.; хлоропластов 6–7; конъюгация лестничная; зигоспоры 82,7 \pm 9,3 мкм дл., 70,6 \pm 1,9 мкм шир. ЯНАО, Пуровский р-н, старица в пойме р. Пур (65°58' с.ш., 78°19' в.д.), 22.08.2009 (см. рис. 1, δ).
- **6.** *Spirogyra setiformis* (Roth) Kütz. Клетки 241,9±36,2 мкм дл., 96,2±2,9 мкм шир.; хлоропластов 4–8; конъюгация лестничная; зигоспоры 138,0±4,5 мкм дл., 82,6±3,2 мкм шир. ХМАО, г. Сургут, водохранилище на р. Чёрная (61°20' с.ш., 73°22' в.д.), 25.08.2009; Сургутский р-н, р. Глухая (61°17' с.ш., 72°57' в.д.), 25.08.2009 (см. рис. 1, *e*).
- **7.** *Spirogyra varians* (Hass.) Кütz. Клетки 73,3 \pm 11,5 мкм дл., 34,2 \pm 2,5 мкм шир.; хлоропласт 1; конъюгация лестничная; зигоспоры 48,3 \pm 3,2 мкм дл., 32,6 \pm 2,8 мкм шир. ЯНАО, Пуровский р-н, р. Хадытаяха (66°17' с.ш., 79°16' в.д.), 23.08.2009 (см. рис. 1, \Re).
- **8.** *Sirogonium sticticum* (Engl. Bot.) Kütz. Клетки 89,0±9,4 мкм дл., 37,9±1,2 мкм шир.; хлоропластов 3–4; конъюгация лестничная; зигоспоры 97,9±4,9 мкм дл., 67,2±3,4 мкм шир. ХМАО, Нефтеюганский р-н, долина р. Обь, пойменное озеро (60°58' с.ш., 72°38' в.д.), 04.10.2009 (см. рис. 1, 3).

- 1. *Лукницкая А.Ф.* Конспект флоры конъюгат (*Streptophyta, Zygnematophyceae*) севера России // Новости систематики низших растений. Т. 40. СПб.: Изд-во КМК, 2006. С. 49–82.
- 2. Рундина Л.А. Зигнемовые водоросли России (Chlorophyta: Zygnematophyceae, Zygnematales). СПб.: Наука, 1998. 251 с.
- 3. Свириденко Б.Ф., Окуловская А.Г., Свириденко Т.В. Зигнемовые водоросли (Zygnematales) рекреационного водохранилища Сайма в городе Сургут // Матер. V Междунар. науч.-практ. конф. «Урбо-экосистемы: проблемы и перспективы». 25–26 марта 2010 г. (г. Ишим). Ишим: Изд-во ИГПИ, 2010. С. 253–256.

Серия биологическая

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ВОЗРАСТНАЯ СТРУКТУРА СУБЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SIBIRICA* DU TOUR В ЛЕСАХ В ДОЛИНЕ Р. АКТРУ (СЕВЕРО-ЧУЙСКИЙ ХРЕБЕТ, ЦЕНТРАЛЬНЫЙ АЛТАЙ)

О.Ю. Пропастилова

Показаны онтогенетическая и возрастная структуры субценопопуляций кедра сибирского. Выявлено, что в лесах зеленомошной группы подрост более устойчив, чем в остальных изученных лесах. Максимальный процент подроста во всех лесах находится в имматурном состоянии. Возраст большинства молодых особей от 11 до 40 лет.

ONTOGENETIC AND AGE SUBCOENOPOPULATION STRUCTURE OF *PINUS SIBIRICA* DU TOUR IN FORESTS OF AKTRU RIVER VALLEY (SEVERO-CHUISKY RIDGE, CENTRAL ALTAI)

O.Yu. Propastilova

The ontogenetic structure and age distribution of Pinus sibirica have been shown. We revealed that undergrowth is more stable at green-moss group of forests than at others that have been investigated. Maximum percentage of undergrowth at all forests is immature. The age of the most part of young individuals is from 11 to 40 years.

Исследования проводились в лесах в горноледниковом бассейне Актру в 2004—2009 гг. Объект исследования — молодые особи кедра сибирского. Структура субценопопуляций кедра [1] изучалась с помощью популяционно-онтогенетических методов [2–4] с учетом работ по изучению онтогенетических состояний кедра на территории Западно-Сибирской равнины [5–6]. В наше исследование вошли проростки, особи в ювенильном, имматурном и виргинильном состояниях. Возрастная структура изучалась исходя из биологического возраста особей и встречаемости (%) в исследуемом лесу.

Кедровник кустарниково-зеленомошный — коренной кедровый лес, расположен на высоте 2350 м над ур. м. между моренами двух ледников. Кедровник бруснично-баданово-зеленомошно-лишайниковый, расположен на высоте 2170 м над ур. м. на склоне северо-западной экспозиции. Кедрово-лиственничный разнотравно-зеленомошный лес на высоте 2150 м над ур. м. расположен под фронтальной мореной ледника Малый Актру. Деревья протянулись неширокой полосой по повышенному берегу р. Актру от подножья морены к озеру Сачки [7]. Этот лес тоже является коренным.

Подрост кедра изучался и в лесах послепожарного происхождения, в древесном ярусе которых чаще преобладает лиственница. Кедрово-лиственничный разнотравно-вейниковый лес расположен на высоте 2170 м над ур. м.

Кедровник кустарниково-зеленомошный.

Кедровник бруснично-бадановый зеленомошно-лишайниковый.

Кедровник бруснично-бадановый зеленомошно-лишайниковый.

Кедровник бруснично-бадановый зеленомошно-лишайниковый.

Кедрово-лиственничный разнотравнозеленомошный.

На рис. 1 показаны онтогенетические спектры для субценопопуляций кедра в исследованных лесах в долине Актру.

Рис. 1. Онтогенетические спектры субценопопуляций кедра сибирского в лесах в долине Актру

В спектре субценопопуляции в кедровнике кустарниково-зеленомошном представлены все состояния кедра сибирского прегенеративного периода. Проростки составляют 3 % от общего числа моделей, особи в ювенильном состоянии – 26 %, в имматурном – 60 % и виргинильных особей – 11 %. В кедровнике брусничнобаданово-зеленомошно-лишайниковом нет проростков и особей в ювенильном состоянии. Причиной может служить довольно мощный мохово-лишайниковый ярус. Среди исследованных лесов здесь самый высокий процент особей в имматурном состоянии – 80 %, а 20 % приходится на виргинильные особи. В лиственничнике кедровом разнотравно-зеленомошном проростки занимают 6 % особей, ювенильные особи кедра – 18 %, имматурные – 71 % и виргинильные – 5 %. В молодом послепожарном лесу отмечены только особи кедра в ювенильном состоянии (23 %) и в имматурном (77 %).

Таким образом, мы видим, что большинство особей находится в имматурном состоянии. В двух коренных лесах зеленомошного типа подрост кедра представляет более устойчивую субценопопуляцию, чем в остальных исследованных лесах. В лесу послепожарного происхождения молодые особи кедра еще сравнительно недавно начали формировать полог подроста.

На рис. 2 показаны возрастные спектры субценопопуляций кедра. Молодые особи были разделены на группы возраста по 10 лет каждая, и в зависимости от коэффициента встречаемости на пробных площадях были распределены спектры. В кедровнике разнотравно-зеленомошном максимальная встречаемость отмечена у особей кедра от 21 до 40 лет, а особей в возрасте 41 до 50 лет не встречено. В кедровнике бруснично-баданово-зеленомошно-лишайниковом самая высокая встречаемость у особей от 31 до 40 лет, а с 41 до 50 – не отмечено, как и в предыдущем лесу. В кедрово-лиственничном разнотравно-вейниковом лесу спектр распределен равномерно, особи встречены от 1 до 50 лет. В лесу послепожарного происхождения также отмечается равномерное распределение особей по возрасту, за исключением особей от 21 до 30 лет. Это может быть объяснено массовой гибелью проростков в период с 1980 по 1989 г. вследствие пожара или климатических условий.

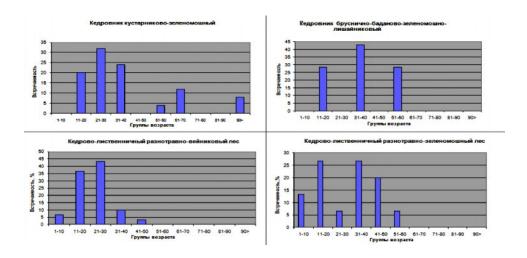


Рис. 2. Возрастные спектры субценопопуляций кедра сибирского в лесах в долине Актру

Таким образом, мы можем сказать, что в коренных лесах чаще отмечены особи в возрасте от 11 до 40 лет, а особи от 41 до 50 лет отмечаются редко, что отличается от картины в послепожарном лесу.

- 1. *Злобин Ю.А.* Оценка качества ценопопуляций подроста древесных пород // Лесоведение. 1976. № 6. С. 72—79.
- 2. *Работнов Т.А.* Вопросы изучения состава популяций для целей фитоценологии // Проблемы ботаники. 1950. Вып. 1. С. 465–483.
- 3. *Уранов А.А*. Возрастной спектр субценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов // Науч. доклад высш. шк. биол. науки. 1975. № 2. С. 7–34.
- 4. Воронцова Л.И., Гатцук Л.Е., Егорова В.Н. и др. Ценопопуляции растений (основные понятия и структура) / Отв. ред. А.А. Уранов, Т.И. Серебрякова. М.: Наука, 1976. 217 с.
- 5. *Николаева С.А., Велисевич С.Н., Савчук Д.А.* Онтогенез кедра сибирского в условиях Кеть-Чулымского междуречья // Вестник ТГУ. 2008. № 3(4). С. 24–34.
- 6. *Николаева С.А*. Начальные этапы онтогенеза *Pinus Sibirica* (Pinaceae) в условиях средней тайги // Ботанический журнал. 2002. Т. 87, № 3. С. 62–70.
- 7. Тимошок Е.Е. Оценка и сохранение биологического разнообразия растительного покрова высокогорного ледникового бассейна Актру. Томск, 2004. 72 с.

Серия биологическая

ЛАНДШАФТНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОРОДСКОГО ПАРКА ОТДЫХА им. В. ВОЛОШИНОЙ

А.С. Рак, А.В. Филиппова

Раскрывается понятие «городской парк», приводится описание композиционной основы парка, анализ видов растений, произрастающих на его территории.

LANDSCAPE FEATURE OF THE PARK NAMED AFTER V. VOLOSHINA

A.S. Rak, A.V. Filippova

The notion of "city park" is developed, the description of composition basis and analysis of plant species, which grow in its territory, are given.

Парк — это обширная территория, на которой существующие природные условия реконструированы с применением различных приемов ландшафтной архитектуры, зеленого строительства и инженерного благоустройства, представляющая собой самостоятельный архитектурно-организационный комплекс, где создана благоприятная в гигиеническом и эстетическом отношении среда для отдыха населения [1].

По классификации Р. Боброва [2] парк имени Веры Волошиной относится к типу «городской парк».

Это зеленый массив с ограниченным набором сооружений по обслуживанию населения, предназначенный в основном для прогулок и отдыха. Уровень благоустройства его соответствует требованиям, предъявляемым к паркам культуры и отдыха.

Парк имени Веры Волошиной расположен в Центральном районе г. Кемерова. С северной стороны парк ограничен проспектом Ленина, с южной, западной и восточной — улицами Гагарина, Шорникова и Тухачевского соответственно. Проспект Ленина и улица Тухачевского — магистральные улицы с высокой скоростью движения и большим потоком автотранспорта. Улица Шорникова является тупиковой, движение по ней ограничено. На улице Гагарина средняя интенсивность движения.

Центральный вход в парк расположен со стороны проспекта Ленина. Всего по периметру парка отмечается семь входов: два – с южной стороны, один – с восточной, по два – с северной и западной. В юго-восточной части находятся аттракционы и ресторан. В 2009 г. в южной части парка начато строительство спорткомплекса. В северной части парка расположен кинотеатр «Юбилейный». В центральной части парка располагается скульптурная композиция, пространство перед которой занято рабатками с однолетними растениями. Из малых архитектурных форм по всей территории вдоль асфальтированных дорожек расположены скамейки и уличные фонари.

На территории парка произрастает 10 видов древесных растений: ель сибирская (Picea obovata Ledeb.), тополь бальзамический (Populus balsamifera L.), сосна обыкновенная (Pinus sylvestris L.), клён ясенелистный (Acer negundo L.), берёза повислая (Betula pendula Roth.), рябина сибирская (Sorbus sibirica L.), липа сибирская (Tilia sibirica L.), шиповник майский (Rosa majalis Herrm.), вяз шероховатый (Ulmus glabra Huds), вяз гладкий (Ulmus laevis Pall.). Из них два вида (ель сибирская и сосна обыкновенная) являются вечнозелёными хвойными. Все остальные виды относятся к лиственным растениям.

Тополь бальзамический, сосна обыкновенная, клён ясенелистный образуют массивы прямоугольной формы. Из липы сибирской и рябины сибирской сформированы аллеи. Группами высажены вязы шероховатый и гладкий, а также ель сибирская. Берёза повислая используется как солитер. Массивы, аллеи и групповые посадки из древесных растений являются основными элементами озеленения парка и составляют его композиционную основу.

Однако не все древесные растения имеют удовлетворительное состояние. Анализ жизненного потенциала по методике В.А. Алексеева [3] показал, что насаждения тополя являются здоровыми. Посадки сосны и рябины угнетены. Их жизненное состояние оценивается как 71,5 и 76,8 % соответственно. Отмечаются изменения в ассимиляционном аппарате (хлорозы, некрозы), отмирание скелетных ветвей и снижение густоты кроны.

На территории парка проложена дорожно-тропиночная сеть из асфальтированных и грунтовых дорожек. Большая часть территории парка не асфальтирована и покрыта газоном лугового типа. Основными растениями для создания газона являются злаки (овсяница, тимофеевка, мятлик, пырей, ежа), бобовые (клевер). На отдельных участках газона отмечается будра плющевидная. Присутствует значительное количество сорных растений: пастушья сумка обыкновенная (Capsella bursapastoris L. Medik), лопух войлочный (Arctium tomentosum L. Mill.), осот полевой (Sonchus arvensis L.), звезчадка средняя (Stellaria media L.).

Всего на территории парка произрастает 38 видов травянистых растений, из которых преобладают многолетние корневищные.

- 1. Горохов В.А., Лунц Л.Б. Парки мира. М., 1985.
- 2. Бобров Р. Все о национальных парках. М., 1987.
- 3. Лесные экосистемы и атмосферное загрязнение / Под ред. В.А. Алексеева. Л., 1990.

Серия биологическая

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ СФАГНОВЫХ МХОВ И ИХ ЭКОЛОГИЧЕСКИМИ ОПТИМУМАМИ ПО ТРОФНОСТИ

Н.С. Рогова, Л.Г. Бабешина, Н.К. Рыжакова

Установлена корреляционная зависимость между концентрацией элементов Zn, Rb, K, Co, Sb, Mn, Mo, Fe, Br, Ca и экологическими оптимумами сфагновых мхов. K, Zn и Rb имеют положительную корреляцию по трем экологическим шкалам и могут быть использованы в качестве индикаторов местообитаний растений рода Sphagnum.

CORRELATION RELATIONSHIP BETWEEN CONTENT ELEMENTS IN SPHAGNOUS MOSS AND THEM ECOLOGICAL OPTIMUM FOR NUTRIENT

N.S. Rogova, L.G. Babeshina, N.K. Ryzhakova

Correlation relationship between concentration elements Zn, Rb, K, Co, Sb, Mn, Mo, Fe, Br, Ca and ecological optimum of sphagnous moss was determined. K, Zn, Rb have positive correlation for three ecological scales and can use for indicators habitat sphagnum.

Введение

Минеральные вещества для своей жизнедеятельности растения обычно получают из почвы. Чем их больше, тем выше зольность почвы и тем больше минеральных веществ могут содержать произрастающие на ней растения. Торфяной субстрат сфагновых болот Западно-Сибирской равнины имеет небольшую степень разложения и низкую зольность: от 2,5–2,7 % на олиготрофных болотах до 5,4(8) % на мезотрофных. Для торфа на юге этой территории отмечают максимум содержания минеральных компонентов на севере — минимум [1, 2]. Но минеральные элементы субстрата являются труднодоступными для сфагновых мхов, поскольку восходящий и боковой ток влаги ограничен. В жаркую погоду идет активное обсыхание верхней части сфагновый дерновины, и капиллярный ток влаги прерывается. Сухая часть живого мха выполняет роль своеобразной мульчи, препятствуя вертикальному движению влаги и ее интенсивному испарению. Боковой сток ограничен за счет положения сфагновых болот на равнинных участках [3]. Поэтому минеральное питание сфагновых мхов очень скудное, его источником служит в основном атмосферная пыль и небольшое количество солей, растворенных в осадках.

Целью данной работы является оценка корреляционной зависимости содержания химических элементов в различных видах сфагновых мхов от их экологических оптимумов по богатству минерального питания условий произрастания (трофности).

Ботаника 73

Материалы и методы

Мох отбирали в 2004—2009 гг. в экспедиционных условиях на территории Западно-Сибирской равнины: болото Чагинское (в черте г. Томска), болото Кирсановское (на расстоянии 25 км от г. Томска), Бакчарское болото (15 км от поселка Плотниково Томской области), болото Кукушкино (Ханты-Мансийский автономный округ) и тундроболото в радиусе 20 км от Нового Уренгоя (Ямало-Ненецкий автономный округ).

Объектами исследования являлись 26 видов рода Sphagnum L.: S. aongstroemii Hartm., S. angustifolium (C. Jens. ex Russ.) C. Jens., S. balticum (Russow) C. Jens., S. capillifolium (Ehrh.) Hedw., S. centrale C. Jens., S. compactum Lam. & DC., S. contortum Schultz, S. fallax (H. Klinggr.) H. Klinggr., S. fimbriatum Wilson, S. fuscum (Schimp.) Klinggr., S. girgensohnii Russow, S. jensenii H. Lindb., S. lenense H. Lindb. ex Savicz, S. lindbergii Schimp., S. magellanicum Brid., S. majus (Russow) C. Jens., S. palustre L., S. papillosum Lindb., S. riparium Ångstr., S. rubellum Wils., S. russowii Warnst., S. squarrosum Crome, S. subsecundum Ness., S. teres (Schimp.) Ångstr., S. warnstorfii Russ., S. wulfianum Girg.

Определение элементного состава проводили нейтронно-активационным методом на ядерном реакторе «Спутник» (г. Томск). Для этого измельченную дерновину сфагновых мхов прессовали таблетки массой 0,1-0,4 г и диаметром 1 см. Для определения содержания элементов по долгоживущим изотопам таблетки помещали в алюминиевую фольгу и вместе с эталонными образцами облучали в реакторе ВЭК-6 потоком тепловых нейтронов $5.5 \cdot 10^{13}$ нейтронов/см²-с в течение 3–5 ч. После окончания облучения пробы выдерживали в течение недели, что необходимо для спада активности Na²⁴. Для определения содержания элементов по короткоживущим изотопам таблетки после прессования помещали в полиэтиленовые пакетики и в алюминиевом пенале облучали в канале реактора ВЭК-6 в течение 5 с. После облучения пробы с помощью специального пневматического устройства подавали непосредственно к месту проведения измерений, «охлаждали» в течение 30 мин, извлекали из пакетиков и также помещали в измерительные ёмкости. С помощью полупроводникового гамма-спектро-метра измеряли удельные активности каждой анализируемой пробы. Сравнивая интенсивности аналитических гамма-линий радионуклидов определяемых элементов с интенсивностью соответствующих гамма-линий стандартных образцов, рассчитывали содержание определяемых элементов. В качестве образцов сравнения (эталонов) использованы стандарты MAГАТЭ FFA (Fine Fly Ash) – пыль летучая, и злаковая травосмесь типа СБМТ − 02. Погрешность измерений составляет до 10–15 %.

Распределение видов мхов по градиенту трофности рассматривали по трем экологическим шкалам минерального питания Л.Г. Раменского, И.А. Цаценкина и Д.Н. Цыганова. По шкале Л.Г. Раменского: 9 из исследуемых видов сфагновых мхов относятся к экологической группе ортоолиготрофофитов, 14 — к мезоолиготрофофитам и 3 — к мезотрофофитам, тогда как по шкале И.А. Цаценкина и Д.Н. Цыганова сфагны распределены только по двум группам: мезоолиготрофофиты и мезотрофофиты (9+17 и 16+10 соответственно) [4].

Измерение тесноты связи между содержанием химических элементов в различных видах сфагновых мхов и их оптимальными предпочтениями по трофности производили с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена:

$$\rho = 1 - \frac{6\sum d^2}{n(n^2 - 1)},$$

где d — разность рангов двух признаков, n — число наблюдаемых единиц. В случае отсутствия связи ρ =0. При прямой связи коэффициент ρ — положительная правильная дробь, при обратной связи — отрицательная. Этот непараметрический метод позволяет сравнивать качественные (оптимальные экологические предпочтения) и количественные (значение концентраций химических элементов) показатели, осо-

бенно при малом объеме совокупности, так как он не связан с ограничениями относительно характера распределения признака [5].

Результаты и обсуждение

В исследуемых видах сфагнового мха определили количество 27 элементов. Из них к макроэлементам (концентрация которых в растении превышает 0,01 %) относятся Са, К, Na, Mn и Fe; к микроэлементам (концентрация от 0,00001 до 0,01 %) – As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Hf, La, Mo, Rb, Sb, Sc, Sm, Zn, Th, Sr, U; к ультрамикроэлементам (концентрация которых ниже 0,00001 %) – Eu, Lu, Tb, Yb (табл. 1).

 $\label{eq:Tadhu} {\it Tadhu} {\it u} a \ {\it I}$ Концентрации химических элементов, усредненные по 26 видам рода $\it Sphagnum$, мг/кг

Элемент	Среднее значение	Элемент	Среднее значение	Элемент	Среднее значение	Элемент	Среднее значение
K	9593	Rb	23	La	0,86	Hf	0,12
Ca	2467	Sr	11	Cs	0,39	U	0,11
Fe	1710	Br	5,5	Mo	0,39	Yb	0,06
Na	544	Cr	5,3	Th	0,18	Eu	0,03
Mn	200	Ce	1,6	Sm	0,15	Tb	0,02
Ba	45	Co	1,3	Sc	0,14	Lu	0,01
Zn	33	As	0,91	Sb	0,13		

Выбор анализируемых элементов определялся прежде всего возможностью метода. Установлено, что у всех исследуемых видов первое место по количеству занимает К. Его усредненное значение 9593 мг/кг (от 2600 у *S. lenense* до 35700 у *S. riparium*). Такой результат подтверждает ранее опубликованные данные для разных территорий (Карелия, Эстония, Финляндия) о том, что сфагновые мхи являются концентраторами К [6]. Количественное содержание других элементов в исследуемых растениях не показывает четкой картины зависимости от экологической приуроченности их видов. Так, усредненное содержание Zn 33 мг/кг (от 11,5 у *S. rubellum* до 55 у *S. contortum*), а Rb – 23 мг/кг (от 2,46 у *S. rubellum* до 55 у *S. riparium*). Чтобы оценить зависимость, проведено ранжирование концентрации химического элемента и экологических оптимумов каждого из 26 видов по 3 шкалам. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена рассчитывались для каждого из 27 химических элементов (табл. 2).

Таблица 2 Значения коэффициента Спирмена между количеством элементов в растениях рода Sphagnum и их оптимумами по трофности, рассчитанными по трем экологическим шкалам: Л.Г. Раменского – 1, И.А. Цаценкина – 2, Д.Н. Цыганова – 3 ($\rho_{\kappa p}$ =0,33)

Элемент	1	2	3	Элемент	1	2	3
As	-0,02	-0,11	-0,14	Mn	0,14	0,38	0,37
Ba	0,26	0,19	0,13	Mo	0,42	0,19	0,20
Br	0,57	0,28	0,39	Na	0,11	-0,02	0,16
Ca	0,27	0,41	0,47	Rb	0,59	0,45	0,56
Ce	0,26	0,28	0,29	Sb	-0,35	-0,05	-0,23
Co	0,59	0,32	0,32	Sc	-0,22	-0,10	-0,13
Cr	-0,11	-0,02	-0,01	Sm	0,06	0,11	0,15
Cs	0,30	0,18	0,16	Sr	0,14	0,22	0,23
Fe	0,37	0,13	0,21	Tb	0,04	0,03	-0,06
Hf	-0.05	0,10	0,03	Th	-0,06	0	0,04
K	0,63	0,49	0,59	Yb	-0,15	0,03	0,02
La	0,12	0,05	0,14	Zn	0,67	0,57	0,68
Lu	0	0,11	0,07				

Примечание. Уровень значимости α =0,05, n=26.

Ботаника 75

В результате исследований установлена корреляция количества 10 элементов со значениями экологических оптимумов сфагновых мхов. Для остальных элементов корреляция их количества с богатством минерального питания среды обитания мха не выявлена. При этом корреляционная зависимость Sb отрицательная, а у остальных 9 элементов положительная. К, Zn и Rb имеют зависимость от расчетных оптимумов по всем трем шкалам (см. табл. 1). Они могут быть использованы в качестве индикаторов трофности местообитания сфагновых мхов. Содержание Са, Мп и Вг коррелирует с оптимумами растений по двум, а Fe, Mo, Sb, Co и Tb только по одной шкале. Максимальная корреляция по 7 элементам обнаружена с расчетными оптимумами видов по шкале Л.Г. Раменского.

Оценивая индивидуальную накопительную способность исследуемых видов относительно экологической приуроченности, ранги всех элементов каждого из них суммировались и сравнивались с рангами его оптимумов. Полученные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена по всем исследуемым видам и по оптимумам трёх экологических шкал оказались меньше критического значения (0,33).

Выводы

- 1. У 26 видов рода Sphagnum установлено наличие 5 макроэлементов (Ca, K, Na, Mn и Fe), 18 микроэлементов (As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Hf, La, Mo, Rb, Sb, Sc, Sm, Zn, Th, Sr, U) и 4 ультрамикроэлементов (Eu, Lu, Tb, Yb).
- 2. Зависимость между суммарным проранжированным количеством элементов каждого из исследуемых видов и их экологической приуроченностью не выявлена, а связь с отдельными элементами установлена. К, Zn и Rb имеют положительную корреляцию с экологическими оптимумами видов по трофности, рассчитанными по трем шкалам, и могут быть использованы в качестве индикаторов местообитания сфагновых мхов.

- 1. *Мульдияров Е.Я., Язвин Л.Г.* Ресурсы и свойства торфов юго-востока Томской области. Деп. ВИНИТИ. № 403. B88.1988.
- 2. Лисс О.Л., Абрамова Л.И., Аветов Н.А. и др. Болотные системы Западной Сибири и их природоохранное значение. Тула: Гриф и K, 2001. 584 с.
- 3. *Прокольев Е.П.* Экология растений (особи, виды, экогруппы, жизненные формы): Учеб. для биологических факультетов вузов. Томск: Томский государственный университет, 2001. 340 с.
- 4. *Бабешина Л.Г.*, Зверев А.А. Оценка условий местообитаний сфагновых мхов Западно-Сибирской равнины: фактор трофности // Вестник Томского государственного университета. 2010. В печати.
- 5. Общая теория статистики. Статистическая методология в изучении коммерческой деятельности: Учеб. / Под ред. О.Э. Башиной, А.А. Спирина. 5-е изд., доп. и перераб. М.: Финансы и статистика, 2001. 440 с
- 6. *Максимов А.И.* Фитоценотическое значение и экология некоторых сфагновых мхов Карелии / А.И. Максимов // Эколого-биологические особенности и продуктивность растений болот. Петрозаводск, 1982. С 187–195.

Серия биологическая

АНАЛИЗ ФЛОРЫ ВЫСШИХ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ГОР МАРГАНЦЕВАЯ И СКАЛА (КУЗНЕЦКИЙ АЛАТАУ)

В.Ю. Романов, А.В. Климов

Представлен анализ флоры высших сосудистых растений гор Марганцевая и Скала на территории Усинского марганцевого месторождения (Кузнецкий Алатау).

ANALYSIS OF THE FLORA OF HIGH VASCULAR PLANTS OF THE MOUNTAINS MARGANCEVAYA AND ROCK (KUZNECKIY ALATAU)

V.Yu. Romanov, A.V. Klimov

An analysis of flora of high vascular plants of the mountains Margancevaya and Rock on territory Usinskogo marganese ore deposit (Kuzneckiy Alatau).

Кузнецкий Алатау является северным отрогом Алтае-Саянской горной страны и отличается богатой и разнообразной флорой и растительностью [1, 5, 7, 9]. Также этот регион богат полезными ископаемыми. В частности, в южной части Кузнецкого Алатау расположено крупнейшее в России Усинское месторождение марганцевых руд. Здесь сосредоточено около 62 % общероссийских запасов марганца. В центре месторождения располагаются горы Марганцевая и Скала. Севернее, в двух километрах, проходит граница охранной зоны Государственного природного заповедника «Кузнецкий Алатау». При разработке месторождения добычу окисленных и карбонатных марганцевых руд предусматривается производить одновременно двумя нагорными карьерами [6]. Непосредственно на г. Марганцевая будет располагаться правобережный карьер, что, безусловно, приведет к полному уничтожению существующей здесь растительности и пагубно скажется на уникальной окружающей природе.

Так как ранее изучение флоры на территории Усинского марганцевого месторождения не производилось, в 2009–2010 гг. авторами были обследованы горы Марганцевая и Скала с целью инвентаризации их флоры. Полевые исследования проводились по общепринятой методике маршрутных флористических исследований.

В результате проведенной ревизии выявлено 195 видов высших сосудистых растений, относящихся к 139 родам и 53 семействам. Из них на долю хвощевидных приходится 1,5 %, папоротниковидных - 11,3 %, голосеменных - 1,5 %, покрытосеменных: однодольных - 10,7 % и двудольных - 75,0 %.

Следует отметить значительную долю папоротников в видовом спектре флоры данной территории. Всего на территории Кемеровской области произрастает 40 видов папоротников, относящихся к 11 семействам и 19 родам [8, 10]. Как показали проведенные исследования, на горах Марганцевой и Скала отмечено 22 вида папоротников, относящихся к 9 семействам и 13 родам, что составляет более 50 % видового разнообразия папоротников области.

Ботаника 77

Ведущими семействами являются Asteraceae-18 видов (14 родов), Ranuncu-laceae-15 видов (10 родов), Rosaceae-15 видов (12 родов), Liliaceae-12 видов (8 родов), Lamiaceae-11 (9 родов). На их долю приходится 36,4 % видового богатства флоры, остальные семейства представлены меньшим числом видов.

Анализ географических элементов флоры показал, что во флоре исследованного района преобладают виды с евразийским типом ареала — 78 видов (40,0 %). На долю азиатской группы приходится 63 вида (32,3 %), при этом 13 из них относятся к южносибирской подгруппе ареалов, т.е. являются эндемиками, что весьма примечательно для столь небольшой территории. Голарктическая группа объединяет 49 видов (25,5 %). Самая малочисленная мультирегиональная группа включает 5 видов.

Из экологических факторов были рассмотрены факторы влажности и каменистости субстрата. На долю мезофитов и мезогигрофитов приходится 72,8 % видового состава флоры. Ксерофиты и мезоксерофиты представлены 30 видами (15,4 %), в основном это растения, предпочитающие каменистые субстраты. К гигрофитам относится каждый десятый вид. Большей частью это виды подпологового пространства лесов и околоводных местообитаний. Самая малочисленная группа – гидрофиты, к ней относятся Caltha palustris, Cicuta virosa и Petasites radiatus, произрастающие в прирусловой части поймы р. Уса.

По отношению к каменистости субстрата на долю петрофитов приходится 21 вид.

Во флоре исследованных гор Марганцевая и Скала отмечено 10 видов высших сосудистых растений, отнесенных различными авторами к третичным — плиоценовым реликтам — Actaea spicata, Asplenium trichomanes, A. viride, Brunnera sibirica, Cryptogramma stelleri, Dryopteris filix-mas, Myosotis krylovii, Polystichum lonchitis, Polypodium vulgare и Stachys sylvatica [2–4]. Шесть из указанных видов — папоротники, являющиеся древнейшими элементами флоры Южной Сибири. В целом реликтовый элемент в исследованной флоре составляет около 5 % от общего видового богатства, что наряду с высоким уровнем эндемизма указывает на ее уникальный характер.

Всего на изученной территории обнаружено 10 видов растений, включенных в красные книги федерального и регионального уровня. В Красную книгу Российской Федерации включен Erythronium sibiricum. Девять видов внесены в Красную книгу Кемеровской области — Asplenium trichomanes, A. ruta-muraria, Aquilegia sibirica, Cortusa altaica, Cryptogramma stelleri, Paeonia anomala, Polypodium vulgare, Polystichum lonchitis и Rhaponticum carthamoides.

Таким образом, флора исследованных гор Марганцевая и Скала является уникальным комплексом и нуждается в дальнейшем систематическом изучении и охране.

- 1. *Буко Т.Е.* Конспект флоры высших сосудистых растений заповедника «Кузнецкий Алатау» // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 2002. Вып. 8. С. 35–53.
 - 2. Гуреева И.И. Равноспоровые папоротники Южной Сибири. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001. 157 с.
- 3. *Крапивкина Э.Д.* Неморальные реликты во флоре черневой тайги Горной Шории. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009. 229 с.
 - 4. Крылов П.Н. Липа на предгорьях Кузнецкого Алатау. Томск, 1891. 40 с.
 - 5. Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. Т. 1–12. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1927–1964.
- 6. *Литвиненко А.П.* О проекте освоения Усинского месторождения марганцевых руд // Минеральные ресурсы России. Экономика и управление. 2007. №1. С. 53–57.
- 7. Некратова Н.И., Некратов Н.Ф., Михайлова С.И., Серых Г.И. Лекарственные растения Кузнецкого Алатау. Ресурсы и биология. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1991. 268 с.
 - 8. Определитель растений Кемеровской области. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 447 с.
- 9. Седельников В.П. Флора и растительность высокогорий Кузнецкого Алатау. Новосибирск: Наука, 1979. 168 с.
 - 10. Флора Сибири. Т. 14. Новосибирск: Наука, 2003. С. 12–15.

Серия биологическая

СРАВНИТЕЛЬНАЯ БИОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛЕПИХИ (СЕЛЕНГИНСКОЕ СРЕДНЕГОРЬЕ)

Л.С. Сагалакова, Л.К. Бардонова

Дана сравнительная биоморфологическая и биометрическая характеристики Hippophae rhamnoides в Селенгинском среднегорье Бурятии. Облепиха описана в разных популяциях.

THE COMPARATIRE BIOLOGICAL-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF HIPPOPHAE (SELENGINSKII MOUNTAIN)

L.S. Sagalakova, L.K. Bardonova

The biological-morphological and biometrical comparative characterization of Hippophae rhamnoides in the Selenginskii Mountain was given. Hippophae rhamnoides in different populations has been described.

Облепиха крушиновидная, или крушиновая (*Hippophae rhamnoides L.*), – двудомный кустарник или дерево, вид рода Облепиха (*Hippophae*) семейства Лоховые (*Elaeagnaceae*). Растение с колючими серебристо-белыми ветвями. Листья узкие, цельнокрайные. Женские цветки одиночные, мужские в коротких колосьях у основания молодых веточек. Плоды – костянки. Распространена от атлантических берегов Европы до Забайкалья, на юге охватывает Средиземноморье, Иран, Китай, Монголию. В Сибири распространена в Алтае-Саянской области, на Алтае, в Туве, Саянах и Иркутской области. В Бурятии проходит восточная граница ареала. Растет в долинах рек Иркута, Селенги, Темника, Джиды, Уды [1, 2] (рис. 1).



Рис. 1. Apean Hippophae rhamnoides L.

Облепиха предпочитает галечниковые и песчаные берега рек, пески с близким уровнем грунтовых вод, опушки сосновых боров, каменистые склоны.

Ботаника 79

Нами проведено изучение облепиховых фитоценозов, даны сравнительные биоморфологические и биометрические характеристики облепихи в 3 местообитаниях Селенгинского среднегорья Республики Бурятия: пойма р. Селенги, долина среднего течения р. Джиды и правобережная часть реки Уда (рис. 2).

Селенгинское среднегорье как природный округ Забайкалья характеризуется четко выраженными чертами общности и единства природы (климата, почв, растительности, вод, многолетней мерзлоты и др.) и охватывает среднюю часть бассейна р. Селенги, от границы с Монголией — на юге до южных склонов хребтов Хамар-Дабан и Улан-Бургасы — на севере и северо-западе. Площадь его в этих границах составляет около 80 тыс. км². Резко континентальный климат Селенгинского среднегорья, как и всего Забайкалья, обусловлен расположением в центре Азиатского субконтинента, отдаленностью от морей и океанов, горным рельефом и повышенным притоком солнечной радиации. Орографическая система представлена чередованием низких и средневысотных хребтов, обладающих сглаженными водоразделами, и межгорных впадин [3].

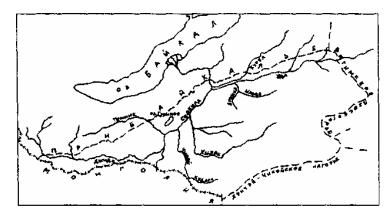


Рис. 2. Схема расположения Селенгинского среднегорья (по Фадеевой, 1963). Пунктирной линией показаны границы природных округов

Сравнительная биоморфологическая характеристика облепихи крушиновой Селенгинского среднегорья дана на основании анализа 90 образцов из разных мест обитания [4–6] (таблица).

Популяция		П1	П2	ПЗ
Высота над ур. м., м		600	800	800
Высота растения, м		1,5	2,4	2,0
Околюченность, баллы	Į.	4	4	3
Размер колючек, см		70	68	45
Размер листьев, мм	Размер листьев, мм длина		65	30
ширина		6,3	9,0	5,0
Диаметр кроны, м		1,15	1,35	1,10
Жизненная форма обле	епихи	Кустарник	Кустарник	Дерево

Сравнительная морфологическая характеристика Hippophae rhamnoides L. Селенгинского среднегорья

Примечание. П1 – облепиха, произрастающая в пойме Селенги; П2 – облепиха, произрастающая в долине среднего течения Джиды; П3 – облепиха, произрастающая в правобережной части Уды.

Селенгинская облепиховая популяция. Произрастает в пойме реки Селенга, местность «Морозово» близ с. Усть-Кяхта. Высота над ур. м. 600 м. Почва по механическому составу супесчаная. Облепиха представлена сильнооколюченной формой. Околюченность оценивается в 4 балла по В.Т. Кондрашову (1977), длина колючек

70 см. Высота растения составляет 1,5 м, диаметр кроны 1,15 м. *Ніррорһае rhamnoides* в пойме Селенги представлена кустарником и имеет акротонный тип ветвления побегов, при котором боковые ветви располагаются в дистальной части побега. Исследование селенгинской популяции показало, что она состоит из особей как семенного, так и корнеотпрыскового происхождения в равных долях [7].

Джидинская облепиховая популяция. Произрастает в урочище «Щеки» Боргойской котловины в долине среднего течения реки Джиды (Юго-Западное Забайкалье). Высота над ур. м. 800 м. Почва представлена мелкозернистыми песками. Облепиха также представлена сильнооколюченной формой (околюченность 4 балла). По сравнению с селенгинской облепихой в долине р. Джиды произрастает высокорослая облепиха (2,4 м). Диаметр кроны составляет 1,35 м. Размеры листьев самые высокие (длина – 65, ширина – 9 мм). Жизненная форма – кустарник и имеет акротонный тип ветвления побегов. Здесь произрастают особи семенного и корнеотпрыскового происхождения в одинаковых частях.

Удинская облепиховая популяция. Занимает правобережную часть реки Уда близ с. Удинск. Данный фитоценоз сформировался здесь сравнительно недавно—с 2004–2005 гг. и занимает небольшую площадь. Околюченность оценивается балом 3. Длина колючек в среднем 45 мм. Высота растения—2 м, диаметр кроны 1,10 м. По сравнению с селенгинской и джидинской облепихой размеры листьев самые небольшие (длина—30, ширина—5 мм). В отличие от вышеописанных форм удинская облепиха представлена деревом и имеет акротонный тип ветвления побегов. Изучение удинской облепихи показало, что здесь преобладают особи корнеотпрыскового происхождения.

Облепиха крушиновая *Ніррорһае rhamnoides* L., произрастающая в Селенгинском среднегорье, полиморфна по биометрическим показателям (высота растения, размер листьев, размер колючек, диаметр кроны) и габитусу особей. Вышеописанные популяции облепихи представлены сильнооколюченными (околюченность 3—4 балла) и высокорослыми формами (1,5—2,4 м). При исследовании облепиховых популяций было выяснено, что селенгинская и джидинская облепихи имеют жизненную форму кустарник с акротонным типом ветвления побегов. В отличие от них удинская облепиха представлена деревом, причем в такой популяции преобладают особи корнеотпрыскового происхождения.

При сравнении популяций облепихи Селенгинского среднегорья с популяциями Прибайкалья (иркутная и китойская) было выяснено, что иркутная и китойская облепихи представлены слабооколюченными формами (околюченность 1 балл). Величина особей на высоте 1100 м над ур. м. составляет 49 см у иркутной популяции, 120 см у китойской, а с понижением высоты над ур. м. до 450 м величина иркутной и китойской популяций — 170 см. Облепиха Прибайкалья имеет жизненную форму кустарник с акротонным типом ветвления.

- 1. Тагаева Е.Ю. Эколого-биологические особенности восточносаянских популяций облепихи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2005. 20 с.
 - 2. Трофимов Т.Т. Облепиха. М.: Изд-во МГУ, 1988. 162 с.
- 3. *Иметхенова О.В. Spiraea aquilegifolia* Pall. в растительности Селенгинского среднегорья (Западное Забайкалье): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2008. 21 с.
- Кондрашов В.Т. К методике описания дикорастущих форм облепихи // Раст. ресурсы. 1977. Т. 13, вып. 1. С. 140–144.
- 6. Шапиро Д.К. и др. Биохимическая и морфологическая характеристика переспективных форм облепихи северного Азербайджана // Раст. ресурсы. 1978. Т. 14, вып. 1. С. 60–64.
- 7. Сагалакова Л.С. Hippophae rhamnoides в пойме Селенги (с. Усть-Кяхта) // Вестник БГУ. 2010. Вып. 4. С. 148–153.

Серия биологическая

РАЗНООБРАЗИЕ ВИДОВ РОДА IRIS L. В БУРЯТИИ

Е.П. Халтанова, С.А. Холбоева

Рассматривается разнообразие видов р. Iris L., произрастающих на территории Бурятии.

THE DIVERSITY OF SPECIES OF IRIS IN BURYATIA

E.P. Khaltanova, S.A. Kholboeva

The paper is devoted to diversity of species of Iris in Buryatia.

Ирисы, или Касатик (Iris L.), — многовидовой род, встречающийся на всех континентах. В роде насчитывается до 347 видов [1]. Еще с давних времен ирисы выращиваются как декоративные растения, из цветков получают эфирные масла для парфюмерии, а корневища используются в медицине как потогонное, отхаркивающее и слабительное средство.

Имея широкое распространение как декоративное растение, род в настоящее время не имеет единой классификации, как для садовых, так и для дикорастущих видов. Первая классификация рода была предложена еще К. Линнеем в 1753 г., который разделил ирисы на бородатые и безбородые. В дальнейшем были сделаны различные классификации и системы ирисов, основное различие которых связано с пониманием объема рода. Часть исследователей рассматривают род в широком смысле, т.е. учитываются и луковичные, и корневищные растения. Другие же исключают луковичные виды, выделяя их в отдельные самостоятельные рода. Как следствие, общепринятой системы рода в данное время не существует. Но наиболее признанными классификациями считаются системы Г.И. Родионенко [5] и Б. Мэтью [8], которые впоследствии дополнялись и изменялись. В основе системы Родионенко лежит четырехступенчатая соподчиненность надвидовых таксонов Лоуренца [2] - подрод, секция, серия, вид. При этом он понимал ирисы в узком смысле, т.е. учитывал только корневищные растения. Эти же принципы Лоуренца использовал и Мэтью в своей системе, но рассматривал все формы ирисов и использовал трехступенчатую систему – род, подрод, секция.

На основе системы Родионенко была произведена ревизия сибирских видов ириса В.М. Доронькиным [2]. Как и Родионенко, он рассматривал только корневищные растения. В результате он делит р. *Iris* L. на 5 подродов, включающих 22 сибирских вида и 1 подвид. Последние дополнения в системе Родионенко были сделаны Н.Б. Алексеевой [1], согласно которой на территории России произрастает 38 видов и 1 подвид, относящиеся к 6 подродам.

Как следствие, в связи с проблемами классификации существует также неопределенность видового состава рода как в России, так и на территории Бурятии. При сравнении 3 определителей (Бурятии, Флоры Сибири, Флоры Центральной Сиби-

ри), а также гербарных образцов Бурятского научного центра СО РАН и Бурятского государственного университета были выявлены несоответствия как в количестве видов ирисов, произрастающих на территории Бурятии, так и в их названиях.

Согласно «Флоре Центральной Сибири» [7] на территории Бурятии регистрируется 7 ирисов: *I. tigridia* Bunge, *I. humilis* Georgi, *I. ruthenica* Ker-Gawler, *I. biglumis* Vahl, *I. laevigata* Fisher et Meyer, *I. sanguinea* Donn, *I. potaninii* Maxi. Во «Флоре Сибири» [6] для Бурятии был добавлен *I. uniflora*, который ранее не указывался во «Флоре Центральной Сибири». Он отмечен в Южной Бурятии (р. Монгой) на западной границе ареала. Также Доронькиным из *I. tigridia* был выделен новый вид *I. ivanovae* V. Doronkin, который замещает *I. tigridia* в Забайкалье и на большом протяжении в Монголии и Китае. Таким образом, из 24 сибирских видов ириса на территории Бурятии регистрируется 8 ирисов: — *I. ivanovae* V. Doronkin, *I. humilis* Georgi, *I. ruthenica* Ker-Gawler, *I. uniflora* Pallas ex Link, *I. biglumis* Vahl, *I. laevigata* Fisher et Meyer, *I. sanguinea* Donn, *I. potaninii* Maxi.

Из 8 видов, произрастающих на территории Бурятии, степными видами являются I. humilis, I. potaninii, I. ivanovae; луговыми — I. biglumis, I. laevigata, I. sanguinea, к лесным и лесостепным видам относятся I. ruthenica и I. uniflora, соответственно. При этом большинство видов ирисов приурочены к южным районам Бурятии, однако некоторые виды, такие как I. laevigata, I. sanguinea, I. Potaninii, заходят в северные районы республики, и повсеместное распространение имеет I. humilis

Также требуется уточнить статус ирисов, внесенных в Красную книгу. Согласно редакции 2003 г. [2] на территории республики в настоящее время произрастает только один вид — I. ivanovae, а также 4 вида, внесенных в списки охраняемых растений, — I. humilis, I. ruthenica, I. laevigata, I. sanguinea [1]. В более же старой редакции были включены 3 ириса — I. tigrida, I. laevigata и I. orientalis, ныне I. sanguinea [4]. В связи с этим требуются дополнительные сведения по биологии, экологии и распространению видов. Необходимо выявление наиболее информативных признаков для классификации данного рода.

- 1. *Алексеева Н.Б.* Охрана видов рода Iris (Iridaceae) на территории России // Ботанический журнал. 2003. Т. 88, № 12. С. 109–118.
- 2. Доронькин В.М. Обзор сибирских видов рода Iris (Iridaceae) // Ботанический журнал. 1990. Т. 75, №3. С. 409-416.
- 3. *Красная книга* Республики Бурятии: редкие и исчезающие виды растений и грибов / Под ред. Т.Г. Бойкова. Новосибирск: Наука, 2002.
 - 4. Красная книга Бур. АССР. Улан-Удэ: Бурят. кн. изд-во, 1988.
- 5. Родионенко Г.И. Род Iris. L: вопросы морфологии, биологии, эволюции, систематики. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1961.
- 6. Флора Сибири. Araceae Orchidaceae Т. 4 / Сост. Н.В. Власов, В.М. Доронькин, Н.М. Золтухин и др. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1987.
- 7. Φ лора Центральной Сибири: В 2 т. / Под ред. Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой. Новосибирск: Наука, 1979.
 - 8. Mathew B. The Iris. London, 1981.

Серия биологическая

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ЛИШАЙНИКАХ РОДА CLADONIA ОКРЕСТНОСТЕЙ ГОРОДА АНЖЕРО-СУДЖЕНСКА (КЕМЕРОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

А.С. Шалыгина, В.В. Конева

Приводится список 10 видов лишайников г. Анжеро-Судженска Кемеровской области.

FIRST INFORMATION ABOUT LICHENS OF GENUS OF CLADONIA OF ANGERO-SUDGENSK SUBURBAN AREA (KEMEROVO REGION)

A.S. Shalygina, V.V. Koneva

The list of 10 species of lichens of Andgero-Sudgensk suburban area (Kemerovo region) is described.

Среди огромного разнообразия лишайников особый интерес представляет изучение такого семейства, как Кладониевые (Cladoniaceae). Центральным для данного семейства является род Кладония (Cladonia). Кладонии распространены по всему земному шару, во всех растительно-климатических зонах — от полярных пустынь до тропиков. Это один из самых больших родов кустистых лишайников. В России встречается около 80 видов.

Систематическое изучение лишайников юго-востока Западной Сибири, в том числе и Кемеровской области, началось с середины 1960-х годов. Лихенофлора Кузнецкого нагорья в целом и отдельных элементов приводится в серии работ Н.В. Седельниковой [1–5]. К настоящему времени появились сведения по биоразнообразию и распространению видов-биоиндикаторов городов Новокузнецка [6] и Кемерова [7], а также реликтовых видов лишайников Липового острова [8]. Лихенофлора крайнего севера области не изучена.

Нами исследовано видовое разнообразие лишайников рода Cladonia окрестностей города Анжеро-Судженска.

Анжеро-Судженск расположен на северо-востоке Кемеровской области (56°5′ с.ш., 86°0′ в.д.). Территория города географически тяготеет к переходной зоне от горно-таёжного ландшафта Кузнецкого Алатау к лесостепной Западно-Сибирской равнине. В орогидрогеографическом отношении территория города и окрестностей представляет собой водораздел рек Яя и Мазаловский Китат, по которому проходит Сибирская железнодорожная магистраль. Она делит Анжеро-Судженск на северную и южную части. Климат носит умеренно континентальный характер. По количеству выпадающих осадков (570 мм в год) город относится к зоне умеренного увлажнения [9].

В северной части территории вокруг Анжеро-Судженска леса почти полностью вырублены. Небольшие массивы, сохранившиеся в логах и долинах рек, разобщены пахотными землями, небольшими колками, которые носят следы некогда сущест-

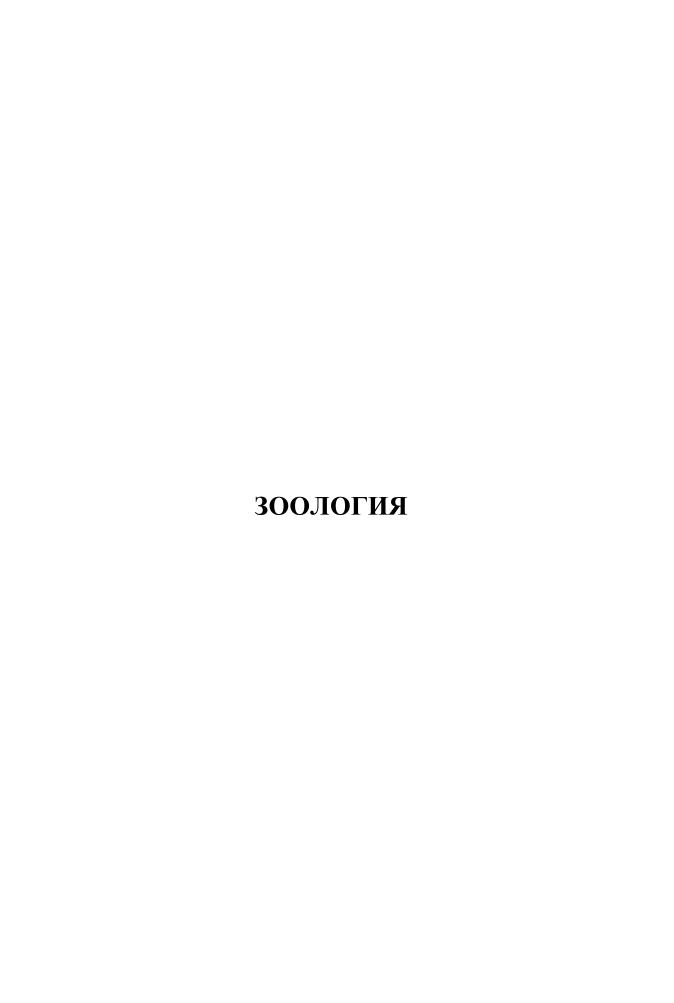
вовавшей тайги. Лесной покров южной части окрестностей города, где находится пос. Рудничный, неоднороден. Юго-восточная часть покрыта сплошной тайгой, к северо-западу редеющей. В окрестностях посёлка тайга полностью вырублена [9].

Исследования лишайников проводились с июня по август 2009 г. в северовосточной части окрестностей г. Анжеро-Судженска. Для выявления видового состава и распространения лишайников использовался метод маршрутных учётов. Сбор образцов осуществлялся по стандартной методике [10–11]. Всего проведено 20 маршрутов, из каждой точки взято по 30 образцов и определена их видовая принадлежность [12]. Общее количество собранных образцов составило 150 экземпляров. Номенклатура приводится в соответствии с данными базы «Index Fungorum» [13].

В результате исследований выявлено 10 видов лишайников рода Cladonia.

Род Cladonia: *Cladonia bacilliformis* (Nyl.) Glück, *C. botrytes* (K.G. Hagen) Willd., *C. chlorophaea* (Flörke ex Sommerf.) Spreng., *C. cyanipes* (Sommerf.) Nyl., *C. deformis* (L.) Hoffm., *C. flabelliformis* (Flörke) Vain., *C. incrassata* Flörke, *C. macilenta* Hoffm., *C. parasitica* (Hoffm.) Hoffm., *C. sulphurina* (Michx.) Fr.

- 1. Седельникова Н.В. Лишайники Горной Шории: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев, 1973. 20 с.
- 2. Седельникова Н.В. Лишайники карбонатных местообитаний Кузнецкого нагорья // Водоросли, грибы и лишайники юга Сибири. М.: Наука, 1980. С. 137–144.
- 3. *Седельникова Н.В., Лащинский Н.Н., Лузанов В.Г.* Эпифитные лишайники черневых лесов Салаира (Алтае-Саянская горная система) // Ботанический журнал. 1989. Т. 74, № 11. С. 1572–1583.
 - 4. Седельникова Н.В. Лишайники Алтая и Кузнецкого нагорья. Новосибирск: Наука, 1990. 174 с.
- 5. Седельникова Н.В., Лащинский Н.Н. Лишайники сосновых лесов Салаира (Алтае-Саянская горная область) // Ботанический журнал. 1991. Т. 76, №1. С. 20–29.
- 6. *Баумгертнер М.В.* Лишайники биоиндикаторы загрязнения окружающей среды юга Кемеровской области // Сибирский экологический журнал. 1998. № 2. С. 191–196.
- 7. *Романова Е.В.* Предварительные данные по лишайникам в естественных сообществах г. Кемерова (Западная Сибирь) // Растительный мир Азиатской России, 2009. № 1 (3), С. 6–12.
- 8. Баумгертнер М.В. Современное состояние лишайников Липового острова // Сибирский экологический журнал. 2001. № 4. С. 483–491.
- 9. Севастьянов В.В., Уколова Т.Ф., Голдаева Н.П. Климат Анжеро-Судженска. Томск: Изд-во Том.
 - 10. Глуздаков С.О. Методика полевого изучения лишайников. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1959. 44 с.
 - 11. Седельникова Н.В. Введение в лихенологию: Учеб. пособие. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. 40 с.
 - 12. Определитель лишайников СССР. Вып. 5. Кладониевые Акароспоровые. Л.: Наука, 1978. 305 с.
 - 13. Index Fungorum [Электронный ресурс] URL: http://www.indexfungorum.org/



Серия биологическая

МОРФОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РОТАНА-ГОЛОВЕШКИ НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ (ОЗ. СЕННАЯ КУРЬЯ, ОКР. Г. ТОМСКА)

И.Б. Бабкина, А.П. Петлина, А.Э. Стрелкова

Рассмотрены морфологические особенности, размерные показатели, формирование чешуйного покрова и развитие пигментации ротана-головешки на ранних периодах и этапах постэмбрионального развития. Определены характер и сроки нереста.

MORFO-ECOLOGICAL FEATURES OF A AMUR SLEEPER AT EARLY STAGES POSTEMBRYONIC DEVELOPMENTS (THE LAKE SENNAJA KURYA, OUTSKIRTS t. TOMSK)

I.B. Babkina, A.P. Petlina, A.E. Strelkova

In work morphological features, dimensional indicators, formation scales cover and development of pigmentation of a Amur sleeper (Percottus glehni) on the early periods and stages postembryonic developments are considered. Character and spawning terms are defined.

В настоящее время в водоемах пригородной зоны г. Томска (Степановский пруд, оз. Савинское, Малый пруд окрестности с. Михайловка, оз. Сенная курья, р. Томь) широко распространился случайный вселенец ротан-головешка, естественным ареалом которого являются пресные водоемы Приморья, Кореи, Северного Китая [1]. Впервые нами он был отмечен в уловах с 1992 г. К настоящему времени он стал довольно многочисленным видом.

В современных ихтиологических исследованиях должное внимание уделяется проблеме изучения молоди любого вида, поскольку такой подход позволяет решать некоторые практические и теоретические вопросы: расширяет представления об экологических нишах вида в пределах искусственного ареала, позволяет оценить адаптивные способности к новым условиям обитания, определять характер, места и сроки нереста, а также охарактеризовать эффективность воспроизводства вида в отдельные годы.

Целью данной работы является изучение морфологических особенностей, размерных показателей ротана-головешки на ранних этапах постэмбрионального развития из оз. Сенная курья.

Материалом для данного исследования послужили сборы, проведенные в июле 2008 г. (113 экз.) и в июне–августе 2009 г. (132 экз.) на оз. Сенная курья (окр. г. Томска). Определение периодов и этапов молоди ротана осуществлялось согласно имеющимся руководствам [2, 3].

Исследования показали, что в уловах к середине июня 2009 г. молодь ротана находилась на этапах C_1 – D_1 (период: ранние личинки), в июле — на этапах D_2 , E, F, G (период: поздние личинки — ранние мальки), в августе — в основном в уловах присутствовала только молодь на этапах F, G (период: мальки-сеголетки). Присутствие в разовых уловах молоди ротана, находящейся одновременно на разных этапах своего развития, свидетельствует о порционности его нереста.

Учитывая продолжительность (в днях) этапов развития у предличинок и ранних личинок, можно предположительно подойти к оценке сроков нереста данного вида. Так как у большинства видов рыб продолжительность инкубационного периода икры составляет 10-12 дней, этапа A у предличинок -2-3 дня, этапа B-2-3 дня, этапа C-6-7 дней [4], то предположительно можно заключить, что присутствующие в уловах от 12 июня личинки более ранних этапов (C_1) выклюнулись из икры второй порции, выметанной в конце мая. Личинки более поздних периодов развития (D_2 , E, F, G), отмеченные в уловах в июле, выклюнулись из икры первой порции, выметанной, по-видимому, в начале мая. Следовательно, нерест ротана проходил в начале мая — начале июня. Нерестилища расположены в прибрежной зоне в закоряженных местах с отмершей растительностью.

В развитии большинства рыб с момента вылупления из икры и до превращения в малька выделяют определенные периоды и этапы развития [2, 4–6]. При переходе молоди ротана с одного этапа на другой нами выявлены специфические морфологические признаки, что и отражено в настоящей работе.

Период ранние личинки (этапы: C_1 , C_2 , D_1).

На этапе C_1 длина тела личинок составляет 4,9–5,2 мм, наблюдается формирование жаберного аппарата: хорошо просматриваются уже сформировавшиеся 4 пары жаберных дуг, на которых располагаются васкуляризированные жаберные лепестки, образующие дыхательную поверхность. Плавниковая складка (кайма) большая, дифференцирована на спинной, хвостовой и преанальный отделы.

На этапе C_2 длина тела личинок увеличивается до 5,2–7,0 мм. Впереди глаз наблюдается формирование органов обоняния (ноздрей) в виде удлиненных трубочек, еще не разделенных поперечной перегородкой на две обонятельные ямки. В заглазничном пространстве наблюдается скопление меланофор в виде правильной окружности из мелких пигментных клеток округлой, точечной и звездчатой формы. Видно густое скопление клеток на дорсальной стороне тела. Увеличивается количество пигментных клеток и на других частях тела. Вдоль боковой части тела просматривается пигментная полоса, состоящая из мелких точечных меланофор. По брюшной стороне наблюдается пигментная окаймляющая полоса. Хорошо пигментирован и конец рыла точечными меланофорами. Несколько ниже жаберных крышек с брюшной стороны пигмент выглядит в виде звездчатых меланофор.

На этапе D_1 длина тела личинок составляет 7,0–8,5 мм. В хвостовом плавнике уже просматриваются костные лучи. Наблюдаются зачатки брюшных плавников. Появляются зачатки спинного и анального плавников. Закладки плавников (скопление клеток мезенхимы) внешне напоминают как бы уплотненные участки ткани. Вначале мезенхимные лучи образуются в хвостовом плавнике, затем в спинном и анальном.

Период поздние личинки — ранние мальки (этапы: D_2 , E, F, G).

На этапе D_2 длина тела молоди ротана достигает 8,16-8,97 мм. В спинном и анальном плавниках развиваются костные лучи. Есть еще остатки плавниковой складки в области хвостового стебля.

На **этапе** Е длина тела молоди увеличивается до 9,1–12,01 мм. Лучи развиты во всех плавниках, кроме брюшных. Наблюдается появление зубов на челюстях. На отдельных частях тела начинает формироваться чешуя.

На этапе F длина тела молоди достигает 10,6–15,71 мм. Обонятельная ямка еще не полностью разделена перегородкой. Наблюдается наличие чешуи на всем теле. Формирование чешуи у личинок ротана начинается при длине тела 11,73–13,03 мм, и на ней просматриваются 2–4 склерита. Глаза выпуклые, обтянутые пленочкой. Верхний край глаза интенсивно пигментирован множеством точечных и звездчатых меланофор. Звездчатые меланофоры расположены на нижней и верхней челюстях. Жаберные крышки интенсивно пигментированы. Между глаз просматриваются сплошные пигментные клетки, которые переходят на верхнюю часть головы. В межглазничном пространстве (позади глаз) наблюдается скопление пигмента из точечных меланофор в виде сердцевидного пятна. Дорсаль-

Зоология 89

ная часть тела интенсивно пигментирована точечными меланофорами, которые преобладают над меланофорами звездчатой формы. Ярко выраженная пигментация окаймляет основание анального плавника и тянется по брюшной части тела до основания хвостового плавника. Брюшко пигментировано звездчатыми и точечными меланофорами. У основания хвостовой лопасти просматривается пигментный поясок вогнутой формы. Плавники слабо пигментированы точечными меланофорами. Хорошо выражены уплотненные скопления пигментных клеток по головному и туловищному отделам. У поздних личинок ротана с длиной тела 14,5 мм на боковой стороне тела начинают формироваться вертикальные полоски. На некотором расстоянии от анального плавника по брюшку просматриваются 3 пигментных пятна (по 9–12 клеток каждое), которые являются основой при формировании пигментных поперечных полосок, появляющихся несколько позже.

На этапе G длина тела молоди достигает 15,04—19,01 мм. Почти все тело покрыто чешуей. Обонятельная ямка разделена перегородкой. При длине тела молоди 17,22 мм на чешуе появляется 1 шипик и просматриваются 5 склеритов. У поздних личинок ротана-головешки (длина 17,0—20,0 мм) хорошо просматриваются вертикальные пигментные полоски на спинной, боковой и брюшной частях тела, а также на плавниках. Брюшко (на уровне грудных и брюшных плавников) мало пигментировано (имеется широкое поле с мелкими пигментными клетками). По бедножелтому фону тела разбросаны крупные темно-коричневые пятна.

Период мальки-сеголетки. По нашим данным, мальки ротана-головешки в уловах из оз. Сенная курья (2009 г.) достигали длины тела 19,73–32,14 мм. Заметно увеличивается размер головы молоди за счет удлинения челюстей. Происходит изменение пигментации, она становится более интенсивной в виде поперечных пигментных полос. Все тело покрыто чешуей, чешуя более крупных размеров циклоидной формы, а более мелкая – ктеноидной. У мальков ротана при длине тела 22,75 мм на чешуе формируется 3–5 шипиков, 9–18 склеритов, а при размерах 26,52 мм чешуя имеет уже 8 шипиков и 22 склерита, по дорсальной стороне она, в основном, циклоидная, по вентральной и ближе к хвостовой лопасти – ктеноидная. С увеличением длины тела мальков до 29,0 мм все тело интенсивно пигментировано по бокам в виде вертикальных полос, состоящих из отдельных скоплений пигментных пятен по спинной, боковой и брюшной частям тела, а также на плавниках.

Таким образом, основными морфологическими признаками молоди ротана по периодам развития являются: у ранних личинок — желточный мешок отсутствует, плавниковая складка большая и дифференцирована на спинной, хвостовой и преанальные отделы. У поздних личинок начинаются обособление двух спинных плавников, закладка брюшных и грудных плавников. У ранних мальков полностью обособляются два спинных плавника с костными лучами, формируются лучи в грудных и брюшных плавниках. На теле появляется чешуя разного типа (ктеноидная и циклоидная). Пигментация молоди ротана с увеличением ее линейных размеров интенсивно возрастает.

- 1. Атлас пресноводных рыб России / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука, 2002. Т. 2. 242 с.
- 2. Коблицкая А.Ф. Определитель молоди пресноводных рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1981. 207 с.
- 3. *Петлина А.П., Романов В.И.* Изучение молоди пресноводных рыб Сибири: Учеб. пособие. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007. 246 с.
 - 4. Коблицкая А.Ф. К изучению нерестилищ пресноводных рыб: Метод. пособие. Астрахань, 1963. 64 с.
- 5. *Крыжановский С.Г.* Эколого-морфологические закономерности развития карповых, вьюновых и сомовых рыб (Cyprinoidei и Siluroidei) // Труды ИМЖ АН СССР, 1949. Вып. 1, 332 с.
- 6.~Bаснецов~B.В.~ Этапы развития костистых рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М., 1953. С. 207–217.

Серия биологическая

НОВАЯ ИНФОРМАЦИЯ О КРЕЧЁТКЕ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ, НОВОСИБИРСКОЙ И ОМСКОЙ ОБЛАСТЯХ

А.В. Баздырев, Е.Б. Мурзаханов

Приводятся результаты работы экологического центра «Стриж» в 2008—2009 гг. по изучению глобально редкого вида птиц — кречётки Chettusia gregaria в степной зоне юго-востока Западной Сибири.

THE NEW INFORMATION ABOUT SOCIAL LAPWING IN ALTAY TERRITORY, NOVOSIBIRSK AND OMSK AREAS

A.V. Bazdyrev, E.B. Murzakhanov

Results of work of ecological centre «Strizh» in 2008–2009 on studying of globally rare species of birds – Social Lapwing Chettusia gregaria in a steppe zone of the southeast of Western Siberia.

Кречётка *Chettusia gregaria* — эндемик степной зоны Евразии, гнездящийся на территории лишь двух стран — России и Казахстана. Основная часть популяции вида сосредоточена в Республике Казахстан. В последние 15–20 лет численность кречётки резко сократилась, и Международным союзом охраны природы ей была присвоена категория «Critically Endangered» (вид, находящийся под угрозой исчезновения). В связи с важностью сохранения этого вида птиц в 2008–2009 гг. экологический центр «Стриж» при финансовой поддержке Royal Society for the Protection of Birds и Van Tienhoven Foundation for international nature protection провёл исследования численности и размещения кречётки в Алтайском крае, Новосибирской и Омской областях, где этот кулик был широко распространён в прошлом (рис. 1).

В данном регионе проходит северная и восточная граница ареала вида, который в прошлом был распространён до Барнаула и предгорий Алтая на востоке, до широты Омска и северных окрестностей озера Чаны на севере [1, 2]. В последние 20 лет сообщения о встречах кречётки крайне скудны и приходят в основном из района Кулундинского озера и Узкой степи [3, 4]. Кроме того, 2 пары кречётки гнездились в 1997 г. в районе озера Кусган Карасукского района Новосибирской области, где было найдено гнездо и выводок. Здесь же стаю из 15 птиц неоднократно видели в июне 1992 г. [5].

В 2008–2009 гг. силами экологического центра «Стриж» обследованы окрестности 87 поселков и скотоводческих ферм в Алтайском крае (рис. 2), Новосибирской и Омской областях. Осмотру подвергались все подходящие кречётке местообитания в радиусе 5 км вокруг населенных пунктов. Для него мы использовали 20- и 10-кратные бинокли и 20- и 25-кратные подзорные трубы.

Для гнездования кречётки подходят 85 % обследованных территорий: имеются большие площади низкотравных степей, сильно выбитых скотом, поблизости рас-

Зоология 91

положены водоемы, имеется значительное поголовье домашнего скота у местного населения.



Рис. 1. Пара кречёток в окрестностях с. Алексеевка Угловского района Алтайского края. Фото А.В. Баздырева

Кречётка встречена нами в окрестностях 5 населённых пунктов (см. рис. 2), четыре из которых находятся в Алтайском крае, а один – в Омской области. Гнездование этого вида на большей части исследованной территории носит, по-видимому, нерегулярный характер. В 2008 г., например, пара птиц гнездилась в окрестностях села Александровка Нововаршавского района Омской области; однако в 2009 г., несмотря на тщательные поиски, кречётка в этом месте обнаружена не была. Наиболее стабильным участком гнездования этого редкого кулика в пределах исследованного региона является Угловский район Алтайского края, откуда с 1990-х годов поступают регулярные данные о встречах кречётки (в том числе на гнездовании).



Рис. 2. Размещение кречётки в исследуемом регионе:

— места встреч, согласно литературным данным;
— пригодные участки для обитания вида;
— места встреч авторами работы

В 2008 г. встречены 13 особей кречётки (7 самцов и 6 самок), найдено 5 гнёзд в Алтайском крае и 1 — в Омской области [6, 7]. В 2009 г. обнаружено 15 особей (4 самки и 11 самцов) — все в Угловском районе Алтайского края. Общая гнездовая численность кречётки на рассматриваемой территории в 2008—2009 гг. не превышала, по-видимому, 10—15 пар.

Необходимо отметить многократное сокращение численности и площади ареала кречётки в исследованном регионе за последние 15–20 лет. Однако несмотря на низкую численность, данный регион имеет важное значение для сохранения этого редкого вида, так как является одним из немногих мест в России, где гнездится эта птица. Не менее важным является и то обстоятельство, что большая часть обследованных участков вполне подходит для гнездования кречётки. Поэтому можно ожидать новых находок этого вида на рассматриваемой территории, особенно в случае роста численности в Казахстане.

Выражаем благодарность районному охотоведу Угловского района Алтайского края А.А. Котлову за помощь в полевых работах и директору Карасукского биологического стационара Института систематики и экологии животных СО РАН В.А. Шило за возможность проживания на стационаре. Особую благодарность за информационную поддержку выражаем сотрудникам проекта «Кречётка» (Казахстан) Полу Дональду, Йоханессу Кампу и Максиму Кошкину, а также исполнительному директору Союза охраны птиц России Е.В. Зубакиной.

- 1. Гладков Н.А. Отряд кулики // Птицы Советского Союза. Т. 3. М., 1951. С. 3–371.
- 2. *Юрлов К.Т.* Летняя авиафауна Кулунды // Биологическая и эпизоотологическая характеристика очагов омской гемморагической лихорадки Западной Сибири. Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1974. С. 22–37.
- 3. *Котлов А.А., Гармс О.Я.* Список птиц Угловского района Алтайского края // Материалы к распространению птиц на Урале, в Приуралье и Западной Сибири. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2007.
 - 4. Красная книга Алтайского края (Животные). Барнаул: Изд-во АлтГУ, 1998. 238 с.
- 5. *Красная* книга Новосибирской области: млекопитающие, птицы, земноводные, рыбы, черви, насекомые / Отв. ред. М.Г. Сергеев. Новосибирск: Госкомэкология НСО, 2000. 316 с.
- 6. *Мурзаханов Е.Б., Баздырев А.В., Смелянский И.О.* Найдены места гнездования кречётки в Омской области и Алтайском крае // Мир птиц: Информационный бюллетень Союза охраны птиц России. 2008. № 36. С. 29.
- 7. Мурзаханов Е.Б., Баздырев А.В., Смелянский И.О. Результаты поиска кречётки в Западной Сибири // Степной бюллетень. 2009. № 26. С. 50–51.

Серия биологическая

ОРНИТОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ КУЛУНДИНСКОГО ОЗЕРА

А.В. Баздырев

Приводятся современные данные об орнитологической ценности Кулундинского озера — результаты учёта численности водоплавающих и околоводных птиц, а также информация о встречах редких видов птиц в июне — августе 2009 г.

ORNITHOLOGICAL VALUE OF KULUNDINSKY LAKE

A.V. Bazdyrev

In article are result modern data about ornithological value of Kulundinsky lake – results of the account of number waterbird, and also the information on meetings of rare species of birds in June-August, 2009.

Кулундинское озеро, площадью около 700 км², имеет международное значение для сохранения биологического разнообразия. Оно внесено в «теневой список» Рамсарских водно-болотных угодий международного значения, признано ключевой орнитологической территорией международного значения (IBA). Вокруг озера сохранились значительные по площади участки целинных или восстановившихся степей. Кулундинское озеро с прилегающими степными участками представляет собой экосистему с большим разнообразием местообитаний, которые населяет на гнездовании, кормёжке, пролёте более 150 видов птиц [1, 2]. Акваторию озера и прилегающие степные участки охраняют два заказника – Благовещенский и Суетский.

В последние 10–15 лет детальной оценки значения озера и прилегающих территорий для сохранения биоразнообразия не проводилось. Не выявлен был также уровень современных угроз для водоема и прилегающих к нему ООПТ. В 2009 г. силами экологического центра «Стриж» при финансовой поддержке Global Greengrants Fund (США) и при участии сотрудников Алтайского университета (Н.В. Елесова), краевого Управления природных ресурсов и охраны окружающей среды (О.Я. Гармс) и Геблеровского экологического общества (А.В. Грибков) был реализован проект, содействующий сохранению Кулундинского озера. В рамках проекта были проведены исследования значения озера и окружающих территорий для сохранения биологического разнообразия, исследования современных угроз (осмотр незаконно возведённых дамб, опросы местного населения о браконьерстве, степных пожарах и т.п.) Также был создан видеофильм о Кулундинском озере для школьников Благовещенского района.

Для выяснения значимости изучаемых участков как мест обитания птиц были проведены специальные орнитологические исследования. Исследования проходили с 28 июня по 2 июля и с 15 по 20 августа 2009 г. Обследовано около 70 % побережья озера и не менее 80 % степных участков.

В результате был составлен фаунистический список птиц, в который вошли 103 вида из 13 отрядов, встреченных нами в период наблюдений.

Для ряда видов произведён учёт абсолютного числа особей. Абсолютная численность была экстраполирована на длину береговой линии. В июне обследовано 53,5 км береговой линии из 101, в августе – 71 км. В результате получены данные о приблизительной численности некоторых видов в июне и августе 2009 г. (таблица).

Численность некоторых водоплавающих и околоводных птиц
на Кулундинском озере в июне и августе 2009 г.

Виды	Учтено особей		Особей/км б	ереговой линии	Особей на всю береговую линию	
	Июнь	Август	Июнь	Август	Июнь	Август
Серый гусь	-	3 166	-	44,59	-	4 504
Пеганка	219	1 650	4,09	23,24	413	2 347
Огарь	101	2 501	1,89	35,23	191	3 558
Утки sp.	566	16 448	10,58 231,66		1069	23 398
Кулики sp.	9 652	37 732	180,41 531,44		18 221	53 675
Шилоклювка	2 900	2 000	54,21	28,17	5 475	2 845
Чайки sp.	23 008	78 040	430,06	1 099,15	43 436	111 015
Журавли (серый, красавка)	78	298	1,46 4,20		147	424
Итого	36 524	141 835	682,69	1 997,68	68 952	201 765

В июне на озере и в ближайших окрестностях держалось не менее 69 000 птиц водно-болотной экологической группы. Основную часть из них -63% – составляли различные виды чаек (барабинская, озёрная, сизая, морской голубок, малая, черноголовый хохотун). Другой многочисленной группой были кулики (травник, песочники, чибис, кроншнепы, большой веретенник, бекас, ржанки, малый зуёк и др.) – 34% от количества встреченных особей. Гусеобразные в этот период были сравнительно немногочисленны и составили всего 2% от числа встреченных птиц.

В августе численность водоплавающих и околоводных птиц на озере была значительно выше — не менее 200 000 особей. Более половины из них составляли чайки (55 %), значительную долю формировали кулики (28 %). Заметно возросла численность гусеобразных (16,8 %) — отмечались различные виды речных и нырковых уток (свиязь, кряква, шилохвость, чирок-свистунок, широконоска, чироктрескунок, серая, красноголовый нырок, хохлатая чернеть, гоголь, савка) — 11,6 %, серый гусь — 2,2 %, огарь — 1,8 % и пеганка — 1,2 %. Численность гусеобразных птиц, вероятно, существенно выше, так как сроки наблюдений не захватили период миграции основной части птиц, которая проходит осенью.

Нами отмечены 10 глобально редких видов птиц (савка, кречётка, степная тиркушка, тонкоклювый кроншнеп, степной лунь и др.) согласно Красному списку МСОП [3], 14 видов из основного списка Красной книги России и 6 видов, внесённых в Приложение III «Перечень животных, нуждающихся в особом внимании к их состоянию в природной среде» [4]. Из Красной книги Алтайского края [5] нами отмечены 22 вида птиц.

В настоящее время Кулундинское озеро находится в угрожаемом состоянии — заметно сократилась его площадь, уменьшилось численность обитающих здесь зверей и птиц. Ещё в 1970–1980-е годы численность только водоплавающих птиц достигала здесь 300 000 особей (!), на линьку скапливалось более 100 000 птиц [6]. За прошедшие 20–30 лет численность птиц многократно сократилась. Например, в

Зоология 95

1980-е годы на озере держалось до 50 000 пеганок [1], а нами наблюдалось чуть более 2300 этих птиц (см. таблицу).

Основными угрозами для Кулундинского озера и его окрестностей являются строительство дамб, снижающее поступление воды в озеро, браконьерство и то, что режим заказников не гарантирует реальной охраны ценных участков и обитающих здесь животных и растений. К менее важным причинам можно отнести перевыпас скота на некоторых участках, забор подземных вод, сенокошение, дачное строительство, рыболовный промысел, весеннюю охоту.

- 1. *Ключевые* орнитологические территории России. Т. 2. Ключевые орнитологические территории международного значения в Западной Сибири / Под общ. ред. С.А. Букреева. М.: Союз охраны птиц России, 2006. 702 с.
- 2. Петров В.Ю., Торопов К.В. Птицы Кулундинского озера и его окрестностей // Материалы к распространению птиц на Урале, в Приуралье и Западной Сибири. Екатеринбург, 2000. С. 157–163.
 - 3. IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.2. <www.iucnredlist.org>.
 - 4. Красная книга России (Животные). М.: ООО «Издательство Астрель», 2001.
 - 5. Красная книга Алтайского края. Животные. Барнаул, 2006.
- 6. Скокова Н.Н., Виноградов В.Г. Охрана местообитаний водно-болотных птиц. М.: Агропромиздат, 1986. 240 с.

ЗАСЕЛЕНИЕ ГОНАД ХИМЕРНЫХ МЫШЕЙ ПОТОМКАМИ ЭС КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПЛОИДНОСТИ¹

Д.О. Белокрылова, А.Н. Голубица, А.И. Железова, Н.Н. Ходенёва, Е.А. Кизилова

На модели инъекционных химер исследована колонизация гонад потомками GFP-маркированных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) разного происхождения и плоидности. Сделана оценка репродуктивного потенциала химер обоего пола; описаны особенности строения гонад у фетальных, ювенильных и половозрелых химер.

GONADS IN CHIMAERIC MICE PRODUCED WITH ES-CELLS OF DIFFERENT GENESIS AND PLOIDY

D.O. Belokrylova, A.N. Golubitsa, A.I. Zhelezova, N.N. Khodeneva, E.A. Kizilova

Contribution of embryonic stem cells (ESc) in gonads was studied in chimeric mice derived from ESc of different genesis and ploidy. Reproductive potency of chimeric males and females was estimated. Morphology and histology of gonads in fetal, juvenile and adult chimeric mice were described and analyzed.

В настоящее время для изучения процессов репрограммирования соматического генома широко используются гибридные ЭСК [1, 2] – плюрипотентные клетки разной плоидности, полученные в результате соматической гибридизации ЭСК и какого-либо дифференцированного клеточного типа, например спленоцитов [4] или фибробластов [5]. Достаточным доказательством плюрипотентности ЭСК является прохождение их потомков в генеративную часть гонад, и рождение животных, генотип которых соответствует генотипу введенной линии ЭСК [6].

Целью работы было изучение особенностей заселения химерных гонад потомками ЭСК разного происхождения и плоидности. Для этого было необходимо оценить репродуктивный потенциал химер в реципрокных скрещиваниях (1) и исследовать структуру гонад у фетальных, ювенильных и взрослых химерных животных (2).

В работе были использованы следующие линии ЭСК: Tau-GFP, 2n_(синоним TgTP6.3 или E14Tg2aSc4TP6.3, по [3]), и гибридные клоны 2taf2, 1tef4, tef-5M, D3T7 и D3T14, имеющие околотетраплоидный кариотип [4,5]. Все использованные клетки имели типичный ЭС-фенотип и экспрессировали маркеры плюрипотентности Oct4 и Nanog. Химеры получены методом инъекции ЭСК в бластоцисты мышей инбредной линии C57Black/J6 [6]. Гистологический и цитологический анализ гонад выполнен методами ругинной, флуоресцентной и конфокальной микроскопии на базе ЦКП СО РАН [7]. Потомки введённых ЭСК определялись визуально по

¹ Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 096-04-01369).

Зоология 97

экспрессии белка GFP, маркёрный ген которого присутствует в геноме всех исследованных линий. Маркер экспрессируется конститутивно [3].

Анализирующие скрещивания химер обоего пола были поставлены в реципрокном направлении на родительскую линию C57BL/J6, послужившую донором бластоцист, например

♀[*Itef4*, (ЭСК, 4n) → C57BL] х ∂C57BL; ♀C57BL х ∂[*2taf2*, (ЭСК, 4n) → C57BL] и т.д. Контролем служили аналогичные скрещивания с химерами, полученными из исходной линии Tau-GFP, например ♀[Tau-GFP, (ЭСК, 2n) → C57BL] х ∂C57BL. Скрещивания проводились непрерывно в возрасте с 4–5 до 40–45 нед.

Репродуктивный потенциал химер (таблица) был оценен по среднему количеству пометов от одного животного (1), среднему количеству потомков от одного животного (2) и по доле (%%) постнатальных потерь к 21-му дню жизни (3). Сравнение линий Itef4, 2taf2, tef-5M, D3T7, D3T14 с контрольной линией Tau-GFP показало в целом отсутствие достоверных различий приведённых критериев фертильности, кроме критерия 1 для линий 2taf2 и D3T14 и только у самок-химер.

Пол	Самцы			Самки		
Линии	1	2	3	1	2	3
Tau-GFP	10,7	81,1	7,4	4,3	37,7	10,6
1tef4	12	95	13,5	3,1	27	9
2taf2	9,5	65,7	17,1	1,5*	10,5	23,8
tef-5M	9,5	67	14,9	4,5	28	3,6
D3T7	14	124	16,1	6	44,7	11,9
D3T14	9,4	84,6	11,5	6,1*	51,7	6,1

Репродуктивные показатели химерных животных

Примечания. 1 – среднее кол-во помётов от одного животного; 2 – среднее кол-во всех потомков от одного животного; 3 – доля (%) постнатальных потерь к 21-му дню жизни; * – различия с Tau-GFP достоверны для р<0,1.

Ни в одном из вариантов скрещиваний, включая контроль, как минимум к 21-му дню после рождения не получены потомки, имеющие фенотип агути, что свидетельствовало бы о рождении детёнышей гибридного генотипа 129 Ola / C57Black/J6, являющихся потомками введённых линий ЭСК, происходящих из мышей линии 129 Ola. По совокупности данных, представленных выше, мы задались вопросом, возможно ли в принципе заселение гонад химер потомками введенных гибридных клеток. Для этого был проведен подробный гистологический и морфологический анализ гонад взрослых (40–45 нед), ювенильных (2–3 нед) и фетальных (Е17) животных.

У взрослых особей потомки введённой линии Itef4 обнаружены только в соматической части взрослых гонад (рис.1, a, b). У ювенильных химер герминальная часть семенников заселяется чаще и с большим вкладом, чем аналогичный компартмент яичников (рис.1, c, d). У плодов чаще заселяется соматическая, и реже – герминальная часть гонад вне зависимости от пола (рис.1, e, f), однако в последнем случае часто наблюдается аномальное развитие гонад, вплоть до образования ovotestis (рис.1, f, h). Колонизация гонад и у плодов, и у ювенильных, и у половозрелых животных наблюдалась только в группе cfanancupoganhus [8] химер. Следует отметить, что сбалансированные химеры с обширным вкладом гибридных ЭСК во все органы и ткани, включая гонады, имели многочисленные аномалии развития и слабую жизнеспособность. Несмотря на присутствие потомков маркированной

линии в генеративной части гонад, пока не получены доказательства вступления потомков 4n (или около 4n) ЭСК в мейоз ни в семенниках, ни в яичниках.

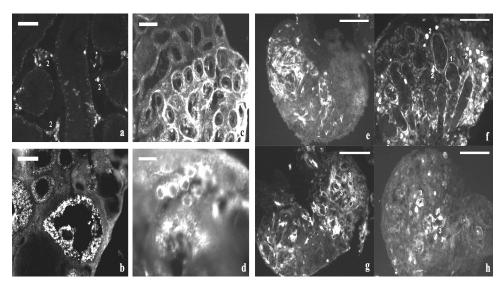


Рис. 1. Заселение гонад у химер: половозрелые животные (a,b), ювенильные животные (c,d) и плоды (e-h). a, c, f – нормальные семенники; b, d, e – нормальные яичники; g, h – аномальное развитие гонад, ovotestis; I – CT стенки семенных канальцев; 2 – клетки Лейдига; 3 – аномальные семенные канальцы; масшаб: a, b, c – 300 mcm; e, g – 250 mcm; d, f, h – 100 mcm

В исследованиях, проведенных параллельно другими группами, было получено всего 2 взрослые химеры, гонады которых не были проанализированы [9–11]. Подробный гистологический и морфологический анализ был проведен впервые нами.

По совокупности полученных данных можно сделать следующие выводы:

- Общая фертильность химер, полученных из гибридных тетраплоидных или околотетраплоидных ЭСК, сопоставима с таковой для 2n/2n химер. Однако среди потомков, полученных от реципрокного скрещивания, к возрасту 3–4 нед после рождения не было обнаружено гибридных животных.
- Потомки введенных гибридных ЭСК в принципе способны заселить соматическую (у самок и самцов) и герминальную части гонад (у самцов). Отсутствие половозрелых химер, имеющих потомков гибридных ЭСК в генеративной части гонад, может быть объяснено низкой жизнеспособностью именно таких животных.

Таким образом, потомки введенных ЭСК различного происхождения и плоидности дают вклад в гонады у сбалансированных химер, что свидетельствует о том, что гибридные ЭСК могут сохранять высокую плюрипотентность *in vivo*.

- 1. Pratt T., Sharp L., Nichols J. et al. Embryonic stem cells and transgenic mice ubiquitously expressing a tau-tagged green fluorescent protein // Dev. Biol. 2000. Vol. 228. P. 19–28.
- 2. *Matveeva N.M., Pristyazhnyuk I.E., Temirova S.A. et al.* Unequal segregation of parental chromosomes in embryonic stem cell hybrids // Mol. Reprod. Dev. 2005. Vol. 71. P. 305–314.
- 3. Kruglova A.A., Kizilova E.A., Zhelezova A.I. et al. Embryonic stem cell/fibroblast hybrid cells with near-tetraploid karyotype provide high yield of chimeras // Cell Tissue Res. 2008. Vol. 334. P. 371–380.
- 4. *Manipulating* the Mouse Embryo. 2nd Edition / Hogan B., Beddington R., Constantini F., Lacy E.; New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994. 497 p.

300логия 99

- 5. Robertson E., Bradley A., Kuehn M., Evans M. Germ-line transmission of genes introduced into cultured pluripotential cells by retroviral vector // Nature. 1986. Vol. 323, № 6087. P. 445–448.
- 6. Manipulating the Mouse Embryo. A Laboratory Manual / Hogan B., Beddington R., Constantiani F., Lacy E. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1994. 497 p.
- 7. $\ \ \, U\!K\!\Pi \ \ \,$ микроскопического анализа биологических объектов CO PAH http://www.bionet.nsc.ru/microscopy/index.html
 - 8. МакЛарен Э. Химеры млекопитающих / Пер. с англ. М.: Мир.: 1979. 176 с.
- 9. Pells S., Di Domenico A.I., Gallagher E.J., McWhir J. Multipotentiality of neuronal cells after spontaneous fusion with embryonic stem cells and nuclear reprogramming in vitro // Cloning Stem Cells. 2002. Vol. 4. P. 331–338.
- 10. Tada M., Takahama Y., Abe K. et al. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells // Curr Biol. 2001. Vol. 11. P. 1553–1558.
- 11. Ying Q.L., Nichols J., Evans E.P., Smith A.G. Changing potency by spontaneous fusion // Nature. 2002. Vol. 416. P. 545–548.

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ СЕКСУАЛЬНОГО ОПЫТА НА ПОЛОВОЕ МОТИВАЦИОННОЕ И КОПУЛЯТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ВИСТАР И ОХҮЅ¹

И.И. Белоусова, Т.Г. Амстиславская

Наличие сексуального опыта у самцов не влияет на выраженность у них половой мотивации, однако кардинально меняет характер завершающего этапа полового поведения, существенно усиливая его экспрессию.

THE INFLUENCE OF SEXUAL EXPERIENCE ON SEXUAL MOTIVATION AND COPULATORY BEHAVIOR IN WISTAR AND OXYS RATS

I.I. Belousova, T.G.Amstislavskaya

Sexual experience did not influence the sexual motivation, however it significantly changed the character of consummatory pattern of sexual behavior increasing its expression.

При исследовании механизмов регуляции мужского полового поведения весьма существенным фактором, способным оказать непосредственное влияние на проявление поведенческого паттерна, является наличие или отсутствие у самца сексуального опыта. В литературе имеются сведения о различии нейрофизиологических, нейрогормональных и нейрохимических механизмов регуляции мужского полового поведения у сексуально наивных и опытных самцов [1]. Однако практически не исследованным остается вопрос о влиянии сексуального опыта на половое мотивационное поведение самцов.

Целью работы было исследование влияния сексуального опыта на начальный — мотивационный и завершающий этап полового поведения 12-месячных самцов крыс линий Вистар и ОХҮЅ. В этом возрасте самцы крыс ОХҮЅ, которых отличает раннее развитие заболеваний, свойственных стареющим людям и животным (катаракта, дистрофия сетчатки, остеопороз, гипертония), имеют сниженную половую мотивацию по сравнению с 12-месячными самцами Вистар.

Материалы и методы

Работа выполнена на сексуально наивных и опытных самцах Вистар и ОХҮЅ. Сексуальный опыт приобретался самцами за месяц до тестирования. Исследовали самцов с опытом 2–3 эффективных покрытий.

Исследование проводилось в вечернее время с 19:00 до 21:00 в условиях, исключающих непосредственное взаимодействие в клетке, разделенной на два отсека прозрачной перфорированной перегородкой, а также при непосредственном контакте с сексуально (рецептивная самка) и социально (овариоэктомированная самка

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 09-04-00482).

Зоология 101

и кастрированный самец) значимыми партнерами, что позволяло отделить сексуальный интерес от социального.

При исследовании полового мотивационного поведения в течение 10 мин оценивали спонтанную активность самца около перегородки. Затем в соседний отсек помещали одного из партнеров, принадлежащих линии Вистар и достигших возраста 4 мес: кастрированного самца, овариэктомированную самку или рецептивную самку. В течение 10 мин регистрировали время активного исследования тестируемым самцом перегородки и количество подходов к ней. При исследовании копуляторного поведения в течение первых 10 мин регистрировали суммарное время контакта с партнером и количество подходов к нему, а также регистрировали показатели полового поведения: латентный период первой садки, интромиссии и их количество.

Результаты

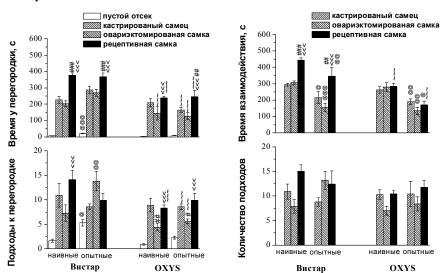


Рис. 1. Параметры полового поведения самцов: ###p<0,001 по сравнению с кастрированным самцом; ^^^p<0,001 по сравнению с овариэктомированной самкой; @@@ p<0,001 по сравнению с наивными самцами; \sim p<0,001 по сравнению с самцами Вистар

Перегородка позволяет животным видеть друг друга и воспринимать обонятельные стимулы. Как было показано нами ранее, в таких условиях при наличии рецептивной самки самцы крыс проявляют характерное поведение у перегородки, у них происходит повышение уровня тестостерона в крови, которое также свидетельствует о возникшем половом возбуждении [2, 3].

Помещение к испытуемому самцу, как имеющему сексуальный опыт, так и без него, за перегородку любого партнера вызывало достоверное увеличение времени пребывания испытуемого самца у перегородки и количества подходов к ней. Однако если за перегородкой оказывался партнер, представляющий в большей степени социальный интерес (овариэктомированная самка или кастрированный самец), временной показатель был существенно меньше, чем в случае присутствия за перегородкой рецептивной самки как у наивных, так и сексуально опытных самцов. Самцы ОХҮЅ демонстрировали сниженное по сравнению с Вистар время взаимодействия с рецептивной самкой.

Результаты исследования поведения животных при их непосредственном контакте с партнером продемонстрировали хорошее соответствие с данными, полу-

ченными с применением клетки с перегородкой. Время, проведенное наивным и опытным самцом в непосредственной близости с самкой, существенно превышало время обследования кастрированного самца или овариэктомированной самки. У самцов ОХҮЅ выявлено снижение времени взаимодействия с рецептивной самкой по сравнению с самцами Вистар. Оба проведенных эксперимента свидетельствуют о том, что экспрессия поведенческого ответа самца, независимо от его сексуального опыта, определяется спецификой партнера.

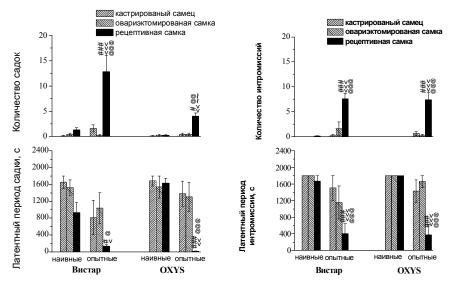


Рис. 2. Параметры копуляторного поведения самцов крыс: ###p<0,001 по сравнению с кастрированным самцом; ^^^p<0,001 по сравнению с овариэктомированной самкой; @@@ p<0,001 по сравнению с наивными самцами; ~~~ p<0,001 по сравнению с самцами Вистар

Однако половой опыт самца существенно менял показатели, касающиеся завершающего этапа полового поведения самца — копуляторного поведения. Все сексуально опытные самцы при взаимодействии с рецептивной самкой делали садки и интромиссии, тогда как в группе наивных самцов за время наблюдения были отмечены лишь их единичные случаи. У самцов, имеющих половой опыт, незначительное количество садок совершалось и в отношении других партнеров, в то время как у наивных самцов их практически не было. Половой опыт снижал и латентные периоды садок и интромиссий, однако достоверное снижение этих показателей было отмечено только в группе самцов, контактирующих с рецептивной самкой. Самцы ОХҮЅ демонстрировали меньшее количество садок в присутствии рецептивной самки по сравнению с самцами Вистар.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволили оценить вклад сексуального опыта самца как в половом мотивационном поведении, так и во время копуляции. Наличие сексуального опыта не повлияло на выраженность половой мотивации самцов крыс Вистар и ОХҮЅ, однако сексуальный опыт кардинально менял характер завершающего этапа полового поведения самцов, существенно усиливая его экспрессию.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что сексуальный опыт не влияет на начальный этап полового поведения, но является чрезвычайно важным для реализации его завершающего этапа. Важным является и тот факт, что, усили-

3оология 103

вая консуматорный аспект полового поведения самцов OXYS, сексуальный опыт не способен восстановить у них сниженную половую мотивацию.

- 1. Hernández-González M., Guevara M.A., Agmo A. Motivational influences on the degree and direction of sexual attraction // Ann. N Y Acad. Sci. 2008. Vol. 1129. P. 61–87.
- 2. *Амстиславская Т.Г., Осадчук А.В., Науменко Е.В.* Пути активации и изменения эндокринной функции семенников, вызванные присутствием самки // Пробл. эндокринол. 1989. № 35. С. 63–66.
- 3. *Amstislavskaya T.G., Popova N.K.* Female-induced sexual arousal in male mice and rats: behavioral and testosterone response // Horm. Behav. 2004. Vol. 46. P. 544–550.

Серия биологическая

ПРОСТРАНСТВЕННО-ТИПОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ОРГАНИЗАЦИЯ НАСЕЛЕНИЯ ПАНЦИРНЫХ КЛЕЩЕЙ (ORIBATIDA: BRACHYPYLINA, PORONOTA) СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО АЛТАЯ

Н.В. Владимирова

По результатам исследований выявлены основные особенности пространственной неоднородности населения панцирных клещей на территории Северо-Восточного Алтая. Оценена зависимость изменения облика их сообществ от факторов среды.

SPATIAL-TYPOLOGICAL STRUCTURE AND ORGANIZATION OF THE ORIBATID MITES POPULATION (ORIBATIDA: BRACHYPYLINA, PORONOTA) IN THE NORTHEASTERN ALTAI

N.V. Vladimirova

Major features of the spatial heterogeneity of the oribatid mites population at the territory of Northeastern Altai are revealed from data obtained. The effect of the environmental factors on population appearance is evaluated.

Основой настоящего исследования послужили сборы панцирных клещей, выполненные в 2002, 2006 и 2007 гг. (июнь, август). Учеты проведены в высотнопоясном ряду ландшафтов на разрезе от лесостепных предгорий, через низкогорные и среднегорные леса и редколесья до высокогорных тундр на абсолютных высотах от 200 до 2500 м над ур. м. Обследовано 31 местообитание в ранге ландшафтного урочища. По общепринятой методике [1, 2] исследовано 1490 почвенных проб. Обнаружено 93 вида высших поровых панцирных клещей из 43 родов и 17 семейств.

На Северо-Восточном Алтае перепады плотности населения орибатид по поясам невелики. Наибольшие значения свойственны лесному предгорнонизкогорному подпоясу — 9,5 тыс. экз./м², несколько меньше — лесному среднегорному — 8,3 тыс. экз./м². Вверх и вниз от лесного пояса значения плавно уменьшаются. В предгорном лесостепном поясе суммарное обилие составляет 6,7 тыс. экз./м². При подъеме в горы от лесного пояса к подгольцовому происходит уменьшение плотности населения орибатид — более чем в 1,5 раза. В гольцовом поясе она остается такой же. Видовое богатство высших поровых орибатид по поясам изменяется сходным образом. В лесостепном предгорном поясе отмечен 41 вид, из которых 11 встречено только в предгорьях: Bipassalozetes (B.) rugosus, Anachipteria howardi, Tectoribates ornatus, Galumna sp., Heterozetes palustris, Zetomimus sp., Punctoribates sellnicki, Punctoribates sp., Peloribates pilosus, Protoribates capucinus и P. lophothrichus. В предгорно-низкогорном лесном подпоясе встречено максимальное число видов — 72 (77 % от общего списка). Только здесь отмечено 17 видов: Scutovertex sp., Eupelops torulosus, Peloptulus cf. denticuspidatus, Lepidozetes sp.,

Зоология 105

Oribatella (F.) sp., Galumna zachvatkini, Diapterobates dubinini, Trichoribates trimaculatus, Globozetes longipilus, Chamobates (C.) borealis, C. (C.) cuspidatus, C. (C.) cf. pusillus, Chamobates (X.) sp., Liebstadia cf. pannonica, S. laevigatus, Hemileius sp. и Phauloppia sp. В среднегорном лесном подпоясе найдено 48 видов, а в подгольцовом — 23. Только в среднегорьях встречено два вида: Diapterobates sp. и Oromurcia bicuspidate. В высокогорном гольцовом поясе отмечено минимальное число видов (20). Только здесь встречены типично высокогорные виды: Ghilarovizetes obtusus и Liebstadia pannonica.

Пространственно-типологическая структура населения орибатид Северо-Восточного Алтая отражает общий характер его территориальной неоднородности, определяемый сходством видового состава и обилия особей, выявленный по разбиению, выполненному с помощью факторной классификации [3, 4]. Основные направления изменений сообществ в зависимости от структурообразующих факторов среды иллюстрируются с помощью структурного графа, построенного по матрице средних коэффициентов сходства сообществ, относящихся к таксонам того или иного ранга, методом корреляционных плеяд [5]. Вертикальный ряд графа отображает основные тренды по градиенту теплообеспеченности и увлажнения, определяемые абсолютными высотами местности. Он включает варианты населения лесных местообитаний лесостепного и лесного поясов, а также среднегорные редколесья и высокогорные тундры. Оптимальность гидротермического режима убывает вверх и вниз от уровня низкогорья и сопровождается сменой растительности при уменьшении теплообеспеченности с увеличением абсолютных высот местности и дефицитом влажности с их уменьшением. Плотность населения, видовое и фоновое богатство орибатид убывает вниз и вверх от низкогорно-среднегорных местообитаний. Отклонения от основного ряда в виде обедненных вариантов сообществ обусловлены влиянием заболоченности, состава лесообразующих пород и антропогенных факторов – вырубки лесов, распашки, застроенности и перевыпаса. При этом снижаются плотность населения, видовое и фоновое богатство. Исключение составляют отклонения, образованные сообществами среднегорных зарастающих вырубок, пихтово-кедровой и елово-пихтово-кедровой тайги, а также низкогорных сосново-пихтово-березовых лесов. Связи этих вариантов с основным рядом графа достаточно велики, а переход сопровождается незначительным увеличением суммарного обилия, при уменьшении видового и фонового богатства.

Для объяснения неоднородности населения орибатид проведена оценка связи пространственных изменений их сообществ и факторов среды с помощью линейной качественной аппроксимации - качественного аналога регрессионной модели [6]. Наибольшее влияние на неоднородность населения оказывает теплообеспеченность (48 % учтенной дисперсии матрицы коэффициентов сходства сообществ), которая зависит от изменения абсолютных высот местности и затенения. Влияние состава лесообразующих пород почти столь же высоко (39 %). Близкое влияние оказывает продуктивность биоценозов (38 %). Поясностью растительности и облесенностью объясняется соответственно 37 и 34 % дисперсии населения. Незначительно отличается по силе связи с изменчивостью населения орибатид неоднородность почвенного покрова (33 %). Влияние остальных факторов существенно меньше. Поскольку многие из факторов и режимов сильно скоррелированы, интегральная оценка силы и общности связи всего набора структурообразующих факторов и неоднородности населения меньше суммы значений, полученных при индивидуальной оценке каждого отдельного фактора. Всеми выявленными структурообразующими факторами вместе учитывается 77 % дисперсии матрицы коэффициентов сходства. Структурными и классификационными режимами вместе можно объяснить 78 % дисперсии населения, а всеми факторами и режимами - 88 % (множественный коэффициент корреляции – 0,94).

Автор выражает благодарность Е.В. Слепцовой и И.И. Марченко за помощь в сборе материала, Н.А. Поздняковой за техническую помощь при разборе материалов 2007 г., Л.В. Писаревской и И.Н. Богомоловой за математическую обработку данных и Ю.С. Равкину за помощь в интерпретации результатов. Определение орибатид выполнено под руководством Л.Г. Гришиной.

- 1. Гиляров М.С. Методы почвенно-зоологических исследований. М., 1975. 280 с.
- 2. Панцирные клещи: морфология, развитие, филогения, экология, методы исследования, характеристика модельного вида Nothrus palustris C.L. Koch, 1839. М., 1995. 224 с.
- 3. *Равкин Ю.С.* Пространственная организация населения птиц лесной зоны (Западная и Средняя Сибирь). Новосибирск, 1984. 246 с.
 - 4. Равкин Ю.С., Ливанов С.Г. Факторная зоогеография. Новосибирск, 2008. 205 с.
- 5. *Терентыев В.П.* Метод корреляционных плеяд // Вестник Ленингр. гос. ун-та. Л., 1959. № 9. С. 137–141.
- 6. *Куперштох В.Л., Трофимов В.А., Равкин Ю.С.* Пространственная организация населения птиц // Птицы лесной зоны Приобья. Новосибирск, 1978. С. 253–269.

Серия биологическая

ВОЗРАСТНАЯ И МЕЖГОДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ РЕПРОДУКТИВНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛОКАЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ОСТРОМОРДОЙ ЛЯГУШКИ (RANA ARVALIS NILSSON 1842) ПРИГОРОДА ТОМСКА

Р.В. Волонцевич, В.Н. Куранова, С.М. Ляпков

Исследованы возрастной состав и репродуктивные характеристики остромордой лягушки Rana arvalis окрестностей Томска. Плодовитость и относительная масса кладки с возрастом увеличивается слабо, диаметр яйца— сильнее, что отражает адаптации этой локальной популяции к сравнительно короткому сезону активности.

AGE AND AMONG-YEAR VARIATION IN REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS OF LOCAL RANA ARVALIS POPULATION OF TOMSK

R.V. Volontsevich, V.N. Kuranova, S.M. Lyapkov

Age composition and reproductive characteristics in Tomsk population of Rana arvalis are studied. Fecundity and relative clutch mass increased weakly with age increase, thereas egg diameter – more strongly, that correspond with adaptation of local population to relative short length of activity period.

Изучение географически удаленных популяций широкоареальных видов бурых лягушек представляет большой интерес, поскольку позволяет понять онтогенетические и эволюционные механизмы формирования адаптаций к локальным условиям [1]. В рамках такой общей задачи репродуктивным характеристикам уделяют особое внимание, поскольку обычно они оказывают сильное влияние на адаптацию к определенным экологическим условиям [2].

Сбор материала осуществлен в весенне-летний период 2009 и 2010 гг. Для выявления видового состава и учета численности земноводных применялся метод отлова ловчими траншеями. В конце апреля – начале мая в нерестовых водоемах, а также вблизи них отлавливали половозрелых самок остромордой лягушки, как одиночных, так и в амплексусных парах. Измеряли длину тела (L, мм), диаметр яйца (D, мм) при помощи линейки окуляр-микрометра с точностью до 0,05 мм [3]. Плодовитость (F) определена путем подсчета яиц и их массы на фрагменте кладки с последующим пересчетом через массу кладки [4]. Относительная масса кладки (RC) вычислена как отношение массы самки к массе кладки. Возраст самок определен методом скелетохронологии, которая основана на сезонных изменениях темпов роста животных. Срезы кости изготовлены из середины голени. В 2009 г. исследована 71 самка, в 2010 – 73. Обработку материала проводили с помощью пакета программ STATISTICA 6.0. Использованы коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R_s), коэффициент корреляции Пирсона (R).

Длина тела самок в 2009 г. была несколько выше, чем в 2010 г. (различия недостоверны – табл. 1). Различия между двумя годами по возрасту и по размеру яиц соответствовали таковым по длине тела и были недостоверны, также не выявлены различия по

плодовитости и относительной массе кладки. Вследствие межгодовых различий по длине тела для каждой из репродуктивных характеристик проведен ковариационный анализ с длиной тела в качестве ковариансы. Скорректированные по длине тела средние значения каждой из характеристик достоверно не различались между годами (табл. 1). Это позволило нам объединить данные двух лет для дальнейшего анализа.

Самки в возрасте от трех до шести лет не отличались плодовитостью. Увеличение последней отмечено только у более старых особей — в возрасте от семи до восьми лет (табл. 2). У самок, начиная с четырех лет, средние значения диаметра яйца увеличиваются с возрастом (см. табл. 2), и корреляция между размерами яиц и возрастом положительная и достоверная (табл. 3). Относительная масса кладки и плодовитость достигают максимума только у наиболее старых особей (см. табл. 2). Это подтверждается отсутствием значимых корреляций ($R_{\rm s}$) между относительной массой кладки и возрастом самки (см. табл. 3).

Длина тела, возраст и репродуктивные характеристики остромордой лягушки Rana arvalis (окрестности г. Томска, 2009–2010 гг.; усредненные данные)

]	Год	2009	2010	2009–2010
L, мм	X	52,87	51,71	52,184
	N	50	73	123
Возраст	X	3,7	3,6	3,6
	N	49	73	122
F	X	1159	1175	1168
	N	49	73	122
	X^*	1138	1195	
D, мм	X	1,74	1,72	1,73
	N	50	73	123
	X^*	1,74	1,74	
RC	X	0,281	0,298	0,291
	N	50	73	123
	X^*	0,280	0,299	

Примечание. L – длина тела, мм; F – плодовитость; D – диаметр яиц, мм; RC – относительная масса кладки; x – среднее значение; N – объем выборки; X^* – скорректированное по длине тела среднее значение.

Таблица 2

Таблица 1

Возрастная изменчивость репродуктивных характеристик в популяции остромордой лягушки Rana arvalis (окрестности Томска, 2009–2010 гг.; объединенные данные)

Возраст	F		D		RC	
	X	N	X	N	Х	N
3	1151	61	1,69	62	0,292	62
4	1179	47	1,77	47	0,299	47
5	1111	6	1,85	6	0,261	6
6	1106	4	1,83	4	0,252	4
7	1676	2	1,90	2	0,356	2
8	1565	1	1,90	1	0,179	1

Примечание. F – плодовитость; D – диаметр яиц, мм; RC – относительная масса кладки; x – среднее значение; N – объем выборки.

Таблииа 3

Зависимость R_s репродуктивных характеристик возраста и длины тела остромордой лягушки *Rana arvalis* (окрестности Томска)

		• •			` •		,			
		Кор	реляция с воз	зрастом	Корреляция с длиной тела					
Год	Признаки	N	$R_{\rm s}$	p	N	R_s	p			
2009–2010	F	121	0,094	0,307	122	0,482	0,000			
	D	122	0,453	0,000	123	0,423	0,000			
	RC	122	-0,069	0,451	123	0,138	0,127			
2009	F	48	0,161	0,275	49	0,518	0,000			
	D	49	0,381	0,007	50	0,485	0,000			
	RC	49	-0,056	0,704	50	0,256	0,073			
2010	F	73	0,058	0,628	73	0,474	0,000			
	D	73	0,509	0,000	73	0,357	0,002			
	RC	73	-0.075	0.526	73	0.130	0.272			

Примечание. F – плодовитость; D – диаметр яиц, мм; RC – относительная масса кладки; x – среднее значение; N – объем выборки; R_s – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; p – уровень значимости; признаки – названы признаки, с которыми вычислялась корреляция возраста и длины тела.

 Таблица 4

 Зависимость (R) репродуктивных характеристик от длины тела остромордой лягушки Rana arvalis (окрестности Томска)

Год	Признаки	N	R	p
2009–2010	F	122	0,4975	0,000
	D	123	0,4337	0,000
	RC	123	0,1004	0,269
2009	F	49	0,5554	0,000
	D	50	0,5434	0,000
	RC	50	0,1644	0,254
2010	F	73	0,4647	0,000
	D	73	0,3582	0,002
	RC	73	0,0781	0,511

 Π римечание. F — плодовитость; D — диаметр яиц, мм; RC — относительная масса кладки; х — среднее значение; N — объем выборки; R — коэффициент корреляции Пирсона (параметрический); р — уровень значимости; признаки — названы признаки, с которыми вычислялась корреляция возраста и длины тела.

По мере дальнейшего роста впервые размножавшихся самок наблюдалось увеличение как плодовитости, так и размеров яиц, результатом чего была положительная достоверная корреляция каждой из этих характеристик с длиной тела (табл. 4). В отличие от них, относительная масса кладки по мере роста практически не увеличивается, поэтому ее корреляция с длиной тела недостоверная (см. табл. 4).

В отличие от исследованной нами популяции Томска, у самок *R. arvalis* двух других хорошо изученных популяций из европейской части России наблюдалось увеличение плодовитости после достижения половозрелости, т.е. начиная с возраста двух (популяция Брянской области) или трех (популяция Московской области) лет [1]. Для самок томской популяции среднее значение плодовитости ниже, чем у

самок из популяций Брянской и Московской областей. Для самок популяции *R. arvalis* Томска среднее значение диаметра яйца максимально в сравнении с самками Брянской и Московской областей. Данный признак у самок *R. arvalis* Томска увеличивается с возрастом не так существенно, как в двух других популяциях. Относительная масса кладки у самок *R. arvalis* томской популяции практически не увеличивается с возрастом, а ее среднее значение минимально в сравнении с популяциями Брянской и Московской областей. Это межпопуляционное отличие, так же как и различие по плодовитости, объясняется минимальной длительностью сезона активности томской популяции по сравнению с двумя другими популяциями. Максимально крупные размеры яиц *R. arvalis* томской популяции, вероятно, связаны с необходимостью проходить эмбриональное и личиночное развитие в условиях с минимальной длительностью теплого сезона.

- 1. Ляпков С.М., Черданцев В.Г., Черданцева Е.М. Географическая изменчивость как результат различия в темпах эволюции признаков с широкой и узкой нормой реакции у остромордой лягушки (Rana arvalis) // Журн. общей биологии. 2008. Т. 69, № 1. С. 25–43.
- 2. Lyapkov S.M. A long-term study on population ecology of the moor frog (Rana arvalis) in Moscow province, Russia // Zeitschrift für Feldherpetologie, Supplement. 2008. Bd. 13. S. 211–230.
- Сурова Г.С. Взаимодействие личинок бурых лягушек в естественных условиях // Экология. 1988.
 №4. С. 49–54
- 4. *Черданцев В.Г., Ляпков С.М., Черданцева Е.М.* Механизмы формирования плодовитости у остромордой лягушки *Rana arvalis* // Зоол. журн. 1997. Т. 76, вып. 2. С. 187–198.

Серия биологическая

дождевые черви омской области

Е.В. Голованова

На основании собственных многолетних исследований даётся список видов дождевых червей Омской области и их зональное и биотопическое распределение.

EARTHWORMS OF OMSK REGION

E.V. Golovanova

On the basis of their own years of research provides a list of species of earthworms of the Omsk region and their zonal and habitat distribution.

Материалом для настоящей работы послужили исследования, проводимые на территории Омской области в течение 2000-2010 гг. Производился сбор материала методом почвенных раскопок $50\times50\times50$ см по слоям [1]. Люмбрициды в поле фиксировались 40-50 %-м раствором этилового спирта, а затем в течение часа 4 %-м раствором формалина. Общий объём проанализированных проб составил 654 (5886 особей). Определение видов проводилось по определителю Т.С. Всеволодовой-Перель [2].

В Омской области нами обнаружено 10 видов и 2 подвида дождевых червей (Lumbricidae), принадлежащих к 7 родам. Наибольшим разнообразием отличается имеющий азиатское происхождение род Eisenia. К нему относятся: Eisenia nordenskioldi nordenskioldi (Eisen, 1879) – эйзения Норденшельда (типичная форма), Eisenia nordenskioldi pallida (Malevic, 1956) – эйзения Норденшельда паллида, Eisenia fetida (Savigny, 1896) – навозный (компостный) червь, Eisenia balatonica (Pop, 1943) – эйзения балатонская, Eisenia atlavinyteae (Perel et Graphodatsky, 1984) – эйзения Атлавините (рис. 1). Род Dendrodrilus (дендродрилус) представлен двумя подвидами (рис. 2): Dendrodrilus rubidus tenuis (Eisen, 1884) – дендродрилус тонкий и Dendrodrilus rubidus subrubicundus (Eisen, 1874) – дендродрилус красноватый. Все остальные роды не отличаются разнообразием и представлены в нашей области лишь видами-космополитами (рис. 3): Aporrectodea caliginosa caliginosa (Savigny, 1826) пашенный червь, Lumbricus rubellus (Hoffmeister, 1843) – малый красный червь (малый красный выползок), Dendrobaena octaedra (Savigny, 1826) – дендробена восьмигранная, Eiseniella tetraedra tetraedra (Savigny, 1826) — эйзениелла четырёхгранная, Octolasion lacteum (Örley, 1885) – молочный октолазий.

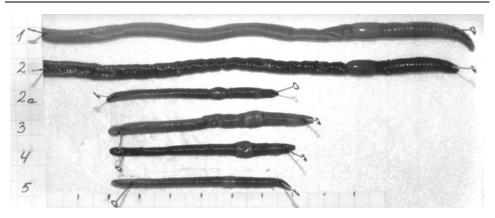


Рис. 1. Представители рода Eisenia в Омской области: 1-E. atlavinyteae; 2, 2a-E. nordenskioldi nordenskioldi; 3-E. nordenskioldi pallida; 4-E. balatonica; 5-E. fetida

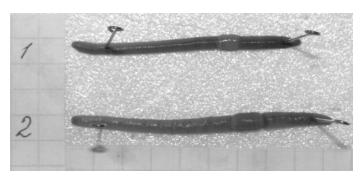


Рис. 2. Представители рода Dendrodrilus в Омской области: I-D. rubidus tenuis; 2-D. rubidus subrubicundus

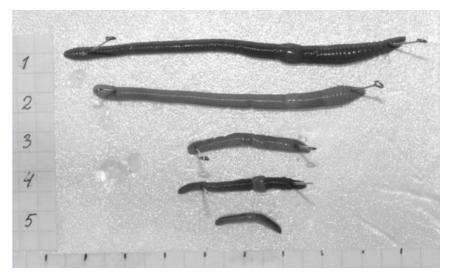


Рис. 3. Представители космополитных видов дождевых червей Омской области: 1-L. rubellus; 2-A. caliginosa; 3-O. lacteum; 4-D. octaedra; 5-E. tetraedra

Лесная зона Омской области характеризуется наибольшим видовым разнообразием дождевых червей, но небольшой их численностью. Здесь нами встречены все 300логия 113

описанные выше виды. В хвойных и хвойно-лиственных лесах в дерновоподзолистых почвах встречаются преимущественно восьмигранная дендробена и тонкий дендродрилус. В понижениях обычны эйзения Норденшельда и эйзения Норденшельда паллида. В хвойных лесах с участием сосны сибирской можно встретить крупные формы эйзении Норденшельда и эйзению Атлавините. В пойменных почвах лесов и лугов заметно также участие пашенного червя. Около уреза воды или в грунте прибрежной зоны небольших северных рек и озёр в большом количестве отмечается эйзения балатонская. В лиственных лесах в серых лесных почвах встречается преимущественно восьмигранная дендробена. Практически отсутствуют люмбрициды в торфяно-болотных почвах. В почвах придорожных полос, приусадебных участков преобладает эйзения Норденшельда и эйзения Норденшельда паллида. В компостных кучах и в перегное можно обнаружить навозного червя. Вблизи жилья и на приусадебных участках также встречается малый красный червь. Под гниющей древесиной и в подстилке садов можно найти красноватого дендродрилуса. Таким образом, в лесной зоне Омской области преобладают представители первого морфоэкологического типа, питающиеся неразложившейся растительностью (классификация по Т.С. Перель [3]). Доминирующим видом среди поверхностнообитащих червей этого типа выступает восьмигранная дендробена, субдоминантом или содоминатом является тонкий дендродрилус. Среди почвенно-подстилочных форм доминирует E. nordenskioldi nordenskioldi. Группа амфибиотических червей представлена преимущественно видом E. balatonica. Норники отсутствуют. Среди представителей второго морфоэкологического типа – собственно-почвенных червей преобладают верхнеярусные – E. nordenskioldi pallida. Среднеярусный вид – A. caliginosa появляется лишь в почвах с увеличением гумусового горизонта. Нижнеярусные черви обнаружены не были.

Северная лесостепь значительно уступает лесной зоне в видовом разнообразии, но зато отличается максимальной численностью по сравнению с другими подзонами и зонами. Здесь уже практически не встречаются E. nordenskioldi pallida и крупные формы E. nordenskioldi nordenskioldi, не обнаружена нами E. atlavinyteae. В смешанных лесах с преобладанием хвойных пород в подстилке обычна восьмигранная дендробена, в гниющей древесине - тонкий дендродрилус. В почвенном ярусе преобладает по численности пашенный червь, встречается эйзения Норденшельда обычных размеров. В березняках и на плакорных лугах доминирует пашенный червь. В почве пойменных лугов можно встретить пашенного червя и эйзению Норденшельда, в подстилке – тонкого дендродрилуса. В придорожных полосах и на приусадебных участках, кроме пашенного червя, нами были обнаружены малый красный червь, навозный червь и красноватый дендродрилус. Таким образом, в лесостепной зоне соотношение экологических групп люмбрицид выглядит следующим образом. Среди представителей первого морфо-экологического типа в подстилке преобладает тонкий дендродрилус. Резко сокращается доля почвенноподстилочных видов, в том числе амфибионтов за счёт исчезновения азиатских по происхождению видов. Норники отсутствуют. Увеличивается доля представителей второго морфоэкологического типа – питающихся перегноем почвы. При этом сокращается процент верхнеярусных люмбрицид (исчезает неокрашенная форма эйзении Норденшельда, которая не восполняется молочным октолазием), но увеличивается процент среднеярусных червей за счёт A. caliginosa. Нижнеярусные черви не обнаружены.

Центральная лесостепь отличается от северной не столько видовым составом, сколько соотношением видов. В этой подзоне наиболее обычны 6 видов дождевых червей: L. rubellus, A. caliginosa, E. nordenskioldi nordenskioldi, D. octaedra, D. rubidus subrubicundus и D. rubidus tenuis. Все перечисленные виды относятся к космополитам. Исключение составляет E. nordenskioldi, основной ареал которого за-

нимает азиатскую часть Российской Федерации [2]. Для типичных местообитаний центральной лесостепи характерен вид A. caliginosa. В переходных зонах этот вид доминирует, но дополняется видами, характерными для пограничных биоценозов $(D.\ octaedra)$. В местах, изменённых деятельностью человека, появляются синантропные виды: $D.\ rubidus\ subrubicundus\ u\ L.\ rubellus$. Среди них доминирует $L.\ rubellus$, который зачастую вытесняет $A.\ caliginosa$. $D.\ octaedra$, $D.\ rubidus\ tenuis\ u\ E.\ nordenskioldi$ приурочены к реликтовому сосновому бору.

В южной лесостепи дождевые черви обнаруживались исключительно на незасоленных почвах. Наибольшее видовое разнообразие характерно для берегов пресных водоёмов, заливных лугов, парковых зон с различными типами пород деревьев и приусадебных участков, наименьшее — для берёзовых колков, участков степной растительности и пашен. В естественных местообитаниях подстилочные виды редки. Это можно объяснить пересыханием подстилки и верхних горизонтов почвы данной подзоны. Почвенно-подстилочные виды появляются исключительно в биотопах с влажной почвой. В местообитаниях с недостаточным количеством влаги доминирует пашенный червь. В почве приусадебных и дачных участков при наличии достаточного количества влаги (чернозёмно-луговые почвы) среди подстилочных видов преобладает красноватый дендродрилус, из почвенно-подстилочных малый красный червь (составляет, как правило, большую часть биомассы люмбрицид), среди собственнопочвенных видов — пашенный червь). При недостаточном увлажнении (чернозёмы) преобладает вид *A. caliginosa*.

Для естественных биотопов степной зоны Омской области характерно преобладание одного-единственного вида -A. caliginosa. Несмотря на то, что эта зона отличается наибольшим содержанием гумуса и величиной плодородного слоя почвы, неблагоприятный режим увлажнения и отсутствие листовой подстилки лимитируют распространение подстилочных и почвенно-подстилочных форм.

- 1. Гиляров М.С. Методы почвенно-зоологических исследований. М., 1975. С. 12–29.
- 2. Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви фауны России: Кадастр и определитель. М., 1997.
- 3. Перель T.C. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. M., 1979.

ВЕРТИКАЛЬНАЯ И ГОРИЗОНТАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА МИКРОСПОРИДИЙ В ЛАБОРАТОРНОЙ КУЛЬТУРЕ OSTRINIA SPP. (LEPIDOPTERA: PYRAUSTIDAE)¹

Т.А. Грушецкая, П.В. Барашкова, Н.В. Ситникова, Ю.С. Токарев

При ведении лабораторной культуры Ostrinia narynensis, происходящей от насекомых, собранных в Юго-Восточном Казахстане на конопле, заражение микроспоридиями было обнаружено в третьем поколении насекомых. Споры, выделенные из зараженной куколки, были использованы для искусственного заражения гусениц лабораторной линии Ostrinia sp., происходящей от насекомых, собранных в Иркутской области на сложноцветных. Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком инфекционном и трансмиссионном потенциале Nosema-подобных микроспоридий, заражающих насекомых рода Ostrinia в природных и лабораторных условиях.

HORIZONTAL AND VERTICAL TRANSMISSION OF MICROSPORIDIA WITHIN LABORATORY CULTURE OF *OSTRINIA* SPP. (LEPIDOPTERA: PYRAUSTIDAE)

T.A. Grushetskaya, P.V. Barashkova, N.V. Sitnikova, Y.S. Tokarev

A mass infection with Nosema-like spores was revealed in one out of nine specimens representing the third generation of laboratory culture of Ostrinia narynensis, originating from South-Eastern Kazakhstan. After over a year of storage in a dry cadaver, the spores were successfully transmitted to larvae of laboratory culture of Ostrinia sp. originating from Irkutsk Region, causing 80 % larval mortality as compared to 33 % mortality in control. Both light microscopy and PCR confirmed diagnosis of microsporidian infection. These data indicate efficient horizontal and vertical transmission of a Nosema-like microsporidium in Ostrinia.

Микроспоридии – облигатные внутриклеточные паразиты, интерес к которым в последнее время все более возрастает. Это уникальная группа амитохондриальных протистов, обладающих признаками прокариотической и эукариотической клетки, которые паразитируют в организме представителей всех таксонов царства животных. Наибольшее число видов микроспоридий описано для членистоногих. Многие виды микроспоридий высокопатогенны и существенно влияют на численность популяций животных-хозяев [1]. Наиболее подробно изучено влияние микроспоридиозов на природные популяции чешуекрылых насекомых. В частности, зависимость динамики численности насекомых от зараженности микроспоридиями и участие последних в ограничении вспышек массового размножения продемонстрирована для лугового [4] и кукурузного мотыльков [6], капустной белянки [1], непарного шелкопряда [5] и сосновой листовертки [10]. Характер воздействия микроспоридий на численность популяций насекомых-хозяев определяется множеством факторов, среди которых не последнее место занимает эффективность горизонтальной и вертикальной передачи. Горизонтальная передача служит для распро-

 $^{^1}$ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проекты №№ 07-04-92170, 09-04-00619, 10-04-90904, 10-04-00284) и Роснауки (проект № МК-3419.2009.4).

странения паразитов среди особей хозяев одного поколения и способствует повышению вирулентности паразитов за счет их многократного пассирования через организм хозяев. Вертикальная передача обеспечивает попадание паразитов в организм особей хозяев дочернего поколения и приводит к снижению вирулентности, но зато способствует более надежному сохранению паразитов в популяциях насекомых-хозяев.

При ведении лабораторной культуры *Ostrinia narynensis* (Lepidoptera: Pyraustidae), происходящей от насекомых, собранных в Юго-Восточном Казахстане на конопле, заражение микроспоридиями было обнаружено в третьем поколении насекомых. На зараженность патогенами было проверено пять трупов куколок и четыре трупа гусениц, хранившихся при комнатной температуре более года. В одной из них, характеризующейся симптомами нарушения метаморфоза, было выявлено массовое скопление *Nosema*-подобных спор. Окрашивание ДНК-специфичным флюорохромом диамидин фенилиндолом (ДАФИ) показало наличие диплокарионов в этих спорах (рис. 1). Дополнительным признаком служило неспецифическое окрашивание экзоспоры, характерное для спор микроспоридий различных видов [7, 8]. Выявление множества спор в насекомом третьего поколения свидетельствует о способности микроспоридий вызывать массированную инфекцию при вертикальной передаче. Зараженное насекомое отличалось симптомами нарушения метаморфоза, отчего и погибло при формировании куколки. Такая симптоматика характерна для микроспоридиозов насекомых [2].

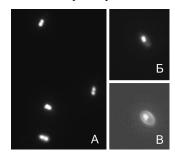


Рис. 1. Специфическое окрашивание диплокарионов (A) и неспецифическое окрашивание цитоплазмы (Б) и экзоспоры (В) в спорах микроспоридий из лабораторной культуры Ostrinia narynensis флюорохромом ДАФИ

Споры, выделенные из зараженной куколки, были использованы для искусственного заражения гусениц лабораторной линии Ostrinia sp., происходящей от насекомых, собранных в Иркутской области на сложноцветных. Для этого споры были отмыты многократным центрифугированием в листиллированной воде и нанесены на поверхность порции искусственной питательной среды (ИПС). Гусеницы 2-3-го возраста были высажены на обработанную спорами (в опытном варианте) и водой (в контроле) ИПС и содержались в чашках Петри в течение 20 дней. Смертность насекомых учитывалась через день, трупы отбирались и проверялись на наличие инфекции методом световой микроскопии. Через 20 дней после перорального заражения микроспоридиями из 20 гусениц погибло 16, что соответствует смертности на уровне 80 %. В большинстве погибших гусениц выявлены массовые скопления спор микроспоридий. При этом в контроле погибло 3 гусеницы из 9, т.е. 33,3 %. Смертность в опытном варианте достоверно выше, чем в контроле, на 95 %-ном уровне значимости. Таким образом, смертность насекомых от заражения микроспоридиями составляет примерно 50 % (смертность в опытном варианте за вычетом смертности в контроле) и может считаться достаточно высокой с учетом того факта, что споры хранились в высушенном трупе при комнатной температуре более года, что обычно приводит к снижению исходного уровня инфекционности спор микроспоридий [1].

Для верификации светооптической диагностики микроспоридиоза была использована полимеразная цепная реакция (ПЦР) с праймерами 18f:530r, специфи-

чески амплифицирующими консервативные участки рДНК микроспоридий, по стандартной методике [3]. Положительный сигнал в виде полосы амплификата ожидаемого размера (са 450 н.о.) получен с пробами ДНК, выделенной из исходных спор и из спор, полученных после искусственного заражения гусениц Ostrinia. При этом в пробах исходного материала наблюдались дополнительная полоса амплификата размером са 700 н.о., получившаяся, вероятнее всего, в результате неспецифической реакции примесной рДНК насекомых-хозяев с указанными праймерами [9].

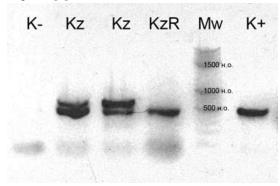


Рис. 2. ПЦР с ДНК из спор микроспоридий, выделенных из естественно зараженных гусениц *Ostrinia narynensis* (Kz) и из *Ostrinia* sp. после искусственного заражения (KzR). Мw — маркер молекулярного веса; K+ — положительный контроль (ДНК из спор *Paranosema grylli*); K— — отрицательный контроль (без ДНК)

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком инфекционном и трансмиссионном потенциале *Nosema*-подобных микроспоридий, заражающих насекомых рода *Ostrinia* в природных и лабораторных условиях.

- 1. *Исси И.В.* Микроспоридии как тип паразитических простейших // Микроспоридии. Сер. Протозоология. 10. Л.: Наука, 1986. С. 6–135.
- 2. *Исси И.В., Токарев Ю.С.* Влияние микроспоридий на гормональный баланс насекомых // Паразитология. 2002. № 36. С. 405–421.
- 3. *Токарев Ю.С., Малыш Ю.М., Фролов А.Н.* Современные методы диагностики микроспоридий насекомых на примере лугового мотылька *Pyrausta (=Loxostege) sticticalis* L. // Высокопроизводительные и высокоточные технологии и методы фитосанитарного мониторинга. СПб.: ООО «ИЦЗР», 2009. С. 20–23.
- 4. Фролов А.Н., Малыш Ю.М., Токарев Ю.С. Особенности биологии лугового мотылька (*Pyrausta sticticalis* L.) в период его низкой численности в Краснодарском крае // Энтомол. обозр. 2008. Т. LXXXVII. С. 291–302.
- 5. McManus M.L., Solter L.F. Microsporidian pathogens in European gypsy moth populations // USDA Forest Service, Newton Square, Pennsylvania. Gen. Tech. Rep. 2003. NE-311. P. 44–51.
- 6. Siegel J.P., Maddox J.V., Ruesink W.G. Lethal and sublethal effects of Nosema pyrausta on the European corn borer (Ostrinia nubilalis) in Central Illinois // J. Invertebr. Pathol. 1986. Vol. 48. P. 167–173.
- 7. Tokarev Y.S., Toderas I.K., Dubinina H.V. et al. Microsporidian infection in a natural population of Ixodes persulcatus Schulze (Acarina: Ixodidae) in north-western Russia // Buletinul Academiei de Stiinte a Moldovei. Stiintele Vietii. Chisinau. 2007. № 2 (302). P. 69–75.
- 8. Tokarev Y.S., Voronin V.N., Seliverstova E.V. et al. Ultrastructure and molecular phylogeny of Anisofilariata chironomi sp.n. g.n. (Microsporidia: Terresporidia), a microsporidian parasite of Chironomus plumosus L. (Diptera: Chironomidae) // Parasitol. Res. 2010a. Vol. 107. P. 39–46.
- 9. *Tokarev Y., Sitnikova N., Pistone D. et al.* Microsporidia PCR detection artifacts due to non-specific binding of the universal microsporidia primers to the rDNA of arthropod hosts // Buletinul Academiei de Stiinte a Moldovei. Stiintele Vietii. Chisinau. 2010b. Vol. 1 (in press).
- 10. Van Frankenhuyzen K., Nystrom C., Liu Y. Vertical transmission of Nosema fumiferanae (Microsporidia: Nosematidae) and consequences for distribution, post-diapause emergence and dispersal of second-instar larvae of the spruce budworm, Choristoneura fumiferana (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae) // J. Invertebr. Pathol. 2007. Vol. 96. P. 173–182.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ ПОДКОЖНОЙ МУСКУЛАТУРЫ ЛАСКИ (*MUSTELA NIVALIS* L., 1766)

А.Н. Давыдова

Приводится сравнительное описание подкожной мускулатуры ласки и такой генерализованной формы, как серая крыса.

THE FEATURES OF SUBCUTANEOUS MUSCULATURE IN WEASEL (MUSTELA NIVALIS L., 1766)

A.N. Davydova

The comparative description of the subcutaneous musculature in weasel and grey rat was carried out and some morphological features were revealed.

В последние годы особую значимость в решении проблем морфологических адаптаций приобрели эколого-морфологические исследования на видовом уровне, направленные на поиск видоспецифичных характеристик организмов, в которых морфологические параметры связываются с экологическими и этологическими [1]. Объект исследования – ласка (Mustela nivalis L., 1766) – является узкоспециализированным в добывании пищи хищником, что находит свое отражение в особенностях ее поведения и морфологии [4]. Локомоторный аппарат, частью которого является и подкожная мускулатура (т. cutaneus trunci и заглазничная часть лицевых мышц), принимает непосредственное участие во многих двигательных актах организма, присущих данному виду. Особенности ее строения являются морфологическим свидетельством определенного комплекса двигательных реакций и отражают пути приспособления вида к условиям существования [5].

Цель работы — выявление характерных особенностей в строении подкожной мускулатуры *М. nivalis* в связи с биологической спецификой вида. Нами проведено описание подкожной мускулатуры ласки и сравнение с m. cutaneus trunci серой крысы (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) как генерализованной в локомоторном отношении формы [3].

Материалом для исследования послужили полные скелеты взрослых животных и фиксированные в 5 %-м растворе формалина экземпляры ласки и серой крысы из коллекций ЗИН РАН. Проводили послойную препаровку и зарисовку мышц, отмечали места прикрепления мышц и их порций, степень их дифференциации и взаимоотношения с соседними мышцами. Началом крепления мышцы считали ее конец, расположенный более проксимально, а окончанием — дистальный конец мышцы. Для лучшей визуализации мышечные волокна окрашивали крезиловым фиолетовым.

Подкожная мышца и у ласки, и у пасюка покрывает всю дорсальную, боковую и брюшную поверхности тела. По начальной области прикрепления ее условно можно подразделить на несколько порций (таблица, рис. 1, 2).

Области начального прикрепления	полкожной мышцы	(m. cutaneus trunci)
Outacin na landhoi o nphapennenn	подкожной мышцы	(III. Cutancus ii unci)

Крыса	Ласка			
Pars dorsali	s (a)			
Средняя линия спины в грудной области. По-	Средняя линия спины в грудной облас-			
верхностные волокна с правой стороны нахле-	ти. Начало волокон правой и левой сто-			
стывают волокна левой стороны	рон образуют небольшой перекрест			
Pars caudali	is (δ)			
	Дорсальная фасция в поясничной области;			
Поверхностная дорсальная фасция в области	часть мышечных волокон начинается от			
основания хвоста	фасции, покрывающей выступающую			
	поверхность седалищной кости			
Pars femoral	es (e)			
Наружная и внутренняя фасция бедра	Наружная фасция бедра			
Pars abdomi	nalis			
В области гениталий, на вентральной фасции в				
области основания хвоста; отдельные пучки	Фасция в паховой области			
волокон слегка перекрещиваются на вентраль-	Фасция в наховои области			
ной средней линии в грудной области				
Pars brachia	lis (2)			
	Фасция в области тазового пояса и крест-			
Отсутствует	цовых позвонков; часть более вентраль-			
Oleytetbyet	ных волокон начинается на выступающей			
	поверхности подвздошной кости			

У крысы все порции m. cutaneus trunci конвергируют, приближаясь к передней конечности, и прикрепляются к коракоидному отростку лопатки и в области малого бугра плечевой кости. У ласки волокна pp. dorsalis, caudalis конвергируют и оканчиваются сухожильно на фасции реберной порции m. latissimus dorsi. Pp. femoralis и abdominalis прикрепляются сухожильно на фасции m. endopectoralis caudalis. Волокна p. brachialis оканчиваются на сухожильной перемычке, плотно прилегающей к латеральному краю m. clavotrapezius в плечевой области. М. clavotrapezius и m. latissimus dorsi прикрепляются к плечевой кости.

Из заглазничного комплекса лицевых мышц m. platysma myoides (∂) у крысы начинается на фасции средней линии спины в шейной области; оканчивается в подбородочной области, в районе нижней губы и угла рта. У ласки платизма начинается мышечно на средней линии шеи; оканчивается общим пластом, занимая пространство от нижней до верхней губы [2]. При изучении заглазничной части лицевых мышц ласки нами не обнаружен сжиматель шеи (m. sphincter colli), который у крысы хорошо дифференцирован (e, ∞).

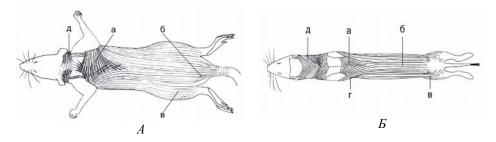


Рис. 1. Подкожная мускулатура крысы (A) и ласки (B), вид сверху

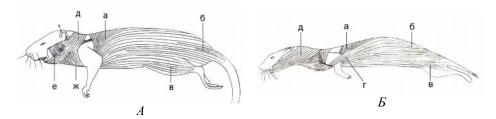


Рис. 2. Подкожная мускулатура крысы (A) и ласки (B), вид сбоку

Выводы: характерной особенностью подкожной мускулатуры ласки является наличие частичного ее закрепления на костях тазового пояса, а также на каудальном крае m. clavotrapezius, относящейся к мышцам пояса передних конечностей. Выявленные особенности строения m. cutaneus trunci могут, очевидно, способствовать сгибательно-разгибательным движениям позвоночного столба, от которых у куньих в значительной степени зависят величина полного шага и скорость бега [1].

- 1. Гамбарян П.П. Бег млекопитающих. Л.: Наука, 1972. 334 с.
- 2. Гамбарян П.П. Эволюция лицевой мускулатуры млекопитающих. Л.: Наука, 1989. 148 с.
- 3. Гамбарян П.П., Дукельская Н.М. Крыса: Учеб. пособие для ун-тов. М.: Сов. наука, 1955. 254 с.
- 4. *Терновский Д.В.* Об отношениях хищника к жертве // Териология. Новосибирск: Наука, 1972. Т. 1. С. 395–400.
 - 5. Шмальгаузен И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса: Избр. тр. М.: Наука, 1983. 360 с.

Серия биологическая

ЛИНЕЙНЫЕ РАЗМЕРЫ ПЕЧЕНИ У КОЗ ОРЕНБУРГСКОЙ ПУХОВОЙ ПОРОДЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Н.И. Девина

Раскрывается динамика изменения размеров печени. Пуховая коза очень выносливое животное, но требует бережного ухода.

LINEAR DIMENSIONS OF THE LIVER IN ORENBURG GOATS BREED IN ONTOGENY

N.I. Devina

Dynamics of changes of the liver. Down the goat is very hardy animal, but it requires careful maintenance.

Необходимость совершенствования организации выращивания животных, полного использования природных ресурсов кормовых угодий очевидна. Без этого подъем уровня животноводства, повышения поголовья и его продуктивности невозможен [1, 2].

Коза оренбургской пуховой породы является уникальным животным. Только в условиях Оренбургской области она дает ценный пух, который славит ее по всему миру. В других климатогеографических условиях она перерождается. Оренбургская коза приспособлена к существованию в условиях гористой местности и не требовательна к условиям содержания и кормления, что позволяет при наименьших затратах и низкой себестоимости получать от нее высококачественную продукцию.

Многие исследователи занимались изучением и совершенствованием маточного поголовья скота, но при этом в пуховом козоводстве остро стоит проблема отхода молодняка и новорожденных козлят, регистрируется приобретенная гипотрофия. Заболевания печени и желчного пузыря давно достигли масштабов экономической проблемы [3].

В настоящее время у животных резко возрастает функциональная нагрузка на печень, что связано с появлением большого количества ксенобиотиков, которые должны пройти детоксикацию в печени, недоброкачественные корма, которые в свою очередь вызывают хроническую патологию органа.

Из результатов исследований (таблица) видно, что в плодном периоде развития линейные промеры печени изменяются волнообразно. Левая и правая доли в 90-суточном возрасте плода имеют тенденцию к увеличению высоты с последующим снижением к 120-суточному и вновь к повышению в 145-суточном возрасте. Квадратная доля увеличивается с 60- до 145-суточного возраста, тогда как хвостатая — наращивает свои размеры до 120-х сут плодного периода развития со снижением к 145-суточному возрасту.

Возраст	Высота долей печени, см								
Возраст	левая	правая	квадратная	хвостатая					
Плодный период									
60 дней	3,10±0,057	3,10±0,057	2,76±0,033	0,86±0,066					
90 дней	5,88±0,066	5,63±0,028	3,40±0,861	1,68±0,280					
120 дней	4,72±0,531	5,43±0,064	3,99±0,089	6,22±0,057					
145 дней	ей 7,41±0,213 7,21±0,333 5,20±0,345		5,32±0,167						
	Постнатальный период								
1-5 дней	6,53±0,397	5,74±0,434	3,92±0,271	3,81±0,385					
1 мес	10,87±0,120	10,93±0,133	10,9±0,057	4,0±0,057					
3 мес	8,27±0,038	9,11±0,607	5,65±0,112	2,61±0,077					
6 мес	9,72±0,590	11,84±0,601	5,53±0,294	3,0±0,48					
12 мес	12,1±0,173	15,9±0,057	9,2±0,057	4,43±0,176					
18 мес	11,72±0,044	16,73±0,203	10,24±0,083	3,96±0,033					
36 мес	13,58±0,773	15,23±0,444	10,88±0,781	3,44±0,615					
60 мес	14,96±0,525	17,06±0,980	11,24±1,568	5,14±0,623					

Высота печени оренбургской пуховой козы в онтогенезе

Печень и ее доли у самцов в процессе развития увеличиваются неравномерно. Так, с 60- до 90-суточного плодного периода развития правая, левая и квадратная доли имеют одинаковый темп увеличения высоты. В 90-суточном возрасте плодов правая и левая доли развиваются более интенсивно, в 120-суточном возрасте хвостатая доля также набирает темпы роста. Максимальной высоты в утробном периоде развития доли печени достигают в 120-суточном возрасте плодов.

На момент рождения высота всех долей печени немного уменьшается. Начиная с 3-месячного до 60-месячного возраста по степени убывания высоты располагаются правая – левая – квадратная – хвостатая доли.

У плодов самцов левая, правая и хвостатая доли печени к 90-суточному возрасту имеют большую высоту, чем у самок. В 120-суточном возрасте высота правой, левой и квадратной долей печени у самцов на 58,3; 26 и 17,8 % больше, чем у самок соответственно.

Начиная с 60-суточного возраста плодов до 90-суточного отмечается увеличение ширины всех долей. К 120-суточному возрасту плодов наблюдается снижение толщины долей печени с последующим увеличением к 145-суточному возрасту.

На момент рождения наблюдается уменьшение толщины долей печени с последующим повышением с ростом животных. Стабильных размеров по ширине доли печени достигают к 12-месячному возрасту, а максимальных — к 5-летнему возрасту.

У самцов прослеживается аналогичная динамика в отношении ширины долей печени.

В плодном периоде развития толщина долей печени также имеет неоднородные темпы роста. У 60-суточных плодов наибольшей толщины достигает левая доля, а наименьшей – квадратная. Спустя 30 сут лидирует квадратная доля, а отстающей является правая. Начиная со 120-суточного возраста плодов и до родов максимальных величин достигает хвостатая доля, а минимальных размеров – правая.

В постнатальном онтогенезе толщина левой доли печени плавно увеличивается до 5-летнего возраста, тогда как правой, квадратной и хвостатой долей – до 3-летнего с последующим снижением к пяти годам жизни.

В отношении толщины печени у самцов прослеживается та же закономерность, что и у самок. А именно, наиболее стабильные промеры толщины характерны в натальном онтогенезе для левой, хвостатой и квадратной долей, а менее — для правой доли. Данное положение сохраняется до 120-суточного возраста плодов. Начиная со 145-суточного возраста плодов и до первого месяца постнатальной жизни

козлят отмечается отрицательная динамика в отношении толщины печени за исключением хвостатой доли.

У 30-месячных животных регистрируется максимальная толщина печени с последующим снижением к 5-летнему возрасту. Причем до 3-летнего возраста отмечаются волнообразные изменения толщины печени, что, скорее всего, связано с меняющимися рационами и становлением функциональных качеств печени. В 5-летнем возрасте толщина уменьшается в связи с развитием дегенеративно-деструктивных процессов, протекающих в печени.

- 1. *Панин В.А.* Оренбургская пуховая порода коз для восточной зоны Оренбургской области // Региональная научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов: Сб. материалов. Оренбург, 2005. Ч. 1. С. 245–246.
 - 2. Акаевский А.И. Анатомия домашних животных. М.: Колос, 1968. 346 с.
- 3. Ceumos M.C. Динамика массы и длины плодов коз // Матер. Междунар. конф., посвященной 125-летию академии. Казань, 1998. Ч. 2. 88 с.

Серия биологическая

СТРУКТУРА ЛЕСНЫХ ОРНИТОКОМПЛЕКСОВ НИЖНЕГО ПРИКЕТЬЯ

Е.В. Дьяченко

На основании учетов птиц в лесных местообитаниях Нижнего Прикетья в мае — июле 2010 г. проведен сравнительный анализ суммарных количественных показателей: плотности населения птиц и состава доминантов по обилию, а также видового богатства.

THE STRUCTURE OF WOOD HABITAT ORNITOCOMPLEXES IN THE LOWER KET' RIVER COURSE

E.V. Diyachenko

The comparative analysis of total quantity indicators of ornitocomplexes have been led on the basis of bird accounts carried out in wood habitats of the lower Ket' river course in 2010. The next parameters have been considered: population density, structure of dominants on an abundance and specific riches of birds.

Исследования проводились с 17 мая по 2 июля 2010 г. в нижнем течении р. Кеть в окрестностях поселков Белый Яр, Рыбинск, Палочка, Тайное и Кузурово (последний – в 145 км от устья). Ключевые участки располагаются в подзонах средней (Кузурово) и южной тайги, граница между которыми проходит по руслу реки.

Учеты птиц проведены с двухнедельной повторностью по методике Ю.С. Равкина [1] в березово-сосновых лесах, в смешанных березово-пихтово-кедровых, а также в перелесках среди лугов-залежей (представляющих собой чередование древостоев из березы, осины и ивы с заброшенными в середине 80-х годов прошлого века сельскохозяйственными полями). Рассматриваются усредненные за I половину лета данные. Общая протяженность маршругов составила 40 км.

Суммарная плотность населения птиц березово-сосновых лесов на гривах практически не отличается от заболоченных аналогов в понижениях рельефа (291 и 262 особи/км² соответственно). Близкие показатели характерны и для смешанных березово-пихтово-кедровых лесов (271). Несколько выше плотность населения птиц наблюдается в перелесках среди лугов-залежей (346).

В заболоченных березово-сосновых лесах лидерами по обилию являются обыкновенный клест (23 %) и горихвостка-лысушка (10). Более сухие березовососновые леса отличаются сравнительно разнообразным составом доминантов: пухляк (17), юрок и зяблик (по 13), горихвостка-лысушка (10). В смешанных лесах лидируют те же самые дендрофилы, что и в сосново-березовых: юрок (15), пухляк и зяблик (по 11). В перелесках среди лугов-залежей состав доминантов несколько иной: это садовая камышевка (18 %) и скворец (11). Первой благоприятствует развитый кустарниковый подлесок; высокое обилие скворца обусловлено откочевкой стай из поселков после вылета молодых.

Видовое богатство птиц в заболоченных березово-сосновых лесах несколько ниже, чем в их аналогах на гривах (25 против 35). Возможно, это связано с тем,

что заболоченные леса располагаются среди сосново-сфагновых болот и имеют небольшую площадь, таким образом, здесь может сказываться и островной эффект, и их более низкая продуктивность. Еще больше видов характерно для смешанных березово-пихтово-кедровых лесов (42), поскольку здесь среда более гетерогенна из-за высокого разнообразия пород-эдификаторов. Самое высокое видовое богатство характерно для перелесков (52), поскольку чередование различных фаций (лугов и участков леса) создает необходимые условия для обитания здесь как лесных, так и луговых видов; кроме того, открытые пространства привлекают различных птиц (например, хищников).

Оценка качественного сходства лесных орнитокомплексов по видовому составу (таблица) проведена по индексу Жаккара [2].

1		2 -		
	Березово-	Заболочен-	Смешанные по-	Перелески
Местообитание	сосновые	ные березово-	лидоминан-	среди лугов-
	леса	сосновые леса	тные леса	залежей
Березово- сосновые леса	_	50	60	50
Заболоченные				
березово-	50	_	49	38
сосновые леса				
Смешанные полидоминантные леса	60	49	-	49
Перелески среди лугов-залежей	50	38	49	_

Сходство видового состава птиц лесных местообитаний, %

Самое высокое сходство видового состава птиц характерно для смешанных полидоминантных и березово-сосновых лесов. Только наполовину сходны орнитокомплексы заболоченных березово-сосновых лесов, с одной стороны, и березовососновых и смешанных полидоминантных лесов - с другой. Наименьшее сходство видового состава птиц характерно для перелесков среди лугов-залежей и заболоченных березово-сосновых лесов. При анализе качественного состава орнитокомплексов выявлено, что 19 видов (28 % от всех зарегистрированных) являются эвритопными и населяют абсолютно все лесные урочища (рябчик, черныш, большая горлица, большой пестрый дятел, лесной конек, кедровка, пеночка-теньковка, зяблик, юрок и др.). Около 13 % видов населяют большинство местообитаний (большой улит, воробьиный сычик, зеленый конек, иволга, садовая камышевка, московка, мухоловка-пеструшка и др.). Многие виды зарегистрированы только в перелесках среди лугов-залежей: хищники (черный коршун, канюк, кобчик), некоторые лугово-болотные птицы (перепел, коростель, чибис), а также птицы, которых привлекают открытые пространства (деревенская ласточка, обыкновенный скворец, желтая трясогузка, галка и др.). Некоторые виды отмечены только в смешанных березово-пихтово-кедровых лесах (обыкновенный осоед, тетерев, бородатая неясыть, кукша, черный, седой и трехпалый дятлы).

Таким образом, сходные значения суммарной плотности населения птиц характерны для березово-сосновых и смешанных полидоминантных лесов, в перелесках среди лугов-залежей плотность населения несколько выше. Состав доминантов в большинстве лесов сходен, и лишь в полуоблесенных местооби-

таниях (перелески) он значительно отличается. Видовое богатство птиц увеличивается при повышении степени гетерогенности среды в ряду: заболоченные березово-сосновые, березово-сосновые леса на гривах, смешанные полидоминантные формации, перелески среди лугов-залежей.

- 1. *Равкин Ю.С.* К методике учета птиц лесных ландшафтов // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. Новосибирск: Наука, 1967. С. 66–75.
- 2. Jaccard P. Lois de distribution fiorale dans la zone alpine // Bull. Soc. Vaund. Sci. Nat. 1902. Vol. 38. P. 69–130.

Серия биологическая

НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ УЧЁТОВ ЧИСЛЕННОСТИ ЛЕТЯГИ (*PTEROMYS VOLANS* L.) НА СЕВЕРЕ ЕВРОПЫ

Е.С. Задирака, Ю.П. Курхинен, Е.В. Кулебякина, Е.А. Муравская

Приведены описание метода учета численности летяги по регистрации экскрементов на пробных площадках, а также первые результаты применения метода в различных регионах Северной Европы.

SOME RESULTS OF CENSUS FLYING SQUIRREL (PTEROMYS VOLANS L.) IN THE NORTH OF THE EUROPE

E.S. Zadiraka, J.P. Kurhinen, E.V. Kulebyakina, E.A. Muravskaya

The description of a new method of the census flying squirrel on registration of excrement on trial platforms, as well as the first results of application of a method in various regions of Northern Europe is resulted.

В связи с ростом лесопользования на севере Европы особую важность приобретает вопрос сохранения биотопов, подходящих для обитания редких видов животных тайги, к которым относится летяга. Обыкновенная летяга (Pteromys volans L.) – один из самых немногочисленных и слабо изученных видов млекопитающих Северной Европы. На территории России, Фенноскандии и стран Балтии подлежит охране, вид включен в красные книги этих регионов. В Финляндии летяга получила статус уязвимого [7], а в Республике Карелия – редкого, потенциально уязвимого вида [2]. В качестве редкого, нуждающегося в охране объекта летяга включена также в красные книги других регионов Севера России, в том числе Мурманской, Ленинградской и Архангельской областей [1, 3, 4]. Растущее антропогенное воздействие на местообитания летяги может представлять реальную опасность для существования вида. Однако механизм этого влияния практически не исследован, прежде всего, из-за отсутствия достоверных данных по численности и территориальному размещению животных.

Сбор данных о биологии и численности летяги сопряжен с рядом серьезных методических трудностей, связанных с малочисленностью и скрытным образом жизни зверька. С другой стороны, летяга является сравнительно удобным для учета и наблюдений объектом, так как ее присутствие на исследуемой площади может быть выявлено по наличию экскрементов. Чаще всего помет летяги скапливается под стволами осины, которая «среди всех древесных пород наиболее широко используется летягой и играет особую роль для этого вида животных на северозападе России» [1]. В таежной зоне экскременты летяги чаще всего обнаруживаются у оснований старых осин с дуплами, которые зверек использует для устройства зимних гнезд, а также под крупными елями.

В данной работе впервые для учёта и анализа состояния популяции летяги на территории таежного севера России использовался метод, предложенный финскими исследователями [5]. Учёты (оценка встречаемости вида) велись по находкам помета летяги. Учёты летяги основываются на анализе данных, полученных на

пробных площадках. В качестве картографической основы используются электронные варианты топографических карт, например в системе MAP-info. Преимущество компьютерного варианта карт — в возможности использования результатов учета путем наложения данных на другие варианты компьютерных карт, имеющихся в нашем распоряжении (GAP-анализ). Вся территория, намеченная к учёту, разделена на квадраты по 100 км² каждый (10×10 км). При планировании учётов сначала отбирался каждый второй из этих квадратов в шахматном порядке, затем в пределах каждого отобранного квадрата случайным образом выбирались 10 пробных площадок по 9 га (300×300 м). Они должны отстоять друг от друга не менее чем на километр (рис. 1). Таким образом, пробная площадка близка по размерам индивидуальному участку взрослой самки летяги (8,3 га) [6]. Согласно радиотелеметрическим исследованиям [5] взрослые самки занимают обособленные постоянные индивидуальные участки. Поэтому при обнаружении заселённости летягой конкретной площадки можно говорить о наличии здесь индивидуального участка самки летяги или пары самец — самка (в период гона).

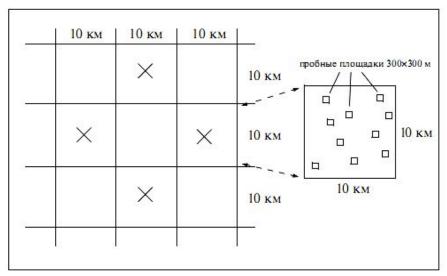


Рис. 1. Отбор пробных площадей размером 9 га (300×300 м). Крестиками обозначены выбранные квадраты по 100 км². В пределах квадратов площадью 100 км случайным образом выбирается десять пробных площадей по 9 га (подробное описание см. в тексте)

При проведении учётов не только фиксировались данные по присутствию/отсутствию вида, но и проводилось описание структуры фитоценоза на всех обследованных площадках — видовой состав и количество деревьев, средняя высота древостоя, проективное покрытие древесного полога.

К настоящему времени оценка численности и территориального распределения летяги проведена на обширной территории, включающей западную часть ареала вида в Финляндии, Республику Карелия и Карельский перешеек. В Финляндии в 2003–2005 гг. было обследовано более 10000 пробных площадок. В среднем 10,3 % из них были заняты летягой. Численность сильно варьировала в пространственном отношении: от низкой в одних районах (< 5 % пробных площадок населено) до высокой в других (> 40 % населено). На Карельском перешейке в 2004–2005 гг. обследовано 527 пробных площадок, 9,3 % из которых оказались населены летягой.

В Республике Карелия в 2004–2008 гг. обследовано 999 площадок. Из них 144 (14,4%) были заселены. Это значительно более высокий показатель, чем в дру-

гих обследованных данным методом регионах. Дополнительно в 2005 г. были обследованы 27 массивов еловых лесов на перешейке между Онежским озером и Белым морем. Летяга была обнаружена в 5 из них. Также в 2009 г. была проведена экспедиция в Центральную и Северную Карелию с целью нахождения местообитаний летяги. Были исследованы наиболее пригодные для летяги территории в Муезерском, Сегежском, Беломорском, Кемском и Лоухском районах. Лишь в Муезерском районе в ельнике был обнаружен помёт летяги. На данный момент этот пункт является самой северной точкой нахождения летяги на северо-западе России.

Плотность популяции в Карелии выше, чем на Карельском перешейке, но в обоих районах (так же, как и в Финляндии) отмечена значительная пространственная вариабельность в численности летяги.

Факторы неравномерного территориального распределения летяги еще до конца не изучены. Но очевидно, что летяга избегает ландшафтов с преобладанием крупных массивов заболоченных и скальных сосняков и открытых болот. Предполагается расширить обследуемую территорию по учету численности летяги. В настоящее время также идет работа по выявлению статистических зависимостей между территориальным распределением летяги и структурой лесных ландшафтов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской академии наук (Российский фонд фундаментальных исследований) и Академии наук Финляндии — как часть международного проекта «Воздействие лесопользования на таежные экосистемы, разнообразие и территориальное распределение видов на северо-западе России», № 208207, а также в ходе разработки следующих проектов РАН, реализуемых в Институте леса Карельского НЦ РАН:

- программа фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие»;
- проект «Методы идентификации лесов на разных стадиях вторичных сукцессий и закономерности антропогенной трансформации флоры и фауны в условиях различных типов географического ландшафта северо-запада таежной зоны России»;
- программа фундаментальных исследований отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга».

- 1. Айрапетьяну А.Э., Фокин И.М. Обыкновенная летяга // Красная книга природы Ленинградской области. Т. 3. Животные. СПб.: АНО НПО «Мир и Семья», 2002. С. 440-441.
 - 2. Данилов П.И. Летяга // Красная книга Республики Карелия. Петрозаводск: Карелия, 2007. С. 171–172.
 - 3. Катаев Г.Д. Летяга // Красная книга Мурманской области. Мурманск, 2003. С. 350–351.
- 4. *Плешак Т.В.* Летяга // Красная книга Архангельской области. Редкие и охраняемые виды растений и животных. Архангельск, 1995. С. 272–273.
- 5. *Hanski I.K.* Home ranges and habitat use in the declining flying squirrel, Pteromus volans, in managed forests // Wildlife Biology. 1998. T. 43. P. 33–46.
- 6. Hanski I.K., Stevens P., Ihalempia P., Selonen V. Home-range size, movements, and nest-site use in the Siberian flying squirrel, Pteromys volans // J. Mammalogy. 2000. T. 81(3), P. 798–809.
- 7. Rassi P., Alanen A., Kanerva T., Mannerkoski I. (eds.), Suomen lajien uhanalaisuus 2000. Helsinki, 2001. 180 p.

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ ВЗАИМНЫХ БРАЧНЫХ ПРЕДПОЧТЕНИЙ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ У ТРЕХ ВИДОВ ГРЫЗУНОВ¹

И.В. Задубровская, О.Ф. Потапова, П.А. Задубровский, М.А. Потапов

Исследовано влияние взаимного подбора брачных партнеров на репродуктивные характеристики родительских особей трех видов мышевидных грызунов. Полученные данные подтверждают, что выбор брачного партнера не случаен и служит гарантией наиболее полной реализации репродуктивного потенциала видов с разными типами пространственно-этологической структуры популяций.

THE EFFECTS OF RECIPROCAL MATE PREFERENCES ON REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS IN THREE RODENT SPECIES

I.V. Zadubrovskaya, O.F. Potapova, P.A. Zadubrovskiy, M.A. Potapov

The influence of mutual mate choice on reproductive characteristics in three rodent species was investigated. The obtained data confirmed the supposition that mate selection is not accidental, and it serves to maximize the realization of reproductive potential of mammalian species with different spatial-ethological structures of populations.

Поддержание внутрипопуляционной морфофункциональной изменчивости является одним из необходимых условий устойчивого существования популяций на фоне динамичной среды обитания [1], в связи с чем у млекопитающих сформировались специализированные механизмы полового отбора, поддерживающие видовое разнообразие. На примере мышей и водяных полевок показана способность самок к повышению собственной приспособленности посредством «оптимального» фенотипического подбора полового партнера, при скрещивании с которым оптимизируется плодовитость, а потомки характеризуются лучшим развитием адаптивных признаков [2]. Нельзя недооценивать и выбор самцом самки при формировании брачной пары, в особенности среди моногамных видов, у которых вклад отца в потомство тоже достаточно велик [3]. При этом в качестве важнейшего сигнального фактора при взаимодействии особей обоего пола выступают специфические запахи [4].

Целью исследования было сравнение репродуктивных характеристик в парах грызунов, составленных на основе предварительно установленного взаимного предпочтения партнеров, в сравнении с парами, составленными из случайно подобранных либо не предпочитающих друг друга особей. Поскольку взаимные предпочтения при формировании брачной пары могут иметь разное значение для реализации репродуктивного потенциала видов с разными системами социальных и репродуктивных отношений, в качестве модельных выбраны виды с отличающимися типами пространственно-этологической структуры популяций.

¹ Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 08-04-00732 и 09-04-01712) и программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» (проект № 23.6).

В опытах по программе исследований принимали участие представители трех видов грызунов: хомячок Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*), степная пеструшка (*Lagurus lagurus*) и узкочерепная полевка (*Microtus gregalis*). Все эти виды могут населять сходные по экологическим условиям степные биотопы, однако эволюционно сформировали разные системы социальных и репродуктивных отношений и обладают контрастными типами пространственно-этологической структуры популяций [5]. Хомячок Кэмпбелла — одиночный территориальный вид, предполагаемая система спаривания которого промискуитет [6]. В то же время имеются свидетельства, что у этого вида отцы могут принимать участие в заботе о потомстве [7]. Степная пеструшка — вид преимущественно моногамный [8–10]. Самец и самка в сезон размножения обитают вместе, а молодняк, достигнув самостоятельности, расселяется, формируя уже в это время разнополые пары [11]. Узкочерепная полевка — вид «колониальный», с семейно-групповым типом организации поселений [5].

Привлекательность партнеров оценивали в ольфакторных тестах, проводимых в период нахождения самок в состоянии эструса, определенного по цитологической картине вагинального мазка. Самкам предъявляли стимулы (подстилку) самцов и наоборот. Установка (ольфактометр) состояла из трех отсеков (13×13×13 см каждое), последовательно соединенных проходами 4×4 см. Образцы подстилки помещали в дистальные отделения ольфактометра, а в центральное помещали тестируемую особь. В течение 10-минутного теста регистрировали время пребывания тестируемого животного в каждом из отсеков. К предпочитаемому относили того из двух потенциальных партнеров (доноров запаха), чья подстилка исследовалась наибольшее время [9]. В соответствии с этим создавались репродуктивные пары на основе взаимного предпочтения (ВП) и на основе взаимного непредпочтения (НП). В случае степной пеструшки данную группу составляли случайно подобранные пары.

Для сравнительного анализа регистрировали репродуктивные характеристики ВП и НП пар. В частности, учитывали такие показатели, как латентное время покрытия (определяемое по времени от подсадки в пары до родов), прирост собственной массы тела самок за период беременности (т.е. без массы плодов) [12], плодовитость (размер выводка при рождении).

При статистической обработке использовали критерий χ^2 , однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Данные представлены в виде M \pm SEM. Принят уровень достоверности p<0,05.

Из 22 ВП пар степной пеструшки все успешно размножились, в то время как из 50 НП пар размножились только 40, или 80 % (χ^2_1 =5,11; p<0,03). Все девять ВП пар хомячков Кэмпбелла размножились, из восьми НП размножились только 5, или 62,5 % (χ^2_1 =4,10; p<0,05). В случае узкочерепной полевки размножились все 11 ВП и 10 НП пар.

Известно, что беременность самок хомячков Кэмпбелла длится 18-19 дней [6]. В первый день была покрыта одна самка в группе ВП и ни одной в группе НП. Беременность самок узкочерепной полевки длится 19-20 дней. В первый день ссаживания с самцом были покрыты 91% (10/11) самок в группе ВП и 70% (7/10) самок в группе НП.

У самок степной пеструшки в ВП парах прирост массы тела самок за период беременности оказался выше, чем в НП парах (44,4 \pm 6,9 % (n=14) и 30,4 \pm 3,5 % (n=31) соответственно; ANOVA: $F_{1, 43}$ =4,1; p<0,05). В группе же ВП пар хомячка Кэмпбелла прирост массы тела самок был достоверно ниже, чем в группе НП (13,4 \pm 3,5 % (n=9) и 28,3 \pm 3,4 % (n=5) соответственно; $F_{1, 12}$ =7,8; p<0,02). То есть в этом случае самки, спариваясь с непредпочитаемым партнером, аккумулируют в тканях тела больший метаболический резерв для последующей лактации. Прирост

массы тела за период беременности в группах ВП и НП у самок узкочерепной полевки не отличался $(46,1\pm5.9\% (n=11)$ и $45,8\pm3.1\% (n=9)$ соответственно).

У степной пеструшки число новорожденных детенышей у ВП пар было достоверно выше (p<0,003), чем у НП пар. Плодовитость ВП пар хомячков Кэмпбелла также была выше, чем НП пар, однако лишь на уровне тенденции (p<0,08), что мы склонны объяснять меньшей выборкой пар хомячков Кэмпбелла. Это согласуется с ранее полученными данными о более высокой плодовитости самок джунгарского хомячка и водяной полевки, спаривавшихся с предпочитаемыми самцами [13, 14]. Плодовитость ВП и НП пар узкочерепной полевки не отличалась (рис. 1).

Подводя итог, отметим, что самостоятельный выбор животными брачного партнера благоприятно сказывается на репродуктивных характеристиках родительских пар. Пары, сформированные на основе взаимных предпочтений, более успешно размножились. Самки из группы ВП пар степной пеструшки – моногамного вида – характеризовались большим приростом массы за период беременности и более высокой плодовитостью. Хомячки Кэмпбелла, ссаженные в пары по предпочтению, по-видимому, также характеризуются большей плодовитостью. Характерно, что самки этого вида из НП пар запасают больший метаболический резерв для последующей лактации, положительно влияя на жизнеспособность потомства, что может рассматриваться в качестве одного из возможных механизмов компенсации неблагоприятного сочетания партнеров. Не выявлено зависимости изученных репродуктивных характеристик у узкочерепной полевки, оказавшейся менее требовательной к подбору брачного партнера. Это может быть связано с особенностями колониального образа жизни вида, при котором формирование пар происходит вне связи со взаимными брачными предпочтениями, т.е. принципиально иначе, чем у видов, способных реализовывать активный взаимный выбор полового партнера.

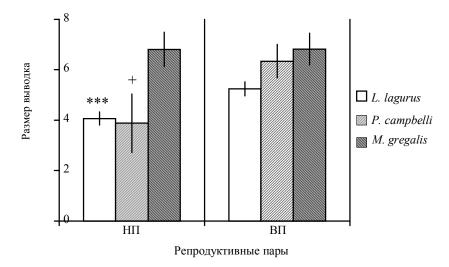


Рис. 1. Размер выводка при рождении в репродуктивных парах грызунов, сформированных на основе взаимного предпочтения партнеров (ВП) и отсутствия предпочтения (НП). *** – p < 0.003; + – p < 0.08.

Наши результаты еще раз подтверждают, что выбор брачного партнера не случаен и служит гарантией наиболее полного использования эволюционных выгод полового размножения и высокой эффективности действия разных форм отбора.

- 1. *Шилов И.А.* Принципы внутренней организации и биологическая роль пространственноэтологической структуры // Структура популяций у млекопитающих (Сер. Вопросы териологии). М.: Наука, 1991. С. 5–20.
- 2. Потапов М.А., Евсиков В.И. Генетико-физиологические взаимоотношения мать—плод и их влияние на адаптивные признаки потомков: Взгляд с третьей стороны // Современные концепции эволюционной генетики. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. С. 277–293.
 - 3. Kleiman D.G. Monogamy in mammals // Quarterly Review of Biology. 1977. Vol. 52, № 1. P. 39–69.
- 4. Penn D., Potts W. Chemical signals and parasite-mediated sexual selection // Trends in Ecology and Evolution. 1998. Vol. 13. P. 391–396.
- 5. Громов В.С. Пространственно-этологичесая структура популяций грызунов // М.: Тов-во научных изданий КМК, 2008. 581 с.
- 6. Феоктистова Н.Ю. Хомячки рода *Phodopus*. Систематика, филогеография, экология, физиология, поведение, химическая коммуникация. М.: Тов-во научных изданий КМК, 2008. 414 с.
- 7. Winne-Edwards K.E. Biparental care in Djungarian but not Siberian dwarf hamster (*Phodopus*) // Anim. Behav. 1995. Vol. 50. P. 1571–1585.
- 8. *Евсиков В.И.*, *Кокенова Г.Т.*, *Задубровский П.А. и др.* Моногамия как один из путей реализации адаптивного потенциала млекопитающих (на примере степной пеструшки, *Lagurus lagurus* Pallas) // Докл. акад. наук. 2006. Т. 411, № 5. С. 708–710.
- 9. Кокенова Г.Т. Влияние брачного подбора и длительного инбредного разведения на репродуктивные характеристики степной пеструшки (*Lagurus lagurus* (Pallas, 1773)): Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: ИСиЭЖ СО РАН, 2007. 120 с.
- 10. Громов В.С. Взаимодействия партнеров в семейных парах и забота о потомстве у степной пеструшки (*Lagurus lagurus*) в лабораторных условиях // Сиб. экол. журн. 2010. Вып. 1. С. 181–189.
- 11. Литвинов Ю.Н. Элементы территориального поведения степных пеструшек, осваивающих новые стации, в эксперименте // Поведение животных в сообществах. М.: Наука, 1983. С. 101–103.
- 12. Назарова Г.Г., Евсиков В.И. Влияние физического состояния матери в период беременности и лактации на постнатальный рост и репродуктивный успех потомков у водяной полевки (Arvicola terrestris L.) // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 2. С. 125–133.
- 13. Evsikov V.I., Nazarova G.G., Potapov M.A. Female odor choice, male social rank, and sex ratio in the water vole // Advances in the Biosciences: Chemical Signals in Vertebrates VII. Oxford: Pergamon, 1995. Vol. 93. P. 303–307.
- 14. *Евсиков В.И.*, *Потапов М.А.*, *Новиков Е.А.*, *Потапова О.Ф.* Видовые адаптации на примере взаимоотношений родители–потомки у млекопитающих // Эволюционная биология. Т. 1. Томск: ТГУ, 2001. С. 264–278.

Серия биологическая

МЕЗОФАУНА ЛЕСОСТЕПИ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

С.Ю. Князев

Рассматриваются биоразнообразие, трофические группы почвенной мезофауны лесостепной зоны в зависимости от провинциального деления Омской области.

GROVE BELT MESOFAUNA OF OMSK REGION

S.Y. Knyazev

Consider biodiversity, trophic groups of grove belt soil mesofauna, depending on the provincial division of the Omsk region.

На данный момент нами не встречены публикации по видовому составу и трофическим группам педобионтов Омской области. Следует также учесть, что и в целом по Западной Сибири написано не так много трудов по данной тематике, хотя состав и численность почвенных организмов являются важной составляющей любого биоценоза, определяющего качество и плодородие почвы, а значит, и растительный покров и его продуктивность, что крайне важно в сельском хозяйстве и для общего состояния экосистемы [1].

В данной работе отраженны современное состояние состава почвенной мезофауны Омской области и ее трофические группы согласно провинциальному делению на Северную, Центральную и Южную лесостепь по меридионально-климатическому принципу с учетом степени континентальности [2] и различие между видовым составом и преобладанием определенных трофических групп педобионтов, обитающих на плакорных территориях Барабинской и Ишимской провинций [3].

Исследования проводились в период 2009—2010 гг. В 2009 г. сбор коллекции осуществлялся под руководством к.б.н., доцента кафедры зоологии и физиологии ОмГПУ Е.В. Головановой. В 2010 г. сбор и определения всей коллекции проводились нами. Определение видов дождевых червей (Lumbricidae) производилось к.б.н. Е.В. Головановой. Виды моллюсков определял к.б.н., доцент М.В. Винарский. Общий объем работ составил в 2009 г. 140 проб размером $0.25 \times 0.25 \times 50$ см, в 2010 г. — 85 проб ($50 \times 50 \times 50$ см) по методу «конверта». Численность в пробах пересчитывалась на 1 m^2 . Отбор и фиксация материала осуществлялись по стандартной методике путем ручной переборки почвы [4]. Установление видов осуществлялось по определителю пауков В.П. Тыщенко [5], определителю семейств личнок жесткокрылых Е.А. Негробова [6], определителю насекомых европейской части СССР Б.М. Мамаева [7], определителю насекомых по личинкам Б.М Мамаева [8], жужелиц рода Сагаbus южной Сибири В.Г. Шиленкова [9], определителю

многоножек-костянок СССР Н.Т. Залесской [10], определителю дождевых червей фауны России Т.С. Всеволодовой-Перель [11]. Всего проанализировано 459 представителей почвенной мезофауны.

В ходе работы выяснено, что на территории лесостепной зоны Омской области в целом обитает всего 56 таксонов, принадлежащих к 3 типам беспозвоночных: кольчатые черви, моллюски и членистоногие. Дождевые черви представлены 6 видами. По численности и массе преобладает Aporrectodea caliginosa caliginosa (Savigny, 1826), но в северной лесостепи он уступает Eisenia nordenskioldi palida (Eisen, 1879), так как A. caliginosa предпочитает теплообеспеченные территории. В классе многоножек следует отметить типичный европейский вид Lithobius forficatus (Linпаеиѕ, 1758), который в связи с относительным смягчением климата в Южной Сибири стал продвигаться на восток. Для мелколиственных колковых лесов были характерны также геофилы, которые, как и Lithobius proximus (Seliwanoff, 1878), встречались единично, но отличались высокой встречаемостью в пробах. Комплексы пауков относительно разнообразны и включают в себя 9 семейств, особенно распространены пауки родов Pardosa и Clubiona. Среди насекомых наибольшим разнообразием отличались представители отряда жесткокрылых, представленные 12 семействами. Особенно богато видами семейство жужелицы, представленное 9 видами. Основное разнообразие жужелиц сосредоточено в подзоне центральной лесостепи Ишимской провинции (5 видов), в том числе и сухолюбивый Carabus glabratus (Paykull,1790). Среди стафилинид был отмечен европейский вид Paederus littoralis (Scheerpeltz, 1957). Личинки щелкунов встречались почти повсеместно, кроме участков с повышенной влажностью, в частности, в подзоне северной лесостепи Барабинской провинции. Взрослые же особи встречались не часто, например характерные для лесостепных районов Selatosomus aeneus (L., 1758) и Selatosomus spretus (L., 1758) [12]. Личинки отряда двукрылых (Diptera sp.) также присутствовали почти во всех подзонах, кроме самых засушливых районов подзоны южной лесостепи.

О состоянии комплекса почвенных организмов можно говорить, исходя из данных по трофическим группам. Если в комплексе доминируют зоофаги, то это говорит о том, что данная система находится в стадии угнетения. На самом же деле основой любой экосистемы являются сапрофаги, которые обеспечивают круговорот веществ в природе. Проанализировав состав и плотность каждой трофической группы различных биотопов, можно сделать вывод, что в каждом биотопе в большинстве случаев присутствуют все 3 группы: зоофаги, сапрофаги и фитофаги и не наблюдается биотопов с отсутствием сапрофагов или одних зоофагов. В подзоне северной лесостепи преобладают сапрофаги, следовательно, данный комплекс наиболее устойчив по сравнению с остальными. В подзоне южной лесостепи доминируют зоофаги, поэтому данный комплекс можно считать более подверженным негативному влиянию биотических и абиотических факторов. Наличие в сообществах зоофагов, сапрофагов и фитофагов сбалансировано в большинстве случаев, и пищевые цепи, складывающиеся внутри комплекса мезофауны, могут обеспечить высокую активность деструктивного звена биологического круговорота. Наиболее ярко этот баланс проявляется в подзоне центральной лесостепи (рис. 1).

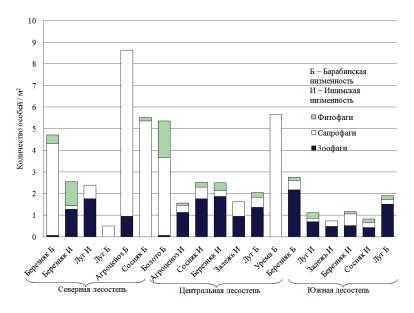


Рис. 1. Соотношение трофических групп по плотности

Сравнительный анализ видового состава педобионтов разных подзон и провинций на основании использования индекса общности фаун Жаккара — Малышева [13] показал, что наибольшее сходство наблюдается внутри провинции (таблица).

Сходство биотопов по фаунистическому составу провинций Омской области

			c	ев ерна	т песо ст	खाङ			Центральная лесостепь						10 жизж песостепъ					
		Бере жен: Берабенеска	Бережик Иштом сол	Лут Ишепиская	Лут Бара битескод	Агроценог барабинская	Сосия: Барабинская	Болото Бар абинское	Агроценоз Инвисова	Со силе Ишестская	Бере жис Иппем соля	Зале жа Иппенская	Лут Барабинская	Урема Барабенская	Бережия: Барабинская	By Humman	Залежа Ипвексоля	Бережиж: Ипписоз	Сосия: Ипписан	Лут Барабинскол
	Берелнак Барабинская	1,00																		
É	Берелняк Ишимская	0,06	1,00																	
Ě	Луг Ишевкиза	0,19	0,12	1,00																
ě	Лут Барабинская	0,57	0 00	0,00	1,00															
Северная лекостель	Агроценоз Барабинска я	0,18	0 00	0,00	0,33	1,00														
C	Сосняк: Барабинская	0,23	0 00	0,07	0,38	0,38	1,00													
	Болото Барабинска и	0,15	0 00	0,00	0,11	0,11	0,30	1,00												
	Агроценоз Ишимская	0,12	0,12	0,19	0.03	0,03	006	0,03	1,00											
Ē	Сосняк: Ишимская	0,09	0,20	0,16	obo	0,00	0,03	0,03	0,38	1,00										
Tec 0.0	Берелняк Ишимская	0,06	0,19	0,27	0,04	0,00	000	0,03	0,28	0,23	1,00									
Центральная лесостепь	Запежь Ишим ская	0,07	0 00	0,17	0.01	0,11	0.08	0,09	0,19	0,13	0,03	1,00								
100	Лут Барабинска я	0,07	0 06	0,07	obo	0,10	000	0,00	0,14	0,10	0,15	0,00	1,00							
Πe	Урема Барабинска и	0,22	0 00	0,00	0,50	0,20	0,13	0,14	0 08	0,08	0,04	0,00	0,00	100						
	Бередняк Барабинская	0,13	0 00	0,27	ops	0,17	0,13	0,06	0,20	0,15	0,13	0,06	0,21	000	100					
	Луг Ишимская	0,04	0,12	0,32	obo	0,05	000	0,00	9,18	0,18	0,14	0,04	80,0	000	0,17	100				
Южим лесотепь	Залежь Ишвомская	0,11	0,17	0,14	obo	0,14	000	0,05	0,19	0,17	0,20	0,13	0,05	0р7	11,0	0,07	1,00			
A TIES	Бередили Ишимскал	0,11	0,25	0,25	0,07	0,00	0.06	0,06	0,23	0,23	0,25	0,06	0,14	008	0,10	0,17	0,10	100		
Ожанев	Соснак Ишимская	0,17	0,11	0,22	obo	0,00	0,04	0,00	0,24	0,28	0,18	0,04	0,03	opo	11,0	0,17	0,15	0,28	1,00	
м	Луг Барабинская	0,00	0.07	0,11	000	0,00	900	0,00	0,10	0,13	0,06	0,00	0,00	000	0,13	0,13	0,00	000	0,00	1,00

Так, средняя (0,30-0,57) и низкая (0,15-0,30) степени общности фаун наблюдаются между разными биотопами внутри провинции, соответствующими макроморфоструктурам третьего порядка и участвующими в формировании региональной ландшафтной структуры [3] (Барабинская, Ишимская низмености). Индекс ниже 0,15 характерен для сходства внутри провинции по меридиально-климатическому принципу построения (Северная, Центральная и Южная лесостеп) [2].

- 1. Покаржевский Ф.Д., Гонгальский К.Б., Зайцев А.С., Савин Ф.А. Пространственная экология почвенных животных. М., 2007.
- 2. *Шрам В.Е.* Атлас Омской области. М.: Федеральная служба геодезии и картографии России, 1999.
- 3. Винокуров Ю.И., Цимбалей Ю.М., Красноярова Б.А. Физико-географическое районирование Сибири как основа разработки региональных систем природопользования // Ползуновский вестник. Барнаул, 2005. Вып. 4. С. 3–13.
 - 4. Гиляров М.С. Методы почвенно-зоологических исследований. М., 1975, С. 12-29.
 - 5. Тышенко В.П. Определитель пауков европейской части СССР. СПб., 1971.
- 6. Негробова Е.А., Негробов О.П., Негробов С.О. Определитель семейств личинок жесткокрылых европейской части России. Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2008.
 - 7. Мамаев Б.М. Определитель насекомых европейской части. СССР. М., 1976.
 - 8. Мамаев Б.М. Определитель насекомых по личинкам. М., 1972.
 - 9. Шиленков В.Г. Жужелицы рода Carabus Южной Сибири. Иркутск: Иркут. гос. ун-т, 1996.
 - 10. Залесская Н. Т. Определитель многоножек-костянок СССР. М., 1978.
 - 11. Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви фауны России: Кадастр и определитель. М., 1997.
- 12. Стриганова Б.Р., Порядина Н.М. Животное население почв бореальных лесов Западно-Сибирской равнины. М., 2005.
- 13. *Песенко Ю.А*. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М., 1982.

Серия биологическая

СТЕПНЫЕ РЕФУГИУМЫ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ В СЕВЕРНОМ ПРИАЗОВЬЕ: СОСТОЯНИЕ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОХРАНЕНИЯ

В.А. Кошелев

Рассматривается значимость сохранившихся степных участков в Северном Приазовье для выживания степных видов животных, необходимость их заповедования и улучшения охраны.

STEPPE REFUGIA VERTEBRATE ANIMALS IN THE NORTHERN AZOV: STATUS, EFFICIENCY AND PROSPECTS FOR CONSERVATION

V.A. Koshelev

The consider of significance preserved steppe sites in the Northern Azov for the survival of steppe species animals the need for their preserved and improve security.

Антропогенное преобразование степей на юге Украины, включая Приазовье, наиболее интенсивно проводилось в конце XIX в. - первой половине XX в., когда сплошной распашке было подвергнуто до 80-95 % территории Запорожской, Херсонской, Николаевской и Одесской областей. От былых степей различного типа ковыльных, типчаковых, полынных и разнотравных - остались небольшие по площади участки неудобий по склонам балок и берегам речек и на засоленных почвах. Проводимое во второй половине XX в. залесение региона через высадку придорожных и полезащитных лесополос и небольших по площади искусственных лесов также негативно сказалось на состоянии степных видов фауны региона. В последние десятилетия XX в. были осуществлены также масштабные мелиоративные работы по прокладке искусственных каналов, строительству крупных водохранилищ на реках, многочисленных прудов. Сооружены села и крупные города; плотность населения в регионе достигла 180 чел./км². В условиях антропогенно трансформированных ландшафтов с развитой инфраструктурой многочисленных дорог, электрических и телефонных линий смогли приспособиться лишь немногие видыстепняки. Среди млекопитающих следует отметить волка, лисицу, зайца-русака, белогрудого ежа, ласку, малого суслика, полевую мышь, обыкновенную полевку, численность которых высокая. Полностью исчезли степная лисица, степная пеструшка, хомяк. На грани исчезновения оказались степной хорь, большой тушканчик, обыкновенный слепыш, серый хомячок. Из птиц в агроландшафты перешли на гнездование серая куропатка, перепел, степной жаворонок, дрофа, степной журавль, желтая трясогузка. Другие виды исчезли из региона или сохранились как раритеты в немногих целинных степных участках. Так, прекратили гнездование степной орел, степной и полевой лунь, степная пустельга, большой кроншнеп, кречетка, степная тиркушка, черный, белокрылый, малый и серый жаворонки, стрепет.

К малочисленным видам относятся болотная сова, полевой конек, черноголовая овсянка, луговая тиркушка. Среди рептилий на грани исчезновения желтобрюхий полоз, степная гадюка, медянка. Некоторые из этих видов еще сохранились в степном Крыму. Многочисленна повсеместно на степных участках прыткая ящерица, а на морском побережье разноцветная ящурка [2, 3].

Исследования проводились нами в 1995–2010 гг. на территории Запорожской области на стационарных многолетних площадках как на природно-заповедных объектах, так и вне их путем однодневных выездов. Проводились учеты птиц на пеших и автомобильных маршрутах, поиск и изучение гнезд. Кроме того, в зимнее время обследованы сопредельные территории Херсонской и Донецкой областей в рамках проведения рождественских учетов зимующих птиц. Учеты млекопитающих проводились как визуально, так и по норам и экскрементам.

На степных участках Северного Приазовья за весь период работ нами отмечено 16 видов млекопитающих, 35 видов птиц, 5 видов рептилий. В сравнении с началом 20-го столетия число видов млекопитающих и птиц сократилось в 2 раза за счет исчезновения крупных или узко специализированных видов. Это связано как с разрушением и преобразованием ландшафтов человеком, так и прямым охотничьим преследованием и ростом фактора беспокойства. Следует отметить, что видовое богатство птиц во влажное лето 1998 г. было больше в 1,5 раза, а суммарное обилие больше в 2 раза, чем в предыдущие и последующие сухие сезоны.

Для сохранения биоразнообразия, включая степные виды животных и растений, в регионе создана и расширяется сеть природно-заповедных объектов. Однако несмотря на большое их количество, суммарная площадь заповедных территорий крайне мала, что хорошо видно на примере Запорожской области [1]. На 31.12.2009 г. в области насчитывалось 347 объектов природно-заповедного фонда, в том числе: природный заповедник – 1 («Каменные могилы» как филиал Украинского степного заповедника), национальный природный парк – 1, региональный ландшафтный парк – 1, заказники государственного значения – 11, заказники местного значения – 210, памятники природы – 217, заповедные урочища – 3, паркипамятники садово-паркового искусства – 21, зоопарки местного значения – 2. Все объекты имеют небольшую площадь, их общая площадь составила 53997,085 га, а процент заповедности по области – всего лишь 1,95. В 2010 г. был создан второй национальный природный парк «Приазовский» площадью 78126, 92 га, что подняло процент заповедности в 2,5 раза, но на 90 % за счет акватории Азовского моря и его лиманов. Из общего объема заповедных территорий в области для обитания степных видов животных имеют существенное значение менее 15 %. К ним можно отнести природный заповедник «Каменные могилы» (площадью 220 га, из которых 100 га находится в пределах Запорожской области и 120 га в Донецкой области), государственные заказники «Коса Обиточная» и частично заказник «Коса Федотовая», где на песчано-ракушниковых намывных почвах сформировались небольшие степные участки. Площадь ботанических заказников местного значения с остатками степной растительности составляет от 0,5 до 25 га, в среднем по 5 га, ландшафтных и общезоологических – от 5 до 45 га, в среднем 15 га. Ландшафтные заказники, созданные в регионе для сохранения залесенных балок, по площади больше, некоторые до 50-200 га, но собственно степные участки занимают в них всего 5-10 % площади. На сопредельных территориях Херсонской и Донецкой областей ситуация с заповедными объектами аналогичная [1].

Учитывая столь малые размеры заповедных участков, становится объяснимо следующее. С одной стороны, на них отмечается высокая плотность позвоночных животных даже на фоне их общей низкой численности в регионе. С другой – они чрезвычайно уязвимы на этих участках, что приводит к их гибели от антропогенных и природных факторов [2–4]. Их ареалы из сплошных превратились в диффуз-

ные и островные, что уже создает предпосылки для генетической изоляции и вырождения отдельных малоподвижных видов (слепыш, полозы и др.). В-третьих, ряд экологически пластичных видов-степняков сумел приспособиться к обитанию в антропогенно трансформированных ландшафтах, вместо природных местообитаний переселились как в худшие по качеству (на солончаки, пустыри, пастбища), так и в сходные с природными антропогенные местообитания (поля озимых культур, подсолнечника и кукурузы, многолетних трав). В-четвертых, произошло обеднение видового состава и структуры степных зоокомплексов, разрушение консортивных связей вследствие исчезновения отдельных видов или катастрофического снижения их численности. Наглядный пример — ситуация с резким снижением в 1999 г. численности малого суслика, что привело к исчезновению на 2–3 года каменкиплясуньи. На участки солончаков перешли гнездиться луговая тиркушка, полевой жаворонок.

Даже небольшие сохранившиеся степные участки площадью от 0,5 до 1–5 га играют важную роль для обитания мелких видов млекопитающих, птиц и рептилий; для крупных видов и хищников такой площади недостаточно. На небольших участках обитают слепыш, малый суслик, степной и полевой жаворонок, просянка. В зимнее время встречаются степной жаворонок, малый жаворонок, полевой жаворонок, серый жаворонок, редко — белокрылый жаворонок, лапландский подорожник, пуночка, рогатый жаворонок. С таких небольших степных участков уходят в сопредельный обширный однородный агроландшафт серая куропатка, дрофа, степной журавль. Сохранившиеся участки степной растительности по склонам, лиманам, солончакам, берегам рек подвергаются практически ежегодно выжиганию в июле — августе в самые жаркие и сухие месяцы, после чего утрачивают свое значение для животных, которые вынуждены откочевывать в соседние агроландшафты. Вблизи населенных пунктов ведется выпас крупного рогатого скота, реже овец, что приводит к перевыпасу и деградации степных участков. Это делает весьма проблематичным сохранение биоразнообразия степной фауны в регионе.

В последнее десятилетие в регионе отмечаются засушливые сезоны, что вызывает крупные изменения в характере степной растительности и, соответственно, фауны позвоночных. Процесс происходит буквально на наших глазах, что ярко проявляется в появлении новых видов [5] и нарастании численности ранее редких видов. К таким видам относятся курганник, полевой конек, просянка, черноголовая овсянка, возможно, стрепет. Часть их внесена в третье издание Красной книги Украины, что предусматривает организацию надежной охраны. Последнее возможно лишь на обширных заповедных территориях. Поскольку степных нетронутых участков в регионе крайне мало, первоочередной мерой должно стать восстановление их на месте сельскохозяйственных угодий, расположенных на неудобьях и малопродуктивных землях с последующим объявлением их самостоятельными заповедными объектами или, что гораздо перспективнее, присоединением к уже существующим объектам. Приоритетными в этом нарпавлении являются национальные природные парки «Великий луг» и «Приазовский», природный заповедник «Каменные могилы», имеющие высокий законодательный статус и гарантию на существование. Заказники, даже имеющие статус общегосударственных, создаются на определенный срок с возможностью его пролонгирования. В условиях нестабильной политической и экономической ситуации в стране перспективы дальнейшего существования многих заказников и памятников природы, прежде всего имеющих статус объектов местного значения, весьма проблематичны, особенно с введением в силу планируемых законов о свободной продаже земли в частную собственность. Более трети таких заказников числятся только на бумаге, часть их уже распахана или приватизирована, на территории других ведется хозяйственная деятельность.

Границы заказников не обозначены на местности, отсутствуют разъяснительные аншлаги, нет контроля за утвержденным охранным режимом.

- 1. *Атлас* объектов природно-заповедного фонда Украины. Киев, 2009. 156 с.
- 2. Кошелев А.И., Пересадько Л.В., Писанец А.М. и ор. Фрагментация и дефрагментация ландшафтов юга Украины и динамика биоразнообразия позвоночных животных // Матер. II Міжнар. наук.-практ. конф. «Динаміка наукових досліджень 2003». Т. 14. Екологія. Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2003. С. 3–6.
- 3. Кошелев А.И., Пересадько Л.В., Кошелев В.А. и др. Антропогенная трансформация ландшафтов Северного Приазовья, спады и подъемы численности фоновых видов позвоночных и их воздействие на структуру зооценозов // Биоразнообразие и роль зооценоза в естественных и антропогенных экосистемах: Матер. III Междунар. науч. конф. Днепропетровск: Изд-во ДНУ, 2005. С. 123–125.
- 4. Кошелев А.И., Кошелев В.А., Копылова Т.В. Причины массовой гибели птиц в Северном Приазовье и ее возможные последствия для состояния популяций // Матер. VI Міжнар. наук.-практ. інтернетконф. «Нові виміри сучасного світу». Т. 2. Мелітополь: Вид-во МДПУ, 2006. С. 57–62.
- 5. Кошелев А.И., Белашков \dot{U} , Д., Кошелев В.А., Копылова T.В. Новые и редкие виды наземных позвоночных на юге Запорожской области (1950—2009 гг.) // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: Матер. ІІ Междунар. конф. Запоріжжя, 2009. С. 49—50.

Серия биологическая

«ПАН ИЛИ ПРОПАЛ»: КАННИБАЛИЗМ, ЭФФЕКТ ГРУППЫ И СИНХРОННЫЙ ВЫХОД ЛИЧИНОК ИЗ ЯИЦ У ЖУКА-ЛИСТОЕДА

Д.А. Кучеров, В.Е. Кипятков

Экспериментально показано, что выход личинок Gastrophysa viridula из яиц синхронизован неким фактором, связанным с их нахождением в группе. В результате особи, развивающиеся немного медленнее, догоняют тех, кто вышли первыми, а развивающиеся слишком медленно — погибают из-за каннибализма.

TO WIN OR LOSE IT ALL: CANNIBALISM, GROUP EFFECT AND SYNCHRONOUS HATCHING IN A LEAF BEETLE

D.A. Kutcherov, V.E. Kipyatkov

It is shown experimentally that egg hatching in Gastrophysa viridula is synchronized by a certain factor connected with gregariousness. As a result, slightly slower individuals draw upon their fast-developing siblings, but those which develop too slowly, are cannibalized.

Самки щавелевого листоеда *Gastrophysa viridula* (De Geer), как и многих других видов в семействе Chrysomelidae (Coleoptera), откладывают яйца группами на растение. Личинки выходят почти одновременно, однако неясно, чем обусловлена эта синхрония. Можно ожидать, например, что длительность развития яиц, отложенных самкой за один раз, очень похожа. Тогда само расположение яиц в группе, где их у *G. viridula* обычно около 40 шт., создаёт иллюзию синхронного выхода, поскольку основная масса особей выходит через некоторое «среднее» время, прошедшее с момента яйцекладки.

Впрочем, всё может оказаться сложнее. Известно, что вышедшая личинка сначала поедает собственный хорион, а затем, если некоторые яйца задержались в развитии, может питаться и ими, и лишь после этого принимается грызть лист. Поедание личинками яиц — довольно распространённое явление даже у неплотоядных насекомых [1] и обнаружено у нескольких представителей рода *Gastrophysa*: *G. atrocyanea* [2], *G. polygoni* [3], *G. viridula* [4]. В частности, Кёрк [4] показала, что смешанное кормление личинок *G. viridula* листьями и свежими яйцами на протяжении всех трёх стадий повышает их выживаемость и скорость развития по сравнению с личинками, питающимися только щавелем. Каннибалы получают двоякое преимущество. В пределах своей кладки они сами обеспечивают жёсткий отбор против медленно развивающихся особей. В масштабе популяции отбор также может благоприятствовать каннибализму, но для подтверждения этого необходимо специальное моделирование. Эволюционный сценарий возникновения синхронно-

сти мог основываться на постепенной элиминации каннибалами медленно развивающихся особей: в конце концов скорость развития яиц должна достигнуть физиологического предела и более-менее сравняться у них всех. Интересно, что возникающая в каждом поколении изменчивость по скорости развития всё равно оказывается слишком широкой, и этот отбор продолжается до сих пор.

Наконец, может существовать специальный механизм, синхронизующий выход всей кладки: химическая или какая-либо иная коммуникация между особями. Поскольку вылупление происходит независимо от времени суток (собственные наблюдения), фотопериодическая синхронизация здесь исключается.

Для проверки этих гипотез мы провели простой эксперимент с лабораторной популяцией *G. viridula*. Сбор яиц проводили дважды в сутки, утром и вечером. Три кладки от каждой пары жуков распределяли случайным образом по трём вариантам: 1) контроль: вся кладка оставлена нетронутой; 2) кладка разделена на две равные или почти равные части (А и Б), которые находятся в разных чашках; 3) кладка разделена на две равные или почти равные части, одна из которых остаётся целой (А), а прочие яйца содержатся поодиночке, т.е. каждое в отдельной чашке (Б). Все кладки развивались в одной камере при температуре 15,9±0,1 °C, близкой к оптимуму развития, и 22 ч света в сутки. Вылупление личинок и число особей, съеденных каннибалами, фиксировали ежечасно. Наблюдение за кладкой прекращали, когда в ней не оставалось развивающихся яиц. Ввиду асимметричного распределения большей части данных для их описания мы обычно использовали медиану и минимум/максимум.

Мы получили 54 кладки от 22 самок. В первый вариант попало 19 кладок, во второй -18, в третий -17. Яиц в целой кладке было от 15 до 51 шт. (медиана 42 шт.). Из 2218 яиц вылупились 2052 личинки, т.е. общая успешность выхода 92,5 %. Продолжительность развития яиц *G. viridula* при 15,9 \pm 0,1 °C составила (\pm стандартное отклонение) 8,7 \pm 0,3 сут независимо от того, находились яйца в группе или же поодиночке (t-тест, p>0,2).

Вылупление большинства особей в группе, как правило, укладывалось в промежуток от 6 до 8 ч (таблица). Разделённые половины одной кладки (вариант 2, подварианты А и Б) обычно были синхронизованы немного по-разному: лишь в двух случаях из 18 в обеих половинах кладки вылупление началось в один и тот же час; в 14 случаях одна из половин запаздывала на 1–3 ч; дважды мы наблюдали, как вылупление в одной из половин начиналось лишь тогда, когда в другой оно уже закончилось. И всё же, учитывая, что при 15,9 °С яйца *G. viridula* развиваются дольше восьми суток, точность их синхронизации просто поразительна.

Как видно из таблицы, каннибализм — основной фактор смертности яиц *G. viridula*. Отметим, впрочем, что жертвами обычно оказывались нежизнеспособные яйца, и лишь в меньшей степени — развивающиеся яйца и только что вышедшие личинки. Это подтверждается и в варианте 3Б: мы устранили каннибализм, но смертность от этого не снизилась. Размер кладки не оказывал значимого влияния ни на число особей, погибших вследствие каннибализма, ни на синхронность выхода личинок; два последних параметра также оказались не связаны. Каннибализм начинал проявляться, самое раннее, на 4-й час после выхода первой личинки, но медиана и мода — на 7-й час. Это прекрасно совпадает с результатами всех вариантов, где яйца находились вместе. По-видимому, именно каннибализм в ходе отбора «синхронизовал» выход личинок *G. viridula* из яиц. Теперь же он не играет столь большой роли, на что указывают результаты варианта 3Б.

			Сме	ертность, %	Длительность выхода личинок в кладке, ч			
Вариа	ант	Число яиц	общая	из-за каннибализма	медиана	min–max		
1		742	7,4	6,9	8	5–16		
2A		386	8,6	8,3	7	4–12		
2Б	•	381	9,7	8,9	6	4–10		
3A		353	5,9	4,8	7	5–9		
3Б	;	356	7.7	_	12	10-23		

Смертность яиц и длительность выхода личинок в разных вариантах опыта

Содержание яиц поодиночке произвело заметный эффект: выход личинок из таких яиц был более растянут (см. таблицу). В большинстве случаев (10 из 17) их выход начинался на 1–5 ч позже, чем в неразъединённой половине той же кладки. В двух случаях это произошло одновременно в обеих половинах, в четырёх – первая личинка появилась из изолированного яйца на час раньше. Только в одном случае выход личинок в группе запоздал на 3 ч по сравнению с противоположным режимом.

В пределах кладки изменчивость по скорости развития действительно очень невелика, но синхронность выхода связана не только с быстрым развитием большинства личинок: если особей разъединить, истинные индивидуальные различия по продолжительности развития между ними становятся шире. Реннер [5] установил, что последовательность вылупления личинок щавелевого листоеда хаотична и не соответствует тому порядку, в котором были отложены яйца. Откладка кучки в 30-40 яиц занимает у самки около получаса, что значительно меньше, чем продолжительность даже самого синхронного вылупления личинок. Выход личинки ни в коей мере не означал, что следующими выйдут её ближайшие соседи по кладке, т.е. маловероятно, что стимулом к ускорению развития служило механическое раздражение; скорее всего, между особями существует химическая коммуникация. Так или иначе некоторый фактор ускоряет развитие яиц в одной кладке, «подгоняя» процесс выхода под вышеуказанные рамки от 6 до 8 ч. Тогда особи, развивающиеся немного медленнее, догоняют тех, кто вышли первыми, а развивающиеся слишком медленно – погибают из-за каннибализма. Природа синхронизующего фактора представляет несомненный интерес как объект дальнейшего исследования.

- 1. Richardson M.L., Mitchell R.F., Reagel P.F., Hanks L.M. Causes and consequences of cannibalism in noncarnivorous insects // Ann. Rev. Entomol. 2010. Vol. 55. P. 39–53.
- 2. Miyazaki M., Naito A. Studies on the biological control of Rumex obtusifolius L., a grassland weed, by Gastrophysa atrocyanea Mots. (Coleoptera: Chrysomelidae). III. Survival rate and mortality factors of G. atrocyanea // Bull. Nat. Grassl. Res. Inst. 1981. Vol. 20. P. 103–111.
- 3. Sotherton N.W., Wratten S. D., Vickerman G.P. The role of egg predation in the population dynamics of Gastrophysa polygoni (Coleoptera) in cereal fields // Oikos. 1984. Vol. 43. P. 301–308.
- 4. Kirk H.M. Cannibalism in a chrysomelid beetle, Gastrophysa viridula. PhD Dissertation. The University of Liverpool, 1988.
- 5. Renner K. Zur Fortpflanzungsbiologie und Embryonalentwicklung von Gastroidea viridula Deg. (Col. Chrysomelidae) // Zool. Anz. 1970. B. 185. S. 274–283.

Серия биологическая

ВОЗРАСТ ПЕРЕХОДА НА САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПИТАНИЕ САМЦОВ И САМОК ВОДЯНОЙ ПОЛЕВКИ $(ARVICOLA\ TERRESTRIS)^1$

Т.Е. Любая

Исследован возраст перехода на самостоятельное питание самцов и самок водяной полевки. Установлено, что он равен 15 дням и достоверно не отличается у самцов и самок.

THE AGE OF WEANING OF MALES AND FEMALES IN WATER VOLE (ARVICOLA TERRESTRIS)

T.E. Lyubaya

The age of weaning in water vole was investigated. It was clarified that age of weaning is 15 days and it did not differ significantly in males and females.

Период перехода на самостоятельное питание является важным не только для детенышей, но и для самок-матерей. Мелкие грызуны с их высоким метаболизмом способны создавать только небольшие запасы тела. Поэтому размножающейся самке необходимо оптимально распределить свои ресурсы на обеспечение собственной жизнеспособности, текущей и будущей репродукции, чтобы увеличить собственную приспособленность. В поздние сроки лактации обостряется конфликт между матерью и потомством [4]. Сокращение количества молока с увеличением возраста детенышей, снижение его энергетической стоимости, количества в нем белка и кальция и последующий переход детенышей на питание твердой пищей предотвращает опасное для жизни самки чрезмерное истощение организма.

Из литературных источников известно, что водяные полевки начинают пробовать твердую пищу вскоре после того, как у них открываются глаза (на 11–12-й день) [1, с. 57]. Также были получены данные, что на 13-й и 14-й день молодые полевочки еще сильно зависят от питания молоком матери. И только в возрасте 15 дней большинство детенышей способны потреблять и усваивать твердую пищу, сохраняя или увеличивая массу тела [2]. Существуют предположения, что новорожденные водяные полевки имеют половые различия по массе тела и что эта масса влияет на дальнейшее развитие [1, с. 55]. Поэтому, возможно, у водяных полевок есть и половые различия в возрасте перехода на самостоятельное питание.

Целью данной работы было определить: влияет ли пол детенышей водяной полевки на возраст перехода на самостоятельное питание.

Исследования проводили в 2009—2010 гг. на водяных полевках виварной колонии Учреждения РАН ИСиЭЖ СО РАН. Колония основана в 1984 г. и с тех пор для поддержания генетической гетерогенности регулярно пополняется особями из исходной популяции (окрестности д. Лисьи Норки Убинского района Новосибирской области). Животных содержали в клетках (25×25×48 см) при свободном доступе к

¹ Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (№ 08-04-00732-а).

воде и корму (зерновая смесь, морковь и свежая трава), при фотопериоде, приближенном к естественному. В качестве гнездового материала использовали сено.

Возраст перехода детенышей на самостоятельное питание определяли по методу Кинга [3]. Молодых полевочек экспериментальной группы отсаживали на одни сутки от матери (т.е. лишали их молочного вскармливания). До начала теста и после его окончания измеряли массу тела животных. Считается, что возраст перехода на самостоятельное питание наступил, если детеныш при отъеме от матери на сутки не теряет массу тела. В эксперименте использовали полевочек разного пола 13, 14 и 15-дневного возраста (день рождения считался 0-м днем). Контрольных животных такого же возраста оставляли с матерью (таблица).

Возраст, дни	Or	ΙЫΤ	Контроль		
	самки	самцы	самки	самцы	
13-й	11	12	31	12	
14-й	15	12	24	20	
15 ∺	13	12	17	16	

Объем выборки

Установлено, что в экспериментальных группах и самцов, и самок доли детенышей, которые не теряли массу тела за время опыта, достоверно не отличались и увеличивались от 13-го к 15-му дню жизни, а в возрасте 15 дней они не отличались от долей в контроле (рис. 1). Также достоверно не различались средняя величина прироста массы тела самцов и самок экспериментальных групп (рис. 2).

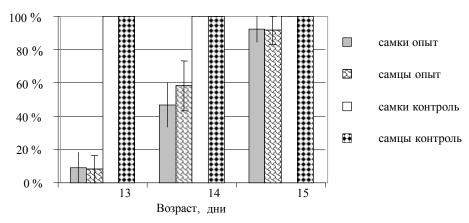


Рис. 1. Доля детенышей, масса которых не уменьшилась за время опыта

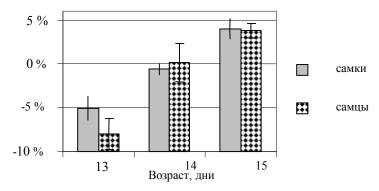


Рис. 2. Относительный средний прирост массы тела самцов и самок экспериментальных групп за сутки

Зоология 147

Из полученных результатов можно сделать вывод, что развитие самцов и самок в этом возрасте происходит синхронно. Нет какого-либо преимущества одного из полов, связанного с потреблением пищи в этот важный период жизненного цикла. Можно предположить и отсутствие смещения соотношения полов, которое могло быть результатом естественного отбора в отношении возраста перехода на самостоятельное питание, зависимого от пола.

- 1. Водяная полевка: Образ вида / Под ред. П.А. Пантелеева. М.: Наука, 2001. 527 с.
- 2. *Любая Т.Е.* Возраст перехода на самостоятельное питание детенышей водяной полевки (*Arvicola terrestris*) // Тез. докл. XVII Всерос. молодежной науч. конф. «Актуальные проблемы биологии и экологии». Сыктывкар, 2010. В печати.
- 3. King J.A., Deshaies J.C., Webster R. Age of weaning in two subspecies of deer mice // Science. 1963. Vol. 139. P. 483–484.
 - 4. Trivers R.L. Parent offspring conflict // Amer. Zool. 1974. Vol. 14. P. 249–264.

Серия биологическая

СЕЗОННЫЕ АСПЕКТЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЛУГОВЫХ ПТИЦ СЕВЕРНОГО ПРИАЗОВЬЯ

Т.И. Матрухан

Раскрывается сезонная динамика экологической структуры орнитокомплексов лугов в поймах малых и средних рек Приазовья.

SEASONAL ASPECTS OF THE ECOLOGICAL STRUCTURE OF MEADOW BIRDS NORTHERN AZOV

T.I. Matruhan

The present research shows the seasonal dynamics of the ecological structure of ornithological complex meadows in the floodplains of small and medium-sized rivers Priazovya.

За последние 100 лет в связи с хозяйственной деятельностью человека резко увеличилась мозаичность ландшафтов юга Украины. Это привело к образованию и существованию новых типов орнитокомплексов, как стабильно существующих на протяжении длительного периода (городские, сельские, сельскохозяйственные), так и временных, или эфемерных, существующих короткий промежуток времени с частой сменой местонахождения. Структура ландшафтов пойм малых рек создает благоприятные условия для обитания многих видов позвоночных животных. При этом важная роль в биогенном круговороте веществ принадлежит орнитонаселению этих местообитаний.

Исследования проводились в 1988–2009 гг. в Запорожской области кафедрой зоологии МГПУ, в том числе с нашим участием в 2006–2009 гг. на р. Молочной и р. Арабка (Мелитопольский р-н), р. Малая Токмачка и р. Конка (Ореховский р-н), р. Гайчур (Пологовский и Гуляйпольской р-ны) и р. Обиточная (Приморский р-н).

Гнездовой аспект. В течение периода исследований в пределах исследуемого участка на р. Молочной обнаружено 62 гнездовых вида птиц из 8 отрядов. Наибольшая доля видов, несмотря на специфику биотопов, — это птицы, гнездование которых связано с тростниковыми зарослями (45,2 %), птицы травостоя составляли 17,7 %, птицы, гнездования которых связаны с древесными насаждениями, — 14,5 %, гнездящиеся на технических сооружениях — 11,3 %, на открытых песчаных отмелях — 3,2 % и виды со смешанными типами гнездования — 8,1 %.

По количеству видов, которые распределены по основным стациям, гнездовой орнитокомплекс поймы р. Молочной в пределах с. Светлодолинское имеет следующий вид: тростниковые заросли -32 вида, открытые песчаные отмели -2, увлажненные, заболоченные луга -15, кустово-древесная растительность -10, отдельные строения (мосты, здания, ЛЭП) -7, виды со смешанным гнездованием -5. Все гнездовые стации поймы, исключая только кустово-древесную растительность и гнездования птиц на отдельных строениях, уязвимы и полностью зависят от общего гидрологического режима реки. Большинство пойменных лугов долины рек

Зоология 149

Молочная и Арабка граничат с группами кустарников и отдельными деревьями, а также с агроландшафтами и пашней. Это создает мозаичный характер территории и заметно влияет на распространение и гнездование многих видов птиц. Характер трофических и территориальных связей птиц с луговыми биотопами позволяет выделить несколько экологических групп. В самой общей форме их можно свести к двум: а) облигатные виды — постоянно находятся (гнездятся и кормятся) на лугах в гнездовой период: жаворонок полевой (Alauda arvensis L.), луговой чекан (Saxicola rubetra L.), перепел (Coturnix coturnix L.), трясогузки желтая (Motacilla flava) и черноголовая (Motacilla feldegg) и др.; б) факультативные — используют луга только как кормовую территорию: ласточка сельская (Hirundo rustica L.), скворец обыкновенный (Sturnus vulgaris L.), аист белый (Ciconia ciconia), белая трясогузка (Motacilla alba) и др. Большинство факультативных видов использует луга как кормовую территорию в период начальной стадии роста растений или некоторое время после их выкашивания.

На лугах в пойме р. Арабка, граничащих с лесными массивами, часто кормятся лесные виды: зяблики, синицы, сойки, а вблизи населенных пунктов — врановые, сизый голубь, деревенская ласточка. Скворцы из населенных пунктов по берегам р. Молочной кормятся исключительно на окружающих лугах и пастбищах.

К видам, которые наиболее тесно связаны с различными типами луговых биотопов и их экотонов, в которых имеются травостои разной высоты, заболоченные и сухие эрозионные участки, принадлежат чеканы луговой и черноголовый. Эти виды являются хорошими индикаторами состояния пастбищных экосистем. Луговой чекан положительно реагирует на наличие щавеля, подтверждающего ценность открытых биотопов [3].

Экотоны луговых участков являются важными гнездовыми биотопами для ряда птиц, среди которых просянка, коноплянка, чеканы луговой и черноголовый, а другие только прилетают на пастбища с целью поиска корма — аист белый, скворец обыкновенный. Зарастание отдельных участков пастбищ высокой растительностью приводит к улучшению условий кормодобычи у чекана лугового, коростеля, перепела, но ухудшает для аиста белого, скворца, трясогузки желтой.

Следовательно, в пойме р. Молочной более 62 видов птиц используют экотон луговых экосистем как постоянные места получения корма или размножения, а в пойме р. Арабка — 45 видов. На лугах пойменного происхождения преобладают виды, связанные с водно-болотными биотопами (аист белый, чибис), а обычны охотничьи виды (перепел, куропатка серая). В современных условиях существует необходимость специального менеджмента и сохранения пастбищных экосистем. В результате наших исследований установлено, что наличие на пастбищах одиночных кустарников способствует обогащению видового разнообразия гнездящихся птиц.

По типу гнездования в орнитокомплексах пойм 34 вида (54,8 %) гнездится в тростниках, из них 14 видов могут устраивать гнезда в различных местах, 22 вида (35,5 %) – гнездящиеся на земле, 5 видов (8,1 %) дуплогнездников, 7 видов (11,3 %) гнездится на деревьях, 8 видов (12,9 %) – на технических сооружениях.

В тростниковых зарослях из гнездящихся 32 видов гнездятся на земле 6 видов (18,75%) (гусь серый, кряква, варакушка, овсянка тростниковая, чекан черноголовый, желтоголовая трясогузка) и на деревьях 1 вид — сорока (3,1%). На открытых песчаных отмелях гнездятся на земле: зуек морской и тиркушка луговая (100%). Орнитофауна увлажненных, заболоченных лугов представлена 15 видами, из них 14 видов (93,3%) гнездится на земле и 5 видов (33,3%) — на стеблях тростника. Кустово-древесный биотоп населяют 10 видов: 2 вида — гнездится на земле, 7 видов — на деревьях, 1 — на технических сооружениях, 2 вида — в тростнике. В отдельных технических сооружениях гнездится 7 видов: дуплогнездников — 5 видов (71,4%),

1 вид (14,3%) – хохлатый жаворонок – гнездится на земле и на технических сооружениях – 6 видов (85,7%).

В орнитокомплексах поймы реки Молочной доминируют птицы, питающиеся беспозвоночными, -85,5% (53 вида); растительноядные птицы составляют 29% (18 видов); рыбоядные -22,6% (14 видов); мышевидными грызунами питаются 6,5% (4 вида) и орнитофаги -1,6% (1 вид) - болотный лунь.

Существенным фактором, влияющим на численность птиц поймы реки, являются характер гидрологического режима и интенсивность антропогенного воздействия, что приводит к нарушениям структуры мест обитания птиц, изменению мозаичности и кормности [1, 2].

Миграционный аспект. Выявлено 40 видов мигрантов. На весенних пролетах доминируют турухтан, желтая трясогузка, чибис, камышевки большая и тростниковая, камышница, лысуха, цапля серая; субдоминанты — травник, чироктрескунок, малая белая цапля, кряква. Как и в гнездовой период, орнитокомплексы тростниковых зарослей и увлажненных лугов имеют сходный видовой состав (трясогузка желтая, лысуха, серая цапля, малая белая цапля и камышевки дроздовидная и тростниковая).

На осеннем пролете доминируют фифи, черныш, жаворонок полевой, камышевки дроздовидная и тростниковая, скворец.

Зимний период. С наступлением холодного времени года луговые орнитокомплексы резко беднеют. Обнаружено до 6 видов птиц, среди них фоновые фазан, куропатка серая, лунь полевой и мохноногий канюк.

Итак, для орнитофауны лугов характерна резкая сезонная динамика как качественного так и количественного состава. Гнездовые орнитокомплексы насчитывают 62 вида, зимние — 6, во время осенне-весенних миграций — 40 видов. Наиболее стабильными являются гнездовые орнитокомплексы, которые существуют на протяжении 2—3 месяцев, а наиболее динамичными — миграционные и зимние орнитокомплексы

По ярусами сбор корма птицами в поймах р. Молочной и р. Арабка существенно различается, около 35 % видов собирает пищу на земле; в тростниках – 20 %, на кустах – 10 % и часть птиц кормится в прилегающих селах – 35 %. Осенью и зимой на первое место выходят птицы, кормящиеся на кустах, особенно большая синица. В гнездовой период, в период весенних и осенних миграций преобладают птицы, питающиеся беспозвоночными, на втором месте – фитофаги, а в зимний период доминируют птицы, поедающие растительную пищу и мышевидных грызунов.

Луговые орнитокомплексы являются специфическими по видовому разнообразию и экологической структуре в сравнении с комплексами сопредельных территорий. Для них характерны многократные изменения видового состава. Луговые орнитокомплексы в силу мозаичности места обитания привлекают птиц из соседних комплексов и поэтому имеют сложную структуру.

- 1. Вронский Н.В. Размещение и количественная характеристика населения птиц долины реки Камчатки // Орнитология. М.: Изд-во МГУ, 1977. Вып. 13. С. 12–21.
- 2. Кошелев А.И. Многолетняя и сезонная динамика орнитокомплексов плавней р. Молочной (Северное Приазовье) // Памяти профессора Александра Александровича Браунера. Одесса: Астропринт, 1997. С. 110–115.
- 3. Станявичюс В.В. Численность, структура и особенности пространственного распределения населения птиц в сообществах надводной растительности // Экол. птиц Лит. ССР. Вильнюс, 1987. Вып. 4. С. 134—143.

Серия биологическая

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ ПОСЕЛКОВ ПРИКЕТЬЯ

В.А. Новокрещенных

По результатам исследований, осуществленных в 6 населенных пунктах Прикетья, проведен сравнительный анализ плотности населения птиц, состава доминантов и видового богатства птиц.

COMPERATIVE CHARACTERISTIC BIRDS POPULATION OF THE NEAR KET' REGION'S VILLAGES

V.A. Novokrechshennych

The comparative analysis of ornitocomplexes have been lead in the result of investigations carried in 6 villages of the near Ket`region`s. The next parameters have been examined: population density, structure of dominants on an abundance and specific riches of birds.

Исследования проводились на территории Верхнекетского района Томской области в мае – июле 2008-2010 гг. Население птиц изучалось в 6 поселках Прикетья: Катайга (верховья), Степановка, Максимкин Яр, Белый Яр (среднее течение), Кузурово, Палочка (низовья). Белый Яр – крупный поселок городского типа, райцентр; Катайга и Степановка – крупные поселки сельского типа, в прошлом лесопромышленные центры района; Палочка – небольшой поселок с населением менее 500 человек; Максимкин Яр – полузаброшенная деревня (проживает 3 человека); Кузурово – заброшенная в 80-х годах прошлого века деревня.

Учеты птиц производились на пеших маршрутах по методике Ю.С. Равкина (1967). Норма учета составила 5 км в каждом местообитании с двухнедельной повторностью. Суммарная протяженность маршрутных учетов — 80 км. Данные по обилию птиц усреднялись за первую половину лета. Обработка материалов проводилась по стандартным компьютерным программам в Банке коллективного пользования ИСиЭЖ СО РАН.

Суммарное обилие птиц, как правило, зависит от величины поселка и плотности населения людей. Наибольшие показатели зарегистрированы в приречном поселке Белый Яр (867 особей/км²). Для него характерны наличие многоэтажных каменных зданий, большая площадь; развита деревообрабатывающая промышленность.

Немного ниже этот показатель в пос. Степановка (823), который уступает по площади предыдущему поселку. Степановка – поселок с численностью населения более 2,5 тыс. человек, расположен в 2 км от Кети и занимает низинное положение в рельефе, представлен широкими улицами с деревянными жилыми домами, немногочисленными двухэтажными каменными строениями; имеются обширные огороды, заросли кустарников, заболоченные участки, а также заброшенные животноводческие и промышленные комплексы. Повсюду встречаются развалины зданий и сооружений.

Средними значениями суммарной плотности населения птиц характеризуется жилой поселок Катайга в верховьях Кети (685), который меньше Степановки по

площади почти в два раза, население составляет 1,5 тыс. человек, поселок также находится в непосредственной близости от реки, повсюду имеются брошенные дома, многочисленные развалины, захламленные участки и скопления древесины.

Небольшой жилой поселок Палочка составляет исключение: в нем зарегистрированы относительно высокие показатели суммарного обилия птиц (813). Поселок расположен вблизи реки, имеются двухэтажное здание администрации, несколько улиц с деревянными жилыми домами, пилорама, поселок окружен лугами, перелесками.

Показатели плотности птиц напрямую связаны со степенью заброшенности поселка. Наименьшие значения плотности населения птиц отмечены в полузаброшенной деревне Максимкин Яр (355) и заброшенной деревне Кузурово (351).

В жилых поселках доминируют, как правило, синантропные виды. Доминантом в пос. Белый Яр и Степановка является домовый воробей (24 и 26% от суммарного обилия птиц). Содоминантом ему выступает в Степановке деревенская ласточка (15), в Белом Яре – обыкновенный скворец (14) и полевой воробей (12). В Катайге и Палочке лидирует по обилию деревенская ласточка (25 и 31), кроме того, в Катайге – домовый воробей (14) и обыкновенный скворец (10), в Палочке – садовая камышевка (16) и полевой воробей (11).

В заброшенных поселках наблюдается доминирование несинантропных видов птиц. Близость высокого берегового обрыва с крупной колонией береговой ласточки в д. Максимкин Яр обусловливает высокое ее обилие (38%). Кроме того, здесь лидируют желтая трясогузка (16), деревенская ласточка (15) и лесной конек (10). В Кузурово абсолютным лидером выступает садовая камышевка (42); заросли кустарников и рудерального высокотравья создают для нее здесь благоприятные условия.

Не прослеживается зависимости видового богатства от величины поселка. Высокие значения зарегистрированы в Катайге, Степановке и Кузурово (43–47). Средними значениями видового богатства характеризуются пос. Белый Яр и Палочка (по 39). Наконец, наименьшие показатели отмечены в полузаброшенной деревне Максимкин Яр (29).

Литература

1. *Равкин Ю.С.* К методике учета птиц в лесных ландшафтах // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. Новосибирск: Наука, 1967. С. 66–75.

Серия биологическая

ТИХОХОДКИ МЕЛКОВОДНОЙ ЗОНЫ ЗАПАДНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ЮЖНОГО БАЙКАЛА

О.В. Попова

Приводятся данные о малоизученной группе беспозвоночных животных — Tardigrada из оз. Байкал. Рассматриваются видовой состав, характеристики численности, биомассы и встречаемости, динамика количественных показателей в вегетационный период и распределение их в толще грунта.

TARDIGRADES IN THE SHALLOW ZONE OF SOUTH BAIKAL

O.V. Popova

In article the data about group of invertebrates – Tardigrada from the lake Baikal, being a constant component of meiobenthos is presented. The specific structure, characteristics of number, a biomass and occurrence, dynamics of quantity indicators during the vegetative period and their distribution in thickness of a ground is considered.

Тихоходки являются одной из наименее изученных групп современных беспозвоночных. Они интересны при рассмотрении вопросов филогении членистоногих, в вопросах теоретической систематики, как индикаторы загрязнения и др. Фауна тихоходок отдельных регионов России, в частности Сибири, системно не изучалась. В экосистеме оз. Байкал тардиграды являются обычным компонентом мейобентоса. На сегодня здесь описано 11 видов и подвидов тихоходок [2]. В некоторых работах [3, 4] они упомянуты при изучении мейобентоса. Однако сведения по видовому разнообразию и экологии тихоходок Байкала следует считать предварительными из-за недостатка их изученности [2]. В связи с этим нами проведено изучение фауны и особенностей экологии псаммофильных тихоходок (Tardigrada) мелководной зоны южного Байкала. Материалом для исследования послужили пробы мейобентоса, собранные в мелководной литорали и заплесковой зоне песчаных пляжей (супралиторали) западного побережья южного Байкала (Иркутский район, залив Большие Коты) в июне – сентябре 2008 г. и в июле и сентябре 2009 г. Количественные пробы отбирались с помощью дночерпателя Uwitec corer конструкции, с площадью захвата 0,003 м². Постоянные препараты изготавливались в жидкости Фора-Берлизе по методике, рекомендованной В.И. Бисеровым [1]. Биомасса определялась на основании длины тела тардиград [8]: $w(Mr) = 0.051 \cdot L^3(MM)$.

В мелководной зоне южного Байкала были найдены представители 9 форм Tardigrada – 3 из них, отмеченные ранее для данной акватории [2, 5], были идентифицированы до вида, 3 – до рода, а остальные формы определить не представилось возможным из-за отсутствия четких определительных признаков. Два из найденных видов принадлежат к семейству Hypsibiidae (*Isohypsibius baicalensis* (Ramazzotti, 1966), *Isohypsibius irregibilis* Biserov, 1992), а третий вид входит в состав семейства Eohypsibiidae (*Bertolanius markevichi* (Biserov, 1992)) [6, 7]. Все выявленные виды являются эндемиками Байкала [2]. Три неопределенные формы тихоходок принадлежат к роду *Isohypsibius* и во многом напоминают *I. irregibilis*, но

имеют некоторые морфологические отличия. Так, одна форма отличается от типового вида *I. irregibilis* наличием 6 рядов вытянутых макроплакоидов вместо трех коротких. Другая несет на третьем макроплакоиде перетяжку, не характерную для *I. irregibilis*. Третья отличается интенсивной коричневой окраской. Более глубокое изучение этих форм даст возможность определить их таксономический статус.

Нами установлено, что для *Bertolanius markevichi* некоторые морфометрические характеристики не соответствуют первоописанию [5]: пределы значения общей длины тела расширились с 532,0–743,0 до 286,8–942,3 мкм; средняя длина макроплакоидов составила: M1 – 9,3; M2 – 9,8; M3 – 11,3 мкм (аббревиатура по [2]), а внутренний диаметр ротовой трубки в области точек прикрепления стилетных опор (S) – 8,0 мкм. Кроме того, высоты внешнего и внутреннего коготков 4-й пары ног составили: He – 22,8; Hi – 18,4 мкм; средние значения длины ротовой трубки (T) – 52,7 мкм и расстояния от места прикрепления внешнего и внутреннего коготков к ноге до точки раздвоения ветвей 4-й пары ног (Fe, Fi) – 10,8 и 9,2 мкм. Для *I. irrigibilis* значения длины макроплакоидов и высоты внешнего коготка 4-й пары ног в наших исследованиях имели более низкие значения (M1 – 4,6; M2 – 3,9; M3 – 5,4; He – 30,0 мкм). Настоящее уточнение метрических характеристик необходимо использовать в определении видов.

В литорали тихоходки встречаются в 87 % проб и представлены тремя вышеуказанными видами. Численность тихоходок колеблется от 1,5 до 320 тыс. экз./м²; биомасса — от 3 до 420 мг/м². Пределы изменчивости численности *I. irregibilis* от 0,5 до 265 тыс. экз./м², биомассы — 0,3—302 мг/м²; *B. markevichi* — от 0,5 до 76 тыс. экз./м² и 0,2—175 мг/м²; *I. baicalensis* — 0,7—1,8 тыс. экз./м² и 4—7 мг/м² соответственно. В большинстве случаев (от 55—80 % проб на разных участках) *I. irregibilis* является преобладающим видом (по численности его доля составляет от 55 до 100 %; по биомассе — от 56 до 100 %). В некоторых сообществах более заметным становится преобладание *В. markevichi*, как по численности (доля доминирования 50—100 %, преобладает в 50 % проб), так и по биомассе (доля доминирования от 50 до 97 % в 79 % проб). Значения численности и биомассы тардиград в каменистой литорали [3] значительно уступают таковым с песчаных биотопов, и можно судить о предпочтении тихоходками песчаного грунта, где они предпочитают более мелкий гранулометрический состав.

В сообществах мейобентоса супралиторали встречаемость тихоходок совпадает с таковой литорали (86 %). Здесь найдены представители 5 форм, 2 из них определены до вида (*Isohypsibius irregibilis*, *Bertolanius markevichi*), 3 — до рода (встретились единично). Максимальные (80 тыс. экз./м 2 , 220 мг/м 2) и средние (13 тыс. экз., 45 мг/м 2) значения численности и биомассы тардиград супралиторали достоверно ниже, чем в литорали, на основании чего можно судить о меньшем развитии сообщества тардиград в заплесковой зоне. На видовом уровне по-прежнему остается преобладание вида *I. irregibilis* над *B. markevichi*.

Наиболее высокие показатели численности и биомассы тихоходок литорали в вегетационный период были отмечены в июне, постепенно снижаясь к сентябрю. Такое распределение соответствует динамике температуры воды Байкала в исследуемые месяцы — в июне она минимальна, а в августе максимальна, в сентябре вновь снижается. Для *I. irregibilis* картина динамики соответствует общей для тардиград, но для *B. markevichi* она иная: пик их численности наблюдается в июне и августе, а биомассы — в июне и сентябре.

Изучение стратификации тардиград супралиторали в толще грунта выявило, что в верхних слоях грунта сосредоточено от 1 до 55 % численности всех животных (в среднем около 30 %), а на глубине от 3 до 6,5 см — до 70 % численности, что связано с недостатком влажности в верхних слоях и нехваткой кислорода в нижних слоях грунта. Ниже 7,5 см происходит резкое снижение численности тардиград, но единичные находки наблюдаются вплоть до 18 см.

Зоология 155

- 1. *Бисеров В.И*. Фауна тихоходок европейской части России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 1989. 22 с.
- 2. Бисеров В.И. Тихоходки / В.И. Бисеров, А.Л. Дудичев // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Новосибирск: Наука, 2004. Т. 1, кн. 2. С. 929–936.
- 3. *Окунева Г.Л.* Сезонные изменения мезобентоса на каменистой литорали (район пос. Большие Коты) // Продуктивность Байкала и антропогенные изменения его природы. 1974. С. 137–152.
- 4. *Тахтеев В.В.* Характеристика донного населения глубинной зоны Байкала / В.В. Тахтеев [и др.] // Экология. 1993. № 6. С. 60–68.
- 5. Biserov V.I. A new genus and three new species of tardigrades (Tardigrada: Eutardigrada) from the USSR // Boll. Zool. 1992. Vol. 59. P. 95–103.
- 6. Degma P. Notes to the current checklist of Tardigrada. / P. Degma, R. Guidetti // Zootaxa. 2007. № 1579. P. 41-53.
- 7. Guidetti R. Tardigrade taxonomy: an updated check list of the taxa and a list of characters for their identification / R. Guidetti, R. Bertolani // Zootaxa. 2005. № 845. P. 1–46.
- 8. *Thorkil E.H.* Tardigrada of the soil and litter of Danish beech forest / E.H. Thorkil, W.Y. Gregor // Pedobiologia. 1972. Vol. 12. P. 287–304.

Серия биологическая

ЗАВИСИМОСТЬ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПТЕНЦОВ ОХОТНИЧЬЕГО ФАЗАНА ОТ РАЗМЕРОВ ЯИЦ

Д.А. Фролов, А.П. Корж

Рассматриваются особенности роста и набора массы тела птенцов охотничьего фазана в зависимости от массы яиц, заложенных на инкубацию. Установлено, что отличия в размерах между группами птенцов, достоверные вначале, исчезают к концу первого месяца выращивания.

DEPENDENCE OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF BABY BIRDS OF THE HUNTING PHEASANT ON THE SIZES OF EGGS

D.A. Frolov, A.P. Korzh

Features of growth and set of weight of a body of chick of the hunting pheasant depending on weight of the eggs put on incubated are considered. It is established that differences in sizes between groups of baby birds, authentic in the beginning, disappear by the end of the first month of cultivation.

Изучение особенностей осуществления онтогенеза имеет огромное как теоретическое, так и практическое значение. Правильно организованный контроль ростовых процессов позволяет своевременно выявлять отклонения в развитии и вводить корректировки в условия выращивания животных. В частности, нами ранее было установлено наличие зависимости в интенсивности развития птенцов охотничьего фазана от уровня сырого протеина в используемых кормосмесях, а также от некоторых других параметров [1].

В то же время существуют данные о том, что окончательные размеры птиц зависят от размеров их яиц [2]. Нами были получены предварительные данные о зависимости выводимости и размеров суточных птенцов охотничьего фазана от размеров яиц, заложенных на инкубацию [3]. Таким образом, особый интерес вызывает вопрос о возможном влиянии весовых и метрических характеристик яйца на последующие ростовые процессы фазанят.

В фазановодстве, как и в любой другой отрасли зоокультуры, существуют нормативные требования к инкубационному яйцу [4, 5]. Это связано с тем, что размеры яиц значительно сказываются на выводимости и сохранности птенцов. В то же время огромное количество яиц (на некоторых фазанариях Украины свыше 50 %) по массе не достигает 30 г — нижней границы существующих нормативов. Подобные данные о значительно меньшей массе в сравнении с нормативным имеется и в другой литературе [6]. Поэтому возникает чисто практический интерес оценки пригодности к инкубации яиц с меньшей массой в сравнении с существующим нормативом.

Целью нашей роботы было изучение зависимости роста и развития птенцов охотничьего фазана от размеров яиц, заложенных на инкубацию.

Зоология 157

Материал собирался на базе фазанария охотничьего клуба «Скиф», расположенного в Херсонской области (Украина), в 2010 г. Инкубационные яйца охотничьего фазана были разделены по массе на три группы: малые яйца (с массой до 28,4 г), средние (28,5–30,5 г) и крупные (свыше 30,6 г). Из морфометрических параметров контролировались масса яйца, длина, ширина, а также рассчитывался индекс формы яиц. Во время вывода полученные птенцы были помечены путем купирования четвертого пальца (другие способы нанесения меток в виде пятен, колец не приемлемы, поскольку могут провоцировать расклев птицы). Для анализа молодняка мы использовали такие показатели, как вес птицы и линейные параметры: длина клюва, длина крыла, длина цевки, длина хвоста, длина тела (без хвоста), размах крыльев.

Определение массы яиц и птенцов до 28-дневного возраста проводились на весах «Diamond, model 500» с точностью до 0,01 г, в дальнейшем использовали весы Kithen scale AU 309. Такие параметры, как длина и ширина яйца, определялись с помощью электронного штангенциркуля с точностью до 0,1 мм. Морфометрические параметры птенцов снимали по общепринятым методикам [5, 7].

Морфометрические параметры инкубационных яиц сформированных экспериментальных групп (табл. 1) показали наличие достоверных отличий практически по всем исследованным параметрам при уровне достоверности р < 0,001. Следует отдельно остановиться на некотором увеличении индекса формы у мелких яиц в сравнении со средними и особенно крупными. На наш взгляд, это можно расценивать как негативное явление, поскольку удлиненные яйца имеют меньшую выводимость.

 $\label{eq:2.1} \begin{picture}(20,20) \put(0,0){T аблица I} \end{picture}$ Морфометрические параметры инкубационных яиц

Параметры	Macca	Длина	Ширина	ИФ				
Большие								
min	30,6	42,72	34,14	1,189				
max	34,8	47,83	36,53	1,353				
\overline{X}	31,78	45,03	35,65	1,263				
±m	0,269	0,269	0,092	0,007				
CV %	4,93	3,48	1,52	3,63				
		Средние						
min	28,6	41,76	33,49	1,189				
max	30,5	48,88	36,94	1,400				
\overline{X}	29,55	44,15	34,87	1,266				
±m	0,124	0,199	0,093	0,006				
CV %	2,86	3,062	1,813	3,570				
		Мелкие						
min	26,8	41,4	32,61	1,211				
max	28,5	45,28	34,9	1,358				
\overline{X}	27,86	43,34	33,98	1,275				
±m	0,091	0,168	0,098	0,006				
CV %	1,86	2,2	1,65	2,98				

Анализ морфометрических параметров суточных птенцов экспериментальных групп (табл. 2) показал наличие достоверных отличий по всем исследованным показателям. Однако уже начиная с 7-го дня выращивания отличия по некоторым параметрам (в частности, длина цевки) практически исчезают. По остальным параметрам отличия сглаживаются лишь к 24-му дню выращивания (рис. 1).

Таблииа 2

Морфометрические параметры суточных птенцов экспериментальных групп

1110	рфометр	i iccidic iia	pamerpa	cy to inib	и птенц	b skenep	111110111111111	DIIDIA I P.	,
Пара-	Macca	Длина	Длина	Macca	Длина	Длина	Macca	Длина	Длина
метры	iviacca	крыла	цевки	крыла	цевки	iviacca	крыла	цевки	
	Большие				Средние			Мелкие	
min	20,7	12	17	19,1	14	17	17,1	12	16
max	23,4	22	20	22,2	22	21	20,5	23	21
\overline{X}	22,04	17,07	19	20,46	17,76	18,46	18,99	16,69	18
±m	0,20	0,8	0,3	0,26	0,75	0,37	0,30	0,83	0,41
CV %	3,31	17,9	5,68	4,57	15,2	7,20	5,77	17,8	8,17

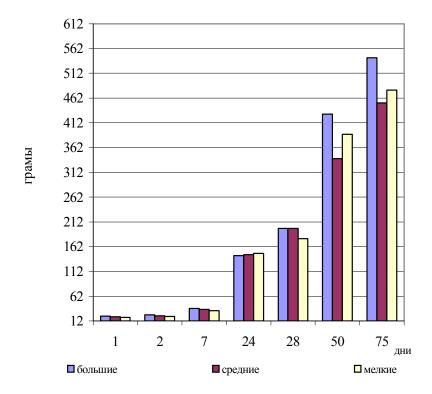


Рис. 1. Динамика набора массы тела птенцами экспериментальных групп

Таким образом, особых отличий между птенцами разных экспериментальных групп к концу выращивания нами не наблюдалось – индивидуальные отличия ростовых процессов перекрывают начальные отличия, обусловленные размерами яиц. Это свидетельствует о том, что закладка яиц на инкубацию с массой меньше 30 г является допустимой. При этом следует быть осторожными с нижней границей – нами наблюдались яйца с массой 24 г и даже меньше. Разумным пределом следует признать яйца с массой в 26 г – но при этом следует быть готовыми к тому, что выводимость подобных яиц окажется несколько ниже средних и крупных (ориентировочно до 10 %). Более низкая выводимость мелких яиц охотничьего фазана была показана нами ранее [3].

Зоология 159

- 1. *Корж А.П.* Совершенствование методов разведения фазанов ex-situ: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1995.
 - 2. Шмальгаузен И.И. Рост и диффеернцировка. Киев: Наукова думка, 1984. Т. 1, 2.
- 3. *Корж А.П.* Влияние морфометрических показателей яиц охотничьего фазана на их выводимость и качество молодняка // Актуальные проблемы оологии. Липецк, 1998. С. 88–90.
- 4. Нормативные требования на инкубационные яйца и суточный молодняк охотничьего (гибридного) фазана. М., 1987. 4 с.
 - 5. Искусственное разведение фазанов / Под ред. О.С. Габузова. М., 1987.
- 6. *Ipek A.*, *Dikmen B.Y.* The Relationship Between Growth Traits and Egg Weight in Pheasants (*P. colchicus*) // J. Biol. Environ. SCI., 2007. № 1(3). P. 117–120.
- 7. *Курочкин С.Л.* Особенности постэмбрионального развития обыкновенного фазана в северозападном Причерноморье // Дичеразведение в охотничьем хозяйстве. М., 1985. С. 85–101.

НЕКОТОРЫЕ ЧЕРТЫ БИОЛОГИИ ЯЗЯ LEUCISCUS IDUS (LINNAEUS, 1758) СРЕДНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ НИЖНЯЯ ТУНГУСКА 1

А.Л. Юрьев, И.И. Юрьев

Приведены оригинальные данные по росту, возрастному и половому составу, плодовитости и питанию язя среднего течения реки Нижняя Тунгуска.

BIOLOGY OF *LEUCISCUS IDUS* (LINNAEUS, 1758) FROM MIDDLE REACHES OF NIZHNYAYA TUNGUSKA RIVER

A.L. Yuriev, I.I. Yuriev

Original data on growth, age structure, fecundity and feeding habits of Leuciscus idus from waterbodies in middle reaches of Nizhnyaya Tunguska River are given.

В бассейне среднего течения р. Ниж. Тунгуска язь является одним из многочисленных видов рыб семейства карповых. Биология вида на исследованном участке ранее не изучалась, имеются лишь данные из нескольких публикаций по итогам работ, проведенных в 1979—1980 гг. во время проектирования Туруханской ГЭС в нижнем течении реки [1, 2]. В связи с этим нами была предпринята попытка получить сведения по биологии язя среднего участка Ниж. Тунгуски.

Материал, послуживший основой для написания работы, был собран в летнеосенний период 2005–2009 гг. на участке реки от д. Курья до с. Ербогачен. Отлов рыб осуществлялся ставными сетями с ячеей 18–60 мм и закидным неводом с ячеей в мотне 10–16 мм. Обработка материалов проводилась согласно принятым в ихтиологии методикам [3–5].

На изученном участке наибольшие концентрации молоди язя наблюдаются в хорошо прогреваемых озерах и старицах. Взрослые особи в летний период держатся в реке разрозненно, к осени собираясь в небольшие стаи. После ледостава язь в основном держится в старицах — курьях, зимой собирается в ямах.

Возрастной состав и линейно-весовой рост. Максимальный возраст язя в исследованных выборках был равен тринадцати годам, наиболее многочисленной группой являлись особи в возрасте от 6+ до 8+. Наблюденные линейные и весовые показатели в наших уловах с возрастом изменялись от 54 до 405 мм и от 3,3 до 1388 г соответственно (таблица). Линейно-весовые характеристики язя из среднего

 $^{^1}$ Работа выполнена при частичной поддержке гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук МК-2677.2009.4.

Зоология 161

течения Ниж. Тунгуски схожи с таковыми у рыб из нижнего течения [2], но уступают показателям из других водоемов Восточной Сибири [6, 7].

Поморожали						Во	зраст, :	пет					
Показатель	1+	2+	3+	4+	5+	6+	7+	8+	9+	10+	11+	12+	13+
Промысловая длина, мм	69	99	134	176	214	249	269	288	292	344	365	360	381
Масса, г	5,5	17,5	50,6	102	182	285	375	461	513	825	958	941	926
Число рыб, экз.	3	6	10	3	6	19	30	52	17	13	5	4	1

Линейно-весовые характеристики язя из среднего течения р. Ниж. Тунгуска

Половая структура популяции язя с возрастом претерпевает некоторые изменения. В возрасте от 3+ до 6+ в уловах наблюдается незначительное преобладание самцов над самками, соотношение полов составляет 1,5:1, в 7+-4:1, в 8+-1:1, а в более старшем возрасте соотношение самцов и самок составляет 1:2,3.

Половозрелость у язя р. Ниж. Тунгуска наступает в возрасте 7+ ... 8+. Нерест происходит в конце мая — начале июня, икра откладывается на прошлогоднюю растительность. Индивидуальная абсолютная плодовитость язя у исследованных 2 самок в возрасте 8+ и 9+ составляла соответственно 29562 и 49036 икринки.

Питание. В первой половине июня 2009 г. питание язя р. Ниж. Тунгуска основывается на потреблении высшей водной растительности, массовое значение которой составляло 52,1 % при частоте встречаемости 70 %. Второй наиболее значимой группой в питании являлись бентосные организмы, при этом наибольшее значение как по массе (28,1 %), так и по частоте встречаемости (55,0 %) имели брюхоногие моллюски. На долю личиночных стадий ручейников приходится 12 % массы съеденной пищи при встречаемости 25 %. В 10 % исследованных пищеварительных трактов отмечался детрит, по массе составляющий 7,5 %.

В конце июня, в период максимального развития высшей водной растительности, ее массовое значение в питании язя возрастает до 74,7 % при частоте встречаемости 66,7 %. На долю детрита приходится 18,5 % массы пищи при встречаемости 25 %. Прочая часть пищевого комка приходится на личиночные стадии ручейников.

Во второй половине сентября 2008 г. питание язя основывалось на потреблении двустворчатых моллюсков, массовое значение которых составило 98,3 % при частоте встречаемости 80 %. Незначительная часть массы пищевого комка приходилась на детрит, высшую водную растительность, водяных клопов и молодь карповых рыб.

Основу питания язя в октябре 2005 г. составляли бентосные организмы, наибольшее значение из которых имели личинки ручейников рода Apatania (80,5 % массы пищи при частоте встречаемости 80 %). Личинки хирономид отмечались в 10 % пищеварительных трактов, по массе составляя 13,1 %. Незначительная часть массы пищевого комка приходится на брюхоногих моллюсков, личинок поденок, слепней и растительные остатки.

Во второй половине октября 2008 г. питание язя также основывалось на потреблении личиночных стадий ручейников (66,2 % по массе при встречаемости 33,3 %). В 41,6 % пищеварительных трактов отмечалась рыбная пища, по массе составляющая 15,0 %. Остальная часть массы пищевого комка приходится на личиночные стадии поденок, стрекоз и растительность.

В первой половине ноября 2008 г. питание язя основано на потреблении рыбы, преимущественно молоди карповых (76,9 % по массе при встречаемости 65 %), на долю молоди окуня приходится 21,2 и 10 % соответственно. В небольшом количестве в питании отмечаются личинки ручейников, поденок, детрит и высшая водная растительность.

- 1. Попов В.А. Состав ихтиофауны реки Нижняя Тунгуска на участке будущего водохранилища // Матер. регион. науч.-практ. конф. «Молодые ученые и специалисты в развитии производительных сил Томской области». Томск, 1980. С. 44–45.
- 2. Попов В.А. К изучению биологии рыб реки Нижняя Тунгуска // Вопр. географии Сибири. Томск, 1983. Вып. 14. С. 89–97.
- 3. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М.: Пищевая пром-сть, 1966. 376 с.
- 4. *Методические* указания по сбору и обработке ихтиологического материала в малых озерах. Л.: ГосНИОРХ, 1986. 65 с.
 - 5. Чугунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М., 1959. 164 с.
- 6. Подлесный A.B. Рыбы Енисея, условия их обитания и использования // Изв. ВНИОРХ. М., 1958. Т. 44. С. 96-178.
 - 7. Кириллов Ф.Н. Рыбы реки Индигирки // Изв. ВНИОРХ. М., 1955. Т. 35. С. 141–167.

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ ВОСПРИЯТИЯ ЗАПАХОВ ПРОТИВОПОЛОЖНОГО ПОЛА МОЛОДЫМИ ЛЮДЬМИ

А.В. Бедарева, А.А. Могилина, К.Ю. Зубрикова

Гипотеза о реальном вкладе хемосигналов в формирование репродуктивного поведения людей предполагает, что осознанная или неосознанная оценка запахов друг друга варьирует в зависимости от фаз менструального цикла, репродуктивного здоровья и генотипа. Влияние этих факторов на субъективную оценку интенсивности и привлекательности запаха пота было исследовано у студентов университета, которые выступали в роли и доноров, и реципиентов запаховых проб. Установлено, что характер влияния физиологических и генетических факторов на оценку привлекательности запаховых проб хорошо согласуется с требованиями, которым должны соответствовать репродуктивно значимые невербальные сигналы.

FEATURES PERCEPTION OF THE ODOR OF THE OPPOSITE SEX BY YOUNG PEOPLE

A.V. Bedareva, A.A. Mogilina, K.U. Zubrikova

The hypothesis about the real contribution chemical signals in the formation of reproductive behavior suggests that, conscious or unconscious scores of odors by each other vary depending on the phases of the menstrual cycle, reproductive health and genotype. The influence of these factors on the subjective assessment of the intensity and attractiveness of odors of sweat was investigated among students who acted as both donors and valuers of olfactory samples. Found that the effect of physiological and genetic factors on the assessment of the attractiveness of olfactory samples meet the requirements for reproductively important non-verbal signals.

Несмотря на то, что люди не столь чувствительны к запахам, экспериментально доказана их способность распознавать генотип и психофизиологическое состояние других людей по запаховым образцам, собранным с различных областей тела.

Исследования, выполненные на основе субъективных оценок запаха пота, показали, что у людей, как и у других видов животных [1], ольфакторная оценка привлекательности особей противоположного пола зависит от генетической принадлежности и доноров, и реципиентов хемосигналов [2]. В частности, это экспериментально доказано для генов главного комплекса гистосовместимости (HLA у человека). Их влияние на субъективную оценку запаха определяется не столько самим генотипом мужчины — донора запаха, сколько его отличием от генотипа женщины — реципиента запаха [3—5].

Итак, анализ современной литературы подтверждает, что человек обладает индивидуальной чувствительностью к запахам, которую формируют такие факторы, как пол, возраст, эмоциональное состояние и репродуктивное здоровье, а также социальные и генетические факторы. В связи с этим целью настоящего исследования стало изучение особенностей восприятия запахов противоположного пола юношами и девушками.

Исследование проводилось на базе Кемеровского государственного университета. Донорами и реципиентами запаха явились девушки и юноши в возрасте от 17

до 21 года. Образцы пота собирали из подмышечной впадины на фильтровальные диски. У девушек собирали запахи в рецептивную и нерецептивную фазу цикла. Рецептивной фазой считали середину менструального цикла плюс-минус 3 дня. Затем юноши и девушки проводили ольфакторное тестирование собранных проб. Параллельно проводилось генотипирование по HLA-DRB1 генам и анкетирование участников исследования.

По результатам исследования было выявлено, что девушки более чувствительны к запахам противоположного пола, чем юноши. Первые смогли оценить в среднем 86 % предложенных проб, а вторые – лишь 78 %. Вероятно, это происходит за счет того, что юноши значимо отличаются друг от друга по чувствительности к запахам противоположного пола (χ^2 =146; p< 0,0001) и делятся на тех, кто обладает высокой чувствительностью (оценили от 70 % проб и выше) и низкой чувствительностью (воспринимает менее 70 % запахов девушек). Тогда как девушки не отличались друг от друга по восприятию проб запахов (χ^2 =21; p= 0,18). Причем к первой группе юношей с высокой чувствительностью к запахам противоположного пола относятся только гетерозиготы по HLA-DRB1 генам, а во вторую группу с низкой чувствительностью входят 50 % гомозигот и 50 % гетерозигот.

Выявлено, что девушки достоверно выше оценивают пробы запаха, собранные у юношей-гетерозигот $(-0,11\pm0,08)$, чем у юношей-гомозигот $(-0,45\pm0,10)$ (T=3,46; p<0,001) по HLA-DRB1 генам. Эта особенность женского восприятия запахов имеет большое биологическое значение, так как гетерозиготный организм обладает преимуществом в выживании и размножении. Вместе с тем при оценке юношами запаховых образцов девушек различий в восприятии запаха, полученного от гомо- и гетерозигот не наблюдалось (T=0,85; p<0,39).

Проведенные нами исследования показали, что юноши с низкой чувствительностью оценивают в среднем запахи как менее сильные и более привлекательные, чем юноши с высокой чувствительностью, что не противоречит литературным данным [6]. При этом субъективное восприятие привлекательности запаха зависело не только от обонятельной чувствительности реципиентов, но также от субъективной оценки силы запаха, физиологических и генетических особенностей доноров и реципиентов запаховых образцов.

Так как субъективная оценка силы запаха статистически значимо коррелировала с баллом привлекательности анализируемых образцов, при многофакторном дисперсионном анализе влияния на субъективную оценку привлекательности таких факторов, как физиологическое состояние и генотип участников исследования, мы использовали значения силы запаха в качестве ковариаты. Это позволило нивелировать статистические эффекты данного показателя.

Для юношей наиболее привлекательными оказались запахи, собранные у девушек, не имеющих нарушения менструального цикла. Кроме того, юноши с высокой чувствительностью к запахам противоположного пола выставляют более низкие оценки привлекательности запахам, собранным у девушек, имеющих те же аллели НLA генов, что и у юношей-реципиентов. Данная группа юношей смогла распознать посредством запаховой коммуникации наиболее подходящих для них партнеров для продолжения рода, так как совпадение HLA генов у родителей может привести к репродуктивным потерям [7].

Физиологическое состояние девушек оказывало статистически значимое влияние на привлекательность запаха юношей. При этом в рецептивной фазе менструального цикла девушки оценивали запаховые образцы юношей как более приятные по сравнению с нерецептивной. Девушки с нарушениями менструального цикла выше оценивали запах молодых людей, чем девушки с регулярным циклом.

Анализ корреляций между субъективными оценками запаховых проб друг друга показывает, что, несмотря на многообразие факторов, влияющих на эти оценки,

молодые люди проявляют статистически значимую взаимность в ольфакторном дифференцировании привлекательности. При этом коэффициенты корреляции растут при пошаговом исключении из анализа лиц с низкой чувствительностью к запахам, девушек в нерецептивной фазе цикла, а также оценки доноров и реципиентов с совпадающими аллелями HLA генов. И хотя на последнем шаге, показавшем достаточно высокую корреляцию взаимных оценок запаха (г=0,46, p=0,0004), осталось всего 15 % перекрестно проанализированных проб, мы не можем исключить реальную значимость ольфакторного выбора в формировании партнерских отношений у молодых женщин и мужчин.

Влияние каждого из проанализированных факторов на субъективную оценку запаховой привлекательности на удивление гармонично «вписывается» в постулируемую современными гипотезами логику биологически оправданного брачного выбора. Хемокоммуникация между людьми играет важную роль в поиске «выгодного» партнера для продолжения рода.

- 1. *Penn D., Potts W.* The evolution of mating preferences and major histocompatibility genes // American Naturalist, 1999. Vol. 153, P. 145–164.
- 2. *Родионова Е.И., Минор А.В.* При выборе брачного партнера // Матер. IV Междунар. конф. «Химическая коммуникация животных. Фундаментальные проблемы». М., 2006. С. 79.
- 3. Калуев А.В., Макарчук Н.Е., Дерягина М.А., Самохвалов В.П. Уринация и поведение. Киев, 2000. 148 с.
- 4. Дмитриева Т.М., Зинкевич Э.П., Козлов Ю.П. Феромоны человека и репродуктивное здоровье // Матер. IV Междунар. конф. Химическая коммуникация животных. Фундаментальные проблемы. М., 2006. С. 77.
- 5. Ober C., Weitkamp L.R., Cox N. et al. HLA and mate choice in humans // Am. J. Hum. Genet. 1997. Vol. 61. P. 497–504.
- 6. Jacob T. J.C., Wang L., Jaffer S., McPhee S. Changes in the Odor Quality of Androstadienone During Exposure-Induced Sensitization // Chemical Senses. 2006. Vol. 31, P. 3–8.
- 7. Болдырева М.Н., Алексеев Л.П. HLA и естественный отбор. Гипотеза «преимущества функциональной гетерозиготности» // Иммунология. М., 2006. № 3. С. 172–175.

Серия биологическая

ПРОСТЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ ЗА СОЦИАЛЬНЫМ ПОВЕДЕНИЕМ КАК ОСНОВА ДЛЯ АНАЛИЗА СОМАТИЧЕСКИХ ОТКЛОНЕНИЙ ОРГАНИЗМА

А.В. Брагин

Наблюдение за социальным поведением животных и человека, а также анализ функций его структур позволяют понять причины возникновения патологий фенотипа.

ORDINARY OBSERVATION FOR THE SOCIAL BEHAVIOUR AS A FUNDAMENT FOR ANALYSIS OF SOMATIC DISORDERS

A.V. Bragin

The observation and functional analysis for the animal and human social behaviour make it possible to know the cause of phenotype disorders.

Признаки фенотипа у любого животного отражают его адаптивность, т.е. выполнение соответствующих функций в естественной среде обитания, где на протяжении тысячелетий действовал естественный отбор. Поэтому любая морфологическая и физиологическая структура в состоянии патологии является для наблюдателя сигналом или знаком того, что организм не справляется со своими «задачами», но данное состояние у человека адаптировано индивидуально для решения конкретных личных проблем. Основная методологическая черта в поиске ответов на вопросы этиологии заболеваний человека и животных лежит не в углублении изучения физиологических, генетических, биохимических и т.д. механизмов патологий, а в обычных наблюдениях за социальным поведением животных как модели поведения человека.

Анализ поведения животных неразрывен с постановкой вопроса о функции того или иного типа поведения. Фиксируя необычные для диких животных структуры фенотипа, структуры у животных в неволе или у доместицированных, мы анализируем пути формирования патологий. Например, у псовых межсамцовая агрессия за самку - обычное явление в период репродукции. Межполовая агрессия также необходима в процессе координации мотивационных состояний двух полов в этот период. То же самое можно видеть и у цихловых рыб (Cichlidae) и лабиринтовых (Anabantidae). Не учитывая это, ведущие специалисты в области генетики поведения, например S.C. Maxson, исследуют генетические механизмы «насилия» у мыши, по «аналогии» с данной патологией у человека [1]. Даже у лабораторной мыши (Mus musculus) межполовая агрессия адаптивна. Это может видеть каждый, заглянув в обычную репродуктивную клетку вивария, сформированную только что. Сначала самец активно преследует самку, иногда нападает, самка, как и у многих млекопитающих, подчиняется и убегает. Затем, она все чаще и чаще останавливается, ее страх перекрывается сексуальной мотивацией, и происходит спаривание, при котором она все же пищит, т.к. самец может ее покусывать за загривок. По наблюдениям, в современной субкультуре ночных клубов межполовая агрессия среди молодежи начинается с танцпола в модификации танца, где прослеживается четкая асимметричность в движениях двух полов, но с четкой ритмикой, и заканчивается либо путем формирования пары, либо путем внутриполовой агрессии. Игнорируя метод наблюдения, мы нормальные функции социального поведения относим к патологичным.

Изучение «глубинных» генетических, физиологических и других механизмов (несомненно, нужное, но, к сожалению, слишком массовое, а значит, и уводящее в сторону и затратное занятие) приводит к решению проблем, где мы фиксируем уже последствия, т.е. патологические изменения. т.к. патологии на уровне органов и тканей предшествует патология в социальном поведении; а наблюдение и функциональный анализ поведения (в духе этологии) - к причинам подобных изменений в фенотипе. Первый подход связан с манипуляцией над личностью, когда болезнь рассматривается профессионалами как что-то чужеродное, от чего можно избавиться физически. Одна из причин такого подхода в распространенном использовании нашего ratio кантовских антиномий: объективное - субъективное, явление – вещь в себе, материя – дух, инстинкт – научение, тело – душа, альтруизм – эгоизм и т.д. Технический прогресс методик в биологии и медицине не соответствует прогрессу в области психической сферы человека (по крайней мере в России). Второй подход, как бы с другой стороны, позволяет обращать взгляд на явления нормы и патологии как градацию в структуре фенотипа, и ответ на вопрос о видосохраняющей функции данной структуры подсказывает императив технического невмешательства, но естественнонаучного предсказания последствий влияния явлений на соматические нарушения. Наш основной орган восприятия - oculus, поэтому нет ничего более совершенного для познания социальных явлений, как наблюдение, и в то же время столь сложной мотивационно зависимой перцепции.

Чаще всего причиной современных заболеваний считают так называемый хронический стресс. При этом наблюдаются неадекватное, неестественное накопление и неадекватная реализация специфической нервной энергии (агрессии), которая реализуется не естественным путем, а в худшем случае через «пробивание» нереализованной энергии (потенциала), через наследственную предрасположенность к определенным тканям и органам, что и обусловливает симптоматику болезней. Я считаю, что концепция стресса как хронического явления применима только к популяции современного человека, и, видимо, только урбанизированного, а не к животным в природе, так как обычно любое животное не накапливает агрессию и страх, а вовремя отвечает на естественный стимул. С. Крилл показал, что у диких псовых уровень кортизола так называемого гормона стресса у субординантов ни сколько не выше, чем у доминантов [2]. Он же обвиняет сторонников теории стресса в нереальном моделировании структур социальных отношений животных, когда продолжительная агрессия в заранее спланированных тесных условиях экспериментальных клеток, как правило, среди лабораторных грызунов, никогда не даст шанс спастись бегством субординанту, как это естественно мы можем видеть в природе. Поэтому концептуально стресс как фактор отбора в природе если и дестабилизирующий, то явно деструктирующий. Какой же тогда это отбор? А контекстуально взятый в качестве категорического императива означает, что «вся жизнь всего лишь негатив, но терпи, ведь это норма, так как и есть сущность природы, и возникновение новых форм невозможно без принудильного изменения, деструкции того, что есть». Таким образом, стресс как норма – гносеологический индикатор для исследователя и фактор индоктринируемости в нашем обществе. К. Кортмульдер полагает, что напряженность психики, которую часто ассоциируют со стрессом, у животных снимается не смещением мотиваций в плане понятия «displacement activity», а возникновением асимметрии в поведении между особями, по аналогии с территориальностью и социальным доминированием [3]. Зачастую патологии фенотипа у современного человека – это адаптации к условиям жизни с отсутствием таких асимметрий.

Я полагаю, что глубинное нарушение восприятия явлений и явлений нашего фенотипа как составляющего общий континуум фактов исторически возникло в европейской философии, в частности у Декарта. Зачем хотеть «считать все ложным», чтобы убедиться в «истинности своего существования»? С одной стороны, распространение физических и математических наук на область естествознания считается прогрессивным трендом в университетском образовании. С другой стороны, любуясь красотой своей собаки, например, мы никогда не станем обосновывать свое чувство при помощи статистических методов. Аппетенция к рефлексивной способности с тенденцией в сторону сомнений единичных, «случайных» наблюдений в онтогенезе человека и приводит к патогенезу познания как инстинкта, что не может не отразиться на всем облике организма – фенотипа.

- 1. Canastar A., Maxson S.C. Sexual aggression in mice: effects of male strain and of female estrous state // Bevavior Genetics. 2003. Vol. 33, № 5. P. 521–528.
 - 2. Creel S. Stress in populations // TREE. 2000. Vol. 16, № 9. P. 491–497.
- 3. Kortmulder K. Desplacement bevaviour solving a silent contradiction // Acta Biotheoretica. 1998. Vol. 46. P. 53–63.
 - 4. Декарт Р. Рассуждение о методе // Разыскание истины. СПб.: Азбука, 2000. 288 с.

Серия биологическая

О НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ВОСПРИЯТИЯ ЧЕЛОВЕКОМ СЛАБЫХ СВЕТОВЫХ СТИМУЛОВ

Ю.Г. Бурыкин, А.А. Соколова

Раскрываются синергетические взаимодействия зрительного и двигательного анализаторов человека при восприятии слабых световых стимулов.

A CERTAIN PHYSIOLOGIC MECHANISMS LIGHT AND WEAK THE STIMULUS THE PERCEPTION BY HUMAN

Y.G. Burykin, A.A. Sokolova

It was establish synergetic interaction of visual and locomotive analyzers at the light and weak the stimulus the perception by human.

Восприятие информации человеком происходит при одновременном взаимодействии всех сенсорных систем. В случае нарушения функций одной из них возникают приспособительные реакции и усиление роли других анализаторов. В частности, у слабовидящих потеря зрения преимущественно сопровождается уменьшением пороговой чувствительности слухового и тактильного анализаторов. Из бесчисленного множества сигналов человек сознательно воспринимает только малую часть. Однако неощущаемые сигналы могут восприниматься человеком, не будучи осознанными. Кроме того, у человека возможно развитие способностей ощущать ранее неощущаемые сигналы [2].

В связи с этим представляется актуальным изучение механизмов восприятия при ослаблении афферентных влияний специфических стимулов (электромагнитных излучений видимого диапазона) на зрительный анализатор.

Целью настоящих исследований явилось изучение синергетических взаимодействий зрительного и двигательного анализаторов человека при восприятии слабых световых стимулов.

Объектом исследования являлся организм человека. Методом наблюдения изучались внешний рисунок (паттерн) и траектории движений верхней конечности при восприятии различных цветов видимого спектра в условиях ослабления светового потока, попадающего на сетчатку. С этой целью обследуемые закрывали веки. Было установлено, что каждому цвету тест-объекта соответствует свой паттерн движений. На следующем этапе исследований, после того, как нами были описаны основные паттерны двигательных реакций верхней конечности при восприятии красного, желтого, зеленого и синего цветов видимого спектра (таблица) у испытуемых формировались условно-рефлекторные связи на предъявление тест-объектов, окрашенных в эти цвета.

Паттерны движений верхней конечности человека
при восприятии хроматических цветов видимого спектра

Цвет	Двигательные реакции	Субъективное восприятие
Красный	Симметричное сгибание I–V пальцев. Форма кисти принимает вид, характерный для захватывания шарообразного предмета с возможными вариациями (например, свисающая кисть).	Ощущение упругого шара
Желтый	Сгибание II пальца и отведение III–V пальцев. Форма кисти принимает веерообразный вид с опущенным вниз II пальцем и более выраженно отведенным V пальцем	Ощущение сгибания II пальца и отведение в сторону V пальца
Зеленый	Слабо выраженная супинация предплечья и асимметричное сгибание (опускание) III–V и II пальцев. III–V пальцы в пространстве расположены ступенчато относительно друг друга. V палец отведен и расположен ниже. II палец сгибается с большей амплитудой по сравнению с остальными	Субъективные ощущения характерны для раздельного предъявления желтого и синего цветов
Синий	Асимметричное сгибание (опускание) III—V пальцев и их пространственное ступенчатое расположение относительно друг друга. При этом V палец расположен ниже остальных. Отмечается слабо выраженная супинация предплечья. Кисть расположена в пространстве под небольшим углом к горизонтальной поверхности, III—V пальцы по уровню располагаются ниже остальных	Субъективные ощущения соответствуют повороту кисти и при движении рукой ассоциируются со скольжением по волнистой или ребристой поверхности

После закрепления результатов восприятия зрительной информации через закрытые веки испытуемым предлагалось дистантно идентифицировать цвета тестобъектов, предъявляемых в случайном порядке. Характерной особенностью такого восприятия являлось отсутствие осознаваемых зрительных ощущений и возникновение непроизвольных движений, доступных сознательному восприятию. Для этого было необходимо сосредоточение внимания на анализе пространственного расположения кистевых фаланг активной верхней конечности.

По результатам исследований из 430 предъявлений тест-объектов 4 цветов (красного, желтого, зеленого, синего) правильно было идентифицировано 412, что составило 95,8 % от общего числа. Полученные данные указывают на то, что изменение светового потока, попадающего на сетчатку глаз человека, вызывает непроизвольные движения, которые могут быть доступны осознанному восприятию даже в том случае, когда само цветоощущение не возникает.

Таким образом, информационный обмен человека со средой возможен в режимах неосознанного восприятия посредством электромагнитного излучения видимого оптического диапазона. Объективно это проявляется в изменении состояния нервно-мышечного аппарата организма человека и, в частности, непроизвольных движений верхней конечности. Такие взаимосвязи зрительного и двигательного анализаторов устанавливаются при их взаимодействии еще в раннем детском возрасте. Зрительный тип ориентировки возникает на основе предшествующего зрительно-двигательного обследования ситуации. Эксперименты А.Н. Леонтьева показали, что в зависимости от характера деятельности и той роли, которую приобретают в этой деятельности воздействующие на рецепторы сигналы, можно наблюдать не только изменение порогов чувствительности, но и появление совершенно новых сенсорных феноменов, превращение неощущаемых раздражений в ощущаемые [1].

В основе усиления слабых сигналов, поступающих из внешней или внутренней среды, лежат механизмы их пространственной и временной суммации. В экспериментах со слепыми и слабовидящими по определению минимального порога чувствительности к свету (Фителев, 1965) было установлено, что он может быть доведен при специальной тренировке до 16 лк [2].

Таким образом, двигательный и зрительный анализаторы функционируют синергично, обеспечивая информационный обмен человека с окружающей средой. Информация, неосознаваемая при поступлении через зрительный анализатор, может восприниматься опосредованно через движения.

- 1. Запорожец А.В., Венгер Л.А., Зинченко В.П. Восприятие и действие / Под ред. А.В. Запорожца. М.: Просвещение, 1967. 323 с.
- $\overline{2}$. *Плеханов Г.Ф.* О восприятии человеком неощущаемых сигналов: Дис. ... канд. биол. наук. Томск, 1967. 177 с.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЕЩЕСТВА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ОСТРОМ АСЕПТИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

М.Ю. Быкова, Б.Г. Юшков

Показана динамика активности ферментов и метаболических процессов в межклеточном веществе костного мозга при воспалении. Обсуждено влияние изменения состава межклеточной среды на гемопоэз.

FEATURES OF BIOCHEMICAL PROPERTIES OF BONE MARROW EXTRACELLULAR MATRIX UNDER ASEPTIC INFLAMMATION

M.Y. Bykova, B.G. Yushkov

Dynamics of enzyme activity and metabolic processes in the extracellular matrix of bone marrow in aseptic inflammation is shown. The effect of composition changing of extracellular environment on hematopoiesis is discussed.

Межклеточный матрикс костного мозга представляет собой физиологически весьма активную среду. Так, по данным И.Ф. Сейца, экстрацеллюлярная жидкость костного мозга содержит разнообразные ферменты, гликоген, мукополисахариды, витамины, что даёт основание рассматривать её в качестве важного регулятора кроветворения. Эта идея подтверждается исследованиями на культурах клеток [3]. Однако окончательная роль экстрацеллюлярного матрикса в регуляции гемопоэза не раскрыта до сих пор. Со времён Г. Селье исследуются изменения в кроветворной ткани при воздействии на организм экстремальных факторов. Так, имеется большое количество данных об изменениях микрососудистого русла, клеток крови и стромы при воспалительном процессе. Однако состав межклеточного вещества костного мозга при этом остался не исследован.

Целью работы является изучение биохимических показателей экстрацеллюлярного матрикса костного мозга в условиях воспаления.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на белых беспородных крысах массой 250–300 г. Воспаление моделировали путём введения животным подкожно 0,5 мл скипидара. Животные были поделены на пять групп. Первую группу составили интактные крысы. У животных второй и третьей групп вызывали асептический воспалительный процесс, забор материала для исследования осуществляли через 6 ч и 2 сут после воздействия. Четвёртую и пятую (контрольные) группы составили крысы, которым подкожно вводили 0,5 мл физиологического раствора, животных выводили из эксперимента через 6 ч и 2 сут. Извлекали костный мозг из двух бедренных костей крыс и взвешивали его на весах. Для получения экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) к костному мозгу добавляли физраствор в соотношении 1:3 (вес:объем) и центрифугировали в течение 15 мин на 3000 оборотах. Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы, содержание глюкозы, общего белка, мочевины, холестери-

на, триглицеридов и фосфора определяли в плазме крови и ЭЦМ костного мозга спектрофотометрически с помощью наборов фирмы «Витал Диагностикс Спб». Для определения активности холинэстеразы использовали набор фирмы «Ольвекс Диагностикум». Статистический анализ данных проводили с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни.

Результаты. В ЭЦМ костного мозга животных контрольных групп не отмечается достоверных изменений активности АЛТ, тогда как в опытной группе через 6 ч после введения скипидара активность фермента понижается и продолжает падать ко вторым суткам. В плазме крови снижение активности АЛТ наблюдается только на вторые сутки эксперимента. При этом у животных опытной группы происходит достоверное снижение активности фермента в 4 раза, а у животных контрольной группы – только в 1,5 раза (таблица). Не наблюдается достоверного изменения активности АСТ в плазме крови крыс всех групп и на всех сроках эксперимента. Наоборот, в ЭЦМ костного мозга животных опытной и контрольной групп отмечается понижение активности АСТ на вторые сутки (см. таблицу). Наблюдаемая динамика активности АСТ в межклеточном веществе костного мозга, вероятно, является неспецифической реакцией на экстремальное воздействие.

Нарушение процессов метаболизма в клетках и тканях при воспалении приводит к снижению активности щелочной фосфатазы в плазме крови. При этом в контрольной группе животных активность фермента не отличается от интактных крыс. В межклеточном веществе костного мозга животных опытной группы не обнаружено достоверного изменения активности щелочной фосфатазы на всех сроках воспалительного процесса. Тогда как у крыс контрольной группы через 6 ч после введения физ. раствора отмечается увеличение активности фермента, вероятно, это связано с изменением числа гранулоцитов в костном мозге (см. таблицу).

		ЭЦМ	1 костного м	озга		Ілазма кро	ови
Показатели		Интактные	6 ч	2 сут	Интакт- ные	6 ч	2 сут
Аланинамино-	Контроль	2,073±	1,742±	1,774±	$0,168 \pm$	$0,172\pm$	0,107±
трансфераза	(физ. p-p)	±0,240	±0,207	±0,134	$\pm 0,011$	$\pm 0,023$	±0,011*
(мкмоль/сл)	Воспаление	2,073±	1,350±	0,860±	$0,168 \pm$	0,168±	$0,044\pm$
(MKMOJIS/CJI)	(скипидар)	±0,240	±0,151*!	±0,065*#^	$\pm 0,011$	$\pm 0,024$	±0,007*#^
Аспартатами-	Контроль	2,001±	1,781±	1,533±	$0,154\pm$	0,169±	0,127±
НО	(физ. p-p)	±0,108	±0,117	±0,070*	$\pm 0,012$	$\pm 0,008$	$\pm 0,010$
трансфераза	Воспаление	2,001±	1,765±	1,546±	$0,154 \pm$	$0,157\pm$	0,133±
(мкмоль/с·л)	(скипидар)	±0,108	±0,139	±0,063*	$\pm 0,012$	$\pm 0,009$	$\pm 0,009$
Щелочная	Контроль	13323,7±	27254,8±	13490±	814,3±	741,9±	584,413±
фосфатаза	(физ. p-p)	±2058,4	±2433,8*	±1992,1	±93,4	±88,5	$\pm 78,036$
(нмоль/с·л)	Воспаление	13323,7±	16929,2±	27644,96±	814,3±	437,6±	535,4±
(нмоль/с л)	(скипидар)	±2058,4	±3563,2!	±6533,972	±93,4	±46,9*!	±35,8*#^
	Контроль	0,630±	0,448±	0,714±	6,485±	5,515±	5,733±
Глюкоза	(физ. p-p)	±0,033	±0,019*	±0,102	$\pm 0,573$	$\pm 0,356$	$\pm 0,349$
(ммоль/л)	Воспаление	0,630±	1,228±	0,422±	6,485±	6,735±	6,157±
	(скипидар)	±0,033	±0,155*!	±0,104^	$\pm 0,573$	±0,479	$\pm 0,169$
Тънглина	Контроль	1,059±	7,886±	1,907±	1,396±	1,062±	1,958±
Триглице-	(физ. p-p)	±0,101	±1,783*	±0,258*	$\pm 0,177$	$\pm 0,150$	$\pm 0,175$
риды (ммоль/л)	Воспаление	1,059±	1,319±	0,548±	1,396±	1,050±	0,311±
(MMOJIB/JI)	(скипидар)	±0,101	±0,229!	±0,184*#	$\pm 0,177$	$\pm 0,148$	±0,021*#^
	Контроль	0,884±	1,415±	1,324±	1,294±	1,310±	1,654±
Холестерин	(физ. р-р)	±0,152	±0,336	±0,194	±0,081	±0,118	±0,097*

Биохимические показатели ЭЦМ костного мозга и плазмы крови

 $0.843 \pm$

±0.088

 $1.663 \pm$

 ± 0.811

 $1.294 \pm$

 ± 0.081

 $1.289 \pm$

 ± 0.048

 $0.906 \pm$

(ммоль/л)

Воспаление

(скипилар)

 $0.884 \pm$

 ± 0.152

^{* —} достоверные отличия от интактных животных (p<0,05); $^{\wedge}$ — достоверные отличия от группы Воспаление 6 ч (p<0,05); ! — достоверные отличия от группы Контроль 6 ч (p<0,05); # — достоверные отличия от группы Контроль 2 суг (p<0,05).

Через 6 ч после введения скипидара понижается активность холинэстеразы в плазме крови, но в межклеточном матриксе костного мозга достоверных изменений не выявлено.

Количественное содержание глюкозы в плазме крови животных всех экспериментальных групп не изменяется. Отмечается активное потребление глюкозы в ЭЦМ костного мозга животных контрольной группы через 6 ч после введения, а у животных опытной группы в этот же срок уровень глюкозы в ЭЦМ, наоборот, повышается (см. таблицу). Уменьшение содержания глюкозы в матриксе костного мозга контрольных крыс является реакцией на стрессовое воздействие. Накопление глюкозы в костном мозге при воспалении, вероятно, связано с повышением интенсивности окисления углеводов.

Не выявлено изменений в содержании холестерина в межклеточном веществе костного мозга у всех групп. В плазме крови крыс контрольной группы наблюдается увеличение уровня холестерина на вторые сутки, а у крыс опытной группы, наоборот, содержание холестерина уменьшается. Об активации процессов липолиза после введения скипидара свидетельствует также пониженный уровень триглицеридов в плазме крови и ЭЦМ костного мозга (см. таблицу). Снижение уровня триглицеридов происходит в результате использования их в качестве метаболического топлива и стабилизации основных функций органов и систем за счет включения механизмов адаптации [1]. При этом в ЭЦМ костного мозга контрольных животных, наоборот, содержание триглицеридов не уменьшается, а увеличивается. Вероятно, в ответ на стрессовое воздействие в костном мозге наряду с использованием липидов происходит их ресинтез [2].

На всех сроках воспалительного процесса у крыс отмечается накопление неорганического фосфора в межклеточном веществе костного мозга. Но в контрольной группе животных достоверных изменений данного показателя не выявлено. В плазме крови, наоборот, содержание фосфора падает. При этом у животных опытной группы снижение уровня фосфора происходит в более ранний срок исследования, по сравнению с контрольной группой.

Не обнаружено достоверных изменений в содержании общего белка в ЭЦМ костного мозга у всех групп животных. Тогда как в плазме крови крыс контрольной и опытной групп содержание общего белка в первые 6 ч возрастает. Ко вторым суткам показатель возвращается к уровню интактных животных. В то же время отмечено пониженное содержание в плазме крови мочевины у всех групп и на всех сроках эксперимента. В ЭЦМ костного мозга уровень мочевины также падает, но у животных опытной группы – в более ранний срок. Повышение уровня общего белка и понижение концентрации метаболита белкового обмена, возможно, являются элементом защитной реакции в ответ на экстремальное воздействие.

Заключение. Межклеточное вещество костного мозга реагирует на воспалительный процесс изменением своих химических свойств. Снижается активность трансаминаз, уменьшается содержание мочевины и триглицеридов, наблюдается накопление фосфора и глюкозы. При этом большинство биохимических реакций в костном мозге и периферической крови носят разнонаправленный характер. Вероятно, изменения состава межклеточной среды при воспалении создают благоприятные условия для пролиферации и дифференцировки гранулоцитарного ростка гемопоэза.

- 1. Курашвили Л.В., Васильков В.Г. Липидный обмен при неотложных состояниях. Пенза, 2003. 202 с.
- 2. Сейц И.Ф., Луганова И.С. Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. Л.: Медицина, 1967. 331 с.
- 3. Rossi M.I.D., Barros A.P.D.N., Baptista L.S. Multicellular spheroids of bone marrow stromal cells: a three-dimensional in vitro culture system for the study of hemapoietic cell migration // Braz. J.Med. Biol. Res. 2005. №38 (10). P. 1455–1462.

Серия биологическая

СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЦЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА

Р.К. Гафарова, И.А. Брыкина, Б.Г. Юшков

Показана роль Т-лимфоцитов, активированных иммуномодулятором, в процессах ангиогенеза в условиях ишемии.

CHARACTERISTICS OF ISCHEMIA MUSCLE MICROCIRCULATION WITH CHANGING OF T-IMMUNE SYSTEM FUNCTIONAL ACTIVITY

R.K. Gafarova, I.A. Brykina, B.G. Yushkov

The role of immunomodulator activated T-lymphocytes in the processes of angiogenesis in ischemia conditions is shown.

В современной ангиологии особое место занимает проблема образования и роста кровеносных сосудов. Вместе с тем многие механизмы регуляции этого процесса до настоящего времени остаются недостаточно исследованными. В последние годы все больше внимания уделяется роли иммунной системы, в частности лимфоцитов, в новообразовании сосудов. Популяция Т-лимфоцитов организма имеет сложную внутреннюю структуру, элементы которой (субпопуляции) различаются выполняемыми функциями. Цитокины Т-лимфоцитов могут контролировать ангиогенез как напрямую, действуя на рост и дифференцировку эндотелиоцитов, так и косвенно, модулируя активность других компонентов иммунной системы в микроокружении и через модуляцию экспрессии рецепторов, вовлечённых в ангиогенные процессы [1–3].

Цель работы: оценить состояние микрососудистого русла в области ишемии мышцы при стимуляции T-системы иммунитета.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на белых беспородных мышах-самцах массой 25 г. Ишемию задней конечности моделировали путем наложения лигатур с последующей перерезкой бедренной артерии. На 9-е сут после операции одним животным вводили препарат Тактивин (полипептиды тимуса, Тиммуно-миметик, доза 2 мкг/кг) однократно, другим — многократно (ежедневно в течение 5 дней). Выводили из эксперимента на 18-е сут после перерезки бедренной артерии. Контролем служили мышцы интактных животных, животных с ишемией 9 и 18 сут, а также животных, получавших вместо препарата физиологический раствор. Капилляры выявляли с помощью иммуногистохимического окрашивания гистологических препаратов. Для этого ацетон-фиксированные замороженные срезы мышц обрабатывали моноклональными антителами anti-mouse CD105 clone MJ7/18 (BD, USA). Для визуализации антигенреактивных клеток использовали

тест-систему Novolink TM Polymer Detection System (Novocastra Lab.,Ltd). Подсчет количества клеток в мышце производили при увеличении \times 1000 в 60 случайных полях зрения площадью 0,01 мм 2 каждое с последующим пересчетом на 1 мм 2 . Кровь исследовали на гематологическом анализаторе Biocode Hycell Celly-70. В табл. 1—4 отражены средние значения со стандартной ошибкой среднего. Статистическую обработку данных проводили при помощи программ StatSoft Statistica 6.0. Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался U-критерий Манна — Уитни (Mann — Whitney U test).

Результаты и обсуждения. Морфометрические исследования свидетельствуют, что количество капилляров в мышце через 9 сут после перерезки бедренной артерии снижается в 2,5 раза. Через 18 сут после операции наблюдается дальнейшее снижение плотности капилляров. После однократного и многократного введения Т-иммуномиметика в зону ишемии наблюдаются сходные результаты. Количество капилляров достоверно больше на единицу площади по сравнению с ишемизированными в течение 18 дней мышцами и с животными, получавшими физиологический раствор. Плотность капилляров после введения препарата соответствует уровню ишемии 9 сут. При этом количество капилляров в обеих опытных группах достоверно ниже показателей интактной мышцы; так же не наблюдается достоверных отличий между опытными группами (см. табл. 1, 2).

Таблица 1

Состояние микроциркуляторного русла мышцы после однократного введения иммуномодулятора

Показатель	Интактная группа	Ишемия 9 сут	Ишемия 18 сут	Ишемия 9 сут + физ. p-p 9 сут	Ишемия 9 сут + тактивин 9 сут
Коли- чество капилляров	239,56±11,82	97,65±7,24 *	75,36±3,5 *!	79,55±5,86 *!	113,49±3,51 *#\$

Таблица 2 Состояние микроциркуляторного русла мышцы после многократного введения иммуномодулятора

Показатель	Интактная группа	Ишемия 9 сут	Ишемия 18 сут	Ишемия 9 сут + физ. p-p 9 сут	Ишемия 9 сут + тактивин 9 сут
Коли- чество капилляров	239,56±11,82	97,65±7,24 *	75,36±3,5 *!	73,45±7,8 *!	115,74±4,73 *#\$

Примечание. Отличие достоверно по сравнению с: * – интактной группой; ! – ишемией 9 сут; # – ишемией 18 сут; \$ – животными, получавшими физиологический раствор.

Анализ показателей периферической крови показал, что на 9-е сут ишемии происходит увеличение процентного содержания лимфоцитов на фоне снижения гранулоцитов. К 18-м сут происходит увеличение абсолютного количества лейкоцитов за счет лимфоцитов и моноцитов, при этом процентное соотношение лейкоцитов соответствует уровню ишемии 9-х сут. После однократного введения иммуномиметика наблюдается увеличение количества лейкоцитов за счет лимфоцитов и моноцитов, по сравнению с интактными животными; кроме того, происходит уменьшение абсолютного и процентного количества гранулоцитов и увеличение

процентного содержания лимфоцитов по сравнению со всем группами контроля, чего не наблюдается при ведении физиологического раствора. При многократном введении иммуномиметика абсолютные значения изменяются так же, как и при однократном введении, а процентное количество лимфоцитов достоверно больше только по сравнению с интактной группой и животными, получавшими физиологический раствор.

Показатели крови	Интактная группа	Ишемия 9 сут	Ишемия 18 сут	Ишемия 9 сут + физ. p-p 9 сут	Ишемия 9 сут + тактивин 9 сут
Общее количе- ство лейкоци- тов г/л	4,96±0,6	4,98±0,76	7,91±0,87 *!	6,18±0,48	7,01±0,73 *
Лимфоциты, Γ/π	3,37±0,38	3,78±0,59	6,03±0,69 *!	4,23±0,32 #	5,85±0,63 *!
Моноциты, г/л	0,46±0,05	0,55±0,1	0,97±0,14 *!	0,84±0,17 *	0,68±0,06 *
Гранулоциты, Γ/π	1,13±0,26	0,65±0,12	0,91±0,11	1,11±0,16!	0,49±0,12 *#\$
Лимфоциты,%	68,82±2,54	76,23±2,11 *	75,9±1,43 *	69,5±3,22	83±2,09 *!#\$
Моноциты, %	10,27±0,62	10,69±0,56	12,3±0,79	13±1,76	9,89±0,4#
Гранулоциты, %	21,55±2,8	12,31±1,6 *	11,8±0,89 *	17,5±1,61 !#	7,13±1,77 *!#\$

Таблица 4
Показатели периферической крови при многократном ведении иммуномодулятора

Показатели кро- ви	Интактная группа	Ишемия 9 сут	Ишемия 18 сут	Ише- мия 9 сут + физ. p-p 9 сут	Ише- мия 9 сут + тактивин 9 сут
Общее количе- ство лейкоцитов г/л	4,96±0,6	4,98±0,76	7,91±0,87 *!	9,45±0,8 *!	7,75±0,92 *
Лимфоциты, г/л	3,37±0,38	3,78±0,59	6,03±0,69 *!	6,93±0,54 *!	6,2±0,79 *!
Моноциты, г/л	0,46±0,05	0,55±0,1	0,97±0,14 *!	1,12±0,16 *!	0,83±0,1 *
Гранулоциты, г/л	1,13±0,26	0,65±0,12	0,91±0,11	1,4±0,26!	0,72±0,05 \$
Лимфоциты, %	68,82±2,54	76,23±2,11	75,9±1,43 *	73,5±1,93	80±1,06 *\$
Моноциты, %	10,27±0,62	10,69±0,56	12,3±0,79	11,83±1,05	10,5±0,34
Гранулоциты, %	21,55±2,8	12,31±1,6 *	11,8±0,89 *	14,67±1,94	9,5±0,85 *

Примечание. Отличие достоверно по сравнению с: * – интактной группой; ! – ишемией 9 суг; # – ишемией 18 суг; \$ – животными, получавшими физиологический раствор.

Таким образом, введение препарата полипептидов тимуса, стимулирующих Тклеточное звено иммунной системы, приводит к увеличению процентного содержания лимфоцитов в периферической крови и способствует поддержанию состояния микроциркуляторного русла, следовательно, Т-лимфоциты могут влиять на сосудообразование.

- 1. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей. СПб., 1998. 113 с.
- 2. Фрейдлин И.С. Цитокины и межклеточные контакты в противоинфекционной защите организма // Соросовский образовательный журнал. 1996. №7. С. 19-25.
- 3. Naldini A. Regulation of Angiogenesis by Th1- and Th2-Type Cytokines / A. Naldini, A. Pucci, C. Bernini, F. Carraro // Current Pharmaceutical Design. 2003. Vol. 9. P. 511–519.

Серия биологическая

ЛИТОФАГИАЛЬНЫЕ СПОСОБЫ КОРРЕЦИИ НАРУШЕНИЙ ВЕЩЕСТВЕННОГО СОСТАВА И ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ СТРУКТУРЫ ОРГАНИЗМОВ

А.М. Паничев, К.С. Голохваст

Исследование феномена литофагии, а также анализ опубликованных материалов, посвященных изучению медико-биологических свойств природных минералов, позволяют сделать вывод о том, что феномен литофагии во всем многообразии его проявлений можно объяснить как инстинктивное стремление организма с помощью природных минералов корректировать вещественный состав и функции своих систем, которые могут подвергаться рассогласованию под воздействием различных неблагоприятных средовых стресс-факторов. Возможность такой коррекции обусловлена однотипными свойствами, которыми обладают многие гипергенные минералы в плане регуляции биологических, физиологических и энергетических процессов в живых организмах.

LITHOPHAGIAL METHODS OF CORRECTIVE VIOLATIONS OF MATERIAL COMPOSITION AND SPATIAL-TEMPORAL STRUCTURES OF THE BODY

A.M. Panichev, K.S. Golokhvast

The analysis of the lithophagy, as well as an analysis of published material devoted to the study of medical and biological properties of natural minerals suggest that the phenomenon lithophagy in its various manifestations can be explained as an instinctive desire of the body with natural minerals to adjust the material composition and functions of their systems, who may be under the influence of misalignment of various unfavorable time frame of stress factors. The possibility of such a correction due to the same type of qualities possessed by many of supergene minerals in terms of regulation of biological, physiological and energetic processes in living organisms.

Анализируя вышедшие за последнее десятилетие публикации, посвященные исследованию феномена инстинктивной литофагии среди животных и человека, мы вынуждены признать, что причины данного феномена большинство исследователей все еще продолжают считать либо совершенно неизвестными, либо объяснимыми лишь отчасти теми или иными гипотетическими предположениями. Среди наиболее распространенных объяснений причин литофагии в отношении группы жвачных животных наиболее вероятными считаются: дефицит натрия, возникающий в организме в связи с недостатком элемента в кормах или в связи с резкими потерями натрия на фоне развивающейся диареи, вызванной резкой (чаще, сезонной) сменой химизма кормов; расстройства системы пищеварения различной природы, сопровождаемые диареей и нарушениями в качественном и количественном составе кишечной микрофлоры [6, 8]. При этом основное полезное действие поедаемых минеральных веществ усматривается или в наличии в них дефицитного натрия, или в наличии сильных сорбентов-ионообменников, способных нормализовать соотношение в кишечном электролите важнейших ионов и микроорганизмов. Как очевидно, идеальная ситуация возникает тогда, когда в минеральном веществе присутствуют и натрий, и сорбенты-ионообменники.

Отмеченные случаи литофагии среди приматов, когда они поедают типичные кудюритные (землистого вида) минеральные вещества в тех же местах, что и жвачные животные, вполне объяснимы теми же причинами. Случаи употребления обезьянами термитных построек (распространенные, например, в Африке) некоторые исследователи объясняют стремлением животных оптимизировать состав кишечной микрофлоры за счет целлюлозоразрушающих форм, широко представленных в минеральном веществе термитников [10]. Микроорганизмы попадают в такие вещества вместе со слюной насекомых при постройке термитников. Если учесть, что в составе термитников всегда присутствуют минералы-сорбенты (каолинит, смектиты, хлориты), отсюда вполне очевидна связь этой гипотезы с обсуждавшимися выше в отношении жвачных животных.

Антитоксикационная гипотеза, выдвинутая, в частности, при обсуждении причин употребления глин попугаями в Южной Америке [9], также укладывается в общую систему представлений о сорбционно-ионообменном действии глинистых минералов по отношению к живым системам.

Гастролитная литофагия (постоянное целенаправленное заглатывание камешков, что наиболее характерно для растительноядных птиц и их предков – динозавров) многими исследователями вообще не соотносится с кудюритной литофагией, распространенной, как известно, в основном среди млекопитающих. При этом многие специалисты до сих пор убеждены в том, что главная функция гастролитов в мускульных желудках – мельничная [11]. И это при том, что эффективная ионорегуляторная функция кремниевых гастролитов была доказана экспериментально на примере домашних кур еще в 1987 г. [1]. Ионорегуляторный механизм кремниевых гастролитов основан на формировании кремниевых гелей, возникающих при трении друг о друга кристаллов кварца в мускульном желудке. Образующиеся при этом кремниевые гели-иониты являются необычайно эффективными регуляторами состава большинства ионов в нижних отделах пищеварительного тракта, из чего следует, что главная функция гастролитов не мельничная, а ионорегуляторная, и в этом качестве она вполне сопоставима с биологическим действием кудюритных, т.е. глинистых и цеолитных, сорбентов-ионообменников.

Проведенное нами всестороннее исследование феномена литофагии среди животных (большая часть которых выполнена на территории Сихотэ-Алиня), а также опубликованных материалов, посвященных изучению биологических свойств природных минералов, употребляемых животными и человеком, позволяют сделать вывод о том, что феномен литофагии во всем многообразии его проявлений можно объяснить только инстинктивным стремлением организмов корректировать вещественный состав и функции различных систем, которые могут подвергаться рассогласованию под воздействием самых различных неблагоприятных средовых стресс-факторов, с помощью широко распространенных природных минералов. По сути, речь идет о периодически возникающих проблемах адаптации организмов с развитием стресса под воздействием неблагоприятных геологических, геофизических и космофизических факторов и эволюционно сложившегося инстинктивного универсального способа коррекции таких нарушений с использованием природных минералов. Стресс у животных, вызванный средовыми факторами, может усугубляться беременностью, линькой, а также ранениями и другими патологическими состояниями. Если же говорить о причинах литофагии не в обобщенном виде, а применительно к конкретным случаям, то они могут быть весьма различными. Различия эти можно подразделять исходя либо из первичных причинных стресс-факторов (таких, например, как особенности геохимии и биогеохимии конкретного района, особенности климата, доля токсичных растений в составе кормов и т.п.), либо из вторичного причинного комплекса соответствующих нарушений в организме.

Сама возможность коррекции организма через литофагию обусловлена однотипными свойствами, которыми обладают многие гипергенные минералы (формируемые в зоне выветривания горных пород) в плане регуляции физиологических, информационных и энергетических процессов в живых организмах.

К минералам, обладающим выраженными регулирующе-стабилизирующими свойствами по отношению к живым системам, уже смело можно отнести смектиты, минералы группы каолинита, хлориты, гидрослюды, вермикулиты, некоторые разновидности цеолитов, а также некоторые формы оксидов кремния. Благоприятная по отношению к организму млекопитающих их активность уже имеет многочисленные экспериментальные подтверждения, обзор которых приводился нами ранее [4, 5]. Здесь можно заметить, что биологической активностью обладают все без исключения природные минералы, однако далеко не у всех эта активность нацелена на стабилизацию структуры и функций систем организма млекопитающих (не путать полезность или вредность, обусловленную дозой).

Среди уже выявленных свойств перечисленных выше минералов, которые могут использоваться для компенсации различных нарушений в организме млекопитающих, можно отметить следующие: способность к корректировке в организме состава щелочных и щелочноземельных элементов; способность поставлять биофильные микроэлементы, а также биоакивные формы оксидов кремния; влияние на общий обмен веществ в организме за счет активизации и пролонгации действия ферментных систем; благотворное влияние на симбионтную микрофлору и баланс воды в пищеварительном тракте, на иммунный статус, на процессы тканевой регенерации. Все перечисленные выше минералы обладают также способностью к детоксикации организма.

Помимо уже установленных, несомненно, существуют и другие свойства природных минералов в плане регуляции различных систем организма, которые еще только предстоит выявить. Одним из малоизвестных биорегуляционных свойств минералов может, к примеру, оказаться способность нивелировать отрицательные эффекты нарушения терморегуляции. Так, недавно появились данные о том, что цеолиты способны нивелировать большую часть отрицательных эффектов как охлаждения [3], так и перегрева организма [2]. Известно, что общее охлаждение, как и перегрев, угнетает в организме практически все системы жизнеобеспечения. С точки зрения клеточной патологии, отрицательное влияние как низких, так и высоких температур обусловлено снижением в клетках активности окислительновосстановительных и повышением активности гидролитических ферментов, развитием тканевой гипоксии, снижением энергетических ресурсов, нарушением регуляторных внутриклеточных механизмов. Отсюда вполне логично допустить, что употребление некоторых минералов может иметь существенное значение для расширения адаптивных возможностей организма и для выживания в условиях как слишком низких, так и слишком высоких температур.

Биологически активные свойства у гипергенных минералов появились, разумеется, не случайно. Они обусловлены тесной связью минералов коры выветривания и биологических систем еще со времен зарождения жизни на Земле и совершенствовались на протяжении длительной коэволюции минерально-кристаллического и биологического миров.

Таким образом, причины литофагии, если их охарактеризовать в обобщенном виде, это всегда состояние стресса на фоне дезадаптации организма, которое животные снимают инстинктивно через употребление широко распространенных минералов зоны выветривания самых разнообразных горных пород. В данном случае понятие «стресс» следует понимать в соответствии с классическим его толкованием по Г. Селье, т.е. как неспецифический комплекс функциональных и морфологических изменений в организме, возникающих под действием любых внешнесредо-

вых воздействий или стрессоров [7]. Понятие «адаптации – дезадаптации» следует уточнить особо, поскольку у авторов имеется свой взгляд на его толкование. Под состоянием адаптации конкретного организма понимается гармоничное взаимодействие организма (его внутренней среды с присущей ему собственной временной структурой) с веществом и другими организмами пространства его постоянного обитания, а также с потоком времени, присущим этому пространству. Состояние дезадаптации возникает при нарушении этой гармонии.

У некоторых растительноядных млекопитающих животных, особенно жвачных, в силу их особого физиологически обусловленного пристрастия к натрию (как известно, значительный объем натрия у этой группы животных вовлекается в пищеварительный цикл), стимулов к литофагии может быть два [5]. Наряду с инстинктивным стремлением к поеданию минералов, обладающих широким адаптогенным действием, может проявляться узконаправленное рефлекторное стремление к любым насыщенным натрием веществам, в первую очередь, к пресноводным и морским растениям, а также к различным твердым и жидким минеральным и органоминеральным веществам (источниковые и морские воды, кудюриты, почвы).

Особый акцент в литофагиальных способах коррекции стрессовых состояний в организме, связанных с действием неблагоприятных средовых факторов, мы усматриваем в способности минералов к регуляции временной структуры живых систем. Здесь мы имеем в виду не только косвенные способы подстройки биоритмики через нормализацию состава и функций органов и тканей. Похоже, что некоторые минерально-кристаллические вещества способны благотворно влиять непосредственно на пространственно-временную основу живых систем как сложных квазикристаллических ритмично пульсирующих атомарных структур, построенных во многом по аналогии с типичными природными кристаллами.

- 1. *Бгатов В.И., Мотовилов К.Я., Спешилова М.А.* Функции природных минералов в обменных процессах сельскохозяйственной птицы // С.-х. биология. 1987. № 7. С. 98–102.
- 2. Воробъева Н.Ф. Реакция крови и подкожной рыхлой соединительной ткани белых крыс при общем перегревании организма и при перегревании на фоне введения природных цеолитов // Бюл. СО РАМН. 2007. Т. 123, №1. С. 76–79.
- 3. *Голохваст К.С., Целуйко С.С.* Иммуномодулирующие свойства цеолитов Вангинского месторождения при ингаляционном введении в условиях общего охлаждения // Дальневосточный медицинский журнал. 2006. № 3. С. 92-94.
- 4. Голохваст К.С., Паничев А.М. Цеолиты: обзор биомедицинской литературы // Успехи наук о жизни. 2009. №1. С. 70–81.
- Паничев А.М. Значение литофагии в жизни диких травоядных животных // Доклады АН СССР.
 1989. Т. 306, №4. С. 1018–1021.
- 6. Паничев А.М. Литофагия у животных и человека: Автореф. дис. . . . д-ра биол. наук. Владивосток, 1998. 59 с.
 - 7. *Селье* Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979. 250 с.
- 8. Abrahams P.W., Parsons J.A. Geophagy in the Tropics: a literature review // Geogr. J. 1996. Vol. 162, P. 1. March. P. 63–72.
- 9. Gilardi J.D., Duffey S.S., Munn C.A., Tell L.A. Biochemical function of geophagy in parrots: detoxification of dietary toxins and cytoprotective effects // J. of Chemical Ecology. 1999. Vol. 25, Ne4. P. 897–992.
- 10. Keich L.A., Malloch D, Mahaney W.C., Huffman M.A. Comparative microbial analysis and clay mineralogy of soils eaten by chimpanzees (Pan troglodytes schweinfurthii) in Tanzania // Soil Biology and Biochemistry. 2001. Vol. 33, №2. P. 199–203.
- 11. Vings O. Identification, distribution, and function of gasstroliths in dinosaurs and extent birds with emphasis on ostriches (struthio camelus): Diss. Doct., 2004. http:// hss. ulb. uni -bonn.de/diss_online electronisch publiziert

Серия биологическая

ОБЗОР ВЕЩЕСТВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОМИНЕРАЛИЗАЦИИ

К.С. Голохваст, И.Э. Памирский, А.М. Паничев

Приводится обзор веществ, участвующих в процессах биоминерализации.

REVIEW OF THE SUBSTANCES INVOLVED IN BIOMINERALIZATION

K.S. Golokhvast, I.E. Pamirsky, A.M. Panichev

The article provides an overview of substances involved in biomineralization.

На Земле минеральные образования в норме в виде экзо- и эндоскелетов встречаются у радиолярий, кокколитофорид, диатомовых водорослей, губок, всех позвоночных животных. В качестве включений минералы присутствуют во всех формах жизни на планете, в том числе и в грибах, лишайниках и растениях (фитоминералы) (Skinner, Jahren, 2003; Юшкин, 2007). В губках и диатомовых водорослях открыты ферменты, которые в качестве субстрата используют минеральные кристаллические решетки (кремниевые минералы, апатиты и некоторые другие). В частности силикатеины и силиказы способны формировать и разрушать неорганические структуры на основе кремния, например кремнезем (SiO₂) (Foo et al., 2004; Brandstadt, 2005; Brunner et al., 2009; Kröger, 2009; Ehrlich et al., 2010; Tesson, Hildebrand, 2010). Ниже приводятся обзорные данные по известным на сегодняшний момент веществам, участвующим в биоминерализации.

Силикатеины. Первый силикатеин был обнаружен в осевой нити спикул губок, и назван силикатеин-α (Shimizu et al., 1998). Сегодня известно около 50 силикатеинов, выделенных из разных речных и морских губок. По химической природе силикатеины подобны протеолитическим ферментам, катепсинам (Shimizu et al., 1998; Krasko et al., 2000; Müller et al., 2003). В губках силикатены катализируют образование аморфного кремнезема из его мономерных соединений — эфиров кремниевой кислоты (Schröder et al., 2007). Процесс происходит в две стадии: 1) гидролиз эфира кремния с образованием силанола; 2) полимеризация молекул силанола с образованием аморфного кремнезема (Cha et al., 1999).

Силиказы. Силиказы – ферменты, осуществляющие деполимеризацию кремнезема, обнаружены в морской губке (Schröder et al., 2007). Силиказа принадлежит к семейству угольных ангидраз (Müller at al., 2007), относящихся к классу цинкзависимых металлоферментов (Sly, Hu, 1995), и механизм работы силиказы губки аналогичен механизму цинкзависимых ферментов, гидролизирующих эфиры (Schröder et al., 2007). Экспрессия гена силиказы резко возрастает в ответ на увеличение концентрации кремния (Krasko et al., 2000).

Карбоангидраза II. В плане исследования биоминеральных процессов из семейства карбоангидраз, кроме силиказы, стоит выделить карбоангидразу II (СА II) (29 кДа), принимающую участие в регуляции обновления костной ткани животных, в том числе и человека (Lindskog, 1997; Geers, Gros, 2000; Breton, 2001; Zo Fisher et al., 2010).

Силаффины. Силаффины – пептиды, богатые лизином. Впервые эти полипептиды были обнаружены в диатомовых водорослях, клеточные стенки которых образуют «панцирь» из кремнезёма и на данный момент хорошо изучены (Kröger et al., 2001; Poulsen, Kröger, 2004; Kharlampieva et al., 2010; Sheppard et al., 2010). Установлено также, что *in vitro* силаффины способны образовывать кремнезем различной наноструктуры, однако подобные структуры биокремнезема у диатомовых водорослей не обнаружены (Kröger et al., 2002). На данный момент к этому семейству относят пептиды, выделенные с помощью NH₄F: (natSil) natSil-1A (6,5 кДа), natSil-1B (10 кДа) и nat-Sil-2 (40 кДа), а также более легкие пептиды, выделяемые после обработки диатомей HF: силаффин-1A (4 кДа), силаффин-1B (8 кДа) и силаффин-2 (17 кДа) (Rezanka, Sigler, 2008).

Фрустулины. Фрустулины — кальцийсвязанные гликопротеины, являющиеся одними из основных компонентов клеточной стенки диатомей, были открыты сравнительно недавно и также участвуют в биоминерализации (Kröger et al., 1994, 1996, 1997). Ранее было показано, что ε-фрустулин из диатомовой водоросли *Navicula pelliculosa*, найденный и в *Cylindrotheca fusiformis*, локализован в клеточной стенке, и его синтез выражен во время строительства клеточной стенки (Fischer et al., 1999). На сегодняшний момент описано 5 типов фрустулинов: α-фрустулин (75 кДа), β-фрустулин (105 кДа), γ-фрустулин (200 кДа), δ-фрустулин (35 кДа) и ε-фрустулин (140 кДа) (Scala, Bowler, 2001). Все они содержат характерные богатые цистеином области (ACR domains). Функция этого домена пока неизвестна (Falciatore, Bowler, 2002).

Плевралины. Плевралины (ранее назывались HEP) — семейство кальцийсвязанных белков (Kröger et al., 1997; Wenzler et al., 2001), расположенных на внутренней поверхности терминальных элементов эпитеки диатомовых водорослей. Все плевралины содержат пролин-богатый домен, состоящий из 3—5 консервативных так называемых PSCD-доменов из 87 или 89 аминокислотных остатков, соответственно, богатых пролином (22 %), серином (11 %), цистеином (11 %) и аспартатом (9 %). С помощью НF выделены плевралин-1 (200 кДа), плевралин-2 (180 кДа) и плевралин-3 (150 кДа), обнаруженные при формировании новой теки (одной из половинок клеточной стенки диатомей) (Kröger, Wetherbee, 2000; Rezanka, Sigler, 2008).

Силацидины. Силацидины – фосфорилированные пептиды, содержащие 29—31 аминокислотный остаток, которые чрезвычайно богаты серином, аспартатом и глугаматом. Известны силацидин A, силацидин B и силацидин C (Sumper, Brunner, 2008; Wenzl et al., 2008).

Полиамины с длинной цепью (LCPA). LCPA найдены как в губках, так и в клеточных стенках диатомовых водорослей (Matsunaga et al., 2007). LCPA — небелковые компоненты, которые содержат линейные олигопропиленаминные цепи. N-атомы в LCPA имеют широкие возможности для метилирования (Bridoux, Ingalls, 2010).

Транспортеры кремния (SIT). Типичными представителями транспортеров кремния являются SIT1 (548 Ам; 60,572 Да), выделенный из диатомовой водоросли *Cylindrotheca fusiformis*, и aquaporin NIP2-1, или low silicon protein 1 (Lsi 1) (298 Ам; 31,978 Да), выделенный из риса обыкновенного. Аквапорин NIP2-1, SIT1 и подобные им белки объединяют в семейство транспортеров кремния (SIT — **Si**licon Transporter, silicic acid transporters). Сегодня открыто более 100 различных белков, способных транспортировать ионы и кислоты кремния (Yamaji, Ma, 2007). Одна из

точек зрения по поводу механизма транспорта кремния такова. Lsi 1, как и Lsi 2, согласно (Ма et al., 2007), локализованы в плазмалемме, но первый находится с дистальной стороны, а второй – с проксимальной. Как считают авторы, имеет место уникальный механизм переноса: Lsi 1 закачивает кремний внутрь клетки, а Lsi 2, наоборот, выкачивает.

Магнитосомные белки (Мат). В магниточувствительных бактериях, способных накапливать ионы железа, имеется ряд белков, осуществляющих внутриклеточный синтез нано- и микрочастиц (от 10 до 200 нм) магнетита, грейгита, маггемита и других ферритов (FeO, Fe₂O₃, Fe₃O₄, Fe₃S₄) различной формы (кубические, удлиненные призматические, стрелкообразные и другие). Частицы магнетита накапливаются во внутриклеточных образованиях, магнитосомах, формирующих упорядоченное скопление в виде цепочек из нескольких десятков звеньев (иногда в литературе под магнитосомами понимается скопление частиц кристаллов магнетита). Магнитосомы были открыты К. Блэкмором (Blakemore) в 1975 г. Они представляют собой образования в виде пузырьков, имеющих уникальный биохимический состав и мембрану, берущую начало от цитоплазматических мембран. Предположительно, магнитосомные цепи встраиваются в структуру цитоскелета, образованного актин-подобными белками (Schüler, 2008). Установлено, что механизмы биосинтеза магнитосом регулируются генетическим аппаратом, но изучены не до конца (Schüler, 2008; Nakazawa et al., 2009). Известно около 20 магнитосомспецифических белков, участвующих в формировании магнитосом, направленном транспорте железа, а также при кристаллизации и внутриклеточном расположении частиц магнетита у разных магниточувствительных бактерий (Grünberg et al., 2004; Schüler, 2008).

Микоспорин-подобные аминокислоты (МАА). В диатомовых водорослях обнаружен ряд веществ с предполагаемым участием в биоминерализации, хотя и с не определенной пока ролью, например микоспорин-подобные аминокислоты (mycosporine-like amino acids (MAA)) (Singh et al., 2008; Ingalls et al., 2010).

В качестве заключения можно отметить, что силикатеины, силиказа, силаффины, транспортеры кремния, магнитосомные белки и их гомологи встречаются во многих формах жизни. Возможно, многие организмы утратили возможность утилизировать такие соединения, как кремнезем и ферриты, а гены, кодировавшие необходимые для этого белки, «молчат» либо претерпели изменения. Очевидно, что появление и развитие живых организмов находилось и продолжает находиться в постоянном взаимодействии с минеральным окружением. Можно предположить, что ответ на вопросы происхождения и эволюции жизни на Земле лежит в расшифровке механизмов биоминерализации, а также в установлении филогенетической связи участвующих в этом процессе белков.

- 1. Юикин Н.П. Минеральный мир и биосфера // Вестник Института геологии Коми НЦ УрО РАН. 2007. №6. С. 2–5.
- 2. Brandstadt K.F. Inspired by nature: an exploration of biocatalyzed siloxane bond formation and cleavage // Current Opinion in Biotechnology. 2005. Vol. 16, №4. P. 393–397.
- 3. Breton S. The cellular physiology of carbonic anhydrases // J. Pancreas (Online). 2001. Vol. 2 (4 Suppl). P. 159–164.
- 4. Bridoux M.C., Ingalls A.E. Structural identification of long-chain polyamines associated with diatom biosilica in a Southern Ocean sediment core // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2010. Vol. 74, №14. P 4044–4057
- 5. Analytical studies of silica biomineralization: towards an understanding of silica processing by diatoms / E. Brunner, C. Gröger, K. Lutz et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. №84. P. 607–616.
- 6. *Silicatein* filaments and subunits from a marine sponge direct the polymerization of silica and silicones in vitro / Cha J.N., Shimizu K., Zhou Y. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. № 96. P. 361–365.

- 7. Modern views on desilicification: biosilica and abiotic silica dissolution in natural and artificial environments / H. Ehrlich, K.D. Demadis, O.S. Pokrovsky, P.G. Koutsoukos // Chem. Rev., Article ASAP. DOI: 10.1021/cr900334y. Publication on May 4, 2010.
- 8. Falciatore A., Bowler C. Renealing thermoregular secrets of marine diatoms // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. №53. P. 109–30.
- 9. *Targeting* and covalent modification of cell wall and membrane proteins heterologously expressed in the diatom Cylindrotheca fusiformis (BACILLARIOPHYCEAE) / H. Fischer, I. Robl, M. Sumper, N. Kröger // Journal of Phycology. 1999. Vol. 35, №1. P. 113–120.
- 10. Lessons from seashells: silica mineralization via protein templating / C.W.P. Foo, J. Huang, D.L. Kaplan // Trends in Biotechnology. 2004. Vol. 22, №11. P. 577–585.
- 11. Geers C., Gros G. Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle // Physiological Reviews. 2000. Vol. 80, №2. P. 681–715.
- 12. *Biochemical* and proteomic analysis of the magnetosome membrane in Magnetospirillum gryphiswaldense / Grünberg K., Müller E.C., Otto A. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70, №2. P 1040–1050
- 13. *Tinted* windows: The presence of the UV absorbing compounds called mycosporine-like amino acids embedded in the frustules of marine diatoms / A.E. Ingalls, K. Whitehead, M.C. Bridoux // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2010. №74. P. 104–115.
- 14. Secondary structure of silaffin at interfaces and titania formation / E. Kharlampieva, C.M. Jung, V. Kozlovskaya, V.V. Tsukruk // J. Mater. Chem. 2010. №20. P. 5242–5250.
- 15. Expression of silicatein and collagen genes in the marine sponge Suberites domuncula is controlled by silicate and myotrophin / A. Krasko, B. Lorenz, R. Batel et al. // Eur. J. Biochem. 2000. Vol. 267. P. 4878–4887.
- 16. *A new* calcium binding glycoprotein family constitutes a major diatom cell wall component / N. Kröger, C. Bergsdorf, M. Sumper // EMBO J. 1994. №13. P. 4676–4683.
- 17. Frustulins: domain conservation in a protein family associated with diatom cell walls / N. Kröger, C. Bergsdorf, M. Sumper // Eur. J. Biochem. 1996. №239. P. 259–264.
- 18. *Characterization* of a 200-kDa diatom protein that is specifically associated with a silica-based substructure of the cell wall / N. Kröger, G. Lehmann, R. Rachel, M. Sumper // European Journal of Biochemistry. 1997. Vol. 250, №1. P. 99–105.
- 19. Kröger N., Wetherbee R. Pleuralins are involved in theca differentiation in the diatom Cylindrotheca fusiformis // Protist. 2000. №151. P. 263–273.
- 20. *Silica-precipitating* peptides from Diatoms. The chemical structure of silaffin-1A from Cylindrotheca fusiformis / N. Kröger, R. Deutzmann, M. Sumper // J. of biological chemistry. 2001. Vol. 276, №28. P. 26066–26070.
- 21. *Self-assembly* of highly phosphorylated silaffins and their function in biosilica morphogenesis / Kröger N., Lorenz S., Brunner E., Sumper M. // Science. 2002. Vol. 298. P. 584–586.
 - 22. Kröger N. The molecular basis of nacre formation // Science. 2009. №325. P. 1351–1352.
- 23. Lindskog S. Structure and mechanism of carbonic anhydrase // Pharmacology & Therapeutics. 1997. Vol. 74, №1. P. 1–20.
- 24. An efflux transporter of silicon in rice / J.F. Ma, N. Yamaji, N. Mitani et al. // Nature. 2007. Vol. 448(7150). P. 209–12.
- 25. Long-chain polyamines (LCPAs) from marine sponge: possible implication in spicule formation / S. Matsunaga, R. Sakai, M. Jimbo, H. Kamiya // ChemBioChem. 2007. Vol. 8, №14. P. 1729–1735.
- 26. *Molecular* mechanism of spicule formation in the demosponge Suberites domuncula: silicatein collagen myotrophin / W.E.G. Müller, A. Krasko, G. Le Pennec et al. // Prog. Mol. Subcell. Biol. 2003. №33. P. 195–221.
- 27. *The unique* skeleton of siliceous sponges (Porifera; Hexactinellida and Demospongiae) that evolved first from the Urmetazoa during the Proterozoic: a Review / W.E.G. Müller, J. Li, H.C. Schroder et al. // Biogeosciences Discuss. 2007. №4. P. 385–416.
- 28. Whole genome sequence of Desulfovibrio magneticus strain RS-1 revealed common gene clusters in magnetotactic bacteria / Nakazawa H., Arakaki A., Narita-Yamada S. et al. // Genome Res. 2009. Vol. 19, №10. P. 1801–1808.
- 29. Poulsen N., Kröger N. Silica morphogenesis by alternative processing of silaffins in the diatom Thalassiosira pseudonana // The Journal of Biological Chemistry. 2004. №279. P. 42993–42999.
- 30. Rezanka T., Sigler K. Biologically active compounds of semi-metals // Phytochemistry. 2008. №69. P. 585–606.
- 31. Scala S., Bowler C. Molecular insights into the novel aspects of diatom biology // Cell. Mol. Life Sci. 2001. №58. P. 1666–1673.
- 32. *Silicateins*, silicase and spicule-associated proteins: synthesis of demosponge silica skeleton and nanobiotechnological applications / Schröder H.C., Krasko A., Brandt D. et al. // Biodiversity, innovation and Sustainability. 2007. P. 581–592.
- 33. Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria // FEMS Microbiol. Rev. 2008. Vol. 32, № 4. P. 654–672.

- 34. *Characterization* of an endoplasmic reticulum-associated silaffin kinase from the diatom Thalassiosira pseudonana / V. Sheppard, N. Poulsen, N. Kröger // J. Biol. Chem. 2010. №285(2). P. 1166–76.
- 35. Shimizu K., Cha J., Stucky G.D., Morse D.E. Silicatein alpha: cathepsin L-like protein in sponge biosilica // PNAS. 1998. №95. P. 6234–6238.
- 36. *Mycosporine-like* amino acids (MAAs): chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/sunscreen compounds / S.P. Singh, S. Kumari, R.P. Rastogi et al. // Indian J. Exp. Biol. 2008. №46. P. 7–17.
- 37. Skinner H.C.W., Berger A. Geology and health, clothing the gap. New York: Oxford University Press, 2003. 204 p.
- 38. Sly W.S., Hu P.Y. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies // Annu. Rev. Biochem. 1995. № 64. P. 375–401.
- 39. Sumper M., Brunner E. Silica biomineralisation in Diatoms: the model organism Thalassiosira pseudonana // ChemBioChem. 2008. Vol. 9, №8. P. 1187–1194.
- 40. *Tesson B., Hildebrand M.* Dynamics of silica cell wall morphogenesis in the diatom Cyclotella cryptica: Substructure formation and the role of microfilaments // Journal of Structural Biology. 2010. Vol. 169, №1. P. 62–74.
- 41. *Silacidins*: highly acidic phosphopeptides from diatom shells assist in silica precipitation in vitro / S. Wenzl, R. Hett, P. Richthammer, M. Sumper // Angewandte Chemie. 2008. Vol. 120, №9. P. 1753–1756.
- 42. Letter to the Editor: 1H, 13C and 15N sequence-specific resonance assignment of the PSCD4 domain of diatom cell wall protein pleuralin-1 / M. Wenzler, E. Brunner, N. Kröger et al. // Journal of Biomolecular NMR, 2001. №20. P. 191–192.
- 43. *Yamaji N., Ma J.F.* Spatial distribution and temporal variation of the rice silicon transporter Lsi1 // Plant Physiology. 2007. №143. P. 1306–1313.
- 44. *Neutron* structure of human carbonic anhydrase II: implications for proton transfer / S. Zo Fisher, A.Y. Kovalevsky, J.F. Domsic et al. // Biochemistry. 2010. Vol. 49 (3). P. 415–421.

Серия биологическая

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ (RANA ARVALIS, R. AMURENSIS, PEOPLEOX RIDIBUNDA) НА ТЕРРИТОРИИ СРЕДНЕЙ СИБИРИ

С.Н. Городилова, М.Н. Ишмухаметова

Приведены показатели содержания глюкозы, белка, альбумина и электрофоретических профилей плазмы белков бесхвостых амфибий. Показана разница в энергообмене водяных лягушек по сравнению с травяными.

BLOOD BIOCHEMICAL FEATURES OF SOME FROG SPECIES (RANA ARVALIS, R. AMURENSIS, PEOPLEOX RIDIBUNDA) ON MIDDLE SIBERIA

S.N. Gorodilova, M.N. Ishmuchametova

The blood content of glucose, protein, albumin, electrophoretic prophils of plasme proteins were demonstrated to difference in water frog from brown frogs.

Сравнительные физиологические и биохимические исследования амфибий в природных популяциях важны для понимания механизмов их адаптации к среде обитания. Целью работы было сопоставление белковых спектров и некоторых биохимических показателей крови трех видов бесхвостых амфибий, обитающих в лесостепи Средней Сибири.

Отлов бесхвостых амфибий осуществлялся в весенне-летний период на интразональных участках лесостепи Средней Сибири по общепринятым методикам полевых исследований земноводных [1, 4, 5]. Забор крови производили сразу же после отлова путем декапитации животных. В качестве антикоагулянта использовали гепарин. Содержание гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом. Плазму получали путем центрифугирования крови и до использования хранили в замороженном состоянии. В плазме определяли фотоэлектроколориметрическим методом содержание альбумина по интенсивности окраски с бромкрезоловым зеленым (набор реагентов Агат-Мед) и содержание глюкозы глюкозооксидазным методом (набор реагентов «ФКД»). Белки плазмы подвергали вертикальному ПА-АГ электрофорезу с додецилсульфатом натрия в буферной системе Laemmly. В качестве разделяющего использовали 10 % ПААГ гель. Количество белковых полос, их электрофоретическую подвижность сопоставляли у разных видов с помощью кластерного анализа.

У озерной лягушки содержание гемоглобина ($45,4\pm6,2$ г/л) было незначительно понижено по сравнению с остромордой ($54,1\pm5,4$ г/л) и сибирской ($54,5\pm13,3$ г/л). Содержание в плазме общего белка у озерной лягушки было незначительно снижено, а содержание альбумина у нее было в 2 раза ниже, чем у остромордой ($15,43\pm1,90$ мкг/мл против $30,86\pm1,93$ мкг/мл; р<0,05). Содержание глюкозы в крови у озерной лягушки

также было самым низким по сравнению с двумя другими видами $(1,4\pm0,22\ \text{моль/л}$ против 2.3 ± 0.33 у остромордой и 4.7 ± 0.6 моль/л у сибирской лягушек).

На денситограммах электрофореза плазмы выявлялось 9-10 пиков (рис. 1). По числу разделившихся белков, по конфигурации соответствующих им пиков наибольшее сходство проявляли денситограммы бурых лягушек. Наибольшее содержание белка сосредоточено в диапазоне подвижностей, соответствующих диапазону молекулярных масс 50-70 кДа. В этом диапазоне доминировали белки 58 и 61 кДа у остромордой лягушки, белок 60 кДа у сибирской лягушки и белок 62 кДа у озерной лягушки. Относительная площадь этих соответствующих альбуминам белковых пиков у бурых лягушек были выше по сравнению с озерной лягушкой.



0.8 0.6

0.2

n

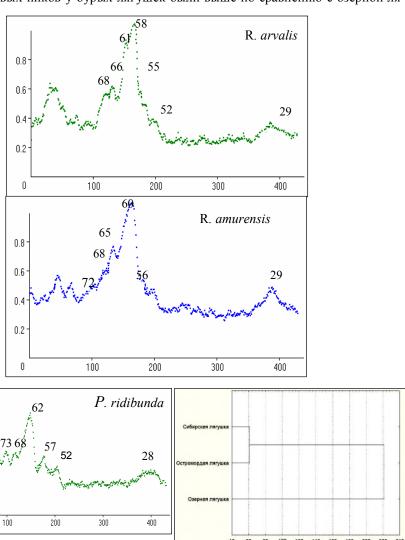


Рис. 1. Денситограммы электрофореза белков плазмы крови близкородственных видов лягушек зоны симпатрии и рассчитанные по ним межвидовые дистанции. (По оси абсиисс – электрофоретическая подвижность (усл. ед.), а по оси ординат – оптическая плотность, иифры над пиками – молекулярные массы некоторых белковых полос (кДа)). Справа внизу результаты кластерного анализа электрофоретической подвижности белковых пиков)

Результаты работы согласуются с мнением Фроста об отличиях зеленых и бурых лягушек и придания им статуса отдельных родов *Pelophylax* Fitzinger, 1843 — зеленые (водные) лягушки и *Rana* Linnaeus, 1758 — бурые (травяные) лягушки [8]. Повышенное содержание гемоглобина и глюкозы, по-видимому, отражают повышенную интенсивность энергообмена у бурых лягушек по сравнению с обитающими в относительно термостабильной водной среде более крупными озерными лягушками. Приспособлением к водному образу жизни, возможно, является обнаруженное нами пониженное содержание альбумина у озерной лягушки. Теоретически снижение этого показателя ведет к уменьшению онкотического давления крови и, следовательно, к повышению эффективного фильтрационного давления в почках и более эффективному удалению жидкости.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования биохимического анализа крови для изучения адаптаций амфибий к среде обитания.

Авторы выражают благодарность доценту кафедры биомедицинских основ жизнедеятельности человека КГПУ им. В.П. Астафьева к.б.н. Е.И. Елсуковой за помощь в проведении ПААГ электрофореза белков.

- 1. Банников $A.\Gamma$. Определитель земноводных и пресмыкающихся $/A.\Gamma$. Банников, И.С Даревский. М.: Высш. шк., 1977. 217 с.
- 2. Городилова С.Н. Эколого-фаунистический анализ земноводных (АМРНІВІА) лесостепи Средней Сибири: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2010. 24 с.
 - 3. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология: В 3 т. М.: Мир, 1993. Т. 3. С. 104–105.
- 4. *Ляпков С.М.* Измерение и мониторинг биологического разнообразия: стандартные методики для земноводных. М.: Изд-во КМК, 2003. 380 с.
- 5. Новиков Г.А. Полевые исследования экологии наземных позвоночных животных. Л.: Сов. наука, 1949. 602 с.
- 6. Роговин К.А. Экология сообществ родственных видов животных (подходы и методы исследований на примере наземных позвоночных) // Журн. общ. биол. 1999. Т. 60. С. 394–413.
- 7. Frost D.R. The Amphibian tree of line / D.R. Frost, T. Grant, J.N. Faivovich et al. // Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 2006. 370 p.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ У СТУДЕНТОВ РАЗНЫХ КУРСОВ ОБУЧЕНИЯ

И.С. Громова, М.Т. Кочеткова

Рассматриваются понятие адаптации, её формы и особенности применительно к студентам высшего учебного заведения. На основе проведенных исследований раскрывается связь адаптационных перестроек и распределения активности у студентов.

DISTINTIONS OF ADAPTATION AND ACTIVITYDISTRIBUTION OF STUDENTS ONDIFFERENT COURSES

I.S. Gromova, M.T. Kochetkova

There are considered the concept of adaptation, kinds and features of adaptation in regard to university students. Based on conducted research the relation between adaptational transformations and activity distribution of students is revealed.

Проблема адаптации человека к условиям окружающей среды является весьма актуальной в настоящее время. В связи с постоянно меняющимися и возрастающими требованиями к современному человеку процесс адаптации рассматривается с разных сторон - как биологический, психологический, социальный. Под адаптацией понимают все виды врожденной и приобретенной приспособительной деятельности человека, и обеспечиваются они определенными физиологическими реакциями, происходящими на клеточном, органном, системном и организменном уровнях [7]. Особую значимость приобретает проблема адаптации студентов к обучению в вузе, так как данный аспект затрагивает будущее и каждого студента, и общества в целом. Адаптация первокурсников к условиям обучения в вузе является сложным, многоуровневым процессом, включающим, прежде всего, адаптацию к новым формам обучения и к новой социальной среде [1, 4, 6]. Хотя учебные и физические нагрузки, а также условия, в которых идут занятия, далеки от экстремальных, все же в условиях таких влияний адаптационный процесс протекает на всех уровнях организма [1]. Определяет адаптацию адаптивная потребность, реализуемая в сложных объективно-субъективных формах (приспособления и приспосабливания), а реализация адаптивной потребности зависит от уровня развития адаптивных способностей личности [3]. Известно также, что различают две формы адаптации: пассивную и активную. Пассивная адаптация характеризуется снижением чувствительности и охранительной реактивностью (привыкание к различным неблагоприятным факторам среды). Активная адаптация происходит благодаря тому, что при повторении активности происходит суммация следов нервного возбуждения и достигается более эффективное взаимодействие организма со средой за счет интенсивных и продуктивных видов этого взаимодействия [2]. Разрешение адаптивной ситуации диктует необходимость выработки новых установок, убеждений, свойств и даже черт личности [3]. Таким образом, адаптация является мощным стимулом для развития личности. Потребность в самореализации - одна из ведущих потребностей личности, определяющая ее активность, направленную на преобразование себя, других и окружающей среды. Активность находит свое выражение в процессах адаптации. В физиологическом плане активность рассматривается как проявление полноценности индивида в приспособлении к изменяющимся требованиям внешней среды. Движущий фактор развития - это стремление к достижению конечного полезного эффекта. В процессе адаптации формируется соответствующий индивидуальный стиль деятельности личности, что позволяет ей выполнять с определенным успехом свою профессионально-функциональную роль. Именно эти изменения, происходящие в процессе адаптации студентов к обучению в вузе, являются тем аспектом, на который следует обратить внимание. Образовательный процесс в педагогическом вузе способствует не только развитию когнитивной сферы студентов, но и развивает их познавательную активность, самостоятельность, активизирует процессы овладения методами самообразования, формирует и совершенствует личностные качества, необходимые для успешного осуществления профессионально-педагогической деятельности. Необходимо, чтобы студенты активно включались в процесс овладения знаниями и способами их освоения с начальных этапов обучения. В этой связи особенно остро встает проблема адаптации студентов.

Наши исследования проводились с целью изучения уровня адаптивности студентов разных курсов и особенностей распределения активности. В исследованиях были использованы различные методики. По методике ОФДСИ В.М. Русалова [5] были определены показатели психомоторной (ИПА), интеллектуальной (ИИА) и коммуникативной активности (ИКА), а также общей активности (ИОА), общей эмоциональности (ИОЭ) и такой интегральный показатель, как индекс общей адаптивности (ИОАд). В исследованиях приняло участие 192 студента Псковского государственного педагогического университета, из них 127 студентов первого курса и 65 – третьего курса обучения. Анализ полученных данных выявил значительную индивидуальную изменчивость показателей, а также различия в показателях у студентов 1-го и 3-го курсов. По ИОАд среднегрупповой показатель у студентов 1-го и 3-го курсов находился в рамках нормы и имел среднее значение, что говорит о достаточно высокой адаптивности студентов (табл. 1). Единственным отличием является распределение показателей по данному индексу. Так, у студентов 3-го курса было выявлено увеличение числа испытуемых с показателями по ИОАд, находящимися в рамках нормы (82 %), в сравнении с распределением показателей на 1-м курсе (табл. 2).

 $\label{eq:2.1} {\it Таблица}\ {\it I}$ Средние показатели у студентов 1-го и 3-го курса обучения

Показатели	ИПА	ИИА	ИКА	ИОА	EON	ИОАд
М – студенты 1-го курса	91	85	103	277	88	188
М – студенты 3-го курса	95	90	98	283	93	190

Все среднегрупповые показатели у студентов 3-го курса находились в рамках нормы, а у студентов 1-го курса среднегрупповой показатель коммуникативной активности находился выше нормы. Можно также отметить повышение средних показателей у студентов 3-го курса по всем активностным шкалам, кроме ИКА, средний показатель которого понизился в сравнении с 1-м курсом (см. табл. 1). Так, была выявлена некоторая отрицательная связь между показателями по ИИА и ИКА. Было замечено, что в группах студентов 1-го курса обучения средний уро-

вень коммуникативной активности имел значение выше нормы, а уровень интеллектуальной активности имел значение ниже среднего (см. табл. 1). При этом у студентов 3-го курса обучения наблюдалась обратная картина – увеличилось число студентов с показателями выше нормы по ИИА (с 8 % испытуемых 1-го курса до 17 % – 3-го курса) и уменьшилось число студентов с аналогичными показателями по ИКА (с 56 % – 1-го курса до 37 % – 3-го курса) (см. табл. 2). Было выявлено сравнительное повышение показателей общей эмоциональности у студентов 3-го курса (см. табл. 1), что, по нашему мнению, связано с включением эмоционального компонента в познавательную деятельность. Здесь можно отметить сокращение числа студентов с показателями по ИОЭ ниже нормы на 9 % и увеличением на 8 % – с показателями выше нормы.

 Таблица 2

 Распределение значений показателей у студентов разных курсов обучения, % испытуемых

Значения	ИПА		ИИА		ИКА		СОИ		ИОА		ИОАд	
показателей	1-й курс	3-й курс										
Выше нормы	37	37	8	17	56	37	13	21	24	19	21	14
В рамках нормы	47	55	74	65	42	59	61	62	68	76	77	82
Ниже нормы	13	8	18	18	2	4	26	17	8	5	2	4

Таким образом, можно сделать вывод о том, что в процессе обучения в вузе и адаптации к нему у студентов происходит перераспределение активности, снижается коммуникативная активность и повышается интеллектуальная, происходит эмоциональное включение в процесс обучения, а также повышается общая активность студентов.

- 1. Адаптация организма подростков к учебной нагрузке / Под ред. Д.В. Колесова. М.: Педагогика, 1987. 152 с.
- 2. *Адаптация* организма учащихся к учебной и физической нагрузкам / Под ред. А.Г. Хрипковой, М.В. Антроповой. М.: Педагогика, 1982. 240 с.
- 3. *Милославова И.А.* Адаптация как социально-психологическое явление // Социальная психология и философия / Под ред. Б.Д. Парыгина Л., 1973. 289 с.
- 4. Психологические и психофизиологические особенности студентов / Под ред. Н.М. Пейсахова. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1977. 261 с.
- 5. *Русалов В.М.* Опросник формально-динамических свойств индивидуальности (ОФДСИ): Метод. пособие. М.: ИП РАН, 1997. 50 с.
- 6. Федоренко Л.К. Психологическое здоровье в условиях школы: Психопрофилактика эмоционального напряжения. СПб.: КАРО, 2003. 208 с.
 - 7. Физиология человека / Под ред. Л.З. Телль и Н.А. Агаджаняна. Кн. 1. Алма-Ата, 1992. 416 с.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ НА НАПРЯЖЕННУЮ УМСТВЕННУЮ РАБОТУ МЛАДШИХ ПОДРОСТКОВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ АГРЕССИВНОСТИ И СОЦИОМЕТРИЧЕСКИМ СТАТУСОМ

Т.В. Дейс, И.Н. Томилова

Показаны проявления агрессивности младших подростков разных социальных статусов. Проанализированы особенности реакции на напряженную умственную работу в зависимости от уровня агрессивности и социометрического статуса.

FEATURES OF REACTION TO INTENSE MENTAL WORK OF YOUNGER TEENAGERS WITH DIFFERENT LEVEL OF AGGRESSION AND THE SOTSIOMETRICHESKY STATUS

T.V. Deys, I.N. Tomilova

Displays of aggression of younger teenagers of different social statuses are shown. Features of reaction to intense mental work depending on level of aggression and the social status are analysed.

Успешность деятельности в процессе адаптации учащихся в значительной степени зависит от выраженности, формы реакции, набора личностных и нейродинамических характеристик [1], а также от функциональных резервов и способности организма мобилизовать эти резервы для сохранения гомеостаза.

Существенное влияние на продуктивность учебной деятельности оказывает распределение социальных ролей в коллективе, связаное с различными социальными статусами и другими характеристиками индивида. Определенное значение при этом имеют свойства нервной системы, особенности вегетативной регуляции и агрессии [2], которая является одним из наиболее известных предикторов социальных, психологических и поведенческих проблем и трудностей с учебой, включая плохую академическую успеваемость [3].

В исследовании приняли участие 138 школьников в возрасте 11–12 лет. Агрессивность оценивали с помощью опросника Баса — Дарки [4], социометрические статусы — по методике Р.В. Овчаровой [5]. Оценка функционального состояния проводилось дважды: за 10–15 мин перед контрольной работой по математике и спустя неделю, в состоянии спокойной работы. Регистрировали артериальное давление и частоту сердечных сокращений. Рассчитывали вегетативный индекс Кердо (ВИК), минутный объем кровотока (МОК), общее периферическое сопротивление (ОПС), коэффициент выносливости (КВ), коэффициент экономичности кровообращения (КЭК), индекс Аллговера (ИА), двойное произведение (ДП) и тип саморегуляции кровообращения (ТСК). Оценивали изменения (дельты) названных показателей. Обработка данных проводилась при помощи SPSS (версия 17.0).

Анализ уровня агрессивности подростков разных социометрических статусов показал, что наиболее часто высокий уровень агрессивности у девочек встречается в группах предпочитаемых и принимаемых (32,1 и 31,4 % соответственно) по срав-

нению с лидерами и изгоями (16,7 и 9,1 % соответственно). Для мальчиков характерна иная картина, наименее агрессивны лидеры среди них высокоагрессивных нет вообще, и предпочитаемые (15,4 %), наиболее агрессивны изгои (50 %) и принимаемые (37,5 %).

При адаптации к напряженной умственной работе у низко- и высокоагрессивных девочек наблюдается увеличение таких показателей, как МОК, ВИК, на фоне снижения ЧСС, ПСС, свидетельствующее о симпатической направленности нейровегетативного тонуса и напряжении регуляторных механизмов адаптации сердечной деятельности. Также у этих групп девочек наблюдается снижение функциональных резервов и возникновение утомления сердечно-сосудистой системы (ССС), увеличение систолического выброса и аэробной способности организма. У среднеагрессивных девочек наблюдается сдвиг нервной регуляции в сторону снижения симпатических влияний на фоне повышения систолического давления и более напряженной работы миокарда, что приводит к несущественной интенсификации кровообращения.

У низкоагрессивных мальчиков наблюдается увеличение ЧСС, ПСС, на фоне снижения МОК, ВИК. Величина КЭК и ДП имела тенденцию к снижению, что характеризует сохранность функциональных резервов ССС. Для средне- и высокоагрессивных мальчиков характерно увеличение ЧСС, МОК и ВИК, а ПСС имеет разнонаправленный характер — у высокоагрессивных мальчиков наблюдается тенденция к снижению, у среднеагрессивных остается неизменным. Увеличение КЭК и ДП у высокоагрессивных мальчиков указывает на высокий уровень нагрузки ССС и ее утомлении.

Изменение показателей гемодинамики у подростков различных социометрических
статусов в период адаптации к напряженной умственной работе

Изменение показателя	Лидеры	Предпочитаемые	Принимаемые	Изгои				
Девочки								
ΔЧСС	6,61±2,77** (1-3)	2,86±2,96* (2-3)	$-5,23\pm2,48$	$-3,55\pm3,08$				
ΔΜΟΚ	513,46±242,34	232,01±203,99	-102,32±199,98	$-149,05\pm293,05$				
ΔСДД	3,0±61,98	3,21±2,06	0,05±1,38	1,52±2,71				
ΔΠСС	$-54,87\pm63,28$	$-67,41\pm70,61$	$-6,29\pm85,26$	79,61±102,04				
ΔВИК	4,49±3,47	4,30±3,77	-2,93±4,26	-4,56±5,37				
ΔКЭК	492,64±259,64	313,04±159,20	108,54±168,02	50,86±244,95				
ΔΚΒ	1,10±1,96* (1-3)	$-1,35\pm1,45$	-4,53±1,73	-1,96±1,91				
ΔΤϹΚ	-4,49±3,47	-4,30±3,77	2,93±4,26	4,56±5,37				
ΔИА	0,04±0,03* (1-3)	$0,01\pm0,03$	-0.06 ± 0.03	-0.05 ± 0.05				
ΔДП	10,28±4,06** (1-3)	6,24±3,92* (2-3)	$-3,75\pm2,88$	$-1,56\pm2,80$				
	Мальчики							
ΔЧСС	3,00±1,95	-0.08 ± 1.65	2,69±2,48	7,80±3,79				
ΔΜΟΚ	114,60±149,75	-213,28±300,29	31,86±151,62	305,86±357,01				
ΔСДД	1,25±0,86	$-0,77\pm1,72$	1,64±2,39	5,05±2,84				
ΔΠСС	$-80,05\pm100,72$	37,01±68,76	$-8,94\pm56,88$	-22,61±105,11				
ΔВИК	2,73±3,17	$-1,81\pm4,08$	1,49±3,38	3,43±6,20				
ΔКЭК	49,14±115,13	-295,81±256,20	7,56±90,09* (3-4)	284,10±284,04				
ΔΚΒ	$-5,40\pm7,20$	2,19±1,92	1,55±1,41	1,59±2,13				
ΔΤϹΚ	-2,73±3,17	1,81±4,08	$-1,49\pm3,38$	$-3,43\pm6,20$				
ΔИА	$0,02\pm0,02$	$0,01\pm0,02$	$0,02\pm0,03$	$0,04\pm0,04$				
ΔДП	3,73±2,08	$-2,14\pm1,54$	3,88±3,35** (3-4)	12,62±4,17				

^{* -} p < 0.05; ** - p < 0.01.

Анализ изменения показателей гемодинамики при адаптации к напряженной умственной работе подростков разных социометрических статусов показал (таблица), что в группе девочек-лидеров и предпочитаемых наблюдалось статистически значимое увеличение ЧСС (p<0,01) на фоне снижения ПСС (p<0,05) и увеличение МОК в сравнении с принимаемыми. Также у девочек-лидеров и предпочитаемых наблюдается увеличение таких показателей, как коэффициент выносливости, индекс Аллговера и двойное произведение, наибольшее увеличение данных показателей наблюдается в группе лидеров, что свидетельствует об ослаблении возможностей ССС, снижении систолического выброса и увеличении нагрузки на сердечную мышцу.

Иной вариант реагирования ССС наблюдается в группах принимаемых и изгоев: снижение ЧСС (р<0,05), ВИК, МОК и повышение ПСС, при отсутствии изменений СДД, что в сочетании с увеличением коэффициента экономичности кровообращения и уменьшением ИА, КВ и ДП, в отличие от лидеров и предпочитаемых (р<0,05), отражает развитие утомления ССС, увеличение систолического выброса и снижение аэробной способности организма. Увеличение сосудистого компонента саморегуляции кровообращения свидетельствует об экономизации кровообращения, повышении функциональных резервов.

Таким образом, при адаптации к напряженной умственной работе для девочеклидеров и предпочитаемых характерен гомеокинетический (более адаптивный) тип реагирования, а для принимаемых и изгоев – гомеостатический.

У мальчиков наблюдается иное соотношение типов реагирования: наиболее адаптивный вариант изменения показателей сердечно-сосудистой системы характерен для лидеров, принимаемых и изгоев (см. таблицу). Происходит повышение ЧСС, МОК и ВИК, что влечет за собой снижение ПСС. Наблюдается статистически значимое увеличение коэффициента экономичности кровообращения и двойного произведения между группами принимаемых и изгоев (р<0,05; р<0,01). Изменение регуляции кровообращения стремится в сторону преобладания сердечного компонента, что говорит о понижении функциональных резервов.

В группе предпочитаемых наблюдается уменьшение ЧСС, МОК и ВИК, что приводит к повышению показателя ПСС и смещению саморегуляции кровообращения в сторону сосудистого типа кровообращения, что свидетельствует об ее экономизации. Коэффициент экономичности кровообращения и двойное произведение уменьшаются (р<0,05). Следовательно, у предпочитаемых мальчиков имеет место менее адаптивный вариант функциональной активации системы гемодинамики.

- 1. *Казин Э.М., Иванов В.И., Литвинова Н.А. и др.* Влияние психофизиологического потенциала на адаптацию к учебной деятельности // Физиология человека. 2002. №3. С. 23–29.
 - 2. Ньюкомб Н. Развитие личности ребенка. СПб.: Питер, 2002. 639 с.
- 3. Crick N.R., Ostrov J.M., Werner N.E. A longitudinal study of relational aggression, physical aggression, and children's social-psychological adjustment // Journal of Abnormal Child Psychology. 2006. Vol. 34. P. 131–142
 - 4. Психологические тесты / Под ред. А.А. Карелина. М.: ВЛАДОС, 2000.
 - 5. Овчарова Р.В. Справочная книга школьного психолога. М.: Наука, 1993. 256 с.

Серия биологическая

БУРАЯ ЖИРОВАЯ ТКАНЬ В ЛАБОРАТОРНЫХ МОДЕЛЯХ ЗАМЕДЛЕННОГО СТАРЕНИЯ

М.А. Замяткина

Представлен обзор сведений о количестве бурой жировой ткани, интенсивности термогенеза в ней у лабораторных грызунов, получающих диеты с геропротекторным действием, а также у некоторых долгоживущих линий мышей и крыс.

BROWN ADIPOSE TISSUE AND LABORATORY BIOMODELS OF RETARDED AGING

M.A. Zamyatkina

The article presents the minirevie devoted by brown adipose tissue in rodents subjected to caloric restriction diets and in some special lines of mice and rats with increased longevity.

Последнее десятилетие отмечено повышенным интересом ученого сообщества к биологии жировой ткани. Выяснилось, что белая жировая ткань (БелЖТ) — не пассивное депо энергосубстратов, через секрецию специфических цитокинов она модулирует темпы полового созревания, иммунитет, сроки проявления инсулинорезистентности и старения [2, 5, 6]. После рождения масса БелЖТ увеличивается за счет гипертрофии адипоцитов, накапливающих триглицериды. Аккумуляция жира приводит к секреции адипоцитами провоспалительных цитокинов, нарушению сигнальных путей инсулина в клетках, способствуя развитию сахарного диабета 2 и связанных с ним возрастных патологий [5, 6]. Следовательно, отдалить возрастные нарушения метаболизма можно, уменьшив липогенез в БелЖТ, ограничив поток нутриентов или увеличив интенсивность термогенеза [1].

Специализированный орган несократительного термогенеза у млекопитающих — бурая жировая ткань (БЖТ) [1, 3]. Основанный на регулируемом разобщении окислительного фосфорилирования и дыхания термогенез в БЖТ необходим для сохранения температурного гомеостаза на ранних стадиях онтогенеза и при адаптации взрослых животных к низким температурам среды. Вклад термогенеза БЖТ в сдерживание диет-индуцированного ожирения на высокоэнергетических диетах был обнаружен в 80-е годы [1, 3]. Считалось, что для человека из-за скудости у него запасов бурого жира этот факт не имеет практического значения. Развитие позитронно-эмиссионной томографии продемонстрировало присутствие БЖТ в достаточных количествах у взрослых людей [10]. Возрастное снижение ее количества в большей степени выражено у тучных людей. Холод у людей, как и у животных, реактивирует БЖТ. Таким образом, изучение БЖТ на биомоделях, различающихся темпами старения, может представлять интерес для разработки новых подходов к профилактике и коррекции преждевременного старения. Цель работы состояла в анализе сведений о термогенных свойствах БЖТ у лабораторных живот-

ных, получающих диеты с геропротекторным эффектом, и у некоторых долгоживущих линий мышей и крыс.

Продолжительное ограничение калорийности рациона с неизменным соотношением нутриентов (caloric restriction adequate nutrition – CRAN) – наиболее действенный способ замедления старения и увеличения продолжительности жизни. Антидиабетические бигуаниды, ресвератрол, не изменяя потребление корма, имитируют эффекты CRAN на энергообмен и рост жировых депо. Применение и CRAN, и ресвератрола приводит к существенному уменьшению абдоминальной БелЖТ, в то же время количество БЖТ, содержание в ней митохондрий, белков электронтранспортной цепи и разобщающего белка, его активность повышаются [7, 8, 11, 13]. Стимулирующий эффект на митохондриогенез в БЖТ опосредован увеличением экспрессии сиртуинов и активацией фактора РGC-1α [12].

Сочетание редуцированного белого жира и повышенных количеств БЖТ, повышенная экспрессия разобщающего белка в БЖТ, устойчивость к диетиндуцированному ожирению, низкие уровни инсулина отмечены также у долгоживущих инбредных линий карликовых мышей (Ames dwarf, Snell dwarf) [4] и карликовых мышей, полученных путем нокаута рецептора гормона роста (GHR -/-) [9]. О редуцированных депо белого жира и повышенном содержании скоплений БЖТ, появлении островков БЖТ в паховом жире сообщалось для долгоживущей, проявляющей высокую чувствительность к инсулину и устойчивость к диетиндуцированному ожирению линии крыс Lou/c/jall [14].

Таким образом, немногочисленные пока сведения о количестве и термогенезе БЖТ у лабораторных животных с увеличенной разными способами продолжительностью жизни свидетельствуют о перспективности реактивации БЖТ для замедления метаболических нарушений при старении человека и животных.

- 1. Медведев Л.Н., Елсукова Е.И. Бурая жировая ткань. Молекулярно-клеточные основы регулируемого термогенеза. Красноярск: Амальгама, 2002. 528 с
- 2. *Терешина Е.В.* Возрастные изменения энергетического обмена и патологии старшего возраста // Руководство по геронтологии. М.: «Цитадель-трейд», 2005. С. 157–170.
- 3. Cannon B., Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance // Physiol. Rev. 2004. Vol. 84. P. 277–359.
- 4. Coschigano A., Holland M., Riders E. et al. Deletion, but not antagonism, of the mouse growth hormone receptor results in severely decreased body weights, insulin, and insulin-like growth factor levels and increased life span // Endocrinology. 2003. Vol. 144. P. 3799–3810.
 - 5. Das U. Is metabolic syndrome X an inflammatory condition? // Exp. Biol. Med. 2002. Vol. 227. P. 989–997.
- 6. Kirkland J., Tchkonia T., Pirtskhalava J. Han Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? // Exp.Geront. 2002. Vol. 37. P. 757–767.
- 7. Lagouge M., Argmann C., Gerhart-Hines Z., Meziane T. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1a // Cell. 2006. Vol. 127. P. 1–14.
- 8. Lambert A., Wang B., Yardley J., Edwards J. et al. The effect of aging and caloric restriction on mitochondrial protein density and oxigen consumption // Experimental Herontol. 2004. Vol. 39. P. 289–295.
- 9. Li Y., Knapp J., Kopchick J. Enlargement of interscapular brown adipose tissue in growth hormone antagonist transgenic and in growth hormone receptor gene-disrupted Dwarf mice // Exp. Biol., Med. 2003. Vol. 228. P. 207–215.
- 10. Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M. et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity // Diabetes. 2009. Vol. 58. P. 1526–1531.
- 11. Selman C., Phillips T., Staib J. et al. Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition // Mechanisms of Ageing and Development. 2005. Vol. 126. P. 783–793.
- 12. Shi T., Wang F., Stieren E., Tong Q. SIRT3, a Mitochondrial sirtuin deacetylase regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes // J. of Biol. Chem. 2005. Vol. 280. P. 13560–13567.
- 13. Valle A., Guevara R., García-Palmer F. Caloric restriction retards the age-related decline in mitochondrial function of brown adipose tissue // Rejuvenation Res. 2008. Vol. 11. P. 597–604.
- 14. Veyrat-Durebex C., Montet X., Vinciguerra M. et al. The Lou/C rat: A model of spontaneous food restriction associated with improved insulin sensitivity and decreased lipid storage in adipose tissue // Am J. Physiol. Endocrinol Metab. 2009. Vol. 296. P. E1120 E1132.

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ НАНОРАЗМЕРНОГО ДИОКСИДА ТИТАНА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫ \mathbf{C}^1

А.Е. Зеленская

Получены данные о влиянии нанодисперсного порошка диоксида титана (TiO_2) на поведенческие реакции крыс. Обнаружено достоверное повышение двигательной активности группы крыс, получавших нанодисперсный порошок TiO_2 . Крысы, получавшие микродисперсный TiO_2 , не отличались от контрольных животных.

THE INFLUENCE OF NANOSIZE TITANIUM DIOXIDE ON BEHAVIOR OF RATS

A.E. Zelenskaya

Results about the influence of nanosize titania (TiO_2) on behavior responses of rats have obtained. The significant increase in motor activity of rats, consumed nanosize TiO_2 has noted. The rats received the microsize TiO_2 did not differ from the control animals.

Диоксид титана в виде наночастиц (с линейным размером менее 1 мкм) используется во многих отраслях промышленности: в пищевой и лакокрасочной - для придания белой окраски, так как он не поглощает электромагнитное излучение в видимой области, для изготовления солнцезащитных кремов и упаковок, так как поглощает в ультрафиолетовом диапазоне. Кроме того, разрабатываются методы воздействия на биологические системы с помощью наночастиц с лечебной целью. Однако в ряде литературных источников отмечается негативное влияние наноразмерных материалов на ферменты, клеточные органеллы и системы органов [Hancock-Chen, Scaiano, 2000; Duan et al., 2010], что связывают не только с большей поверхностью материала в мелкодисперсном состоянии, но и с квантовомеханическими характеристиками наночастиц. Обнаружены такие негативные эффекты, как возникновение свободных радикалов, снижение активности ферментов, воспаление, изменение электрических характеристик пейсмекеров [Brezová et al., 2005; Fadeel, Garcia-Bennett, 2010]. Вполне вероятно, что изменение электрических свойств клеток повлияет на функции нервной системы. В связи с этим был проведен эксперимент для оценки поведенческих эффектов наноразмерного диоксида титана.

Эксперимент проводился в течение недели, с 16 по 24 марта 2010 г. Поведение животных записывалось на видеокамеру для последующей обработки. Для эксперимента из 60 животных кластерным анализом, методом К-средних были отобраны 30 крыс, имеющих средние параметры двигательной активности и эмоциональности. Крысы были случайным образом разделены на три равные группы (N=10).

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Опытная группа крыс (наногруппа) получала нанопорошок TiO₂ (размер частицы около 5 нм) ежедневно в течение недели. Дневная порция порошка составляла 50 мг и давалась вместе с сухим кормом во избежание образования агрегатов наночастиц. Первая контрольная группа крыс (микрогруппа) получала порошок TiO₂ микроразмера 350 нм. Вторая контрольная группа крыс (контроль) диоксид титана не получала. Животные всех трех групп содержались в одном помещении в условиях естественного освещения. Кормление пищей с порошком осуществлялось в отдельных клетках, в связи с необходимостью контролировать дозу порошка, в одно и то же время суток (11–12 ч дня).

Для обработки видеозаписей использовалась программа «Mouse Express» (автор Д.Я. Суханов), автоматически оценивающая двигательную активность в условных единицах по принципу покадровой оценки изменения изображения. Результаты эксперимента показали, что достоверное увеличение активности как опытной, так и микрогруппы по сравнению с контрольной наблюдается в момент смены освещения -18-19 ч (рис. 1).

Кроме того, в 6–7 ч угра наблюдается достоверное уменьшение активности крыс, получавших микроформу TiO₂, относительно крыс, получавших наноформу.

Помимо этого, наблюдаются уменьшение двигательной активности крыс, получавших микроформу, относительно контрольных в 8–9 ч утра.

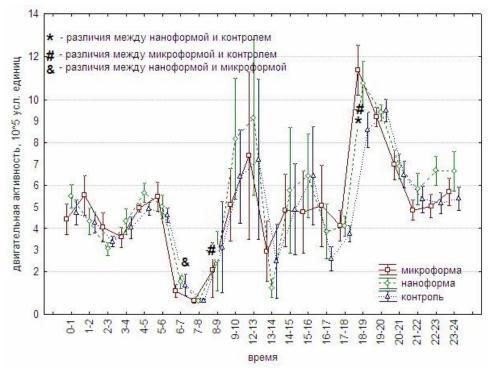


Рис. 1. Суточная динамика двигательной активности крыс

На 6-е и 7-е сут эксперимента наблюдаются достоверные отличия между опытной группой крыс и контролем (рис. 2). До этого значимые различия отсутствуют. На 7-е сут отмечается достоверное повышение активности крыс, получавших наноформу, по сравнению с крысами, получавшими микроформу.

Двигательная активность крыс, получавших микроформу, достоверно не отличается от активности контрольных крыс.

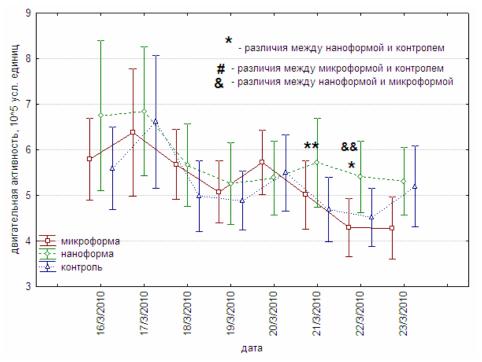


Рис. 2. График двигательной активности крыс в течение всего эксперимента

Таким образом, обнаружено достоверное повышение двигательной активности крыс, получавших нанопорошок диоксида титана. Микроформа этого же вещества давала иные эффекты, следовательно, от эквивалентного размера частицы вещества может зависеть оказываемый физиологический эффект. В литературе мало внимания уделено поведению млекопитающих, следовательно, в связи с возможным нейротропным действием наночастиц диоксида титана необходимо продолжить изучение этого эффекта.

- 1. *Brezová V. et al.* Reactive oxygen species produced upon photoexcitation of sunscreens containing titanium dioxide (an EPR study) // Journal of photochemistry and photobiology. B. Biology. 2005. № 79. P. 121–134.
- 2. Duan Y. et al. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice // Biomaterials, 2010. № 31. P. 894–899.
- 3. Fadeel B., Garcia-Bennett A.E. Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications // Advanced drug delivery reviews. 2010. № 62. P. 362–374.
- 4. *Hancock-Chen T., Scaiano J.C.* Enzyme inactivation by TiO2 photosensitization // Journal of photochemistry and photobiology. B. Biology. 2000. № 57. P. 193–196.

Серия биологическая

ЭЭГ-РЕАКЦИИ И СУБЪЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА ЮНОШАМИ ЗАПАХОВЫХ ПРОБ ДЕВУШЕК¹

Е.И. Ильницкая, О.В. Булатова

Рассматриваются субъективная оценка и реакции биоэлектрической активности мозга юношейреципиентов в ответ на предъявление запахов девушек в разных физиологических состояниях с учетом их полового опыта.

EEG-REACTIONS AND SUBJECTIVE ESTIMATE BY YOUNG MEN OF TESTS OF A SMELL OF GIRLS

E.I. Ilnitskaja, O.V. Bulatova

In present research considered subjective estimate and reactions of bioelectric activity of a brain of young men-recipients in reply to a presentation of smells of girls in different physiological conditions taking into account their sexual experience.

Химическая коммуникация — одна из важнейших форм общения млекопитающих. К настоящему времени получены надежные данные о влиянии обонятельных сигналов на такие важные аспекты жизнедеятельности животных, как репродукция, родительское и социальное поведение и т.д. [1]. Несмотря на доминирование у человека зрительных и слуховых форм общения и кажущееся полное вытеснение обонятельных сигналов, последние продолжают оказывать определенное влияние на физиологическое и эмоциональное состояние и поведение людей [2–4]. Изучению влияния хемосигналов человека, собранных в разных функциональных состояниях, на его поведение, выбор партнера и т.д. в последнее время посвящается множество работ. Однако роль копулинов, открытых в вагинальной слизи [5], как репродуктивного сигнала мало изучена. В связи с этим целью исследования явилось изучение ЭЭГ-реакции молодых людей на запаховые пробы девушек.

Для решения поставленной цели было проведено исследование на 17 здоровых юношах-правшах в возрасте 18–20 лет. Все испытуемые дали добровольное согласие на участие в эксперименте. Эксперимент начинался с регистрации ЭЭГ в состоянии покоя с закрытыми глазами в течение 180 с. Затем, не снимая электроды, юношами проводилась субъективная оценка силы, привлекательности и ассоциации запаховых проб девушек. Далее повторно регистрировали ЭЭГ в течение 180 с. В первый день юношам предъявлялись пробы девушек, находящихся либо в рецептивной (овуляция), либо нерецептивной (лютеиновая и фолликулярная) фазе. Юноши заполняли анкету, по результатам которой они были поделены на 3 группы по половому опыту. Донорами запаха были девушки-студентки. Сбор образцов запаховых проб проводился в течение одного менструального цикла каждый день,

 $^{^{1}}$ Исследование выполнено при поддержке гранта № 94 по Программе междисциплинарных интеграционных проектов Президиума СО РАН.

кроме первых 5–7 дней до момента прекращения кровотечения. Регистрация ЭЭГ проводилась с 16 стандартных отведений (по системе 10–20) в полосе пропускания 1–40 Гц. Для каждого испытуемого было отобрано по 4 безартефактных фрагмента ЭЭГ продолжительностью по 20 с (из середины 4 трехминутных записей).

Статистическую обработку результатов производили с использованием дисперсионного анализа (ANOVA – MANOVA). Показатели спектральной мощности (СМ) до проведения дисперсионного анализа логарифмировали. Изучали изменение СМ различных 6 ритмов (δ , θ , α , β_1 , β_2 , γ) в ответ на предъявление запаховых сигналов по взаимодействию следующих факторов: COND (2: до и после предъявления ольфакторных стимулов), STIM (2: нерецептивные и рецептивные пробы), LOC (8: Fp1-2, F3-4; F7-8; C3-4; T3-4; P3-4; O1-2; T5-6), HEM (левое и правое полушарие). Кроме того, учитывали влияние полового опыта реципиентов запаха — SE (3: 0 – отсутствие полового опыта, 1 – редкая половая жизнь, до 1 раза в месяц, 2 – частая, 1 раз в неделю и чаще).

Анализ субъективной оценки. Проведенный анализ выявил отсутствие отличий в субъективной оценке юношами силы и привлекательности запаховых проб девушек, находящихся в разных фазах менструального цикла. В среднем запаховые пробы оценены юношами негативно, более $60\,\%$ проб ассоциировались с гнилостным запахом. С увеличением полового опыта юношей привлекательность запаховых проб девушек достоверно снижалась ($F_{2,273}$ =8,9 p<0,001).

Анализ мощности биопотенциалов с учетом полосы частот у юношей выявил в низкочастотном диапазоне волн разнонаправленные реакции биопотенциалов мозга в виде увеличения спектральной мощности (CM) δ (STIM X COND – $F_{1,14}$ =5,18; p=0,039) и θ (STIM X COND – $F_{1,14}$ =13,04; p=0,003) ритмов в ответ на предъявление запахов девушек, собранных в нерецептивную фазу, и ее снижение на рецептивные пробы независимо от полового опыта реципиентов.

Анализ СМ α -ритма выявил достоверное изменение эклектической активности мозга в ответ на запаховые пробы лишь при сочетании факторов STIM X COND X LOC X SE ($F_{14,588}$ =1,81; p=0,047 без поправки Гринхауза – Гейссера); снижение СМ на рецептивные пробы во всех локализациях (кроме центральных и задних височных) у юношей, не имеющих полового опыта, в затылочных областях у юношей с редким половым опытом, в передних височных и теменно-затылочных областях у юношей с частой половой жизнью; на нерецептивные пробы активация центральных и центрально-височных областей у юношей 0-й группы, активация центральных и всех височных областей – у 1-й группы, у юношей 2-й группы наблюдается активация префронтальных, фронтальных и передневисочных областей и депрессия теменно-затылочных локализаций.

При анализе ЭЭГ-реакций в β_1 -диапазоне выявлено достоверное взаимодействие факторов STIM X COND X SE ($F_{2,14}$ =4,55; p=0,030), STIM X COND X HEM X SE ($F_{2,14}$ =4,14; p=0,039), STIM X COND X LOC X HEM X SE ($F_{14,98}$ =2,19; p=0,041). У юношей 0-й и 1-й групп СМ β_1 -ритма снижается на рецептивные пробы, тогда как у юношей с высокой частотой половой жизни происходит активация этого ритма. В ответ на нерецептивные пробы у юношей 0-й группы β_1 -ритм не изменяется, у 1-й группы – увеличивается, а у 2-й – снижается. Следует также отметить, что у юношей с отсутствием полового опыта и с большим половым опытом правое и левое полушария реагируют по-разному.

При анализе ЭЭГ-реакций в β_2 -диапазоне выявлено достоверное взаимодействие факторов LOC X HEM ($F_{2,14}$ =4,55; p=0,030), STIM X COND X LOC X HEM X SE ($F_{14,98}$ =1,82; p=0,046 без поправки Гринхауза – Гейссера). У юношей, не имеющих полового опыта, СМ β_2 -ритма на предъявление нерецептивных проб увеличивается, а на рецептивные снижается, причем это касается только левого полушария, β_2 -активность правого полушария изменяется неоднозначно. У юношей 1-й группы

 β_2 -активность усиливается в передних отделах головного мозга обоих полушарий в ответ на предъявление нерецептивных проб и снижается во всех отведениях в ответ на рецептивные пробы — в правом полушарии сильнее. Юноши 2-й группы реагируют на нерецептивные пробы лишь снижением СМ β_2 -ритма центральной и теменно-височной областей левого полушария и активацией передних отделов мозга в ответ на рецептивные запаховые пробы.

Таким образом, субъективная оценка запаха не зависит от фазы менструального цикла доноров, тогда как объективная реакция (ЭЭГ) связана как с половым опытом реципиентов, так и с физиологическим состоянием доноров запаха. Половой опыт проявляется в более осознанной реакции юношей на предъявляемые запахи.

- 1. Жуков Д.А. Биология поведения. Гуморальные механизмы. М.: Речь, 2007. 472 с.
- 2. Jacob S., McClintock M.K. Psychological and mood effects of steroidal chemosignals in woman and men // Horm. Behav. 2000. Vol. 37. P. 57–78.
- 3. Monti-Bloch L., Jennings-Whine C., Berliner D.L. The human vomeronasal system: a review // Ann NY Acad. Sci. 1998. Vol. 855. P. 633–639.
- 4. McClintock M.K., Bullivant S., Jacob S. et al. Human body scents: conscious perceptions and biological effects // Chem. Senses. 2005. Vol. 30, Suppl. 1. P. 135–137.
- 5. Michael R.P., Bonsall R.W., Warner P. Human vaginal secretions: volatile fatty acid content // Science. 1974. Vol. 186, Is. 4170. P. 1217–1219.

Серия биологическая

РАЗРАБОТКА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ИЗУЧЕНИЮ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ¹

Е.П. Крутенкова, М.В. Светлик, Е.А. Есипенко

Разработана экспериментальная методика по исследованию физиологических коррелят влияния эмоций на мыслительную деятельность и извлечению информации из долговременной памяти. Использована эмоциональная модуляция двух типов: эмоциональный компонент, связанный со стимулом по времени предъявления, и эмоциональное подкрепление.

THE DEVELOPMENT OF PSYCHO-PHYSIOLOGICAL EXPERIMENT ON THE EMOTIONAL COMPONENT OF COGNITIVE PROCESSES

E.P. Krutenkova, M.V. Svetlik, E.A. Esipenko

The experimental methods for researching physiological correlates of emotion influence on thinking and extract information from long-term memory. The emotional modulation of two types was used: an emotional component associated with stimulus presentation time and emotional reinforcement.

Актуальность исследования влияния эмоций на когнитивные процессы имеет два аспекта: фундаментальный и прикладной. Прикладной связан с тем, что рост объема информации в современном мире приводит к необходимости поиска путей оптимизации ее обработки, одним из которых может стать включение в учебный процесс не только когнитивной сферы, но и эмоциональной. Фундаментальный аспект связан с противоречивостью данных о роли эмоций в эффективности протекания когнитивных процессов: установлено влияние эмоционального фактора, но относительно степени и направления этого влияния данные неоднозначны [1, 2]. Известно, что эмоциональная модуляция когнитивных процессов отражается в изменении различных показателей ЭЭГ: кросскорреляционной функции, показателей когерентности и мощности ЭЭГ, компонентов вызванных потенциалов, но сопоставление данных различных методов анализа ЭЭГ является не только интересным, но и необходимым для понимания этих механизмов [3]. Таким образом, целью эксперимента стало изучение влияния эмоционального компонента, связанного по времени с предъявляемым заданием, и эмоционального подкрепления, предъявляющегося после решения задачи на когнитивные процессы: мышление, память. При этом каждый из эмоциональных компонентов может быть выражен вербально или невербально и вызывать отрицательные или положительные эмоции. Отбор эмоциональных стимулов осуществлялся посредством предварительного тестиро-

 $^{^1}$ Работа поддержана Федеральным агентством по образованию в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», государственный контракт № $\Pi260$.

вания, в ходе которого испытуемые должны были определить, вызывает ли стимул эмоциональную реакцию, определить ее знак и оценить степень эмоциональности по трехбалльной шкале. Выбор стимулов, вызывающих максимальный эмоциональный отклик, осуществлялся с кластерного анализа (метод К-средних) в программе «Statistica 6.0». Далее выбранные группы стимулов оценивались с помощью непараметрического теста Вилкоксона - Манна - Уитни, чтобы удостовериться в том, что стимулы отличаются только по знаку вызываемой эмоции и «вербальности – невербальности», но не по силе эмоционального отклика (p<0,05). По результатам теста были выбраны 60 стимулов каждого типа: положительно, отрицательно эмоционально окрашенные и нейтральные изображения (180 стимулов) и аналогичные слова (180 стимулов). При подборе слов важным моментом являлась их стандартизация по длине слов – длина всех выбранных слов составляла 7±2 буквы. В качестве когнитивных стимулов были выбраны 340 вопросов для исследования извлечения информации из памяти и 340 омонимов. Поскольку вопросы при подборе омонимов могли различаться по сложности, была проведена серия тестов, направленная на оценку субъективной сложности заданий с целью стандартизации стимулов по этому параметру. Испытуемый должен был выполнить задание (найти соответствующий омоним) и оценить субъективную сложность по пятибалльной шкале. Далее с помощью кластерного анализа вопросы классифицировались на 3 группы (сложные, средней сложности, простые), которые предъявлялись по сериям экспериментов в случайном порядке, но так, чтобы процент каждого типа заданий в разных сериях был одинаков. Поскольку в случае заданий, связанных с извлечением информации из долговременной памяти, стимулы предъявлялись для запоминания перед основной частью эксперимента, то фактор субъективной сложности был минимизирован.

Схема эксперимента по исследованию физиологических показателей при решении когнитивных задач при эмоциональной модуляции была следующей. Исследование проводилось в 3 этапа: первый – психологическое тестирование, второй – исследование влияния эмоционального компонента, связанного со стимулом по времени предъявления; третий – исследование эмоционального подкрепления. В день, когда проводилось психологическое тестирование, испытуемым предъявляли список терминов для запоминания (задание на память). ЭЭГ регистрировалась монополярно от 15 отведений по международной системе Г. Джаспера «10-20 %». Земляной электрод устанавливался на лоб, объединенный референтный электрод на мастоиды. КГР регистрировали по методу Фере, электроды устанавливали на средний и указательный пальцы правой руки. ЭКГ регистрировали от одного отведения – правое – левое запястье. Целью регистрации КГР и ЭКГ являлся в первую очередь контроль артефактов при записи ЭЭГ; помимо этого, изменения в данных физиологических показателях являются эмоциональными маркерами. Запись ЭЭГ производилась на энцефалографе-анализаторе ЭЭГА 21/26 «Энцефалан 131-03» модификация 10, фирмы НКПФ «Медиком МТД», Россия. Частота дискретизации составляла 250 Гц, полоса пропускания – 1,5–70 Гц, режекторный фильтр – 50 Гц. Электроокулограмма (ЭОГ) регистрировалась для того, чтобы контролировать артефакты, связанные с движением глаз. Для предъявления когнитивного задания использовался шрифт Arial; объект WordArt для эмоциональных слов – квадрат со стороной 7 см. Цвет экрана монитора – черный, шрифта – белый, цвет объекта WordArt – светло-серый. Стимуляция производится в программе «PowerPoint», изображение предъявляется одновременно со звуком, который не предъявляется испытуемому, а выведен на полиграфический канал энцефалографа; частота дискретизации полиграфического канала 25 Гц, звуковой стимул представляет собой квадратный импульс длительностью 12 мс. Задержка от начала предъявления стимула до его определения энцефалографом как отметки о начале стимуляции составляет 52 мс. В начале и конце экспериментов с регистрацией электрофизиологических показателей оценивали функциональное состояние испытуемых (тест М. Люшера) и записывали фоновую активность при закрытых и открытых глазах. В начале опыта после наложения электродов демонстрировали фильм (картины природы) с целью стабилизировать эмоциональное состояние испытуемых.

Исследование влияния эмоционального компонента, связанного со стимулом по времени предъявления. В начале опыта проводилась тренировочная серия, включающая по 10 заданий на память и мышление с целью исключить эффект обучения в дальнейшем. После этого реализовывались экспериментальные серии по исследованию влияния эмоций на когнитивные процессы: 1) влияние эмоциональных слов на извлечение информации из долговременной памяти; 2) влияние эмоциональных изображений на извлечение информации из долговременной памяти; 3) влияние эмоциональных слов на выполнение мыслительных операций; 4) влияние эмоциональных изображений на выполнение мыслительных операций. В каждой серии общее число стимулов равнялось 90 (30 положительно эмоциональных, 30 отрицательно эмоциональных, 30 нейтральных (контроль)). Эмоциональные стимулы предъявлялись в случайном порядке. Последовательность реализации режимов варьировала у разных испытуемых, чтобы минимизировать влияние утомления на результаты эксперимента.

Исследование влияния эмоционального подкрепления на когнитивные процессы. Проводилась контрольная серия, в ходе которой испытуемые решали когнитивные задачи (подбор омонимов и вспоминание терминов) без эмоциональной модуляции. Режимы с эмоциональной модуляцией были следующие: 1) влияние вербальной обратной связи на решение мыслительной задачи; 2) влияние невербальной обратной связи на решение мыслительной задачи; 3) влияние вербальной обратной связи на извлечение информации из долговременной памяти; 4) влияние невербальной обратной связи на извлечение информации из долговременной памяти. Испытуемым во время инструктажа говорилось, что знак эмоционального подкрепления будет зависеть не только от точности ответа, но и от скорости, с учетом сложности задания. Однако в действительности положительная и отрицательная обратная связь предъявлялась в случайном порядке.

Особенности данной экспериментальной методики позволяют, во-первых, дифференцировать мыслительные и мнестические процессы; во-вторых, оценить влияние эмоциональных компонентов, различающихся по времени предъявления (компонент, связанный со стимулом по времени предъявления, эмоциональная обратная связь), знаку эмоции (положительный, отрицательный) и «вербальности стимула» (слово, изображение), что дает возможность выявить фактор наиболее сильного влияния на когнитивные процессы и эмоциональное воздействие, оптимизирующее данные процессы.

- 1. Рейковский Я. Эмоции и познавательные процессы избирательное влияние эмоций // Экспериментальная психология эмоций. М., 1979. С. 179–212.
- 2. Kuchinke L. Incidental effects of emotional valence in single word processing / L. Kuchinke, A.M. Jacobs, C. Grubich et al. // NeuroImage. 2005. № 28. P. 1022–1032.
- 3. Свидерская Н.Е. Синхронная электрическая активность мозга и психические процессы. М.: Наука, 1987. 156 с.

Серия биологическая

ПРЕПАРАТ ГЛУТОКСИМ, ВЫЗЫВАЮЩИЙ РЕОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВЫХ ФИЛАМЕНТОВ В МАКРОФАГАХ

Л.С. Курилова, З.И. Крутецкая, О.Е. Лебедев, К.О. Войцехович, А.В. Шамшев

Исследовано влияние препарата глутоксим на организацию актинового цитоскелета в перитонеальных макрофагах крысы.

THE GRUG GLUTOXIM INDUCES ACTIN FILAMENTS REARRANGEMENT IN MACROPHAGES

L.S. Kurilova, Z.I. Krutetskaya, O.E. Lebedev, K.O. Voycehovic, A.V. Shamshev

The effect of drug glutoxim on actin cytoskeleton organization in rat peritoneal macrophages was investigated.

Синтетический аналог окисленного глутатиона (GSSG) – фармакологический препарат глутоксим® (динатриевая соль GSSG с нанодобавкой платины, ФАРМА-ВАМ, Москва) применяется как иммуномодулятор и гемостимулятор в комплексной терапии бактериальных и вирусных заболеваний, псориаза, лучевой и химиотерапии в онкологии.

Ранее нами было обнаружено, что GSSG и глутоксим увеличивают внутриклеточную концентрацию Ca^{2^+} , $[Ca^{2^+}]_i$, вызывая мобилизацию Ca^{2^+} из тапсигаргинчувствительных Ca^{2^+} -депо и последующий вход Ca^{2^+} в перитонеальные макрофаги крысы [1]. Кроме того, нами было впервые показано, что ключевыми компонентами сигнального каскада, запускаемого GSSG и глутоксимом и приводящего к увеличению $[Ca^{2^+}]_i$ в макрофагах, являются тирозинкиназы, тирозинфосфатазы, фосфатидилинозитолкиназы, малые G-белки семейства газ [2], а также важнейшие ферменты фосфоинозитидной системы передачи сигнала — фосфолипаза C и протеинкиназа C [3].

Установлено, что действие фосфатидилинозитолкиназ, играющих важную роль в метаболизме фосфоинозитидов, приводит к динамической реорганизации актиновых филаментов [4]. Известно также, что актиновые филаменты имеют высокую редоксчувствительность и легко подвергаются S-глутатионилированию [5]. Обнаружено также, что другой аналог GSSG зарубежный препарат NOV-002 (GSSG в сочетании с цисплатиной) вызывает S-глутатионилирование клеточных белков, главным образом актина. Эффект NOV-002 зависит от его концентрации и времени воздействия на клетки. S-глутатионилирование актина изменяет соотношение F- и G-актина, что приводит к существенным изменениям общей архитектуры цитоскелета и внутри-клеточного транспорта [6]. В связи с этим можно предположить, что элементы актинового цитоскелета могут служить мишенью действия также и для глутоксима. Ранее нами впервые показано, что кратковременная (5 мин) инкубация макрофагов с агентами, вызывающими деполимеризацию актиновых филаментов латрункулином В или цитохалазином D, вызывает значительное увеличение Ca²⁺-ответов, индуциро-

ванных глутоксимом. Более длительная (20 мин) инкубация с латрункулином В или цитохалазином D, напротив, практически полностью предотвращает увеличение $[Ca^{2+}]_i$ и вход Ca^{2+} , индуцированные глутоксимом [2].

Таким образом, нами впервые показана роль актиновых филаментов в сигнальном каскаде, запускаемом глутоксимом и приводящем к увеличению $[{\rm Ca}^{2^+}]_i$ в макрофагах [2]. Участие элементов актинового цитоскелета в этом сигнальном каскаде предполагает, по-видимому, его реорганизацию и перераспределение. В связи с этим представлялось целесообразным провести визуализацию возможной реорганизации актинового цитоскелета в макрофагах при действии глутоксима.

Объектом исследования служили культивируемые резидентные перитонеальные макрофаги крысы. Макрофаги выделяли из перитонеальной полости крысы массой 150–200 г и культивировали по методике, описанной ранее [7]. На вторые сутки культивирования клетки инкубировали в течение 20 мин с 200 мкг/мл глутоксима. Контрольная группа клеток действию глутоксима не подвергалась. Для визуализации актинового цитоскелета клетки отмывали от среды фосфатносолевым буферным раствором (PBS), фиксировали 3,7 %-ным раствором формалина в течение 15 мин, трижды промывали PBS, обрабатывали 0,1 %-ным раствором Тритона X-100 в течение 10 мин и окрашивали родамин-фаллоидином (Sigma, США) при 37 °C в течение 10 мин.

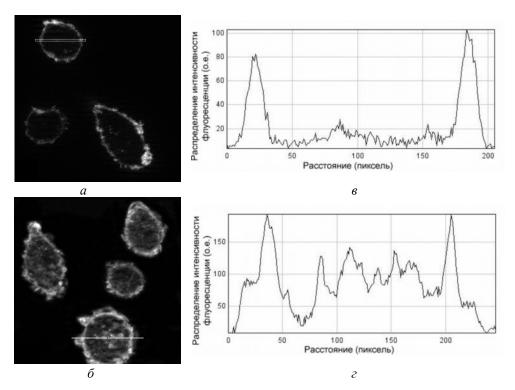


Рис. 1. Организация актинового цитоскелета в нативных макрофагах (a, 6) и в макрофагах, обработанных глутоксимом $(6, \epsilon)$; a, 6 — актиновые филаменты в контрольных клетках (a) и в клетках, обработанных глутоксимом (200 мкг/мл) в течение 20 мин (6). Окраска родамин-фаллоидином; a, ϵ — распределение интенсивности флуоресценции (в относительных единицах) вдоль выделенной линии в контрольных клетках (a) и в клетках, обработанных глутоксимом (ϵ)

Микроскопирование полученных препаратов производили на инвертированном микроскопе AxioObserver.Z1 (Carl Zeiss), возбуждая и регистрируя флуоресценцию

светом с длинами волн 550 и 605 нм соответственно. Использовали объектив 100×. Изображения получены с применением устройства АроТоте. Для обработки изображений и получения графиков распределения интенсивности флуоресценции вдоль выделенной линии использована программа ImageJ (http://rsb.info.nih.gov/ij).

На рис. 1, a показано распределение элементов актинового цитоскелета в контрольной группе клеток, не подвергавшейся воздействию глутоксима. Элементы актинового цитоскелета в этих клетках локализованы преимущественно под плазматической мембраной и образуют четко различимый кортикальный слой; количество актиновых филаментов в цитозоле невелико. На рис. 1, δ демонстрируется распределение актинового цитоскелета в макрофагах, подвергшихся воздействию глутоксима. Видно, что организация актинового цитоскелета в обработанных глутоксимом клетках претерпевает значительные изменения. Так, кортикальный слой становится более широким и «рыхлым», и, кроме того, увеличивается количество актиновых филаментов в цитозоле (рис. 1, δ). Об этом свидетельствуют также графики распределения интенсивности флуоресценции в контрольных клетках (рис. 1, δ) и клетках, подвергшихся воздействию глутоксима (рис. 1, δ).

Таким образом, нами впервые показано, что препарат глутоксим вызывает реорганизацию актинового цитоскелета в перитонеальных макрофагах крысы.

- 1. *Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Antonov V.G.* The effect of oxidized glutathione and its pharmacological analogue glutoxim on intracellular Ca²⁺ concentration in macrophages // Cell and Tissue Biology, 2008. Vol. 2, № 3. P. 322–332.
- 2. *Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е. и др.* Роль актиновых филаментов в действии окисленного глутатиона и глутоксима на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах // Рецепция и внутриклеточная сигнализация. Пущино, 2009. Т. 1. С. 296–300.
- 3. *Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Kurilova L.S. et al.* The role of the key enzymes of the phosphoinositide signaling pathway in the effect of oxidized glutathione and glutoxim on intracellular Ca²⁺ concentration in macrophages // Biol. Sci. 2009. Vol. 428. P. 407–409.
- 4. Foster F.M., Traer C.J., Abraham S.M., Fry M.J. The phosphoinositide (PI) 3-kinase family // J.Cell. Sci. 2003. Vol. 116. P. 3037–3040.
- 5. Dalle-Donne I., Giustarini D., Rossi R. et al. Reversible S-glutathionylation of Cys 374 regulates actin filament formation by inducing structural changes in the actin molecule. Free Rad // Biol. Med. 2003. Vol. 34. P. 23–32.
- 6. Townsend D.M., He L., Hutchens S. et al. NOV-002, a glutathione disulfide mimetic, as a modulator of cellular redox balance // Cancer Res. 2008. Vol. 68. P. 2870–2877.
- 7. *Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Тюшев В.Е. и др.* Влияние ингибиторов тирозинкиназ и тирозинфосфатаз на вход Ca^{2^+} , индуцируемый АТФ и тапсигаргином в перитонеальных макрофагах крысы // Цитология. 1997. Т. 39, вып. 2/3. С. 164–176.

Серия биологическая

РОЛЬ ЭЛЕМЕНТОВ ЦИТОСКЕЛЕТА В ДЕЙСТВИИ ОКИСЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА И ГЛУТОКСИМА НА ТРАНСПОРТ NA⁺ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

А.В. Мельницкая, З.И. Крутецкая, О.Е. Лебедев, С.Н. Бутов, Н.И. Крутецкая

C применением метода фиксации потенциала исследована роль микротрубочек и микрофиламентов в действии окисленного глутатиона (GSSG) и его фармакологического аналога препарата глутоксим на транспорт Na^+ в коже лягушки Rana temporaria. Впервые показано, что реорганизация актинового и тубулинового цитоскелета приводит к снижению стимулирующего действия GSSG и глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки.

THE ROLE OF THE CYTOSKELETON IN THE EFFECT OF OXIDIZED GLUTATHIONE AND GLUTOXIM ON NA⁺ TRANSPORT IN FROG SKIN

A.V. Melnitskaya, Z.I. Krutetskaya, O.E. Lebedev, S.N. Butov, N.I. Krutetskaya

Using voltage-clamp technique, the role of the cytoskeleton elements in the effect of oxidized glutathione (GSSG) and its pharmacological analogue, drug glutoxim, on Na^{\dagger} transport in the frog Rana temporaria skin was investigated. It was shown for the first time that reorganization of actin filaments or microtubules significantly decrease the stimulatory effect of GSSG or glutoxim on Na^{\dagger} transport in frog skin.

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. Ранее нами было показано, что транспорт Na⁺ в коже лягушки модулируется окисляющими агентами, такими как цистамин, цистин, окисленный глутатион (GSSG) и его синтетический аналог препарат глутоксим[®] (ФАРМА-ВАМ, Москва) [1]. Впервые обнаружено, что GSSG и глутоксим, приложенные к базолатеральной поверхности кожи лягушки, имитируют действие инсулина и стимулируют трансэпителиальный транспорт Na⁺. Впервые показано также участие тирозинкиназ и фосфатидилинозитолкиназ в стимулирующем действии GSSG и глутоксима на транспорт Na⁺ в коже лягушки [2]. В то же время механизмы действия GSSG и глутоксима на транспорт Na⁺ остаются неясными.

Ранее нами было выявлено, что транспорт Na^+ в коже лягушки зависит от структурно-функциональной организации актинового и тубулинового цитоскелета [3]. Известно также, что актиновые филаменты имеют высокую редокс-чувствительность и легко подвергаются S-глутатионилированию. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать возможную роль микрофиламентов и микротрубочек в действии GSSG и глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки *Rana temporaria*. В экспериментах использовали деполимеризатор микрофиламентов цитохалазин D, стабилизатор микрофиламентов каликулин A и деполимеризатор микротрубочек нокодазол.

Для регистрации вольт-амперных характеристик кожи лягушки использовали автоматизированную установку фиксации потенциала. В интервалах между измерениями вольт-амперных характеристик трансэпителиальный потенциал (V_T) кожи поддерживали при 0 мВ (режим короткого замыкания) или при потенциале открытой цепи V_{OC} ($V_{OC} = V_T$ при трансэпителиальном токе $I_T = 0$). Из вольт-амперных характери-

стик определяли электрические параметры кожи: ток короткого замыкания I_{SC} ($I_{SC} = I_T$ при $V_T = 0$), V_{OC} и трансэпителиальную проводимость g_T . Транспорт Na^+ оценивали как амилорид-чувствительный I_{SC} . Статистический анализ проводили с применением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде $x \pm s_x$.

Значения электрических характеристик кожи лягушки в контроле в среднем, по данным 10 экспериментов, составляют: $I_{SC}=14,58\pm0,91$ мкА; $V_{OC}=-38,01\pm2,74$ мВ; $g_T=0,38\pm0,01$ мСм. Показано, что GSSG или глутоксим (100 мкг/мл), приложенные к базолатеральной поверхности интактной кожи лягушки, подобно инсулину, стимулируют транспорт Na $^+$. В среднем (по результатам 10 экспериментов) I_{SC} возрастает на $41,04\pm9,32$ и $31,24\pm8,32$ %, а V_{OC} возрастает на $46,15\pm6,21$ и $38,04\pm5,15$ % для GSSG и глутоксима соответственно. Величина g_T при этом не меняется.

Показано, что предварительная обработка апикальной поверхности кожи цитохалазином D (20 мкг/мл) или каликулином A (25 нМ) существенно снижает стимулирующее действие GSSG или глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки. Обнаружено также, что цитохалазин D в низких концентрациях (5 мкг/мл) оказывает значительно меньшее ингибирующее влияние и изменяет кинетику воздействия GSSG и глутоксима на транспорт Na^+ : наблюдается резкое усиление начальной и существенное подавление второй фазы стимулирующего действия этих агентов на транспорт Na^+ .

В среднем (по данным 10 экспериментов) изменение электрических характеристик кожи лягушки после добавления глутоксима к коже, предварительно обработанной в течение 30 мин со стороны апикальной поверхности цитохалазином D в различных концентрациях, было следующим. I_{SC} увеличился на 25,25 ± 2,12 и 12,12 ± 1,14 %, а V_{OC} — на 28,31 ± 3,31 и 16,14 ± 4,08 % для цитохалазина D в концентрации 5 и 20 мкг/мл соответственно. Изменения величины g_T не наблюдали.

В случае предварительной инкубации апикальной поверхности кожи лягушки в течение 30 мин с каликулином A (25 нМ) увеличение I_{SC} после добавления глутоксима составило $8,08\pm1,21$ %, а $V_{OC}-12,34\pm2,09$ %. Изменения величины g_T не наблюдали.

Сходные результаты были получены при приложении 100 мкг/мл GSSG к коже лягушки, предварительно обработанной со стороны апикальной поверхности цито-халазином D или каликулином A.

Обнаружено, что нокодазол практически полностью предотвращает стимулирующее действие GSSG или глутоксима на транспорт $\mathrm{Na^+}$. Так, после предварительной обработки апикальной поверхности кожи лягушки 25 мкМ нокодазола в течение 30 мин до добавления 100 мкг/мл глутоксима I_{SC} увеличился на 9,01 ± 1,02 %, а V_{CC} – на 10,12 ± 1,21 %. Изменения величины g_{T} не наблюдали. Сходные данные были получены при приложении к коже лягушки, предварительно обработанной в течение 30 мин со стороны апикальной поверхности нокодазолом (25 мкМ), 100 мкг/мл GSSG.

Таким образом, нами впервые показана важная роль микротрубочек и микрофиламентов в действии GSSG и глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что любые изменения в структуре актинового и тубулинового цитоскелета приводят к снижению стимулирующего действия GSSG и глутоксима на транспорт Na^+ в коже лягушки.

- 1. *Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Мельницкая А.В. и др.* Влияние дисульфидсодержащих соединений на транспорт Na⁺ в коже лягушки // Докл. PAH. 2008. №421(5). С. 709–712.
- 2. *Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е. и др.* Участие тирозинкиназ и фосфатидилинозитолкиназ в действии окисленного глутатиона и глутоксима на транспорт Na⁺ в коже лягушки // Цитология. 2010. № 52(4). С. 342–348.
- 3. *Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Мельницкая А.В., Ноздрачев А.Д.* Роль актинового цитоскелета в регуляции фосфатидилинозитолкиназами транспорта Na⁺ в коже лягушки // Докл. РАН. 2006. №410(4). С. 568–570.

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА И АЛКОГОЛЯ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ НА ПОЛОВОЕ ПРЕДПОЧТЕНИЕ САМЦОВ МЫШЕЙ

М.В. Морозова

Изучается влияние комбинации алкоголя и стресса в пренатальном периоде на половое предпочтение самцов мышей, а также на социальное поведение, тревожность, депрессивно-подобное поведение, двигательную и исследовательскую активность.

INFLUENCE OF PRENATAL STRESS AND ALCOHOL EXPOSURE ON SEXUAL PARTNER PREFERENCE IN MICE

M.V. Morozova

In the work the influence of prenatal alcohol and stress combination on sexual partner preference in mice was studied. The social interaction with juvenile male, anxiety, depressive-like behavior, open field and object recognition behavior in mice after prenatal alcohol and stress ware investigated also.

В настоящее время широко признано, что неблагоприятная среда на протяжении пренатального развития может иметь продолжительные эффекты на физиологию человека и риск развития расстройств.

В 1980-е годы Gunter Dorner выдвинул гипотезу о том, что пренатальный стресс может быть причиной гомосексуальности у мужчин [2]. Позже это предположение как поддерживалось [3], так и опровергалось [4].

Потребление алкоголя женщиной во время беременности может вызвать у потомков спектр фетальных алкогольных расстройств (FASD), включая физические, психические, поведенческие патологии и нарушения обучения.

Выявлено также влияние этанола в пренатальном периоде на половое поведение взрослых самцов мышей [5] и крыс [1].

Целью данной работы было установить влияние стресса и алкоголя в период внутриутробного развития на половое предпочтение самцов мышей, а также на социальное поведение, тревожность и депрессивно-подобное состояние, исследовательскую и двигательную активность.

Материалы и методы

У беременных самок CBA/LacJ с 1-го по 21-й дни беременности заменили воду раствором этанола 11 % *ad libitum*, с 15-го по 21-й дни — стресс-рестрикцией в течение 2 ч. Самцов — потомков (A+C) — тестировали при достижении ими возраста 3 мес в тестах «Предпочтение партнера», «Социальное взаимодействие», «Исследование новых объектов», «Открытое поле», «Преподнятый крестообразный лабиринт», «Подвешивание за хвост».

Для оценки полового предпочтения использовали трехотсечную клетку с прозрачными перегородками с отверстиями. Предъявление рецептивной самки за перегородкой, которая препятствует физическому контакту, но позволяет видеть и обонять, вызывает у самца половое возбуждение.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.

Результаты

В тесте на предпочтение партнера у контрольных животных наблюдалось заметное возбуждение, вызванное предъявлением рецептивной самки. Время у перегородки с самкой было почти в 2 раза больше, чем у перегородки с самцом $(F_{1.9}=23,79; p<0,001)$ (рис. 1).

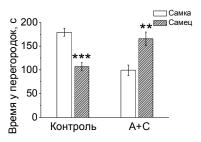


Рис. 1. Время у перегородок и число подходов к перегородкам в тесте «Предпочтение партнера» у контрольных и A+C животных

Repeated measure ANOVA выявил значительный эффект взаимодействия между группой животных и полом партнера находящегося за перегородкой $(F_{1,17}=31,0)$; p=0,000034). Инверсия полового предпочтения у самцов-потомков A+C проявлялась в увеличении времени у перегородки с самцом (p<0,001) и в уменьшении времени проведенного в попытках проникнуть через перегородку, отделявшую от рецептивной самки (p<0,001) (см. рис. 1), также самцы A+C чаще подходили к перегородке, отделяющей их от самцов, чем к перегородке, отделяющей от самки $(F_{1,17}=6,98)$; p<0,01).

У всех самцов в контрольной группе интерес к рецептивной самке превалировал над интересом к самцу, тогда как у 78 % A+C мышей время, проводимое у перегородки с самцом, превышало время у перегородки с самкой (χ^2 =12,31; df=1; p<0,001).

Продолжительность социального взаимодействия A+C самцов с ювенильным самцом значительно увеличилась ($F_{1.28}$ =21,75; p<0,001; рис. 2, A). При этом не было различий в исследовательской активности, вызванной новизной ($F_{1,15}$ =3,14; p>0,05; рис. 2, B).

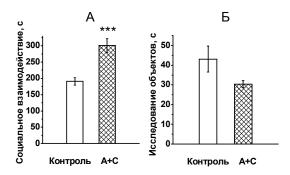


Рис. 2. Социальное взаимодействие с ювенильным самцом (обнюхивание, облизывание) в тесте «Социальное взаимодействие» (A) и исследование новых объектов в тесте «Исследование новых объектов» (E)

Ни локомоторная активность, ни вероятность пребывания в центральной части открытого поля не различались между A+C и контрольными самцами ($F_{1.17}$ <1,0; p>0,05 для обоих показателей). Не выявлено различий между контрольными и A+C самцами в продолжительности замирания в тесте «Подвешивание за хвост» ($F_{1.17}$ =0,42; p>0,05), а также во времени, проведенном в открытых рукавах ($F_{1.16}$ =0,06; p>0,05) и в центре ($F_{1,16}$ =0,04; p>0,05) приподнятого крестообразного лабиринта.

Заключение

Эффект подвергания этанолу на протяжении полного периода беременности в сочетании со стрессом в стресс-чувствительную третью неделю беременности на предпочтение полового партнера ранее не был исследован.

Полученные данные показывают, что комбинация алкоголя со стрессом вызывает более значительный эффект на половую дифференциацию, чем один стресс. Можно предположить, что алкоголь и стресс в период беременности могут быть факторами, предрасполагающими к гомосексуальности.

- 1. Dahlgren I.L., Eriksson C.J.P., Gustafsson B. et al. Effects of chronic and acute ethanol treatment during prenatal and early postnatal ages on testosterone levels and sexual behaviors in rats. Pharmacol // Biochem. Behav. 1989. Vol. 33, № 4. P. 867–873.
- 2. *Dörner G., Geier T., Ahrens L. et al.* Prenatal stress as possible aetiogenetic factor of homosexuality in human males // Endokrinologie. 1980. Vol. 75, № 3. P. 365–368.
- 3. *Ellis L., Ames M.A., Peckham W., Burke D.* Sexual orientation of human offspring may be altered by severe maternal stress during pregnancy // J. Sex. Res. 1988. Vol. 25. P. 152–157.
- 4. *Hines M., Johnston K., Golombok S. et al.* Prenatal Stress and Gender Role Behavior in Girls and Boys: A Longitudinal, Population Study // Horm. Behav. 2002. Vol. 42, № 2. P. 126–134.
- 5. Watabe T., Endo A. Sexual orientation of male mouse offspring prenatally exposed to ethanol // Neurotoxicology and Teratology. 1994. Vol. 16, № 1. P. 25–29.

Том 275

Серия биологическая

РАЗВИТИЕ ЖЕНСКОЙ ПАТОЛОГИИ В ЮГРЕ С ПОЗИЦИИ ТЕОРИИ ХАОСА И СИНЕРГЕТИКИ

А.Р. Насирова

Климатические условия Крайнего Севера РФ оказывают влияние на все функциональные системы организма человека. В настоящей работе представлены особенности параметров квазиаттракторов вектора состояния организма беременных женщин в разные сезоны года.

THE DEVELOPMENT OF FEMALE PATHOLOGY IN UGRA FROM THE POSITION OF CHAOS THEORY AND SYNERGETICS

A.R. Nasirova

Environmental conditions of the North the Russian Federation influence all functional systems of a human. In this article presents the feature of parameters quasiattractors a vector of condition an organism of pregnant women's to different seasons of year.

На функциональные системы организма человека постоянное проживание в условиях Крайнего Севера РФ оказывает негативное воздействие. В особенности к неблагоприятным факторам оказывается чувствительным женский организм, который получает нагрузку в период беременности и родов.

В связи с этим различные патологии женского организма в экстремальных климатических и социально-психологических условиях приобретают определенные особенности, имеющие системный характер. Изучение тенденций развития патологии женского организма в сравнительном аспекте с учетом экофакторов среды (например, осень — зима) с использованием системного анализа и синтеза в рамках теории хаоса и синергетики (ТХС) явилось целью наших исследований.

Как известно, первое место в структуре патологических состояний второй половины беременности занимают гестозы. Гестозы характеризуются глубокими расстройствами всех видов обмена, изменениями деятельности сердечно-сосудистой и нервной систем, нарушениями функций плаценты, почек и других жизненно важных органов, что влечет за собой рост материнской и перинатальной смертности. Отмечена зависимость частоты заболевания гестозов от климатических условий [2].

В наших исследованиях принимали участие 31 беременная женщина — пациентки Сургутской окружной клинической больницы в акушерском отделении патологии беременных. В результате выполненных измерений были получены данные о состоянии функциональных систем организма (ФСО) беременных женщин, проживающих в г. Сургуте. Работа велась в осенний и зимний период. По полученным данным установлено, что осенью диагноз гестоз встречался только у 10 % испытуемых, тогда как зимой диагноз гестоз был поставлен 42 % беременных женщин. Это объясняется не только климатическими параметрами, но и нарушениями гормональной регуляции функций жизненно важных органов и систем беременных

женщин. Помимо сердечной недостаточности, отека легких, почечной недостаточности, характерным осложнением при гестозе является хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФПН), приводящая к задержке развития плода и гипоксии.

При использовании запатентованной программы «Идентификация параметров аттракторов вектора состояния организма человека в m-мерном фазовом пространстве» нами выполнены расчеты квазиаттракторов по параметрам вектора состояния организма (ВСО) беременных женщин (состояние сердечно-сосудистой системы). Для наглядной иллюстрации было выполнено графическое построение движения ВСО беременных в трёхмерном ФПС, где координатами служили 3 параметра порядка. ЭВМ рассчитывала итоговые значения (по всем координатам): общий показатель асимметрии (rX — расстояние между геометрическим центром квазиаттрактора и статистическим центром) и общий объём многомерного параллелепипеда (vX), которые дают представление о параметрах квазиаттракторов поведения ВСО женшин.

Исходя из полученных данных, видно, что происходят изменения в объемах квазиаттракторов у беременных женщин в зависимости от сезона года (таблица). Именно в осенний период объем квазиаттрактора vX равен $6,90\cdot10^{26}$ усл. ед., а в зимний период этот же показатель равен $1,64\cdot10^{30}$ усл. ед., т.е. на 4 порядка больше, чем осенью. Алгоритм идентификации размеров квазиаттракторов поведения ВСО беременных женщин установил, что общий показатель асимметрии rX у пациенток осенью составил 3615,28 усл. ед., в то время как этот же показатель в зимний период увеличивался на 8% и составил 3907,59 усл. ед. (рис. 1).

Результаты расчета в 13-мерном фазовом пространстве данных квазиаттракторов по параметрам вектора состояния организма беременных женщин в осенний и зимний период

Осенний период	Зимний период		
Количество измерений N = 31	Количество измерений N = 31		
Размерность фазового пространства m = 13	Размерность фазового пространства m = 13		
General asymmetry value rX = $3615,28$ General V value vX = $6,90\cdot10^{26}$	General asymmetry value rX = $3907,59$ General V value vX = $1,64 \cdot 10^{30}$		

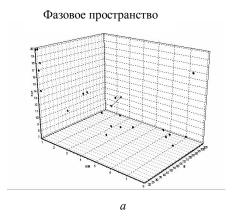




Рис. 1. Показатели параметров квазиаттракторов вектора состояния организма (ВСО) беременных женщин в 3-мерном фазовом пространстве состояний (СИМ, ПАР, ИНБ): *а* – показатели параметров в осенний период; *б* – показатели параметров в зимний периодов. СИМ – показатели активности симпатической вегетативной нервной системы; ПАР – показатели активности парасимпатической вегетативной нервной системы; ИНБ – показатели индекса Баевского

Это может быть связано с тем, что осень – более благоприятное время года, нежели зима для беременных женщин, так как в этот период, после летнего отдыха в оптимальных экологических условиях, их организм насыщен большим количеством природных витаминов, других питательных веществ и микроэлементов. Известно, что пребывание беременной женщины на свежем воздухе ранней осенью чрезвычайно полезно для организма и благоприятствует развитию плода. На зимний период, наоборот, приходится пик инфекционных заболеваний, что особенно характерно для женщин в первые месяцы беременности. Очень низкие температуры на территории Крайнего Севера РФ (около –30 °C) зимой сокращают до минимума прогулки беременных на свежем воздухе, что отрицательно сказывается на развитии плода [1].

В целом женский организм может являться некоторым барометром негативного влияния экофакторов на организм жителей Севера РФ.

- 1. *Еськов В.М.* Экологические факторы Ханты-Мансийского автономного округа. Ч. ІІ. Безопасность жизнедеятельности человека на Севере РФ / В.М. Еськов, О.Е. Филатова, В.А. Карпин и др. Самара: ОФОРТ, 2004. 177 с.
- 2. *Еськов В.М.* Синергетика в клинической кибернетике. Ч. 1. Теоретические основы системного синтеза и исследований хаоса в биомедицинских системах / В.М. Еськов, А.А. Хадарцев, О.Е. Филатова. Самара: ОФОРТ, 2006. С. 233.
- 3. *Еськов В.М.* Системный анализ, управление и обработка информации в биологии и медицине. Ч. 8. Общая теория систем в клинической кибернетике / Под ред. В.М. Еськова, А.А. Хадарцева. Самара: ООО «ОФОРТуША», 2008. 198 с.

Том 275

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНОГО ОПЫТА НА ЛОКОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ И ПОВЕДЕНИЕ УХАЖИВАНИЯ САМЦОВ DROSOPHILA MELANOGASTER

А.А. Панова, С.А. Федотов, Ю.В. Брагина

Предшествующее групповое содержание самцов дрозофилы снижает уровень их локомоторной активности и интенсивность ухаживания за самкой, изменяет характеристики песни ухаживания.

INFLUENCE OF SOCIAL EXPERIENCE ON LOCOMOTOR ACTIVITY AND COURTSHIP BEHAVIOR OF MALE DROSOPHILA MELANOGASTER

A.A. Panova, S.A. Fedotov, J.V. Bragina

Preceding group rearing of Drosophila males decreases the level of their locomotor activity and courtship intensity, modifies characteristics of the courtship song.

Половое поведение *Drosophila melanogaster* впервые было описано в начале XX столетия. С тех пор оно активно используется при решении проблем генетики поведения, изучении процессов обучения и памяти.

Известно, что предшествующий опыт самца приводит к изменению поведения ухаживания. Снижение интенсивности ухаживания может происходить в результате ассоциативного обучения после приобретения опыта ухаживания за нерецептивной оплодотворенной самкой [1–3] или в результате габитуации при ухаживании за незрелым самцом [4, 5]. Никто, однако, не исследовал влияние совместного содержания зрелых самцов в группе на последующее их поведение ухаживания за самкой.

В данной работе мы оценили изменение локомоторной активности самцов при индивидуальном тестировании, интенсивность ухаживания за оплодотворенной нерецептивной самкой и изменения в песне ухаживания после содержания самцов в группе.

Экспериментальных самцов линии дикого типа Canton-S (CS) собирали через 3 ч после вылупления и содержали при 25 °C и 12-часовом световом дне до достижения необходимого возраста (3–5 сут). В экспериментах участвовали 2 группы самцов – содержавшихся индивидуально или в группе (по 10–20 самцов). Для тестирования самцов изолировали от группы непосредственно перед началом эксперимента.

При изучении локомоторной активности было выявлено, что активность самцов, содержавшихся в группе, была снижена в 2 раза по отношению к активности самцов, содержавшихся индивидуально (рис. 1).

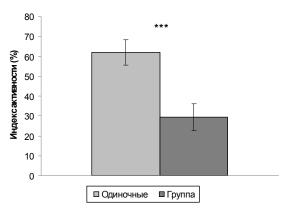
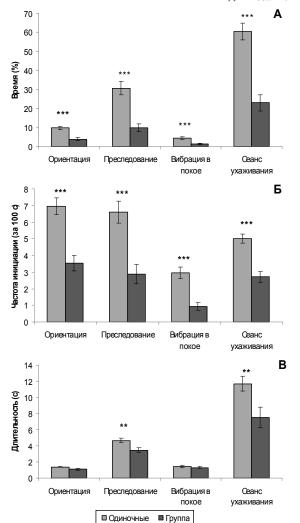


Рис. 1. Влияние предшествующего содержания самцов CS в группе на локомоторную активность. Показаны средние значения и стандартные ошибки. *** — достоверное отличие при p<0,001 (двусторонний t-критерий для независимых выборок)



Индекс ухаживания, т.е. процент времени, занятого всеми элементами ухаживания (рис. 2, *A*, сеанс ухаживания), самцов, содержащихся в группе, был значительно ниже индекса ухаживания контроля (самцов, содержащихся поодиночке).

Также были снижены такие элементы ухаживания, как ориентация, преследование и вибрация в покое (см. рис. 2, A). Кроме уменьшения доли времени, занятого данными элементами, происходило уменьшение частоты их инициации (см. рис. 2, B) и, в некоторых случаях, средней длительности (см. рис. 2, B).

Рис. 2. Влияние содержания в группе на характеристики поведения ухаживания: A — процент времени, занятый отдельными элементами ухаживания. Сеанс ухаживания — период непрерывного ухаживания, состоящий из чередования любых элементов ухаживания. Показаны только элементы ухаживания с достоверными отличиями; B — частота инициации элементов ухаживания; B — длительность элементов ухаживания. Показаны средние значения и стандартные ошибки. Достоверное отличие поведенческих показателей (двусторонний t-критерий для независимых выборок: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001)

Песня ухаживания состоит из двух компонентов – импульсного и синусоидального, которые сменяют друг друга [6]. Посылки импульсов генерируются самцом при направленной на самку вибрации крыльями. Нами было установлено, что групповое содержание приводит к значительному снижению доли времени (индекса), занятого обоими компонентами песни, по сравнению с индивидуальным содержанием. Для импульсной песни это, прежде всего, связано с двукратным снижением длительности отдельных импульсных посылок. Снижение времени, занятого синусоидальной песней, определялось сильным снижением частоты посылок (рис. 3).

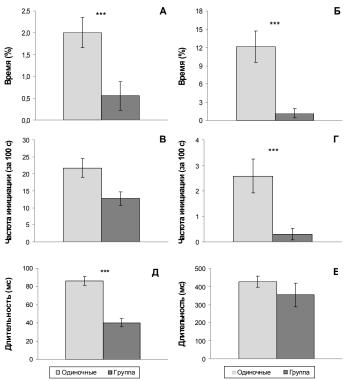


Рис. 3. Влияние содержания в группе на характеристики песни ухаживания: A — индекс импульсной песни; B — индекс синусоидальной песни; B — частота инициации импульсной песни; Γ — частота инициации синусоидальной песни; Γ — длительность посылки импульсной песни; E — длительность посылки синусоидальной песни. Показаны средние значения и стандартные ошибки. Достоверное отличие поведенческих показателей (двусторонний t-критерий для независимых выборок: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001)

Снижение уровня двигательной активности (см. рис. 1) могло бы быть объяснено ранее обнаруженным на самках дрозофилы оперантным взаимообучением особей в группе [7], при котором они снижают свою активность, стремясь избежать неприятных контактов друг с другом, сопровождающихся ударами ног и крыльев. Однако выработка у самок дрозофилы этого инструментального условного рефлекса не сопровождалась каким-либо последействием после изоляции самок из группы [8], что заставляет искать иной механизм последействия группового содержания в случае самцов. Снижение интенсивности ухаживания за взрослой оплодотворенной самкой у самцов, имеющих предшествующий опыт общения с другими взрослыми самцами (см. рис. 2, A), не может быть объяснено ни габитуацией к афродизиаку, т.к. взрослые самцы не вырабатывают афродизиак, ни ассоциативным обучением. Кроме того, снижение интенсивности ухаживания не может быть простым следст-

вием подавления двигательной активности у самцов, ранее содержавшихся в группе (см. рис. 1), т.к. отвергается экспериментальными данными: процент времени, занятого побежками, у самцов после группового содержания выше, чем после индивидуального (54,86±4,779 против 20,89±3,630; p<0,001).

Таким образом, предшествующее содержание самцов дрозофилы в группе приводит к снижению их двигательной активности, если самцов тестировать поодиночке, и к специфическому снижению интенсивности ухаживания (уровень двигательной активности не снижается), если самцу предъявляется самка. В первом случае налицо торможение работы локомоторного центрального генератора моторного паттерна (ЦГМП), во втором — песенного ЦГМП. Торможение разных ЦГМП в зависимости от ситуации может быть объяснено изменениями нисходящих влияний со стороны более высоких отделов ЦНС. Снижается то, что иногда называют тонусом ЦНС, и это приводит к состоянию центрального торможения. Вызванное пребыванием в группе состояние торможения сохраняется недолго и уже не обнаруживается через 2 ч после изоляции особей от группы (данные не показаны).

- 1. Siegel R.W. Conditioned responses in courtship behaviour of normal and mutant *Drosophila* / R.W. Siegel, J.C. Hall // Proc Natl Acad Sci USA. 1979. № 76. P. 3430–3434.
- 2. *Tompkins L.* Conditioned courtship in *Drosophila* and its mediation by association of chemical cues / L. Tompkins, R.W. Hall, D.A. Gailey, J.C. Hall // Behav Genet. 1983. № 13. P. 565–578.
- 3. *Kamyshev N.G.* Drosophila conditioned courtship: two ways of testing memory / N.G. Kamyshev, K.G. Iliadi, J.V. Bragina // Learning & Memory. 1999. No 6. P. 1–20.
- 4. Gailey D.A. Male courtship in Drosophila: the conditioned response to immature males and its genetic control / D.A. Gailey, F.R. Jackson, R.W. Siegel // Genetics. 1982. № 102. P. 771–782.
- 5. *Vaias L.J.* Identification of stimuli that mediate experience–dependent modification of homosexual courtship in *Drosophila melanogaster* / L.J. Vaias, L.M. Napolitano, L. Tompkins // Behav Genet. 1993. № 23. P. 91–97.
- 6. *Попов А.В.* Особенности акустической коммуникации у плодовых мушек *Drosophila melanogaster* / А.В. Попов, Е.В. Саватеева-Попова, Н.Г. Камышев // Сенсорные системы. 2000. Т. 14, № 1. С. 60–74.
- 7. Камышев Н.Г., Камышева Е.А., Смирнова Г.П., Парафенюк И.В. Взаимообучение особей дрозофилы в групповой ситуации методом проб и ошибок // Журн. общ. биол. 1994. Т. 55, № 6. С. 737–747.
- 8. Камышев Н.Г., Смирнова Г.П., Камышева Е.А. и др. Пластичность социального поведения у дрозофилы // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2000. №86(11). С. 1426–1434.

ВЫЯВЛЕНИЕ ТОПИЧЕСКОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА БИНАУРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДНЕМОЗГОВОГО ОТДЕЛА СЛУХА – ЗАДНЕГО ДВУХОЛМИЯ¹

М.И. Рочева

Работа посвящена исследованию представительства в заднем двухолмии одного из факторов локализации источника звука — межушных различий по времени прихода звука к правому и левому уху. Сделан акцент на выявлении закономерности распределения локализационных признаков звука внутри одного изочастотного слоя.

EXPOSURE OF THE TOPOGRAPHIC REPRESENTATIVE OF BETWEENEARS' CHARACTERISTICS OF THE MIDDLEBRAIN SECTION OF THE HEARING (INFERIOR COLLICULUS)

M.I. Rocheva

This scientific work is devoted to researching of the representative in the inferior colliculus one of factors of the sound source localization – betweenears' differences by the sound arriving time to the right and left ear. There was an accent on the exposure of the appropriateness of the localization signs distribution of the sound inside the one isofrequenting layer.

К настоящему времени вопрос топической организации функции локализации источника звука нейронами заднего двухолмия (ЗД) млекопитающих остается нерешенным. Не ясны основные принципы пространственной организации нервных элементов бинауральной слуховой системы, выделяющих бинауральные признаки локализации источника звука. В связи с этим работа была направлена на установление топографического представительства в слуховой системе локализационных признаков звукового сигнала.

Исследование проведено на здоровых морских свинках, с хорошо выраженным рефлексом Прейера [2] в условиях острого опыта с применением наркоза, седативных и обезболивающих средств. В качестве основного методического приема использовали метод многоканальной регистрации внеклеточной импульсной активности нейронов с помощью пучка микроэлектродов. В ходе работы проводилось картирование изочастотных слоев заднего двухолмия по характеристикам избирательности нейронов к межушной задержке.

В настоящее время изучение нейрофизиологических механизмов локализации источника звука с помощью электрофизиологического метода исследования проводится достаточно интенсивно [9]. При регистрации активности одиночных нейронов получен обширный материал [3–8], характеризующий деятельность основных слуховых центров при стимуляции разными классами звуковых сигналов, содер-

¹ Работа поддержана грантом РФФИ (проект №09-04-01542).

жащих те или иные характеристики пространственного расположения источника звука.

При использовании дихотического метода стимуляции было установлено [1], что в основном два параметра межушных различий стимуляции определяют локализацию источника звука в горизонтальной плоскости. Один из них — это межушные различия стимуляции по времени или межушная задержка.

Рассмотрим пространственное распределение настроек на межушную задержку у нейронов с близкими оптимальными частотами при действии шума (рис. 1). Каждая кривая представляет ΔT -функцию отдельного нейрона. Цифры у кривых показывают величину оптимальной задержки, соответствующей максимуму ответа. Можно видеть, что величина оптимальной задержки постепенно возрастает при переходе от ростральной области ЗД (слева на рис. 1) к его каудальной области (справа на рис. 1). Эта тенденция сохраняется как в медиальной части (вверху) ЗД, так и в его латеральной части (внизу). Определенная тенденция просматривается также в распределении оптимальных задержек относительно медиального направления. Изменения в этом направлении характеризуются увеличением значений оптимальной задержки при переходе от медиальной и латеральной частей ядра к центру.

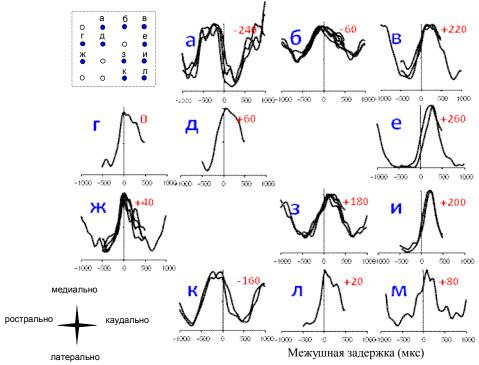


Рис. 1. Топография распределения оптимальной межушной задержки в реакции на низкочастотный шум $(0,2-1\ \kappa\Gamma \mu)$

На рис. 1 ΔT – функции нейронов (а-м). Цифры – величина оптимальной межушной задержки, мкс. Диапазон изменения межушной задержки и сторона опережения приведены внизу каждого графика. Слева вверху – схема микроэлектродного пучка; кружки – места регистрации нейронов; буквы – нейроны, данные которых приведены на графиках. Слева внизу – ориентация пучка относительно заднего холма. Данные одного животного.

При действии тонов низкой частоты до 2 кГц, несмотря на различия по величине оптимальной задержки, пространственное распределение нейронов обнаружива-

ет сходную тенденцию возрастания оптимальной задержки в рострокаудальном направлении.

Следует отметить, что полученные данные по топографическому распределению оптимальных межушных задержек не позволяют сделать окончательный вывод относительно организации представительства межушной задержки в заднем холме. Если такие нейроны представляют центры распределения межушной задержки, то можно предполагать, что в заднем двухолмии имеется не одна, а множество карт представительства межушной задержки.

Вывод. Распределение оптимальной межушной задержки в заднем двухолмии обнаруживает тенденцию к увеличению в рострокаудальном направлении.

- 1. Альтман Я.А. Локализация звука. Л.: Наука, 1972. 214 с.
- 2. Бару А.В. Слуховые центры и опознание звуковых сигналов. Л.: Наука, 1978. 191 с.
- 3. Aitkin L.M., Irvine D.R.F., Webster W.R. Central mechanisms of hearing // Handbook of Physiology. The Nervous System. III. 1984. Chapter 16. P. 675–737.
- 4. Behrend O., Dickson B., Clarke E. et al. Neural responses to free field and virtual acoustic stimulation in the inferior colliculus of the guinea pig // J. Neurophysio. 2004. Vol. 192. P. 3014–3029.
- 5. Bock G.R., Webster W.R. Coding of spatial location by single units in the inferior colliculus of the alert cat // Exp. Brain. Res. 1974. Vol. 21, № 4. P. 387–398.
- 6. Fuzessery Z.M., Pollak G.D. Determinants of sound location selectivity in bat inferior colliculus: A combined dichotic and free-field stimulation study // J. Neurophysiol. 1985. Vol. 54. P. 757–781.
- 7. Irvine D.R.F. Physiology of the auditory brainstem; in Popper AN, Fay RR (eds): Springer Handbook of Auditory Pathway Neurophysiology. New York: Springer, 1992. P. 153–231.
- 8. Semple M.N., Aitkin L.M., Calford M.B. et al. Spatial receptive fields in the cat inferior colliculus // Hear. Res. 1983. Vol. 10. P. 203-215.
 - 9. Winer J.A., Schreiner C.E. The Inferior Colliculus. New York: Springer, 2005. 705 p.

Том 275 Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ ОРГАНА СЛУХА У СТУДЕНТОВ

М.Ю. Семина, И.Ю. Стрельникова

Исследовалось состояние слухового анализатора у студентов. Обнаружена зависимость функциональных показателей органа слуха от ряда солнечных, лунных и погодных воздействий, а также их взаимосвязь с отдельными чертами характера испытуемых.

INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS ON THE CONDITION OF THE EAR AT STUDENTS

M.Y. Semina, I.Y. Strelnikova

In the given work the condition of an acoustic analyzer at students was investigated. Dependence of functional indicators of an ear on a number of solar, lunar and weather influences, and also their interrelation with separate character traits of examinees is found out.

Целью данной работы явилось изучение функциональных показателей органа слуха у студентов и выявление факторов, влияющих на состояние органа слуха.

Было обследовано 50 студентов 17–33 лет. Для исследования слуха использовалась методика Воячека «Шепотная речь», методика Блинкова для изучения пространственного слуха, тональная аудиометрия. Для определения черт характера использовался многофакторный личностный опросник Р. Кэттелла, ситуационная тревожность исследовалась по опроснику Спилбергера – Ханина, а также выяснялось, слушают ли студенты музыку в наушниках и сколько часов в день. На дату обследования учитывались погодные факторы (температура воздуха – ночная и дневная, наличие осадков, облачность, направление и скорость ветра, атмосферное давление, долгота светового дня), день лунного календаря и количество групп солнечных пятен.

Нелинейный корреляционный анализ обнаружил взаимосвязь функциональных показателей органа слуха с отдельными чертами характера испытуемых и уровнем ситуационной тревожности. В дальнейшем, с помощью кластерного анализа, испытуемые были разделены на 6 групп, каждой из которых соответствует определенный характерологический паттерн.

В первую группу вошли студенты, средний возраст которых составляет 18 лет, у них абсолютный верхний порог слуховых ощущений равен 18850 Гц, и музыку в наушниках они слушают около получаса в день. Для данной группы характерны следующие черты характера: самоуверенные, мужественные, суровые, больше верят рассудку; интуицию подменяют расчетом, психотравмы изживают за счет рационализации; слабая воля, плохой самоконтроль, деятельность неупорядочена [1].

Во вторую и третью группы вошли двадцатилетние студенты, различающиеся величиной порога и временем прослушивания музыки в наушниках. Они характеризуются низким интеллектом, склонны к медленному обучению, с трудом усваивают новые понятия, все понимают буквально и конкретно. Склонны к догадкам, стремятся к интуитивным, а не логически обоснованным решениям. Эмоционально

зрелы, спокойны, уверенны в себе, постоянны в своих планах и привязанностях; такие люди не поддаются случайным колебаниям настроения, смело смотрят в лицо фактам, воспринимают окружающее серьезно и реалистично, хорошо осознают требования действительности. Этим испытуемым свойственны властность, стремление к самостоятельности, независимости, игнорирование социальных условий.

Студентам четвертой группы в среднем 21 год, около часа в день они слушают музыку в наушниках, характеризуются порогом, равным 18525 Гц. Данной группе присущи высокий уровень интеллектуального развития, быстрота усваивания нового, быстрота обучения; неспособность контролировать эмоции и импульсивные влечения; плохой эмоциональный контроль, отсутствие чувства ответственности. Такие люди не способны справиться с жизненными трудностями.

Наконец, пятую группу составили самые старшие студенты, возраста 25 лет, не имеющие привычки слушать музыку в наушниках. Характерологический портрет данной группы следующий. Это самоуверенные, мужественные, суровые люди, больше верят рассудку; интуицию подменяют расчетом, психотравмы изживают за счет рационализации. Им свойственны настороженность, недоверие, высокий уровень тревожности и беспокойства; не поддаются влиянию других людей.

Обнаруженная взаимосвязь черт характера и состояния слухового анализатора может быть объяснена с позиций межполушарной асимметрии головного мозга [2]. Левое полушарие ответственно за понимание речи, а также за выполнение движений и жестов, связанных с языком, абстрактное мышление, интерпретацию символических понятий. Правое полушарие распознает звуковые образы и воспринимает музыку. Оба полушария ответственны за сознание и самосознание человека, его социальные функции и характер. Медиальное коленчатое тело наряду с нижними холмиками пластинки крыши среднего мозга (пластинки четверохолмия) является подкорковым центром слухового анализатора. Ядра коленчатых тел связаны с корковыми центрами слухового анализатора. Известно, что выключение слуховых зон обоих полушарий головного мозга ведет к нарушению функции высшего коркового анализа и синтеза звуковых сигналов.

В наших исследованиях обнаружена динамика следующих показателей органа слуха в зависимости от лунных суток: верхний порог слуха, пространственный слух, восприятие низких и высоких звуков левым и правым ухом. Это подтверждает реальность лунной ритмики функциональных процессов у человека [3]. Верхний порог слуха и пространственный слух находятся в коррелятивной зависимости от количества групп солнечных пятен.

Среди погодных факторов определяющими состояние органа слуха оказались атмосферное давление и температура воздуха. Литературными данными подтверждено, что если внешнее давление меняется или воздух из полости среднего уха «откачивается», возникает разность давлений [4].

Выводы. Функциональные показатели органа слуха обследованных находится в границах возрастных и половых норм. Обнаружена корреляционная зависимость показателей слуха у студентов от возраста, времени прослушивания музыки в наушниках, ситуационной тревожности. Показатели слуха взаимосвязаны с чертами характера, а также определяются уровнем атмосферного давления, температурой воздуха, днем лунного календаря и количеством групп солнечных пятен.

- 1. *Шевандрин Н.И*. Психодиагностика, коррекция и развитие личности. М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 1998. 512 с.
 - 2. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека: Пер. с англ. М., 1996. Т. 1. 323 с.
 - 3. Дубров А.П. Лунные ритмы у человека (Краткий очерк по селеномедицине). М.: Медицина, 1990. 160 с.
 - 4. Андреева-Галанина Е.Ц. Шум и шумовая болезнь. Л.: Медицина, 1972. 154 с.

Том 275 Серия биологическая

УЧАСТИЕ БЕЛКА GP130 В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА НА ПОВЕДЕНИЕ И НЕРВНУЮ СИСТЕМУ МЫШЕЙ

Н.А. Синякова, А.В. Куликов

Показано участие белка gp130 в механизме действия бактериального липополисахарида (ЛПС) на поведение и нервную систему мышей. CBA-аллель гена, кодирующего gp130, определяет повышенную чувствительность к ЛПС.

INVOLVEMENT OF GP130 PROTEIN IN THE MECHANISM OF THE EFFECTS OF LPS ON BEHAVIOR AND NEURVOUS SYSTEM IN MICE

N.A. Sinyakova, A.V. Kulikov

The present research reveals the contribution of gp130 protein to bacterial lypopolysaccharide (LPS) action on mice behavior and nervous system. CBA-allel of gene, coding gp130, determines an elevated LPS sensetivity.

Каталепсия (тоническая неподвижность, животный гипноз) — длительное сохранение приданной неестественной позы. В природе каталепсия проявляется как пассивно-оборонительная реакция на появление хищника. В гипертрофированной форме наблюдается при тяжелых формах нервных и психических расстройств. У крыс и мышей наследственная каталепсия ассоциирована с депрессивноподобным поведением [1].

Главный ген каталепсии локализован во фрагменте 61–70 сМ хромосомы 13 мыши и сцеплен с геном Il6st [2]. Этот ген кодирует гликопротеид gp130, который является компонентом рецепторов важной группы цитокинов семейства интерлейкина-6 (IL-6) [3]. Предполагается участие IL-6 в молекулярном механизме депрессии [4].

Кроме того, gp130, как компонент рецептора IL-6, участвует в реакции врожденного (неспецифического) иммунитета против бактериальных инфекций, активируемого компонентом внешней оболочки грамотрицательных бактерий – липополисахаридом (ЛПС).

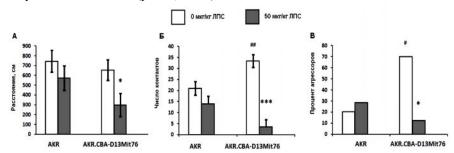
Целью данной работы было выяснение роли белка gp130 в механизме действия ЛПС на поведение и нервную систему мышей.

Методика. Работу проводили на мышах некаталептической линии AKR/J и каталептической конгенной линии AKR.CBA-D13Mit76, в которой участок, содержащий ген Il6st, кодирующий gp130, был перенесен от каталептической линии CBA/LacJ в геном AKR/J [2].

Поведение в тестах «Открытое поле» и «Социальный интерес» изучали через 3 ч после введения ЛПС (50 мкг/кг, в/б), а затем животных декапитировали для определения экспрессии гена Il6st и репортерного гена, кодирующего glial fibrially acidic protein (GFAP), в коре, гиппокампе и среднем мозге. Контрольным животным вводили физиологический раствор.

Результаты. Контрольные мыши AKR/J и AKR.CBA-D13Mit76 не различались по выраженности двигательной активности в тесте «Открытое поле» (рис. 1, *A*). В

то же время мыши конгенной линии AKR.CBA-D13Mit76 проявляли больше контактов и чаще нападали на ювенильного самца в тесте «Социальный интерес», по сравнению с животными линии AKR/J (рис. 1, E, E). ЛПС подавлял выраженность этих форм поведения у мышей AKR.CBA-D13Mit76, но не влиял на их выраженность у животных AKR/J (рис. 1, E).



Б — число социальных контактов с ювенильным самцом в тесте «Социальный интерес»; B — процент животных, атаковавших ювенильного самца в тесте «Социальный интерес». * — p<0,05, *** — p<0,001 по сравнению с контролем AKR.CBA-D13Mit76; # — p<0,05, ## — p<0,01 по сравнению с контролем AKR/J

Не было выявлено изменение экспрессии Il6st гена ни в одной из структур мозга у контрольных и получавших ЛПС животных обеих линий (рис. 2, A).

Однако было установлено достоверное снижение экспрессии GFAP в коре и среднем мозге у контрольных мышей AKR.CBA-D13Mit76 линии по сравнению с контрольными животными линии AKR/J. ЛПС не влиял на экспрессию данного гена в исследованных структурах мозга животных AKR/J. В то же время ЛПС значительно увеличивал экспрессию гена GFAP в среднем мозге у животных линии AKR.CBA- D13Mit76 (рис. 2, *Б*).

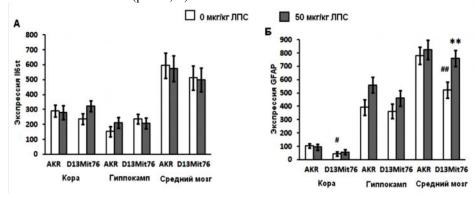


Рис. 2. Влияние ЛПС на экспрессию генов Il6st (A) и GFAP (B). Экспрессию оценивали по числу копий мРНК исследуемых генов на 100 копий мРНК гена РНК-полимеразы 2.

** – p<0,01 по сравнению с контролем AKR.CBA-D13Mit76;

– p<0,01 по сравнению с контролем AKR/J

Выводы. Таким образом, белок gp130 и IL-6 участвуют в механизме действия ЛПС на поведение и нервную систему. СВА-аллель гена Il6st определяет более вы-

сокую чувствительность мышей линии AKR.CBA-D13Mit76 к ЛПС по сравнению с животными линии AKR/J. Эта повышенная чувствительность, по-видимому, обусловлена наследственным изменением структуры белка gp130, а не регуляции уровня его экспрессии.

- $1.\ \mathit{Куликов}\ \mathit{A.B.}$ Наследственная каталепсия. К вопросу о генетико-молекулярных механизмах каталепсии у мышей // Генетика. 2004. Т. 40. С. 779–786.
- 2. Kulikov A.V., Bazovkina D.V., Kondaurova E.M., Popova N.K. Genetic structure of hereditary catalepsy in mice // Genes Brain Behav. 2008. Vol. 7. P. 506–512.
- 3. Chesnokova V., Melmed S. Minireview: Neuro-immuno-endocrine modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis by gp130 signaling molecules // Endocrinol. 2002. Vol. 143. P. 1571–1574.
- 4. Dantzer R., Wollman E., Vitcovic L., Yirmiya R. Cytokines and depression: fortuitous or causative association? // Molec Psychiatry. 1999. Vol. 4. P. 328–332.

Том 275

Серия биологическая

НЕКОТОРЫЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ПРОТЕОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ ПРИ ЛЕЙКОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

О.В. Трофимов, В.М. Екимова, Е.А. Читаева, И.В. Пак, Г.С. Сивков

Описываются изменения цитологического, протеомного и генетического характера, происходящие в крови животных, больных лейкозом крупного рогатого скота.

SOME CYTOGENETIC AND PROTEOMIC CHANGES IN BLOOD CAUSED BY BOVINE LEUKOSIS

O.V. Trofimov, V.M. Ekimova, E.A. Chitaeva, I.V. Pak, G.S. Sivkov

Present research describes cytological, proteomic and genetic changes which happen in animal blood during bovine leukosis.

Лейкоз крупного рогатого скота – хроническая инфекционная болезнь, вызываемая РНК-содержащим вирусом семейства Retroviridae, классифицируемым как вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС). В большинстве случаев лейкоз проявляется в специфических явлениях со стороны клеток крови. Лейкемическая трансформация этих клеток, ставших субстратом опухоли, обусловливает изменение их морфофункциональных показателей. Многие авторы отмечали наличие различных видов атипичных клеток при лейкозе крупного рогатого скота [1]. Атипичность проявляется в необычном строении и форме клеток, а также ядер, в их размере, в соотношении ядра и цитоплазмы и т.д. Лейкемические клетки крови на генетическом уровне также претерпевают изменения, связанные как со встраиванием провирусной ДНК в геном клетки-хозяина, так и с мутациями, происходящими в процессе трансформации. При лейкозе могут происходить изменения в уровне экспрессии отдельных генов и, следовательно, в белковом составе самих клеток, а также сыворотки крови. Исследование изменений, характерных для лейкемической крови, имеют решающее значение как для диагностики лейкозов крупного рогатого скота, так и для понимания фундаментальных механизмов и закономерностей протекания этого заболевания.

Материалы и методы

В работе использовали кровь, полученную от коров черно-пестрой породы из шести хозяйств Тюменской области. У больных животных лейкоз был выявлен методом радиальной иммунодиффузии (РИД).

Мазки крови животных готовили по стандартной методике [2], после чего их окрашивали 2 %-ным раствором Гимза. Выявление активности миелопероксидазы проводили по методу Вашбурна, модифицированному Лилли [3]. Приготовленные препараты рассматривали с использованием микроскопа «Axiostar» фирмы «Zeiss»

при увеличении в 1000 раз. Фотографирование производили фотоаппаратом «Power Shot A640» фирмы «Canon».

Хромосомную ДНК из цельной крови получали с использованием метода выделения ДНК в присутствии мягкого детергента (Triton X-100) [4]. Для дополнительной очистки раствора нуклеиновых кислот от белков проводили фенольную депротеинизацию.

Расщепление ДНК эндонуклеазами рестрикции проводили при 37 °C в течение 2 ч. В работе использовали эндонуклеазы рестрикции EcoRI и PstI фирмы «Fermentas». Анализ полученных фрагментов ДНК проводили при помощи электрофореза в агарозном геле [5] при напряженности поля 10 В/см в течение одного часа в камере фирмы «Helicon». ДНК визуализировали после обработки геля раствором бромистого этидия (2 мкг/мл) по флуоресценции в ультрафиолетовом свете.

Белки сыворотки крови животных анализировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии ДСН (додецилсульфата натрия) по методу Лэммли [6] с использованием 5 %-го концентрирующего и 12 %-го разделяющего гелей. Анализируемые препараты сыворотки предварительно разбавляли в 250 раз деионизованной водой. Электрофорез проводили в камере «Mini-Protean Tetra Cell» фирмы «Віо-Rad» при напряженности поля 15 В/см. Гели окрашивали серебром [7].

Результаты и обсуждение

Исследование мазков крови, приготовленных с использованием материала от РИД-положительных (больных лейкозом) и РИД-отрицательных (контрольных) животных, выявило разнообразие лейкемоидных реакций, что, очевидно, является отражением наличия нескольких форм лейкоза.

В крови больных животных выявлены особенности, которые отсутствуют в контроле.

У больных лейкозом коров отмечается высокая частота скоплений бластных клеток (рис. 1). Следует отметить, что скопления бластных клеток в мазках крови встречаются и у здоровых животных, как это отмечалось ранее [8], но с меньшей частотой.

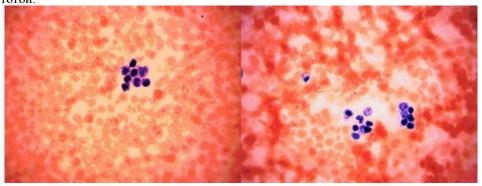


Рис. 1. Скопления бластных клеток в крови больных лейкозом коров

У больных лейкозом животных изменяется качественный состав лимфоидных элементов: появляются широкоцитоплазменные лимфоциты, двуядерные формы, тени Боткина–Гумпрехта (рис. 2), которые отсутствуют у контрольных животных. Нередко появление измененных форм лимфоцитов сочетается с акантоцитозом эритроцитов (рис. 3).

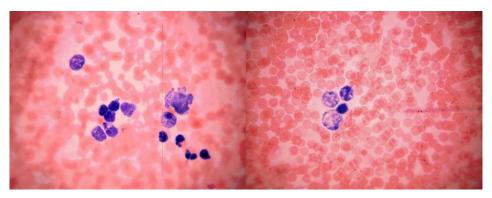


Рис. 2. Измененные формы лимфоцитов в крови больных животных

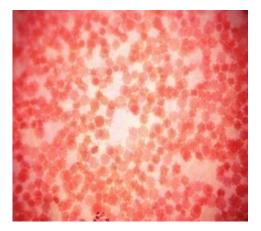


Рис. 3. Акантоцитоз эритроцитов

Также отмечается появление в лимфоцитах больных животных микроядер, которые являются следствием хромосомных нарушений (рис. 4).

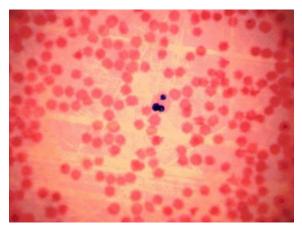


Рис. 4. Микроядра в лимфоцитах больных животных

Рестрикционный анализ хромосомной ДНК, выделенной из крови РИД-положительных (больных лейкозом) и РИД-отрицательных (контрольных) животных, выявил некоторые различия в наборе фрагментов, полученных в результате расщепления геномов с использованием эндонуклеаз рестрикции PstI и EcoRI (рис. 5). Данные различия могут быть связаны с присутствием в геномах клеток больных животных провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота.

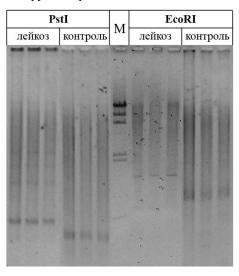


Рис. 5. Препараты хромосомной ДНК после обработки эндонуклеазами рестрикции. М – маркер молекулярной массы. Электрофорез в 0,8 %-ном агарозном геле. Окрашено бромистым этидием

Кроме того, у больных лейкозом коров отмечаются изменения белкового состава сыворотки крови. В частности, у РИД-положительных животных методом электрофореза по Лэммли выявляется 12–15 мажорных белковых фракций, тогда как у животных из контрольной группы выявляется большее количество фракций: от 15 до 18 (рис. 6).

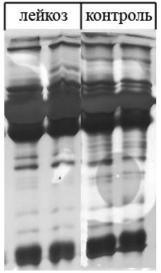


Рис. 6. Мажорные белковые фракции сыворотки крови коров. Электрофорез в 12 %-ном полиакриламидном геле. Окрашено серебром

В настоящее время по вышеописанным направлениям продолжаются исследования, по завершении которых будут сформулированы окончательные выводы о характере и причинах генетических, протеомных и цитологических изменений, происходящих в крови животных, больных лейкозом крупного рогатого скота.

- 1. Симонян Г.А., Хисамутдинов Φ . Φ . Ветеринарная гематология. М.: Колос, 1995. 256 с.
- 2. Роскин Г.И. Микроскопическая техника. М.: Советская наука, 1951. 447 с.
- 3. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1969. 624 с.
- 4. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 2225 p.
- 5. Hayward G.S., Smith M.G. The chromosome of bacteriophage T5. Analysis of the single-stranded DNA fragments by agarose gel electrophoresis // J. Mol. Biol. 1972. Vol. 63. P. 383–395.
- 6. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
- 7. Oakley B.R., Kirsch D.R., Morris N.R. A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels // Anal. Biochem. 1980. Vol. 105. P. 361–363.
- 8. *Герунова Л.К., Околелов В.И., Бойко Т.В.* Гематотоксическое действие пестицидов на теплокровных животных // Сельскохозяйственная биология. 2003. № 4. С. 75–78.

Том 275

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА БИОСИНТЕЗ БИОФЛАВОНОИДОВ У ТИМОФЕЕВКИ ЛУГОВОЙ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

П.В. Федураев, Г.Н. Чупахина

Установлена роль основных элементов минерального питания, таких как азот, фосфор и калий, в накоплении фенольных соединений на ранних этапах развития растений тимофеевки луговой (Phleum pretense L.).

MACRONUTRIENTS INFLUENCE ON THE BIOFLAVONOIDS BIOSYNTHESIS IN TIMOTHY PLANTS ON EARLY STAGES OF ONTOGENESIS

P.V. Feduraev, G.N. Tchoupakhina

The role of the major mineral nutrients such as nitrogen, phosphor and potassium in the accumulation of phenolic compounds in the early stages of plant development of timothy (Phleum pretense L.) was established.

Число известных фенольных соединений превышает 20000. В значительных количествах они встречаются во всех живых растительных организмах, составляя 1–2 % биомассы и более и выполняя разнообразные биологические функции. Наибольшим разнообразием химических свойств и биологической активности отличаются фенольные соединения с двумя и более гидроксильными группами в бензольном ядре [1, с. 113; 2, с. 322].

Количество фенолов, синтезируемых в растениях, зависит от их физиологического состояния и условий местообитания [3, с. 921].

При их дефиците в результате нарушения вторичного метаболизма, наблюдается сильное окислительное повреждение клеток [4, с. 118].

Для изучения влияния макроэлементов (NPK) на биосинтез флавоноидов в качестве объектов исследования использовали проростки тимофеевки луговой, выращенной на перлите. Полив растений осуществлялся питательным раствором, содержащим макро- и микроэлементы. В зависимости от обеспеченности макроэлементами растения были разделены на четыре группы:1) контроль (достаточное количество макроэлементов); 2) дефицит азота; 3) дефицит калия; 4) дефицит фосфора. Анализ растений производили на 17-й и 30-й день после всходов.

В растениях определялись антоцианы, лейкоантоцианы и катехины. Использованные в работе методики являются спектрофотометрическими, которые основаны на способности флавоноидов или их окрашенных комплексов поглощать монохроматический свет при определенной длине волны [5, с. 20].

В результате проведенных исследований было установлено, что уровень антоцианов напрямую зависит от баланса минерального питания. Так, по сравнению с контролем уровень биофлавоноидов в пробах с обедненным содержанием азота и

фосфора снижался, тогда как в пробе, где калий присутствовал в дефиците, уровень антоцианов был значительно выше, чем в контроле. Однако данные, полученные на 30-й день после всхода, показывают увеличение уровня антоцианов у проб с недостатком фосфора и азота, в то время как содержание внепластидных пигментов в пробах с недостаточным содержанием калия снизилось (рис. 1).

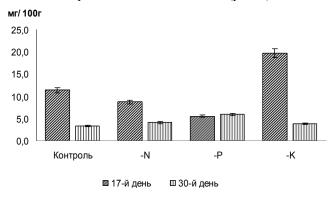


Рис. 1. Влияние макроэлементов на биосинтез антоцианов

В результате исследований было выявлено, что дефицит микроэлементов может напрямую влиять на уровень лейкоантоцианов. На первом этапе исследований было установлено, что дефицит калия не влияет на увеличение концентрации флаван-3,4-диолов, в то время как пробы с пониженным содержанием азота практически не отличались от контрольной пробы. Однако спустя две недели недостаток фосфора положительно сказался на уровне лейкоантоцианов в растениях, а недостаток азота и калия не повлиял на биосинтез лейкоантоцианов, и их концентрация оказалась ниже, чем в контрольной пробе (рис. 2).

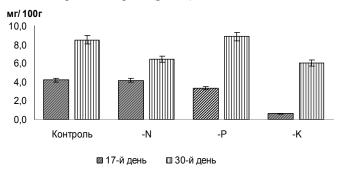


Рис. 2. Влияние макроэлементов на биосинтез лейкоантоцианов

В результате проведенных исследований была выявлена связь между уровнем катехинов и минеральным питанием растений. Дефицит фосфора приводил к увеличению уровня флаван-3,4-диолов в первый день проведения анализов, в то время как в пробах, обедненных азотом и калием, уровень не превышал показателей контроля. Во второй день исследований дефицит минерального питания не сказался на увеличении уровня катехинов у экспериментальных растений, все пробы оказались ниже контроля (рис. 3).

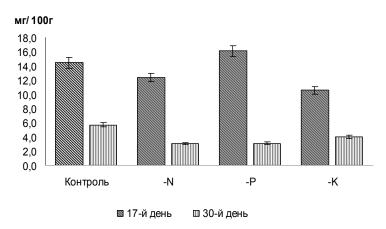


Рис. 3. Влияние макроэлементов на биосинтез катехинов

Наибольшее влияние на образование флавоноидов оказывает обеспеченность растений элементами минерального питания. Рядом исследователей выявлено как положительное, так и отрицательное их влияние [6, с. 4; 7, с. 194; 8, с. 218].

Установлено, что дефицит калия стимулировал образование антоцианов, тогда как дефицит фосфора приводил к накоплению лейкоантоцианов и катехинов.

- 1. Иванов И.И. Биоантиокислители. М.: Наука, 1975. 267 с.
- 2. Кретович В.Л. Биохимия растений. М.: Высш.шк., 1986. 503 с.
- 3. Запрометов М.Н. Специализированные функции фенольных соединений в растениях // Физиология растений. 1993. Т. 40, №6. С. 921–931.
- 4. Вольнец А.П., Прохорчик Р.А. Ароматические оксисоединения продукты и регуляторы фотосинтеза. Минск, 1983. 157 с.
- 5. Самородова-Бианки Г.Б., Стрельцина С.А. Исследования биологически активных веществ плодов: Метод. указания. Л.: ВИР, 1979. 47 с.
- 6. Панасин В.И. Содержание микроэлементов в почвах Калининградской области. Калининград: Кн. изд-во, 1979. 106 с.
- 7. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
 - 8. *Бриттон* Γ . Биохимия природных пигментов. М.: Мир,1986. 422 с.

РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СЕМЕННИКА ПРИ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ИММУНОКОРРЕКТОРОВ¹

Ю.С. Храмцова, Н.В. Тюменцева

Оценивается роль исходного состояния иммунной системы в регуляции репаративной регенерации семенника.

REPARATIVE REGENERATION OF THE TESTIS WITH INJECTION OF VARIOUS IMMUNOMODULATORS

Y.S. Hramtsova, N.V. Tyumentseva

Evaluated the role of the initial state of the immune system in the regulation of reparative regeneration of the testis.

В настоящее время показано, что разные элементы иммунной системы принимают участие в регуляции регенерации различных органов. Однако большинство работ посвящено изучению морфогенетической функции иммунной системы при повреждении обычных органов (печень, почки, легкие, сердце, тонкий кишечник, кроветворная ткань) [1]. Между тем особо остро стоит проблема иммунологической регуляции регенерации забарьерных тканей, к которым относится семенник. Во многом она определяется двумя особенностями этих тканей: 1 - в эмбриогенезе они закладываются позднее иммунной системы; 2 – наличие гистогематического барьера в физиологических условиях надёжно их изолирует от иммунной системы [3]. Иммунная регуляция регенерации этих тканей отличается от таковой для других тканей организма. При повреждении тех или других в крови появляются антитела. Но в отношении забарьерных органов в организме не возникает состояния естественной иммунологической толерантности. Нарушение барьеров физиологически изолированных органов приводит к стимуляции лимфоидного аппарата, сопровождающейся образованием специфических аутоантител, направленных против антигенов этого органа. Предполагают, что в результате аутоагрессии, вызванной этими антителами, происходит полная гибель органа, что служит причиной отсутствия его регенерации. Однако рядом авторов доказана возможность регенерации этих органов при участии в этом сложном процессе иммунной системы [2, 4] и, соответственно, требуется своя расшифровка механизмов этого процесса.

Целью данной работы является исследование репаративной регенерации семенника при изменении состояния иммунной системы различными иммунокорректорами: полиоксидонием и тимодепрессином.

 $^{^{1}}$ Работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 годы.

В качестве экспериментальных животных использовали 40 белых беспородных крыс массой от 210 до 260 г. Повреждение семенника наносили путём прокола иглой диаметром 3 мм. Препараты вводили ежедневно внугримышечно курсом 7 инъекций (полиоксидоний в дозе 0,1 мг/кг, тимодепрессин в дозе 0,02 мл/кг 0,1 % раствора) до повреждения, тем самым активируя либо угнетая состояние иммунной системы. Через 12 сут после операции крыс забивали путём передозировки наркоза. При этом измеряли такие показатели, как масса крысы, масса лимфоидных органов (селезёнка, тимус), масса семенников. Для гистологических исследований во всех наблюдениях брали оба яичка, которые фиксировали в 10 % формалине. Далее проводили по стандартной проводке. После заливки в парафиновые блоки готовили срезы толщиной 3-5 мкм на микротоме. Полученные срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Препараты изучали под микроскопом и оценивали следующие показатели: диаметр семявыносящего канальца, площадь поперечного сечения семенного канальца, средний индекс сперматогенеза, среднее число сперматогоний в канальце, сперматоцитограмма, количество слущенных канальцев, количество лимфоцитов в канальцах семенника. Подсчет количества лимфоцитов в каждом семеннике производили в $S = 0.01 \text{ мм}^2$, а затем пересчитывали на 1 мм². Для оценки состояния иммунной системы подсчитывали клеточность селезёнки, тимуса и костного мозга. Значимость различий при статистической обработке экспериментального материала оценивали по непараметрическому критерию Манна – Уитни.

При активации иммунной системы полиоксидонием масса семенника не увеличивается, как это происходит при проколе без введения препаратов, а остаётся на уровне интактных животных (1500±260 мг у интактных; 1360±65,2 мг у животных с проколом). При микроскопическом исследовании оперированного семенника наблюдается различная степень атрофии сперматогенного эпителия в извитых канальцах, расположенных вблизи очага повреждения, причём в большей степени, чем это происходило в семенниках крыс без введения иммунокорректора. Отмечается снижение индекса сперматогенеза, числа сперматогоний (таблица). В повреждённом семеннике наблюдается увеличение числа лимфоцитов (0,65±0,25 на 1 мм² в контроле, 1,48±0,36 на 1 мм² с полиоксидонием). Это свидетельствует о том, что активация иммунной системы оказывает угнетающее влияние на процессы регенерации семенника и сперматогенеза в результате развития аутоиммунной реакции. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о том, что введение полиоксидония не только не способствует восстановлению сперматогенеза при повреждении семенника, но и, наоборот, приводит к ещё большему распространению деструктивных процессов в оперированном органе.

При угнетении иммунной системы тимодепрессином реакция на повреждение семенника выражалась в снижении массы обоих семенников по сравнению с массой органов контрольных животных (1654±193,9 мг в контроле; 1280±130,4 мг у животных с проколом). При гистологическом исследовании выявлено, что структура сперматогенного эпителия сохраняет нормальный упорядоченный вид. В большинстве семенных канальцев встречаются половые клетки разных генераций. Наблюдается увеличение диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев в обоих семенниках. Кроме этого, в неповрежденном семеннике увеличивается индекс сперматогенеза и число сперматогоний, что позволяет говорить об ускорении регенераторных процессов в семеннике животных с подавленной иммунной системой (см. таблицу). Участие иммунной системы в возникновении данных изменений очевидно, так как наблюдается резкое увеличение числа лимфоцитов в канальцах как поврежденного, так и интактного семенников (0,65±0,25 на 1 мм² в контроле, 1,35±0,06 на 1 мм² с тимодепрессином). Данный факт свидетельствует о миграции клеток иммунной системы в исследуемый орган.

Гистологические показатели сперматогенеза после прокола семенника при введении различных иммунокорректоров

Группы Интактные животных животные		Прокол семенника без введения препарата		Прокол семенника с введением полиоксидония		Прокол семенника с введением тимодепрессина		
Семенник			интактный	поврежденный	интактный	поврежденный	интактный	поврежденный
Показатели	Диаметр канальца, мм	0,197±0,014	0,046±0,011	0,046±0,0044*	0,042±0,013*	0,045±0,017*	0,308±0,026*,**	0,268±0,01*,**
	Площадь поперечного сечения канальца, мм ²	0,03±0,004	0,004±0,0038*	0,012±0,0065*	0,002±0,001*	0,002±0,001*,**	0,073±0,008*.**	0,057±0,004*,**
	Индекс сперматогенеза	3,13±0,17	3,39±0,18*	3,54±0,27	3,13±0,09**	3,14±0,035**	3,71±0,07*	3,02±0,74
	Среднее число сперматогоний	45,26±15,43	49,58±12,71	47,89±14,9	44,66±12,87	42,34±6,99	77,8±14,75**	63,6±15,52

^{*-} p<0,05; различия с интактными достоверны. **- p<0,05; различия с контролем достоверны.

Таким образом, активация иммунной системы приводит к отсутствию репаративной регенерации семенника, а угнетение – к более активному восстановлению.

- 1. Бабаева $A.\Gamma$. Единство и противоположность цитогенетической активности лимфоцитов и их антителообразующей функции при восстановительных процессах в органах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1999. Т. 128, №11. С. 484–490.
 - 2. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М., 1985.
- 3. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Лебедева Е.В. Иммунофизиология. Екатеринбург, 2002.
- 4. Brawley C., Matunis E. Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation in vivo // International review of cytology. 2004. Vol. 233. P. 181–241.

Том 275

Серия биологическая

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕПАТИТА В НА ОСНОВЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ¹

Е.Н. Чеботарева, Е.Б. Рукавцова, Я.И. Бурьянов

Созданы трансгенные растения картофеля, экспрессирующие ген поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) на уровне 0,05 % от общего растворимого белка. Доклинические испытания на лабораторных мышах показали перспективность использования трансгенных растений в качестве источника вакцины против гепатита В.

TRANSGENIC PLANT-BASED VACCINES FOR HEPATITIS B VIRUS: RESULTS OF PRECLINICAL TRIALS

E.N. Chebotareva, E.B. Rukavtsova, Ya.I. Buryanov

Potato transgenic plants expressing the gene of the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) at a level of 0.01-0.05% of the total soluble protein were obtained. The preclinical tests on mice showed availability of the transgenic plants as a source of vaccine for hepatitis B virus.

Использование трансгенных растений в качестве съедобных вакции — это одно из актуальных направлений в современной вакцинологии. Растения являются удобной, безопасной и экономически выгодной альтернативой для продукции различных белков, вакцин и антител по сравнению с системами экспрессии на основе микроорганизмов, культур животных клеток или трансгенных животных. За последние десятки лет в растениях синтезировано множество ценных белков — белки человеческой сыворотки, регуляторы роста, антитела, вакцины, промышленные ферменты, биополимеры и реагенты для молекулярной биологии.

Целью нашей работы стало проведение доклинических испытаний на мышах съедобной вакцины на основе трансгенных растений картофеля, синтезирующих поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

Синтезированный в растениях HBsAg по своим физико-химическим и иммунологическим свойствам не отличается от антигена, полученного из клеток дрожжей, и при введении в организм стимулирует образование специфичных иммуноглобулинов IgG [1]. HBs-антиген трансгенных растений еще более эффективен при пероральном употреблении, чем очищенный из дрожжей. Поскольку HBsAg собирается в растительных клетках в мультимерные частицы, которые накапливаются внутри мембранных везикул, то такая естественная «биоинкапсуляция» в растительной клетке защищает антиген от агрессивного воздействия в пищеварительном тракте

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 08-08-00328) и Программы Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Участник молодежного научно-инновационного конкурса (У.М.Н.И.К) – 2009».

до тех пор, пока он не вступит в контакт с эффекторами иммунной системы на слизистой поверхности кишечника [2].

Нами получены трансгенные растения картофеля Solanum tuberosum L. сорта Дезире, содержащие ген поверхностного антигена вируса гепатита В HBsAg, под контролем промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты CaMV 35SS [3]. Содержание HBs-антигена в полученных растениях составило до 0,05 % от суммарного растворимого белка. Проведен вестерн-блотт-анализ HBs-антигена после его иммуноаффинной очистки. Молекулярная масса очищенного белка равна 24 кДа, что соответствует молекулярной массе основного белка оболочки вируса гепатита В. С помощью гель-фильтрации установлено, что продукт экспрессии гена HBsAg в трансгенных растениях присутствует в высокомолекулярной мультимерной форме. Таким образом, в клетках трансгенных растений, как и в клетках рекомбинантных штаммов дрожжей-продуцентов HBsAg, идет сборка мономерных форм HBs-антигена в иммуногенные мультимерные агрегаты, которые могут быть использованы в качестве субстанции для получения вакцины против вируса гепатита В.

Для проведения доклинических испытаний трансгенный картофель с геном HBsAg для получения клубней выращивали в закрытом грунте на станции искусственного климата «Биотрон». С помощью тест-системы для иммуноферментного выявления HBsAg (набор «HBsAg-ИФА-Бест», ЗАО «Вектор-Бест», Россия) определили, что количество HBs-антигена в клубнях растений составило до 1 мкг/г массы клубня.

Для изучения иммуногенности антигена, синтезируемого клубнями трансгенного картофеля, использовали три группы по 10 аутбредных мышей NMRI массой 23–25 г. Животные первой и второй групп питались трансгенными клубнями картофеля (по 20 г, что составило 20 мкг HBsAg), причем мышам первой группы давали в качестве адъюванта по 20 мкг гликопина (ГМДП). Контрольная группа получала только стандартный корм без картофеля. На 71-е сут эксперимента животным первой и второй групп вводили внутрибрюшинно по 0,5 мкг рекомбинантной дрожжевой вакцины против гепатита В (НПК «Комбиотех», Москва).

Для оценки иммунитета против гепатита В у мышей каждой группы собирали препараты крови. Получаемую сыворотку крови анализировали методом ИФА на наличие антител против HBsAg, используя тест-систему D-0562 (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Показано, что уровень антител к HBsAg в сыворотке крови мышей первой и второй групп начинал увеличиваться на 36–50-е сут после первого кормления. С целью исследования усиления иммунного ответа против HBsAg, синтезируемого трансгенными растениями, животным первой и второй групп внутрибрюшинно вводили коммерческую рекомбинантную дрожжевую вакцину против гепатита В (0,5 мкг/мышь). Содержание антител стало повышаться у мышей обеих групп уже через неделю и достигло максимума у разных мышей через 15–43 сут после инъекции (до 112–350 мМе/мл). На 120-е сут после начала эксперимента уровень антител к HBsAg в обеих группах мышей оставался протективным (более 10 мМе/мл). Через год было проведено повторное кормление мышей экспериментальных групп клубнями трансгенного картофеля. У ряда мышей уровень антител к HBsAg в сыворотке крови повысился до 140–185 мМе/мл. Полученные данные показывают перспективность использования трансгенных растений картофеля в качестве субстанции для производства съедобной вакцины против вируса гепатита В.

- 1. Thanavala Y., Yang Y.F., Lyons P. et al. Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1995. Vol. 92. P. 3358–3361.
- 2. Kong Q., Richter L., Yang Y.F. et al. Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 11539–11544.

 3. Шульга Н.Я., Рукавцова Е.Б., Крымский М.А. и др. Экспрессия поверхностного антигена вируса
- 3. *Шульга Н.Я.*, *Рукавцова Е.Б.*, *Крымский М.А. и др.* Экспрессия поверхностного антигена вируса гепатита В в трансгенных растениях картофеля и его характеристика // Биохимия. 2004. Т. 69. С. 1422–1430.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ДИКИХ МЕЛКИХ ГРЫЗУНОВ ВИРУСОМ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА (ВКЭ)¹

Г.С. Чичерина, В.Н. Бахвалова, В.В. Панов, Л.Э. Матвеев, О.В. Морозова

Анализ ВКЭ после экспериментального заражения красных полёвок и полевых мышей из природного очага клещевого энцефалита показал циркуляцию экзогенного вируса в течение 1 мес после исходного заражения клещевыми суспензиями и интерференцию с эндогенным персистирующим вирусом при последующем пассаже с вытеснением клещевых вариантов ВКЭ сибирского генетического типа.

FEATURES OF EXPERIMENTAL INFECTION OF WILD SMALL RODENTS WITH THE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS (TBEV)

G.S. Chicherina, V.N. Bakhvalova, V.V. Panov, L.E. Matveev, O.V. Morozova

Analysis of the TBEV after experimental infection of red voles and field mice from an endemic region for the tick-borne encephalitis revealed the circulation of an exogenous virus for 1 month after their initial infection with the TBEV-positive tick suspensions and interference with persisting virus during subsequent passage with elimination of tick variants of the TBEV Siberian type.

Клещевой энцефалит – опасное природно-очаговое заболевание человека. Природными резервуарами вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) являются позвоночные и иксодовые клещи. Хозяин-зависимая изменчивость ВКЭ показана для клещей *Hyalomma marginatum* и лабораторных мышей [4].

Цель данной работы состояла в феногенетическом анализе изолятов ВКЭ после экспериментального заражения диких красных полёвок и полевых мышей клещевыми суспензиями, содержащими ВКЭ сибирского генетического типа, в течение двух последовательных пассажей.

Неполовозрелые красные полевки Clethrionomys (Myodes) rutilus Schreber и полевые мыши Apodemus agrarius Pallas (возраст 3–4 нед) были отловлены в лесопарке Новосибирского научного центра в октябре 2009 г. и освобождены от эктопаразитов. Через 1 мес после содержания в индивидуальных клетках у животных прижизненно брали кровь для детекции РНК ВКЭ и антител к ВКЭ. Затем 8 красным полёвкам и 7 полевым мышам подкожно вводили по 0,2 мл супернатантов клещевых суспензий, содержащих ВКЭ сибирского типа. Через 1 мес после исходного заражения проводили анализ ВКЭ в крови и органах (головной мозг, печень, селезёнка) животных методами обратной транскрипции с последующей ПЦР с генотипспецифичными флуоресцентными зондами в реальном времени, двухраундовой ПЦР с праймерами для гена Е, иммуноферментного анализа (ИФА) на антиген

¹ Работа выполнена при поддержке междисциплинарного гранта СО РАН №83.

ВКЭ, биопробы, реакции гемагглютинации (РГА) и реакции торможения гемагглютинации (РТГА), как описано ранее [1]. Диким грызунам второй группы (всего 15, из них 8 красных полёвок и 7 полевых мышей) подкожно вводили по 0,25 мл супернатантов суспензий органов диких животных исходного заражения, наблюдения проводили также в течение 1 мес, затем — аналогичный молекулярнобиологический и вирусологический анализ.

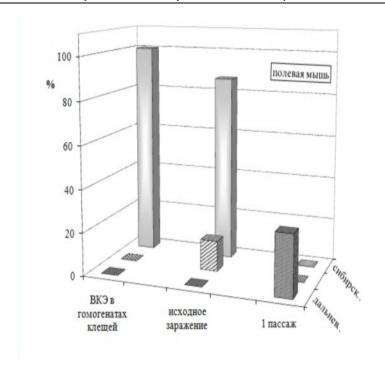
Результаты и обсуждение

Исследование образцов крови полевых мышей, отловленных из природного очага клещевого энцефалита Новосибирской области, показало отсутствие РНК ВКЭ и противовирусных антител. Напротив, у большинства красных полевок обнаружен персистирующий ВКЭ. Отличия двух доминирующих в Западной Сибири видов мелких грызунов по спонтанному вирусоносительству могли быть обусловлены различной иммунореактивностью [2].

После исходного заражения клещевыми суспензиями, содержащими ВКЭ сибирского типа, все дикие грызуны оставались здоровыми в течение 1 мес наблюдений. Через 30 сут после заражения в 91,1 % проб органов всех 15 диких грызунов и в 2 образцах из клеток крови красных полевок была выявлена РНК ВКЭ сибирского типа (рис. 1) с пороговыми циклами в ПЦР в реальном времени от 32,2 до 51,0, что соответствовало ВКЭ в исходных клещевых суспензиях. Инфекция экзогенным ВКЭ сибирского генетического типа и диапазоны вирусной нагрузки не зависели от видовой принадлежности диких грызунов. Смешанная инфекция ВКЭ дальневосточного и сибирского типа была обнаружена в органах только 1 полевой мыши. В ИФА антиген Е ВКЭ детектировали у 46,7±13,3 % особей, но гемагглютинирующий антиген в РГА и патогенный вирус для 2-3-сугочных лабораторных мышей ICR не был выявлен. Исследование мозга биопробных лабораторных мышей показало наличие во всех образцах РНК ВКЭ, но уже сибирского и дальневосточного типов. По данным ИФА и РТГА вирусспецифические IgM были обнаружены в плазме 3 красных полевок, а антигемагглютинины - лишь у одной. Слабый иммунный ответ на экспериментальное заражение диких грызунов ВКЭ мог быть следствием иммуносупрессии компонентами слюны [3], содержащейся в клещевых суспензиях, или иммунологической толерантности к вирусным антигенам из-за спонтанной врождённой персистентной инфекции у диких мелких грызунов.

Большинство грызунов второй группы по данным исследования крови до заражения содержали эндогенный персистирующий ВКЭ сибирского и дальневосточного генетических типов (пороговые циклы 41,7–46,6 для сибирского типа и 31,9–51,5 – для дальневосточного) и антитела к ВКЭ с титрами в ИФА 1:10–1:320, антигемагглютинины (1:20) были выявлены у 1 полевой мыши. Через месяц после заражения диких грызунов второй группы РНК ВКЭ сибирского типа была выявлена лишь у 3 из 15 особей ($20,0\pm10,7$ %, пороговые циклы от 19,3 до 53,3) в виде смешанной инфекции с ВКЭ дальневосточного типа; а РНК ВКЭ дальневосточного типа – у $46,7\pm13,3$ % грызунов (с пороговыми циклами от 31,1 до 51,1).

Выявлены отличия между видами по селекции генетических вариантов ВКЭ (см. рис. 1). У полевой мыши наблюдали элиминацию (абортивную инфекцию) экзогенного ВКЭ сибирского типа без развития смешанных форм инфекции, в то время как у красной полёвки вследствие пониженной иммунореактивности чаще развивалась смешанная инфекция. Антиген ВКЭ и противовирусные антитела чаще обнаруживали у красных полевок. Необходимо отметить, что по сравнению с исходным заражением был более выражен антителогенез: IgM (титры в ИФА 1:10-1:30) были выявлены у 6 из 15 особей ($40,0\pm13,1$ %), а антигемагглютинины к ВКЭ (титры в РТГА от 1:10 до 1:80) были определены уже у 7 из 15 ($46,7\pm13,3$ %) животных.



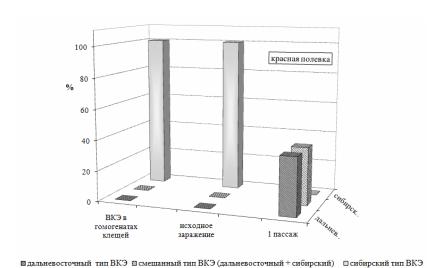


Рис. 1. Селекция генетических типов ВКЭ в организме полевой мыши и красной полевки

Таким образом, в течение месяца после исходного заражения красных полёвок и полевых мышей ВКЭ из клещевых суспензий в органах преобладала инфекция экзогенного вируса сибирского типа. На следующем пассаже в течение месяца после экспериментального заражения диких мелких грызунов происходила интерференция эндогенного персистирующего ВКЭ преимущественно дальневосточного типа с вытеснением экзогенного клещевого ВКЭ сибирского типа.

- 1. *Морозова О.В., Бахвалова В.Н., Панов В.В.* Сравнение методов детекции вируса клещевого энцефалита // Фундаментальные науки медицине. Новосибирск: АРТА, 2008. С. 171–177.
- 2. *Москвитина Н.С., Кравченко Л.Б., Мак В.В. и др.* Иммунореактивность разных демографических групп в городских популяциях полевой мыши, Apodemus agrarius (RODENTINA, MURIDAE) // Зоологический журн. 2004. Т. 83, № 2. С. 486–492.
- 3. Nuttall P.A. Displaced tick-parasite interactions at the host interface // Parasitology. 1998. Vol. 116. P. 865–872.
- 4. Romanova L.Iu., Gmy A.P., Dzhivanian T.I. at al. Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation // Virology. 2007. Vol. 362. P. 75–84.

Том 275

Серия биологическая

СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е.С. Шилкина, Л.Р. Мустафина

В эксперименте проведена немедикаментозная коррекция сапропелем и магнитным полем у животных с CCl₄-гепатитом. Установлена зависимость немедикаментозной коррекции гепатита от сезонов года. В зимний период отмечено усиление синтетической функции печени, весной – ее снижение.

SEASONAL FEATURES OF THE CONTENTS OF NUCLEINIC ACIDS AT NOT MEDICAMENTOUS CORRECTION OF THE LIVER IN EXPERIMENT

E.S. Shilkina, L.R. Mustafina

In experiment non-medicamentous correction by sapropel and a magnetic field at animals with the CCl₄-hepatites is carried out. Dependence of not-pharmacological correction of a hepatites on seasons of year is established. During the winter period amplification of synthetic function of a liver, in the spring – its reduction is marked.

Изучение эффективности сочетанной немедикаментозной коррекции необходимо проводить с учетом сезонов, поскольку циркануальные биоритмы являются наследственно закрепленной циклической морфофункциональной перестройкой организма, соответствующей циклическим изменениям среды [3].

Цель настоящей работы – оценить сезонные особенности содержания нуклеиновых кислот при немедикаментозной коррекции печени с моделью токсического гепатита.

Влияние токсического ССІ₄-гепатита и последующей немедикаментозной коррекции исследовали на 320 крысах-самцах линии Вистар, массой 250–400 г. Исследования проводили в одно время суток (с 9 до 11 ч) для исключения влияния на результаты исследований суточных колебаний функциональных параметров печени. Эксперименты не проводились в дни с резкими погодными колебаниями. Экспериментальные животные находились на стандартном рационе и режиме кормления. Исследования осуществляли в определенные периоды в соответствии с погодно-климатическими условиями г. Томска [2]. При этом в каждый сезон общую группу животных (по 80 особей) методом случайной выборки разделяли на три серии: 1-я серия – 24 интактных животных, 2-я серия – 32 животных для моделирования ССІ₄-гепатита, 3-я серия – 24 животных для моделирования ССІ₄-гепатита и последующей коррекции сапропелем и магнитным полем. Забор фрагментов печени осуществляли на 4, 9, 14 и 44-е сут (для оценки отдаленных результатов) после последнего введения ССІ₄. Работа с экспериментальными животными проводилась в соответствии с Правилами проведения работ с использованием эксперименталь-

ных животных (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1987 г.) и Федеральным законом РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г.

Объектом исследования служили фрагменты печени крыс, фиксированные в спирт-формалине (9:1) и залитые в парафин по общепринятой методике [4]. После приготовления срезов толщиной 4–6 мкм проводили окрашивание пиронином по Браше [5]. Удельный объем РНК и ДНК в ядрах гепатоцитов оценивался количественно с помощью окулярной сетки Автандилова. Вычисляли соотношение количества точек, приходящихся на РНК/ДНК, к числу точек, приходящихся на неокрашенные структуры гепатоцитов. Обработка результатов проводилась с помощью компьютерной программы Statistica 6,0. Применяли стандартные методы математической статистики с использованием непараметрического критерия для независимых выборок Манна — Уитни, который является наиболее точным (чувствительным) при малых выборках [1]. Статистическое оценивание проводили для уровня значимости р<0,05.

Анализ удельного содержания нуклеиновых кислот (НК) в печени крыс с моделью токсического гепатита по сравнению с показателями интактной серии выявил следующие изменения. Летом увеличение НК наблюдалось на 4–9-й день от начала эксперимента и составило $47,05\pm5,78$ и $47,0\pm2,16$ (p<0,001), а в интактной группе – $19,7\pm0,60$. Осенью отмечалось значимое повышение показателей на 4-й (с $18,83\pm0,61$ до $29,65\pm1,13$) (p<0,001) и на 44-й день ($28,0\pm0,78$) (p<0,001). Зима характеризовалась отсутствием достоверных изменений, по сравнению с таковыми в интактной группе, за исключением 4-го дня, когда удельное содержание НК снижалось с $22,8\pm1,26$ до $18,4\pm0,75$ (p<0,025). В весенний период уменьшение НК отмечалось на 4–9-й день (с $30,7\pm1,51$ до $20,5\pm0,69$ и $18,3\pm0,77$ соответственно) (p<0,001). Таким образом, летом и осенью в ранние сроки эксперимента выявлялось усиление синтетической функции печени в ответ на агрессивное воздействие CCl_4 . Снижение удельного содержания НК в ранние сроки воспалительного процесса (на 4-й день) зимой и весной, вероятно, свидетельствует о более неблагоприятном течении токсического гепатита в этот период года.

Летом на 9-й и 44-й день содержание НК при немедикаментозной коррекции CCl_4 -гепатита было достоверно выше $(27,3\pm1,38$ и $24,55\pm1,92)$, чем в интактной группе $(19,7\pm0,60)$ (p<0,001), но ниже такового на 9-й день в группе без коррекции $(47,3\pm2,26)$ (p<0,001).

Осенью при немедикаментозной коррекции лишь на 44-й день содержание НК увеличивалось по сравнению с таковым в интактной группе (с $18,83\pm0,61$ до $22,6\pm0,61$) (p<0,05) и уменьшалось при сравнении с показателями в группе с CCl_4 -гепатитом (с $28,2\pm0,78$ до $22,6\pm0,61$) (p<0,001).

Следовательно, в осенне-летний период немедикаментозная коррекция приводит к стимуляции выработки НК, по сравнению с таковой в интактной группе, однако по сравнению с гепатитом без коррекции отмечается ее угнетение. Подобная динамика, вероятно, свидетельствует о напряжении адаптивно-компенсаторных возможностей.

Весной немедикаментозная коррекция токсического гепатита характеризовалась значимым снижением содержания НК на 9-й и 14-й день по сравнению с таковым в интактной группе (с 30.7 ± 1.51 до 19.2 ± 0.92 (p<0,001) и 20.0 ± 1.03 (p<0,005) соответственно). Зимой во все сроки значимых отличий между группами не выявлено.

Таким образом, при немедикаментозной коррекции CCl₄-гепатита наиболее благоприятным по отношению к синтетической функции печени является зимний период. Весной при сочетанной коррекции токсического гепатита отмечается угнетение синтетической функции печени. Для оптимизации немедикаментозной кор-

рекции синтетической функции печени необходимо учитывать ее сезонные особенности.

- 1. *Боровиков В.* STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. СПб.: Питер, 2001. 650 с.
- 2. *Климат* Томска / Под ред. С.Д. Кошинского, Л.И. Трифоновой, Ц.А. Швер. Л.: Гидрометеоиздат, 1982. С. 94–138.
 - 3. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. М.: Триада-X, 2000. 488 с.
 - 4. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Л.: Медицина, 1969. 424 с.
 - 5. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Пер. с нем. М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1954. 720 с.

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, МИКРООРГАНИЗМОВ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

О ЖИРНОКИСЛОТНОМ COCTABE ЛИПИДОВ ТАЛЛОМОВ ЛИШАЙНИКА HYPOGYMNIA PHYSODES (L.) NYL.

О.Е. Ануфриева, Л.В. Ветчинникова, И.В. Морозова, В.И. Андросова

Представлены результаты изучения жирнокислотного состава липидов талломов лишайника Hypogymnia physodes (L.) Nyl., произрастающего в различных условиях антропогенной нагрузки. Наиболее выраженные различия выявлены во фракции гликолипидов.

FATTY ACID COMPOSITION OF LIPIDS IN LICHEN THALLUS *HYPOGYMNIA PHYSODES* (L.) NYL.

O.E. Anufrieva, L.V. Vetchinnikova, I.V. Morozova, V.I. Androsova

The record of study the content of fatty acids, lipids in thalli of lichen Hypogymnia physodes (L.) Nyl. from different environmental conditions are presented.

В отечественной и зарубежной литературе достаточно широко освещены вопросы, касающиеся морфологии и экологии лишайников [2–4], однако их физиологические особенности изучены слабо. Практически открытыми остаются вопросы липидного обмена, хотя именно липиды, будучи важнейшим элементом клеточных мембран, во многом определяют особенности реакции лишайников на действие антропогенных факторов среды.

Целью нашей работы явилось сравнительное изучение жирнокислотного состава различных фракций липидов талломов лишайника, произрастающего в различных условиях антропогенной нагрузки.

Объектом исследования явился лишайник *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., отличающийся высокой экологической пластичностью и широким ареалом. Сбор экспериментальных образцов проводился на пробных площадях, заложенных в различных условиях антропогенной нагрузки: в городских условиях (г. Петрозаводск, м-н Перевалка) и на территории Ботанического сада ПетрГУ.

Липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 по объему [1]. Разделение липидов на фракции проводили методом колоночной хроматографии: нейтральные липиды элюировали хлороформом, гликолипиды — ацетоном, фосфолипиды — метанолом. Жирные кислоты исследовали в виде их метиловых эфиров, которые анализировали на газожидкостном хроматографе «Хроматък — Кристалл-5000 М.1» (Россия) при температуре капиллярной колонки Zebron ZB—FFAP — 225 °C (изотерма). Скорость потока газа-носителя (азота) 50 мл/мин. Идентификацию жирных кислот осуществляли с помощью стандартного набора метиловых эфиров жирных кислот («Supelco», 37 компонентов), а также сопоставлением эквивалентной длины цепи экспериментально полученных компонентов с известными данными. Все жирные кислоты распределяли по группам в зависимости от числа двойных связей.

Исследования показали, что суммарные липиды таллома лишайника *H. phy-sodes* представлены преимущественно миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой жирными кислотами, среди которых наибольшее содержание приходится на линолевую (в среднем 37 % от суммы всех кислот) и олеиновую жирные кислоты (34 % от суммы кислот), а наименьшее – на миристиновую (1 % от суммы кислот).

Изучение жирнокислотного состава нейтральных липидов, глико- и фосфолипидов показало, что в талломах изучаемого лишайника находятся как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты, однако относительное содержание каждой из них неодинаково. Так, во фракции нейтральных липидов доминирует олеиновая кислота (49 % от суммы жирных кислот), во фракции гликолипидов – линоленовая (36 % от суммы жирных кислот), а во фракции фосфолипидов – линолевая кислота (51 % от суммы жирных кислот).

Сравнительный анализ талломов лишайника, сформировавшегося в условиях различной антропогенной нагрузки, выявил тенденцию повышенного содержания моноеновых жирных кислот во фракции нейтральных липидов образцов (рис. 1), собранных в Ботаническом саду, по сравнению с растущими в районе города с высокой антропогенной нагрузкой (м-н «Перевалка») (51 и 38 % от суммы жирных кислот соответственно). Этот факт свидетельствует о возможности накопления в них запасных питательных веществ в более благоприятных условиях малонарушенной территории Ботанического сада по сравнению с условиями более высокой антропогенной нагрузки м-на «Перевалка».

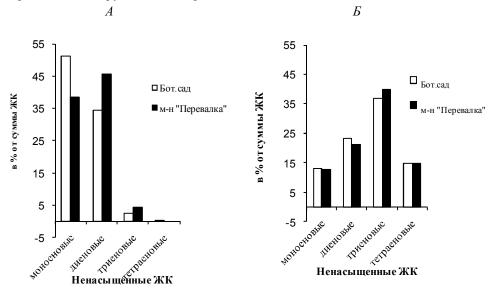


Рис. 1. Сравнительное содержание ненасыщенных жирных кислот нейтральных липидов (*A*) и гликолипидов (*Б*) в талломах лишайника *H. physodes*

В то же время во фракции гликолипидов обнаружена тенденция повышенного содержания триеновых жирных кислот в образцах талломов лишайника, растущего в условиях высокой антропогенной нагрузки м-на «Перевалка», по сравнению с условиями территории Ботанического сада. По всей вероятности, это связано с необходимостью активизации процессов фотосинтеза хлоропластов талломов лишайника в условиях повышенной антропогенной нагрузки.

Следовательно, жирнокислотный состав липидов является важным показателем физиологического состояния лишайников и может быть использован для характеристики места их обитания.

- 1. Folch J., Lees M., Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, № 1. P. 497–509.
- 2. *Сымермаа А.Л.* Экология и ценология эпифитных лишайников в основных типах леса Эстонской ССР: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. Тарту, 1970. 31 с.
 - 3. Ahmadjian V. The lichen symbiosis. New York: John Wiley & Sons, 1993. 240 p.
- 4. Barkman J.J. Phytosociology and Ecology of Cryptogamic Epiphytes. Assen, Netherlandsvan Gorcum Co.N.Y., 1958. 628 p.

ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ПЛОДОНОШЕНИЯ РЕМОНТАНТНОЙ КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (FRAGARIA X ANANASSA DUCH.)

И.К. Аполинарьева, С.О. Батурин

Выявлены оптимальные сроки сбора семян с высокой всхожестью у ремонтантных сортов крупноплодной земляники. Установлено, что максимальная всхожесть семянок отмечается у плодов, собранных в августе.

SEED GERMINATION IN RELATION TO FRUITING TERMS OF EVERBEARING GARDEN STRAWBERRY (FRAGARIA X ANANASSA DUCH.)

I.K. Apolinareyva, S.O. Baturin

Optimal harvest terms of the seeds with high germination have been detected. It has been shown that seed collected in August have maximal germination capacity.

По характеру плодоношения сорта крупноплодной земляники (Fragaria х ananassa Duch., 2n=8x=56) подразделяются на две группы — с однократным и многократным (ремонтантным) типом плодоношения [1]. Ремонтантные сорта в последнее время становятся все более популярными. Как и сорта однократного типа плодоношения, ремонтантные сорта размножаются укоренившимися розетками на наземных столонах (усах). Однако в 1990-е годы стал активно развиваться семенной способ поддержания сортоспецифичности [2]. Такой способ создания посадочного материала не гарантирует полную однородность потомства, но имеет ряд существенных преимуществ в сравнении с вегетативным способом размножения, а именно: отсутствие инфекционных заболеваний, которые распространяются, как правило, через рассаду розетками, пролонгированность сроков реализации семян, удобство хранения и транспортировки семян [2].

Однако при семенном способе воспроизводства ремонтантных сортов крупноплодной земляники имеют место две проблемы: 1) недостаточная однородность в семенном потомстве, которая проявляется как следствие генетической сегрегации на октоплоидном уровне; 2) низкая всхожесть семян [3]. Цель данной работы – выявить оптимальные сроки сбора семян с высокой всхожестью у ремонтантных сортов крупноплодной земляники.

В эксперименте использованы семена, полученные при окрытом опылении сортов ремонтантной крупноплодной земляники Лизонька F_1 , Сариан F_1 , Грандиан

 F_1 , Лоран F_1 , Чезан F_1 , Флориан F_1 , Фреска F_1 , Вечность F_1 , первого года вегетации, предназначенных для семенного воспроизводства, а также семена от открытого опыления вегетативно размножаемых сортов Брайтон и Сельва. Ягоды с семенами собирались с июля по октябрь 2009 г. на коллекционном участке ремонтантной крупноплодной земляники лаборатории экспериментальных исследований Сиб-ФТИ СО Россельхозакадемии.

Посев семянок производился в конце февраля 2010 г. в чашки Петри по 100 шт. в трех повторностях. Семена равномерно распределяли по увлажненной поверхности фильтровальной бумаги. Статистическую обработку материала проводили стандартными методами [4].

У сортов Лизонька F_1 , Сариан F_1 , Фреска F_1 , Вечность F_1 ягоды в июле не были собраны по причине более позднего начала цветения, а также у сорта Сельва в связи с окончанием плодоношения в сентябре.

Результаты проращивания семянок представлены в таблице, из которой следует, что у большинства сортов наибольшая всхожесть семянок отмечается у плодов, собранных в августе. Лишь у сорта Брайтон большая всхожесть семянок отмечается у плодов, собранных в июле. Учитывая тот факт, что от момента опыления цветка до полного созревания у ремонтантных сортов проходит 30–31 день, следует отметить, что развившиеся семянки на плодах, собранных в августе, – результат цветения растения в июле.

Данные таблицы показывают, что у 8 из 10 сортов наблюдается тенденция снижения всхожести семянок с августа по октябрь (рис. 1). Лишь у сорта Брайтон отмечена всхожесть семянок в октябре выше, чем у семянок, собранных в августе и сентябре. Возможно, для этого сорта характерно переключение полового способа образования семянок на агамосперный, который реализуется в экстремальных условиях цветения (большой перепад дневных и ночных температур в сентябре) [5].

Проращивание семянок в чашках Петри дает представление о лабораторной всхожести. Поэтому для анализа полевой всхожести необходим отдельный эксперимент, где семена проращиваются в земляной смеси. Тем не менее для выявления общей закономерности данные нашего эксперимента вполне приемлемы.

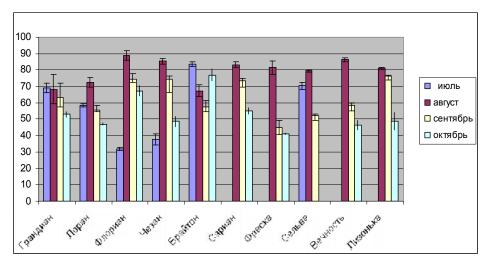


Рис. 1. Всхожесть семян ремонтантной земляники в зависимости от сроков сбора семян

Всхожесть семян крупноплодной ремонтантной земляники, собранных в разные сроки плодоношения, %

Месяц сбора плодов		Июль				A	вгуст			Cei	нтябрь			Окт	ябрь	
	Повто	рность			По	овторно	сть		По	овторно	сть		П	овторно	сть	
Сорт	I	П	III	Средний %	I	II	III	Средний %	I	II	III	Средний %	I	П	III	Средний %
Грандиан	69	64	74	69,0	68	53	84	68,3	69	69	52	63,3	53	56	50	53,0
Лоран	60	59	67	58,6	68	72	78	72,6	54	55	58	55,6	46	48	47	47,0
Флориан	33	33	30	32	95	85	87	89,0	77	76	71	74,6	67	62	73	67,3
Чезан	31	42	40	37,66	85	83	88	85,3	60	89	75	74,6	47	55	44	48,6
Брайтон	86	81	84	83,6	60	72	70	67,3	52	58	63	57,6	74	73	84	77,0
Сариан	_	-	_	_	83	81	86	83,3	68	80	72	73,3	57	57	51	55,0
Фреска	_	-	_	_	81	75	89	81,6	42	54	39	45,0	41	42	40	41,0
Сельва	67	74	70	70,3	79	81	79	79,6	58	49	50	52,3	-	_	_	_
Вечность	_	_	_	-	84	88	87	86,3	64	52	60	58,6	42	52	45	46,3
Лизонька		_		_	80	82	81	81,0	72	81	76	76,3	43	59	45	49,0

Таким образом, эксперимент показал, что максимальная всхожесть семянок у ремонтантных сортов крупноплодной земляники отмечается у плодов, собранных в августе. Из этого следует, что в Западной Сибири направленные скрещивания ремонтантной крупноплодной земляники следует проводить в июле, чтобы иметь возможность получать максимальное количество семянок с высокими посевными качествами в августе.

- 1. Волкова Т.И. Ремонтантная земляника. М. Наука, 2000. 142 с.
- 2. Bentvelsen G.C.M., Bouw E. Veldhuyzen van Zanten J.E. Breeding strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) from seed // Acta Hort. (ISHS). 1997. Vol. 1, № 439. P. 149–153.
- 3. Батурин С.О. и др. Оценка всхожести семян и сортовой однородности семенного потомства ремонтантных коммерческих сортов крупноплодной земляники // Сиб. вестник с.-х. науки. 2010. № 1. С. 40–45.
 - 4. Зайцев Н.Г. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
- 5. *Батурин С.О.* Экспериментальный апомиксис у садовой земляники (*Fragaria x ananassa* Duch.): Автореф. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1997. 16 с.

Том 275

Серия биологическая

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНАТОМИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА STELLARIA

Я.В. Горина, Е.А. Краснов, Л.Г. Бабешина

Проведено сравнительное фитохимическое и анатомическое исследование надземной части звездчатки злаковой (Stellaria graminea L.), звездчатки Бунге (Stellaria bungeana Fenzl.) и звездчатки ланце-толистной (Stellaria holostea L.). Установлены основные группы БАВ, выделены фракции полисахаридного комплекса и определено их количественное содержание. Выявлены микроскопические признаки для установления подлинности сырья.

RESEARCH OF THE CHEMICAL COMPOUND AND ANATOMIC SIGNS OF SOME KINDS OF SPECIES STELLARIA

Y.V. Gorina, E.A. Krasnov, L.G. Babeshina

Comparative phytochemical and anatomic research of aerial parts of Stellaria graminea, Stellaria bungeana and Stellaria holostea. The basic groups of biologically active substances are established, fractions of the polysaccharide complex are allocated and their quantitative maintenance is defined. Microscopic signs for an establishment of identity of raw materials are revealed.

В настоящее время в медицине, наряду с синтетическими препаратами, широкое применение получили лекарственные средства растительного происхождения. Учитывая то, что многие растения, используемые в народной медицине, недостаточно изучены и в связи с этим не находят применения в официальной медицине, целесообразно уделять значительное внимание исследованию растительного сырья, которое издавна использовалось народами мира для лечения различных заболеваний.

Поэтому цель настоящей работы — исследование трёх видов рода Stellaria (S. bungeana Fenzl., S. graminea L., S. holostea L.) как новых источников биологически активных веществ и установление диагностических признаков надземных частей указанных видов.

Род Stellaria включает около 100 видов, произрастающих как в РФ, так и на территории ближнего и дальнего зарубежья. Для исследования были выбраны наиболее перспективные виды, произрастающие в Западной Сибири. Отвары и настои надземной части з. ланцетовидной в народной медицине применяются внутрь как отхаркивающее и успокаивающее средство, а также для лечения бессонницы, при заболеваниях печени, опухолях различной локализации и внутренних кровотечениях. Звездчатка злаковая обладает противовоспалительным, гипотензивным и болеутоляющим действием, з. Бунге находит применение в народной медицине нанайцев как средство, эффективное при дерматомикозах и отёчности ног [1]. Но, как

показал анализ литературных данных, химический состав и анатомическое строение указанных видов недостаточно изучены.

Для изучения состава биологически активных веществ (БАВ) измельченные части растений экстрагировали нагреванием на водяной бане хлороформом, водным этанолом и водой. Классическими фитохимическими методами были установлены основные группы БАВ [3, 4]: водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза (ГЦ), тритерпеновые сапонины, флавоноиды, кумарины, дубильные вещества (смешанной группы, в з. злаковой – только гидролизуемые), каротиноиды и аскорбиновая кислота.

Количественное содержание некоторых групп БАВ, установленное методами [2, 5], представлено в таблице.

Группы БАВ	Stellaria graminea L.	Stellaria bungeana Fenzl.	Stellaria holostea L.
ВРПС	0,52±0,01	7,10±0,09	3,89±0,02
ПВ	7,42±0,18	6,88±0,07	0,65±0,12
ГЦ	6,67±0,20	13,10±0,10	7,11±0,09
Дубильные вещества	2,60±0,25	0,35±0,01	1,09±0,02
Аскорбиновая кислота, мг %	46,60±3,20	29,04±0,90	21,72±1,01

Результаты количественного определения некоторых групп БАВ в трех видах рода Stellaria, %

Как видно из таблицы, исследуемые виды существенно отличаются по содержанию различных фракций полисахаридов. Так, в з. злаковой доминирующей является фракция ПВ, тогда как у з. ланцетовидной и з. Бунге преобладает ГЦ. Содержание дубильных веществ, определенное модифицированным методом Левенталя [5], в з. злаковой в 2,5 раза превышает таковое в з. ланцетовидной и в 7,5 раза – в з. Бунге. Этот же вид отличался наибольшим количеством аскорбиновой кислоты.

В результате микроскопических исследований были выявлены общие анатомические признаки указанных видов: тип листа амфистоматический, аномоцитный тип устьичного аппарата, в мезофилле присутствуют клетки – идиобласты с друзами. Характерной чертой стебля является неравномерная ребристость, наличие уголковой колленхимы в области рёбер непосредственно под эпидермой и отсутствие лубяных волокон во флоэме, а также наличие 4—7 открытых коллатеральных пучков. На плоскостном препарате стебля устьица и основные клетки эпидермы расположены вдоль его оси, устьичный аппарат тетрацитный.

Наряду с общими признаками установлены следующие отличительные признаки:

- 1. Клетки эпидермиса листа з. злаковой и з. ланцетовидной прозенхимные слабоизвилистые или прямостенные, в то время как клетки эпидермиса листа з. Бунге сильноизвилистые.
- 2. У з. Бунге и з. злаковой аномоцитный тип устьичного аппарата листа и прицветника, у з. ланцетовидной аномоцитный с тенденцией к тетрацитному.
- 3. У з. Бунге по краю и поверхности листа располагаются 3—4-клеточные серповидно изогнутые толстостенные, 3—5-клеточные конусовидные и 6—7-клеточные булавовидные волоски. Первые два типа волосков имеют грубобородавчатую кутикулу. У з. ланцетовидной на поверхности листовой пластинки обнаружены 2—3-клеточные толстостенные конусовидные волоски, по краю листа 2—3-клеточные пирамидальные толстостенные волоски, согнутые под тупым углом. У з. злаковой по краю основания

листа располагаются 2-4-клеточные тупоконусовидные и 6-клеточные пирамидальные волоски.

- 4. У з. злаковой по краю прицветного листа имеются реснички, представленные 3—4-клеточными простыми тупоконусовидными волосками. У з. Бунге по краю и поверхности листовой пластинки прицветника располагаются три типа волосков: многоклеточные (обычно 7-клеточные) булавовидные волоски, 3—6-клеточные остроконусовидные толстостенные волоски и 3—5-клеточные крючковидно изогнутые толстостенные волоски. На поверхности прицветного листа з. ланцетовидной встречаются 3—5-клеточные конусовидные волоски и 3—4-клеточные толстостенные волоски с крючковидной конечной клеткой, по краю листовой пластинки 2—3-клеточные пирамидальные толстостенные волоски, конечная клетка которых согнута под тупым углом.
- 5. Чашелистики з. злаковой и з. ланцетовидной голые, а у з. Бунге по поверхности чашелистика беспорядочно располагаются два типа волосков: 5–6-клеточные конусовидные толстостенные и 5–6-клеточные булавовидные волоски с крючковидной конечной клеткой.
- 6. Полость сердцевины стебля з. злаковой крупная (занимает до 20 % от площади поперечного среза) с неровными краями, з. Бунге также крупная с достаточно гладкими краями, з. ланцетовидной небольшая с гладкими краями или вообще отсутствует.
- 7. Эпидермис стебля з. злаковой и з. ланцетовидной голый, представлен прямостенными прозенхимными клетками со скошенными концами. У з. Бунге наблюдаются клетки как прямоугольной формы, так и со скошенными концами. На эпидермисе стебля з. Бунге встречаются 3–5-клеточные Г-образноизогнутые волоски.
- 8. Клетки эпидермиса з. злаковой с гладкой кутикулой, а з. Бунге с продольно-складчатой. У з. ланцетовидной кутикула, покрывающая эпидермис стебля, образует выступы пирамидальной или столбчатой формы, чего не наблюдается у двух других видов.

Таким образом, было установлено наличие в надземной части трех видов звездчаток полисахаридов, сапонинов, флавоноидов, кумаринов, дубильных веществ, каротиноидов и аскорбиновой кислоты. Совокупность микроскопических признаков может быть использована для достоверной диагностики изученного растительного сырья.

- 1. Брем А. Жизнь растений. Новейшая ботаническая энциклопедия. М., 2004. 685 с.
- 2. *Государственная* фармакопея СССР. XI изд. Вып. 1. Общие методы анализа. М., 1987. 337 с.; Вып. 2. Лекарственное растительное сырье. М., 1989. 400 с.
 - 3. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учеб. для студентов фармацевтических вузов. Самара, 2004. 1180 с.
- 4. *Мартынов А.М., Чупарина Е.В.* Содержание и состав полисахаридных комплексов, макро- и микроэлементов *Viola uniflofa* (Violaceae) // Растительные ресурсы. 2009. №4. С. 67–72.
- 5. Самылина И.А., Антонова Н.П., Рудакова И.П. Исследование по разработке фармакопейного метода определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Фармация. 2009. №6. С. 3—6.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭПИБРАССИНОЛИДОМ МОРФОГЕНЕЗА И СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ПРОРОСТКАХ $ARABIDOPSIS\ THALIANA\ (L.)^1$

М.В. Ефимова, М.А. Елисеева

В данной работе установлено, что эффект эпибрассинолида на рост проростков Arabidopsis thaliana (L.) Неупh определяется онтогенетическим состоянием организма, на котором растения обрабатывались гормоном.

THE REGULATION OF MORPHOGENESIS AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENT CONTENT BY EPIBRASSINOLIDE IN THE SEEDLINGS OF ARABIDOPSIS THALIANA (L.)

M.V. Efimova, M.A. Eliseeva

This research was showed that response reaction of Arabidopsis thaliana seedlings caused by epibrassinolide closely related with stage of the plant ontogenesis, when phytohormones was added.

Ключевую роль в регуляции процессов жизнедеятельности растений играют фитогормоны. Среди основных функций фитогормонов можно отметить их способность включаться в трансдукцию сигналов внешней среды, активировать защитные механизмы растений в ответ на стрессорные воздействия и, как результат, повышать интенсивность фотосинтеза и продуктивности растений. Особое место в ходе этих процессов отводится новому классу фитогормонов – брассиностероидам (БС), проявляющим высокую биологическую активность в сравнительно низких концентрациях [1].

Для изучения регуляторной роли брассиностероидов в морфогенезе растений нами был использован синтетический брассиностероид с высокой физиологической активностью — эпибрассинолид (ЭБЛ) в концентрации 10^{-6} и 10^{-8} М (рис. 1). Работа выполнена на модельном растении *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (сем. Крестоцветные) экотипа Columbia. Семена *A. thaliana* стерилизовали 3 % H_2O_2 и высевали в чашки Петри на модифицированную жидкую среду Мурасиге — Скуга с половинным составом солей. Для стимуляции и синхронизации прорастания семена арабидопсис выдерживали в течение 3 дней при температуре 4—6 °C (стратификация) и предосвещали белым светом (люминесцентные лампы ЛД-40, 3 ч, 3700 лк), после чего семена проращивали в темноте, температура воздуха составляла 22 ± 2 °C. Для изучения регуляции морфогенеза и состава фотосинтетических пигментов брассиностероидами (эпибрассинолид) нами использовано две концен-

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (мероприятие 1.3.1) (Государственный контракт № П 1369 от 2 сентября 2009 г.) и РФФИ (10-04-90830-моб ст).

трации гормона (10^{-8} М и 10^{-6} М) и два варианта обработки — на этапе высевания семян (до стратификации) и после стратификации. В качестве контроля использовали 7-дневные проростки, выращенные в темноте без добавления гормона. Синтетический аналог эпибрассинолида любезно предоставлен чл.-корр. НАН Беларуси В.А. Хрипачем (лаб. химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси, Минск).

Для оценки уровня фотосинтетических пигментов определенное количество проростков растирали в 96% этаноле и центрифугировали (10 мин при 8 тыс. об/мин, центрифуга многофункциональная Eppendorf 5804R). Оптическую плотность пробы определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-1650. Концентрацию пигментов в спиртовой вытяжке рассчитывали согласно Н.К. Lichtenthaler [2]. Длину гипокотилей проростков *А. thaliana* измеряли под лупой БМ-51-2, а площадь семядолей – под микроскопом Micros MC 100 (Австрия) с помощью цифровой камеры Moticam 2000 (Испания) и программы Motic Images Plus 2.0. Для каждого варианта измеряли по 35–50 проростков в каждой из трех биологических повторностей. Результаты экспериментов представлены на рис. 2–4 как средние арифметические и их стандартные ошибки.

Нами был исследован морфогенез этиолированных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Неупh под действием экзогенного эпибрассинолида. Показано, что обработка 10^{-6} М ЭБЛ до стратификации семян вызывала ингибирование роста гипокотилей и увеличение размеров семядолей (рис. 2). Наибольшую чувствительность к действию ЭБЛ проявляла корневая система проростков, при этом ингибирующее влияние ЭБЛ на рост корней усиливалось с повышением концентрации гормона. В случае обработки семян эпибрассинолидом после стратификации наблюдалось укорочение гипокотилей и увеличение площади семядолей при концентрации гормона 10^{-8} М (данная концентрация не вызывала ответной реакции при использовании гормона до стратификации) и 10^{-6} М.

Подавление роста гипокотилей наряду с активацией роста семядолей – характерная ответная реакция растений на брассиностероиды [3–8]. С одной стороны, это проявление органоспецифичности и ингибирование роста осевых органов брассиностероидами может быть результатом превышения оптимальной концентрации гормона в проростках [9]. С другой стороны, результатом действия брассиностероидов в темноте является стимуляция светового развития [10]. На рис. З отмечено сходство между проростками, выращенными на свету, и этиолированными проростками, обработанными БС.

Анализируя пигментный состав проростков в темноте, можно отметить, что содержание фотосинтетических пигментов у *Arabidopsis* экотипа Columbia в темноте было низким (рис. 4). Уровень хлорофилла а, основного пигмента фотосинтеза, не превышал 0,008 мг на 1 проросток, содержание хлорофилла в было в два раза ниже. При обработке эпибрассинолидом соотношение хлорофиллов зависело от концентрации фитогормона и времени обработки. Низкая концентрация ЭБЛ (10⁻⁸ M) при обработке семян арабидопсис до стратификации вызывала увеличение содержания хлорофилла b, в то время как высокая концентрация гормона приводила к повышению уровня основного пигмента фотосинтеза. В случае обработки семян эпибрассинолидом после стратификации стимулирующего влияния гормона на содержание фотосинтетических пигментов не наблюдалось, при этом уровень хлорофилла b становился ниже определяемого порога определения. Уровень каротиноидов в этиолированных проростках (0,0068 мг/проросток) увеличивался под влиянием ЭБЛ примерно в два раза вне зависимости от концентрации гормона и времени обработки. Соотношение хлорофиллов к каротиноидам высокое в контрольных проростках, оно поддерживалось неизменным при начальной обработке семян (до стратификации); поздняя обработка снижала данное соотношение примерно в 10 раз и не зависела от концентрации ЭБЛ.

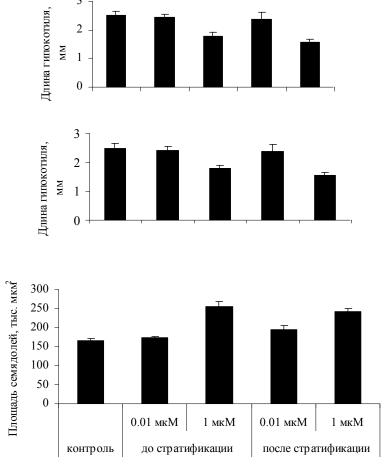


Рис. 2. Влияние эпибрассинолида (0,01 и 1 мкМ) на ростовые показатели проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh

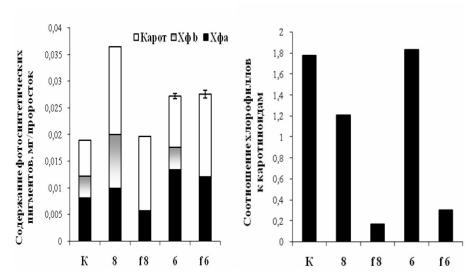


Рис. 3. Содержание фотосинтетических пигментов в проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. «К» — выращивание проростков в условиях темноты; «8» и «6» — обработка эпибрассинолидом в концентрации 10^{-8} и 10^{-6} М соответственно до этапа стратификации; «f 8» и «f 6» — обработка ЭБЛ после этапа стратификации

Наличие фотосинтетических пигментов в темноте свидетельствует о том, что кратковременное предосвещение белым светом инициировало световое развитие растений, при этом эпибрассинолид усиливал реакцию, вызванную предосвещени-



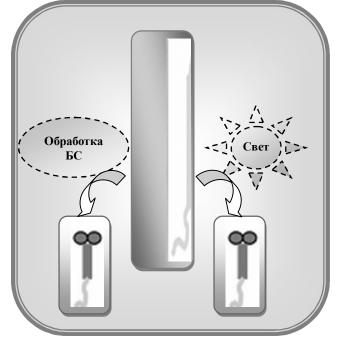


Рис. 4. Модель инициации программы фотоморфогенеза у этиолированных проростков *Arabidopsis* за счет обработки брассиностероидами или действия света

Авторы выражают благодарность профессору кафедры физиологии растений и биотехнологии ТГУ Р.А. Карначук за помощь в проведении работы.

- 1. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Karnachuk R.A. Chemical probes in biology / Science at the interface of brassinosteroids: a new role of steroids as biosignaling molecules. M.P. Schneider. (Ed). Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003. Vol. 129. P. 153–167. NATO Science Series. 391 p.
- 2. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. 1987. № 148. P. 350–382.
- 3. *Карначук Р.А., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Хрипач В.А.* Действие 24-эпибрассинолида на морфогенез и соотношение гормонов у проростков Arabidopsis на зеленом свету // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 4. С. 591–595.
- 4. *Ефимова М.В.* Роль света и брассиностероидов в регуляции морфогенеза *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2006. 23 с.
- 5. Ефимова М.В., Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. и др. Взаимодействие сигналов синего, зеленого света и брассиностероидов на ранних этапах онтогенеза Arabidopsis thaliana (L.) Heynh // Матер. докл. VI съезда общества физиологов растений России и междунар. конф. «Современная физиология растений: от молекул до экосистем»: В 3 ч. Сыктывкар (Коми НЦ УрО РАН), 2007. Ч. 1. С. 278–280.
- 6. Ефимова М.В., Карначук Р.А., Литвиненко И.В. и др. Влияние селективного света на морфогенез и уровень эндогенных брассиностероидов в проростках Arabidopsis thaliana (L.) Неупh // Тезисы докл. годичного собрания общества физиологов растений России и междунар. конф. «Физико-химические механизмы адаптации растений к антропогенному загрязнению в условиях Крайнего Севера». М.: Апатиты, 2009. С. 156.
- 7. Ефимова М.В., Карначук Р.А., Литвиненко И.В. и др. Физиологическая роль брассинолида в морфогенезе проростков Arabidopsis thaliana L. // Труды Том. гос. ун-та. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2010. Т. 273. Сер. общенаучная: Молодежная науч. конф. Том. гос. ун-та. 2009. Вып. 2. Проблемы естествознания. С. 58–60.
- 8. *Efimova M., Kuznetsov VI., Khripach V. et al.* The role of brassinosteroids and green light in regulation of initial events of morphogenesis of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // Abstracts of 20th International conference on plant growth substances (IPGSA). 2010. 28 June 2 July, Tarragona, Spain. P. 77.
- 9. Symons G.M., Reid J.B. Brassinosteroids do not undergo long-distance transport in pea. Implications for the regulation of endogenous brassinosteroid levels // Plant Physiol. 2004. Vol. 135. P. 2196–2206.
- 10. Li J., Nagpal P., Vitart V. et al. A role for brassinosteroids in light-dependent development in Arabidopsis // Science. 1996. Vol. 272. P. 398–401.

ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ МОЛОЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА

А.Н. Иркитова, Г.Г. Соколова

Разработана технология приготовления пробиотического кисломолочного напитка на основе подсырной сыворотки. Напиток обладает хорошими органолептическими показателями и высоким уровнем пробиотической микрофлоры (ацидофильной палочки и пропионово-кислых бактерий).

RECYCLING DAIRY

A.N. Irkitova, G.G. Sokolova

The technology of the probiotic fermented milk drink was developed on base of cheese's serum. The drink has good organoleptic characteristics and high levels of probiotic microflora (Lactobacillus acidophilus and Propionibacterium freudenreichii).

В настоящее время во всем мире наблюдается повышенный интерес к пищевым продуктам пробиотического назначения, содержащим живые микроорганизмы из числа полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека; регулярный прием таких продуктов рассматривается как эффективное средство профилактики и лечения (в комплексной терапии) дисбактериозов кишечника [1, с. 60].

Подавляющее большинство пробиотиков на рынке молочных продуктов — это кисломолочные напитки, ассортимент которых с каждым годом растёт. В состав некоторых из них входит молочная сыворотка. Молочная сыворотка — это естественный побочный продукт, в больших количествах образующийся при производстве сычужных сыров и творога [2, с. 60]. Многие годы ее утилизация представляла серьезную проблему для молочной промышленности, и она считалась субпродуктом незначительной коммерческой ценности. Большую часть ее отправляли на свинофермы или выливали в канализацию. Однако в настоящее время и ученыедиетологи, и специалисты считают, что молочную сыворотку следует использовать исключительно на пищевые цели [3, с. 35].

Ежегодно в нашей стране получают свыше 3,5 млн т молочной сыворотки. Ее переработка в пищевые продукты — это вариант решения проблемы дефицита белкового сырья. Не следует сбрасывать со счетов и экологический аспект: 1 т молочной сыворотки, сливаемой в канализацию, загрязняет водоемы в такой же степени, как 100 т хозяйственно-бытовых отходов [4, с. 28].

Цель данной работы: разработать биотехнологию получения пробиотического кисломолочного напитка на основе молочной сыворотки и изучить его свойства.

Материалы и методы. В качестве основы разрабатываемого экспериментального пробиотического напитка использовали сладкую (несоленую) подсырную сыворотку. Титруемая кислотность сыворотки разных партий колебалась в пределах 12–16°T.

Пробиотическая закваска для ферментации сыворотки включала две культуры микроорганизмов из отраслевой коллекции Сибирского НИИ сыроделия: Lactobacillus acidophilus (штамм «Нарине») и Propionibacterium freudenreichii (штамм X3). Ацидофильная палочка — важнейший компонент полезной микрофлоры желудоч-

но-кишечного тракта человека, активный антагонист патогенных и условнопатогенных микробов, а пропионово-кислые бактерии известны, прежде всего, как продуценты противоанемического витамина B_{12} и являются мощным стимулятором естественной иммунной системы человека [1, с. 61]. Биотехнология приготовления экспериментального напитка представлена на рис. 1.



Рис. 1. Общая схема приготовления экспериментального напитка

Для улучшения органолептических показателей напитка в него добавляли сахар, крахмал и ванилин.

Результаты исследований. Определены нормативные показатели сывороточного напитка. Эти показатели включают внешний вид, вкус и запах напитка, его консистенцию, титруемую кислотность в начале и конце предполагаемого срока годности, численность каждого из двух видов пробиотических заквасочных бактерий (*L.acidophilus* и *P.freudenreichii*) на всем протяжении установленного срока годности напитка, температуру его хранения и срок годности при условии хранения при этой температуре.

Характеристика разработанного нами экспериментального напитка на основе молочной (подсырной) сыворотки представлена в таблице.

X 7	_			/	· \
Характеристика	IIDUUHUIHACCKUIU	пашитка па	OCHODE MOJIOTHOM	THUMCDIDHUE	I CDIDUDUI KH

Показатель	Характеристика		
Внешний вид	Сгусток равномерного светло-кремового цвета		
Вкус и запах	Чистый, кисломолочный с запахом топленого молока		
Консистенция	Однородная, слегка вязкая		
Титруемая кислотность, °Т:			
свежеприготовленного	55–60		
в конце срока годности	60–70		
Численность пробиотических бак-			
терий на протяжении всего срока год-			
ности, КОЕ/мл, не менее:			
 Lactobacillus acidophilus 	10^7		
– Propionibacterium freudenreichii	10^{7}		
Температура хранения, С, пределы	4–6		
Срок годности при указанном тем-			
пературном режиме хранения, сут	15		

Заключение. Установлено, что молочная (подсырная) сыворотка является благоприятной средой для роста пробиотических микроорганизмов. Разработана технология приготовления пробиотического напитка на основе молочной (подсырной) сыворотки. Напиток обладает хорошими органолептическими показателями и содержит терапевтически значимые уровни полезных микроорганизмов (ацидофильной палочки и пропионово-кислых бактерий); это открывает перспективу его успешного внедрения в производство.

- 1. Алехин В.А., Амерханова А.М., Поспелова В.В. Пробиотические микроорганизмы современное состояние вопроса и перспективы использования // Молочная промышленность. 2003. №1. С. 60–63.
 - 2. Шевелев К. Сыворотка ценный субпродукт // Молочная промышленность. 2005. №1. С. 60–64.
- 3. Евдокимов Е.А. Современное состояние и перспективы переработки молочной сыворотки // Молочная промышленность. 2006. №2. С. 35–38.
- 4. *Свириденко Ю.Я., Кравченко Э.Ф., Яковлева О.А.* Экологические и экономические аспекты переработки молочной сыворотки // Переработка молока. 2006. №7. С. 28–32.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ CALENDULA OFFICINALIS L.

А.П. Корж, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов, М.С. Юсубов

Из цветков календулы лекарственной выделен водорастворимый полисахаридный комплекс (ПСК). ПСК был разделен ионообменной хроматографией на DEAE-целлюлозе. Установлено, что в качестве главных компонентов в состав ПСК календулы входят остатки галактуроновой кислоты, галактоза, глюкоза, в меньших количествах содержатся арабиноза, ксилоза.

DISCHARGE AND STUDY THE STRUCTURE OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM FLOWERS CALENDULA OFFICINALIS L.

A.P. Korzh, A.M. Gurjev, M.V. Belousov, M.S. Usubov

Water-soluble polysaccharide complex was isolated from Calendula officinalis (PSC). PSC was comparted by means of ion-exchange chromatography on DEAE-cellulose. It was shown, that the main components of the polysaccharide complex of Calendula include residues of galacturonic acid, galactose, glucose and arabinose, xylose in small amounts.

Введение

Растительные полисахариды имеют широкий спектр физиологической активности. Им свойственны сорбция радионуклидов, тяжелых металлов, нормализация липидного обмена при гиперлипидемии различной этиологии, регуляция иммунитета, модуляция эндокринной системы, противовоспалительная, антикоагулянтная и противоопухолевая активности [1, 2]. В ранее проведенных нами исследованиях было установлено, что водорастворимые полисахариды из цветков календулы лекарственной проявляют выраженные иммунотропные свойства и перспективны для создания на их основе новых лекарственных средств, для лечения атопических заболеваний [3].

Целью данной работы явилось выделение и исследование строения водорастворимых полисахаридов из цветков календулы лекарственной.

Экспериментальная часть

Растительный материал. В работе использованы цветки календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), собранные в местах естественного произрастания на территории Томской области и Алтайского края.

Общие аналитические методы. Содержание уроновых кислот в ПСК определяли карбазольным методом (модификация с добавлением сульфаминовой кислоты) [4] с применением калибровочного графика, построенного для галактуроновой

кислоты; белка – по методу Брэдфорда [5], нуклеиновых кислот – по методу Спирина [6].

ГЖХ-масс-спектр снимали на хроматографе Agilent 7890A с масс-селективным детектором Agilent 5975C, колонкой HP5NS (30 м/250мкм \times 0,25мкм), газ-носитель – гелий. Температурный режим: 80 °C (1 мин) \rightarrow 220 °C (2 мин) \rightarrow 310 °C.

Все растворы упаривали в вакууме на роторном испарителе при 40 °C. Все полисахаридные фракции высушены лиофильно.

Спектрофотометрические измерения проводили на приборе Unico 2800.

ПСК выделяли из цветков календулы водной экстракцией с последующим осаждением этанолом и диализом через полупроницаемую мембрану.

Фракционирование ПСК проводили на DEAE-целлюлозе. Полисахариды в растворе обнаруживали по положительной реакции с фенолом в концентрированной серной кислоте [7]. Для удаления низкомолекулярных веществ использовали метод ультрафильтрации [8]. Моносахаридный состав каждой фракции определяли методом ГЖХ-хроматомасс в виде триметилсилильных производных после предварительного гидролиза 2М ТФУ (100 °C – 5 ч).

Обсуждение результатов

Выход ПСК из цветков календулы лекарственной составил $2,5\pm0,1$ % в пересчете на абсолютно сухое сырье. Содержание уроновых кислот в ПСК – $11,19\pm0,02$ %. Общее содержание белка – $1,19\pm0,01$ %. Содержание нуклеиновых кислот – $0,017\pm0,003$ %. При разделении ПСК на DEAE-целлюлозе получена 31 фракция, выход которых представлен на рис. 1.

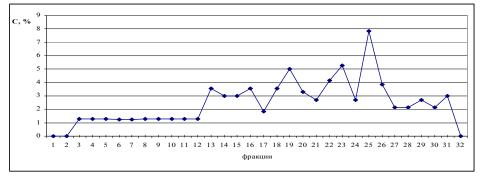


Рис. 1. Выход фракций полисахаридов из цветков календулы при хроматографии на DEAE-целлюлозе (C, % от лиофильно высушенной фракции ПСК, нанесенной на колонку).

Как видно из рис. 1, фракции ПС-13, ПС-16, ПС-19, ПС-23, ПС-25 являются основными компонентами ПСК. Эти фракции элюировались 0,2; 0,3 и 0,4 М растворами NaCl соответственно.

Результаты мономерного анализа этих фракций показали, что все фракции в своем составе содержат остатки галактуроновой кислоты, арабинозы, галактозы, глюкозы, рамнозы, в меньшем количестве во фракциях ПС-16, ПС-23 содержится ксилоза, а во фракциях ПС-13, ПС-19, ПС-25 ксилоза отсутствует. Согласно полученным данным основным компонентом фракций ПС-13, ПС-16, ПС-19, ПС-23, ПС-25 являются остатки D-галактуроновой кислоты, что свидетельствует о принадлежности их к классу пектинов.

Выводы

Из цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) выделен ПСК с суммарным выходом $2,5\pm0,1$ %. ПСК разделен на фракции на DEAE-целлюлозе, получено 5 основных компонентов, относящихся к классу пектинов.

- 1. Gunter E.A., Ovodov Yu.S. Changes in cell wall polysaccarides of Silene vulgaris during culture // Phytochemistry. 2002. Vol. 59. P. 703–708.
- 2. *Моисеева Г.Ф., Беликов В.Г.* Иммуностимулирующие полисахариды высших растений // Фармация. 1992. №3. С. 79–84.
- 3. Данилец М.Г., Гурьев А.М., Бельская Н.В., Белоусов М.В. и др. Влияние растительных полисахаридов на NO-синтетазу и аргиназу макрофагов мыши // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2009. №2 (25). С. 49–50.
- 4. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // Anal. Biochem. 1962. №4. P. 330–334.
- 5. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
- 6. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. 1958. Т. 23. С. 656–662.
- 7. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances // Analyt. Chem. 1956. Vol. 28. P. 350–356.
- 8. Sanz M.L. et al. Recent developments in sample preparation for chromatographic analysis of carbohydrates // Journal of Chromatography. 2007. Vol. 1153. P. 74–89.

Том 275

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ¹

Ю.М. Кулагина, И.Ф. Головацкая

Изучена роль микроэлемента селена в регуляции роста и развития растений. Эксперименты показали, что селен оказывает стимулирующее действие на рост растений пшеницы, увеличивает содержание фотосинтетических пигментов и сахаров во флаговом листе.

INFLUENCE OF SELENIUM ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF WHEAT PLANTS

Ju.M. Kulagina, I.F. Golovatskaya

The role of selenium in regulation of plants growth and development has been studied. Experiments showed, that selenium stimulated growth of wheat plants.

Известно пищевое и клиническое значение селена (Se) для человека [1, 2]. Низкое содержание Se в организме человека связывают с повышенным риском более 40 заболеваний, недостаток селена в кормах обусловливает распространение беломышечной болезни сельскохозяйственных животных. Этим обусловливается активный контроль биологической питательности пищевых продуктов и кормов по Se [3], широко распространяется коррекция Se-статуса посредством пищевых добавок и микроудобрений. В настоящее время активируется поиск технологий земледелия, способствующих повышенному усвоению селена растениями. Однако вопрос о значении Se в регуляции жизнедеятельности растений остается недостаточно изученным, но особенно актуален для пищевых культур. В связи с этим в задачу нашей работы входило исследование влияния селена в форме селенит-иона на рост и развитие растений пшеницы.

Исследования проводили на водной и почвенной культурах пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Новосибирская 15. В ходе лабораторных исследований растения пшеницы выращивали на жидкой питательной среде в присутствии разных концентраций селенита натрия (гидропоника), на белом свету с 16-часовым фотопериодом, при температуре $22-24\,^{\circ}$ C. Контролем служила среда без селена, опытом – среда с раствором селенита натрия $(0,4-4\,_{\rm MF}/_{\rm D})$.

В ходе полевых исследований растения пшеницы выращивали мелкоделяночным способом на дерново-подзолистой почве в Томской области. В качестве опыта были взяты растения пшеницы, выросшие из обработанных селенитом натрия семян, контроля – растения, выросшие из необработанных семян. Обработка семян селенитом натрия выбрана как наиболее оптимальный способ, предотвра-

¹ Исследование выполнено при поддержке НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (Госконтракт П283).

щающий загрязнение почв этим элементом, поскольку известно об отрицательном действии на организмы его избытка. Анализ ростовых параметров растений проводили в период их активной вегетации (29 сут) и колошения (54 сут). Оценивали силу роста проростков, линейные и количественные параметры, накопление биомассы растений.

Наблюдения за 16-дневными растениями показали, что селенит натрия в концентрации 0,4 мг/л достоверно не изменял сухую биомассу корня и побега пшеницы на начальных этапах онтогенеза в условиях гидропоники. Действие высоких концентраций снижало накопление биомассы органов. При этом биомасса побега снижалась в большей степени, чем биомасса корня. Отмечено также, что селен в диапазоне от 0,4–4 мг/л достоверно не изменял площадь листьев.

В ходе полевого эксперимента отметили, что предпосевная обработка селенитом натрия семян пшеницы изменила скорость их прорастания в почве. Это выражалось в более ранних (на 1–1,5 сут) и дружных всходах опытных растений по сравнению с контрольными. В вегетативную стадию стимулирующее действие селена на накопление сухой биомассы листьев и стебля составило 34% по сравнению с контролем (таблица).

Влияние предпосевной обработки семян селенитом натрия
на рост 29- и 54-дневных растений пшеницы сорта Новосибирская 15

		Вариант				
Возраст, сут	Параметры	Контроль	Предпосевная обра- ботка			
29	Сухая биомасса, г, листьев стеблей	0,36±0,01 0,31±0,02	0,48±0,02 0,41±0,03			
	Площадь функционирующих листьев, см ²	86,3±9,0	114,7±18,4			
54	Сухая биомасса, г, листьев стеблей	0,43±0,02 0,77±0,06	0,71±0,19 1,22±0,10			
	Площадь функционирующих листьев, см ²	75,5±10,5	301,1±37,5			

В процессе последующего развития растений в фазу колошения различия по биомассе структурных элементов увеличились на 60 и 68% соответственно.

Накопление биомассы происходило за счет увеличения размеров и числа элементов структуры побега. Увеличились длина и толщина основного побега, количество побегов кущения, увеличилось количество ярусов, а следовательно, и площадь листовой поверхности. Увеличение количества новых метамеров отмечено нами и для двудольных растений (горчица) [4, 5]. У обработанных селеном растений отметили более длительное функционирование листьев нижних ярусов и более раннее формирование колоса по сравнению с контрольными растениями.

Известно, что продуктивность растений во многом определяется интенсивностью фотосинтеза, потенциальные возможности которого характеризуются, прежде всего, содержанием фотосинтетических пигментов. Предпосевная обработка селенитом натрия семян пшеницы увеличила на 50% содержание хлорофилла a и хлорофилла δ во флаговом листе относительно их содержания в контрольных растениях.

В качестве одного из параметров фотосинтетической активности растений может служить уровень углеводов. Определение содержания редуцирующих сахаров

во флаговом листе 54-дневных опытных растений показало двукратное увеличение их содержания относительно контрольных растений. Факты более раннего формирования колоса и более высокого уровня сахаров позволил предположить влияние селена на большую мобильность сахаров в растении.

Таким образом, в наших исследованиях показано, что селенит-ион оказывает стимулирующее действие на растяжение листовой поверхности и стебля растений пшеницы в почвенной культуре, ускоряет темпы роста новых метамеров, чему сопутствует увеличение содержания зеленых пигментов фотосинтеза и редуцирующих сахаров. Условия выращивания определяют эффективность действия селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы. В почвенной культуре микроэлемент селен ускоряет развитие и повышает продуктивность растений, тогда как в гидропонике при малых концентрациях он не влияет, а при высоких – даже оказывает ингибирующее действие.

- 1. *Гореликова Г.А., Маюрникова Л.А., Позняковский В.М.* Нутрицевтик селен: недостаточность в питании, меры профилактики // Вопросы питания. 1997. №5. С. 18–21.
- 2. Голубкина Н.А., Скальный А.В., Соколов Я.А., Щелкунов Л.Ф. Селен в экологии и медицине. М.: Изд-во КМК, 2002. 155 с.
- 3. *Голубкина Н.А*. Аккумулирование селена зерновыми культурами России // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2007. №5. С. 6–9.
- 4. Головацкая И.Ф., Семенова Н.М., Карначук Р.А. и др. Рострегулирующая роль селена в растении // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: Матер. VI-й междунар. науч. конф. (Минск, 28-30 октября 2009 г.). Минск, 2009. С. 36.
- 5. Семенова Н.М., Павлова Д.Г., Кулагина Ю.М. и др. Селен и фитогормоны факторы продукционного процесса растений // Труды Том. гос. университета. 2010. Т. 273, вып 2. С. 142–144.

Серия биологическая

ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОБУТАНОЛА ИЗ ГИДРОЛИЗАТОВ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Т.С. Морозова, С.Ю. Семёнов

Рассмотрены перспективы производства биобутанола из растительного непищевого сырья. Приводится обзор основных подходов в совершенствовании биотехнологий производства бутанола и снижению его себестоимости. В качестве источника ростовых веществ при сбраживании гидролизатов целлюлозы предлагается использовать отходы производства пива. Важным направлением в получении высокоэффективных биоагентов технологии может быть использование метода управляемой автоселекции в непрерывной культуре микроорганизмов.

PROSPECTS OF TECHNOLOGY BIOBUTANOL FROM THE HYDROLYZATE LIGNOCELLULOSE RAW

The prospects for the production of biobutanol from nonfood plant raw materials. Provides an overview of basic approaches to improve biotechnology butanol production and reduce its cost. As a source of growth substances during fermentation of cellulose digest are encouraged to use waste beer. Important aspect in the manufacture of high technology biological agents can be controlled using the method avtoselection in continuous culture of microorganisms.

Запасы углеводородов в недрах земли ограничены. Затраты на добычу и транспортировку нефти постоянно возрастают, и, кроме того, при сохранении существующих темпов потребления ее разведанных запасов, по ряду прогнозов, их хватит на 40–50 лет [1].

Сырая нефть часто имеет низкое качество и требует больших энергетических затрат для переработки. Серьезные проблемы связаны и с рядом экологических аспектов использования нефти. В связи с этим возникает важная стратегическая задача – сокращение использования нефти и продуктов на ее основе, а также другого ископаемого сырья путем привлечения альтернативных сырьевых источников [2].

Биобутанол является перспективным моторным топливом, получаемым из возобновляемых сырьевых ресурсов, в том числе из отходов растениеводства.

Бутанол применяется во многих отраслях народного хозяйства: в качестве растворителей, в производстве синтетической резины, шелка, при экстрагировании фармацевтических препаратов и других отраслях. Используются также в качестве сырья для синтеза ряда органических продуктов, а также в виде жидкого биотоплива [3].

Бутанол как компонент моторных топлив имеет значительные технические преимущества в сравнении с этанолом, но отстает от него по экономическим параметрам [4].

Получение повышенного выхода бутанола при наименьших затратах было предметом многочисленных исследований и в настоящее время является одной из важных задач ацетонобутилового производства.

Начало производства биобутанола методом брожения относится к 1913 г., в качестве биоагента являлась культура бактерий *Clostridium acetobutylicum*, выделенная Вейцманном (Haim Weizmann) [5, 6]. В качестве сырья в процессе использовалась кукуруза.

Результаты исследований отечественных ученых [5] позволили перевести ацетонобутиловое производство на смешанное сырье — муку и мелассу, как новый способ, предусматривающий снижение расхода пищевого сырья — муки и замену на непищевое сырье — мелассу. Отечественные работы по использованию иных видов сырья, в частности древесных гидролизатов, получаемых кислотным гидролизом, были частью основного направления исследований и касались разработки способа непрерывного ацетонобутилового брожения, с использованием производственного штамма бактерий *Clostridium acetobutylicum* ВКПМ В 4361 [7, 8].

Действующими и находящимися в опытно-промышленной разработке технологиями производства биобутанола в настоящее время являются АБЭ-ферментация на основе Clostridium acetobutylicum [5], двухреакторная система производства (Clostridium tyrobutyricum и Clostridium acetobutylicum) [6], сбраживание и ферментативный гидролиз целлюлозы в одном реакторе с концентрациями бутанола до 3,7 об% (Clostridium beijerinckii P206). Перечисленные технологии обычно реализуются в варианте экстрактивной ферментации на основе первапорации.

При использовании в качестве сырья гидролизатов целлюлозы стоимость биобутанола становится на 20–30% ниже стоимости бензина. Сырьем в таком варианте являются такие отходы, как опилки, солома, шелуха и др. [9].

Сбраживание гидролизатов требует добавления в питательную среду ряда ростовых веществ. В качестве добавки, содержащей необходимые ростовые вещества при сбраживании гидролизатов целлюлозы, перспективны отходы пивоварения – пивная дробина и дрожжи.

В настоящее время наиболее многочисленными являются исследования по поиску микроорганизмов и конструированию штаммов, накапливающих максимальное количество бутанола при переработке воспроизводимых непищевых источников сырья.

Исследования ведутся в направлении повышения толерантности биоагентов к высоким концентрациям бутанола, разработки методов иммобилизации микроорганизмов, полунепрерывных и непрерывных технологий сбраживания.

Основным направлением исследований по интенсификации и удешевлению производства н-бутилового спирта является замена пищевого сырья непищевым с одновременной адаптацией культуры *Cl. acetobutylicum*, выделенной еще в 30-е годы, а также конструирование новых штаммов ацетонобутиловых бактерий и других микроорганизмов методами индуцированного мутагенеза и генетической инженерии, разработка новых технологических приемов по выделению конечных целевых продуктов. Удивительно, но высокоэффективные биоагенты все еще могут быть выделены из природных сообществ.

Во всех методах получения высокоэффективных штаммов бактерий используется классический отбор на селективных средах [10]. Методы с использованием управляемой автоселекции в проточной культуре в литературе не представлены, между тем именно указанный метод позволяет полностью реализовать потенциал исходной культуры, причем селекция может быть проведена по устойчивости к высоким концентрациям бутанола, по скорости роста (сбраживания) и по глубине переработки субстрата.

- 1. Сценарии и прогнозы [Электрон. ресурс]: Запасов нефти в России хватит на 50 лет. 2007. Режим доступа: http://www.finam.ru/analisis/forecasts00904/default.asp свободный.
- 2. Волков В.В., Фадеев А.Г., Хотимский В.С. и др. Экологически чистое топливо из биомассы // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2003. Т. XLVII, № 6. С. 71–72.
 - 3. Патент Российской Федерации № 2080382 от 27.05.1997.
 - 4. Патент Российской Федерации № 2375454 от 28.08.2008.
 - 5. Логоткин И.С. Технологии ацетоно-бутилового производства. М.: Пищепромиздат, 1958. 254 с.
 - 6. Patent USA № 5753474 from may 19, 1998.
 - 7. Яровенко В.Л. Непрерывное брожение в ацетонобутиловом производстве, Нальчик, 1962. 327 с.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЦИТОМИКСИСА КАК НОРМАЛЬНОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОЦЕССА В ХОДЕ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА ТАБАКА¹

С.Р. Мурсалимов, Е.В. Дейнеко

Представлены данные об ультраструктурных особенностях цитомиксиса в ходе микроспорогенеза табака, свидетельствующие в пользу идеи о нормальности этого процесса и о его возможных генетических последствиях.

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF CYOMIXIS AS A NORMAL CELL PROCESS DURING MICROSPOROGENESIS OF TOBACCO

S.R. Mursalimov, E.V. Deineko

The present work provides data about ultrastructural features of cytomixis during microsporogenesis of tobacco. The data suggest that cytomixis is normal cell process and could have genetic consequences.

Цитомиксис — это явление перемещения между клетками растений ядер, а также других органелл и цитоплазмы по цитомиктическим каналам. Впервые это явление было описано более века назад, и с тех пор цитомиксис был обнаружен в сотнях различных видов высших растений [1–4]. Цитомиксис чаще всего встречается в ходе микроспорогенеза [1, 2], однако выявлены случаи межклеточного перемещения ядер и в вегетативных тканях растений [3].

Начало цитомиксиса обеспечивается образованием между клетками цитомиктических каналов, размеры которых позволяют перемещаться из одной клетки в другую клеточным органеллам, в том числе и ядру. Назначение этих каналов все еще остается спорным.

Несмотря на то, что цитомиксис привлекает внимание исследователей вот уже более ста лет, многие детали, механизмы и последствия этого загадочного явления все еще остаются невыясненными. Отчасти это связано с отсутствием удобных для исследования этого феномена моделей – растений, постоянно поддерживающих высокий уровень цитомиксиса.

Ранее в лаборатории биоинженерии растений (ИЦиГ СО РАН) среди трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) были выделены линии с мутантным фенотипом (измененная структура цветка и пониженная фертильность пыльцы), характеризующиеся высоким уровнем цитомиксиса [5]. В микроспорогенезе этих линий в цитомиксис вовлекались до 50 % мейоцитов. Такая особенность выделенных линий позволила использовать их в качестве моделей для детального анализа цитологической картины цитомиксиса, в том числе и на ультраструктурном уровне.

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 08-04-01046а).

При ультраструктурном анализе цитомиксиса в микроспорогенезе трансгенных и нетрасгенных растений табака было показано, что межклеточная миграция ядер чаще происходит одновременно по нескольким цитомиктическим каналам, после чего наблюдается разделение ядер на микроядра (рис. 1).

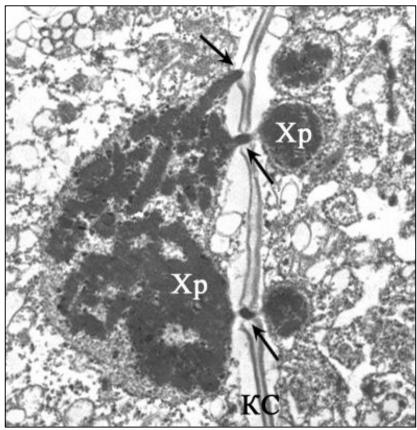


Рис. 1. Цитомиксис в микроспорогенезе табака линии SR1 (стрелками указаны цитомиктические каналы, Xp — хроматин, KC — клеточная стенка, увеличение — $\times 3500$)

Показано, что ядерная оболочка и хроматин не проявляют видимых признаков повреждения при перемещении через цитомиктические каналы. При использовании трансгенных линий табака впервые удалось проследить динамику ядрышка при переходе его через цитомиктические каналы в составе ядра. Также были выявлены случаи прямого контакта двух ядер соседних клеток через цитомиктические каналы, что приводило к слиянию ядерных оболочек и образованию «ядерных мостиков».

Данные, полученные при анализе цитомиксиса в микроспорогенезе различных линий табака, позволяют сделать вывод, что цитомиксис является нормальным клеточным процессом, а не патологическим отклонением. Более того, процесс цитомиксиса, по всей видимости, находится под генетическим контролем и может иметь определенные генетические последствия для формируемой пыльцы.

Литература

1. Heslop-Harrison J. Cytoplasmic connections between angiosperm meiocytes // Ann. Bot. 1966. Vol. 30, N 118. P. 221–230.

- 2. Falistocco E., Tosti N., Falcinelli M. Cytomixis in pollen mother cells of diploid Dactylis, one of the origins of 2n gametes // J. Heredity. 1995. Vol. 86. P. 448-453.
- 3. Guzicka M., Wozny A. Cytomixis in shoot apex of Norway spruce [Picea abies (L.) Karst.] // Trees. 2005. Vol. 18. P. 722-724.
- 4. Ghaffari G.M. Occurrence of diploid and polyploidy microspores in Sorghum bicolor (Poaceae) is the
- result of cytomixis // Afr. J. Biotechnol. 2006. Vol. 5. P. 1450–1453.
 5. Сидорчук Ю.В., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Особенности цитомиксиса в материнских клетках пыльцы у трансгенных растений табака Nicotiana tabacum L. с мутантным фенотипом // Цитология. 2007. T. 49, № 10. C. 870-875.

НИТРАТНЫЙ СИГНАЛИНГ САХАРОЗОСИНТАЗЫ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ НИТРАТАССИМИЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ У РАСТЕНИЙ

А.В. Никитин, С.Ф. Измайлов

На различающихся по орга́нной топографии нитратредуктазы объектах (Pisum sativum L.-6 корнях, Beta vulgaris L.-6 листьях) выявлено позитивное сигнальное действие нитрата на активность сахарозосинтазы, проявляющееся преимущественно в корнях как гетеротрофных органах. Такой NO_3^- -сигналинг уже на стартовом уровне диссимиляции сахарозы программирует углеродный обмен на наработку восстановительных эквивалентов и C-акцепторов аммиака. В листьях эти процессы обеспечиваются за счет метаболизма ранних продуктов фотосинтеза.

NITRATE SIGNALING ON SUCROSE SYNTHASE AND LOCALIZATION OF NITRATE ASSINILATION FUNCTION PISUM SATIVUM L. AND BETA VULGARIS L.

A.V. Nikitin, S.F. Izmailov

Nitrate signaling effect on sucrose synthase activity has been demonstrated in plants differing in organ to-pography of nitrate reduction activity (Pisum sativum L. – in roots, Beta vulgaris L. – in leaves). This effect was positive and took place predominantly in roots as geterotrophic organs. Such NO5-signaling already at the starting level of sucrose dissimilation, programmes C-metabolism for accumulation of reducing equivalents and C-acceptors of ammonium. In leaves these processes are provided by means of early photosynthetic products.

За последнее десятилетие сложилось представление, что нитрат является не только субстратом азотного питания, но и сигнальным агентом, регулирующим экспрессию различных генов. Он индуцировал такие ферменты углеродного метаболизма, как ФЭП-карбоксилаза, пируваткиназа, цитратсинтаза, НАДФ-изоцитратдегидрогеназа [1], НАД-малатдегидрогеназа, трансальдолаза, транскетолаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа [2] и др., перепрограммируя С-метаболизм в направлении создания наиболее благоприятных условий для ассимиляции минерального азота.

Ключевым звеном начального этапа обеспечения органов-акцепторов С-метаболитами является утилизация сахарозы с участием сахарозосинтазы (СС). Вопрос о ее регуляции нитратом нами был исследован на примере двух разнородных объектов – гороха посевного *Pisum sativum* L., характеризующегося преимущественной локализацией нитратредуктазы в корнях, и сахарной свеклы *Beta vulgaris* L., у которой она преобладает в листьях. Растения росли в водной культуре при 18–20 клк и 16-часовом фотопериоде.

На неинокулированных клубеньковыми бактериями растениях гороха в период их перехода к автотрофии (10–20 сут роста) было обнаружено позитивное сигнальное действие нитрата (Ca(NO₃)₂ и KNO₃, 14,2 мМ) на активность СС. В корнях рост активности фермента составил до 150 %, а в листьях – до 100 %. В абсолютном

выражении в корнях (до 0,47 мкмоль сахарозы·мин⁻¹·г⁻¹ сырой массы) он был существенно выше, чем в листьях (до 0,21 мкмоль сахарозы·мин⁻¹·г⁻¹ сырой массы).

На растениях сахарной свеклы в период интенсивного роста корней (30–60 сут) увеличение удельной активности СС в корнях на среде с 14,2 мМ нитратом достигало 400 % (прибавка до 6,48 мкмоль сахарозы· \mathbf{q}^{-1} · \mathbf{r}^{-1} белка). В листьях аналогичный эффект достоверно не найден.

Таким образом, локализация нитратзависимой активности СС у сахарной свеклы оказалась аналогичной гороху, несмотря на различия в органной топографии процесса восстановления нитрата.

Поскольку, в отличие от *Pisum sativum,* у *Beta vulgaris* наблюдалось несоответствие компартментации СС и нитратредуктазы, можно заключить, что разным растениям, по-видимому, свойствен один общий принцип сосредоточения сигнального действия нитрата на СС – в корнях как гетеротрофных органах. Его физиологическое значение состоит в том, что только здесь главным источником восстановительных эквивалентов для нитратредуктазы служит катаболизм транспортной формы углерода – сахарозы. Нитратзависимая активность СС при этом отражает программирование С-метаболизма на нужды N-обмена уже на стартовом уровне диссимиляции сахарозы. В листьях реализуется иной принцип, заключающийся в преимущественном обеспечении восстановления нитрата и ассимиляции аммония за счет метаболизма ранних продуктов фотосинтеза.

- 1. Scheible W.R., Gonzalez-Fontes A., Laurerer M. et al. Nitrate Acts as a Signal to Induce Organic Acid Metabolism and Repress Starch Metabolism in Tobacco // Plant Cell. 1997. Vol. 9, No. 5. P. 783–798.
- 2. Wang R., Guegler K., LaBrie S.T., Crawford N.M. Genomic Analysis of a Nutrient Response in Arabidopsis Reveals Diverse Expression Patterns and Novel Metabolic and Potential regulatory Genes Induced by Nitrate // Plant Cell. 2000. Vol. 12, №8. P. 1491–1509.

Том 275

Серия биологическая

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИНА В ПРОВОДЯЩИХ ТКАНЯХ ARABIDOPSIS THALIANA

Е.С. Новоселова, В.В. Миронова

Важным регулятором развития корневой системы растений является фитогормон ауксин, имеющий сложное пространственно-временное распределение в тканях корня. В нашей работе с помощью математического моделирования изучались молекулярно-генетические механизмы формирования максимумов концентрации ауксина в проводящих тканях корня Arabidopsis thaliana. Анализ поведения разработанных моделей показал, что разные типы проводящих тканей (протофлоэма и протоксилема) могут иметь различия в молекулярно-генетических механизмах транспорта ауксина.

MATHEMATICAL MODELING OF AUXIN DISTRIBUTION IN CONDUCTION TISSUES OF ARABIDOPSIS THALIANA

E.S. Novoselova, V.V. Mironova

Phytohormone auxin is important regulator of plants root system development and it has complicate spatio-temporal pattern in roots tissues. In this work was used mathematical modeling for analysis of molecular-genetics mechanisms of auxin concentration maximums formation in conduction tissue of Arabidopsis thaliana. Our models showed that different types of conduction tissue (protophloem and protoxylem) may have differences in molecular-genetics mechanisms of auxin transport.

Фитогормон ауксин является важнейшим регулятором роста и развития растений. В том числе показано, что ауксин необходим для поддержания нормального функционирования апикальной меристемы корня, определения позиций формирования боковых корней и их дальнейшего нормального развития.

Предетерминация развития боковых корней сопровождается локальным увеличением концентрации ауксина в протоксилеме корня [1]. В основе механизма формирования паттернов распределения ауксина с локальными максимумами концентрации лежит система активного транспорта ауксина. Благодаря специальным белкам-транспортерам ауксина, локализующимся полярно на мембранах клеток, поток ауксина в ткани, как правило, имеет выраженное направление. Другим важным фактором формирования паттернов распределения ауксина в ткани является регуляция экспрессии и деградации белков-транспортеров самим ауксином. При низких концентрациях ауксина в клетке уровень экспрессии белков-транспортеров определяется в основном уровнем активации транскрипции ауксин-зависимых генов, повышение концентрации ауксина приводит к повышению содержания белковтранспортеров за счет ингибирования их деградации.

В клетках проводящих тканей *А. thaliana* – протофлоэме и протоксилеме наблюдается высокий уровень экспрессии белка-транспортера ауксина из клетки – PIN1, который локализуется на базальной мембране клеток [2]. В протофлоэме кроме PIN1, также экспериментально показаны экспрессия и апикальная локализация на мембране клеток белка притока ауксина в клетку AUX1 [3].

Нами были разработаны математические модели транспорта ауксина в одномерных линейных ансамблях клеток протоксилемы и протофлоэмы корня. Математическое моделирование биологических систем проводилось с использованием дифференциальных уравнений, описывающих временные траектории изменения концентраций совокупности веществ, входящих в рассматриваемую систему.

В численных экспериментах были изучены сходства и различия в динамике распределения ауксина между протоксилемой и протофлоэмой корня.

Анализ результатов расчета модели транспорта ауксина в протокслеме показал, что регуляция ауксином экспрессии PIN1 белка в протоксилеме является достаточными условием формирования экспериментально наблюдаемых максимумов концентрации ауксина в корне (рис. 1). В том числе при расчете указанной модели были получены стационарные распределения ауксина с дополнительными максимумами концентрации, которые соответствуют экспериментально наблюдаемым максимумам концентрации ауксина в базальной меристеме корня при инициации закладки боковых корней [1]. В численных экспериментах с моделью транспорта ауксина в протоксилеме показано, что возникновение дополнительных максимумов концентрации ауксина может быть вызвано увеличением интенсивности потока ауксина из побега.

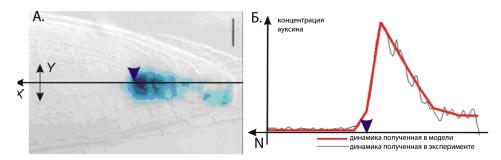


Рис. 1. Экспериментально полученное распределение ауксина в кончике корня A: X – ось, направленная от кончика корня к его основанию вдоль центральной оси корня; Y – ось, направленная вдоль продольной оси корня (стрелкой отмечен максимум концентрации ауксина в 5-й клетке от кончика корня). 1, E – тонкая кривая – кривая качественного распределения ауксина, полученная сканированием фотографии, представленной на рис. 1, A; утолщенная кривая – стационарное распределение ауксина в кончике корня, полученное из расчета модели транспорта ауксина в протоксилеме корня

Результаты численного исследования моделей транспорта ауксина в протоксилеме и протофлоэме показали, что формирование внутренних пиков концентрации ауксина в протофлоэме зависит от соотношения эффективности функционирования AUX1- и PIN1-опосредованных транспортных систем. В результате в протофлоэме *in silico* формирование стационарных распределений ауксина с дополнительными проксимальными максимумами концентрации ауксина наблюдается при меньших значениях интенсивности потока ауксина из побега. Так как в протососудистых тканях, скорее всего, нет значимого различия в интенсивности потока ауксина из побега, полученный результат вступает в противоречие с экспериментальными данными, согласно которым формирование боковых корней из клеток, прилежащих к протофлоэме, в норме не происходит [4]. Исходя из описанного противоречия, высказана гипотеза о различиях в молекулярно-генетических процессах транспорта ауксина в протоксилеме и протофлоэме корня. Из численного анализа моделей предложено четыре альтернативные гипотезы, объясняющие различия в механизмах транспорта ауксина в протофлоэме и протоксилеме на молекулярном уровне:

- 1) ауксин-зависимая деградация PIN1 белка в протофлоэме происходит при более высоких концентрациях ауксина;
- 2) ауксин-зависимая активация синтеза PIN1 белка в протофлоэме происходит при более низких концентрациях;
- 3) более выраженное изменение концентрации PIN1 белка в ответ на ауксинзависимую активацию его синтеза в протофлоэме, что может быть связано с большим числом ауксин-зависимых транскрипционных факторов, задействованных в активации синтеза PIN1 белка;
- 4) повышенная эффективность транспорта ауксина через PIN1 белок в протофлоэме.

На основе проведенного анализа выявлена связь между молекулярногенетическим (регуляция экспрессии белков-транспортера ауксина) и фенотипическим (архитектура корневой системы) уровнями организации, которая может быть проверена экспериментально.

- 1. De Smet I., Tetsumura T., De Rybel B. et al. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of Arabidopsis // Development. 2007. Vol. 134. P. 681–690.
- 2. Vieten A., Vanneste S., Wisniewska J. et al. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression // Development. 2005. Vol. 132(20). P. 4521–4531.
- 3. Swarup R., Friml J., Marchant A. et al. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the Arabidopsis root apex // Genes & Development. 2001. Vol. 15(20). P. 2648–2653.
- 4. *Parizot B., Laplaze L., Ricaud L. et al.* Diarch symmetry of the vascular bundle in Arabidopsis root encompasses the pericycle and is reflected in distich lateral root initiation // Plant Physiology. 2008. Vol. 146(1). P. 140–148.

РОЛЬ КАРОТИНОИДОВ В АДАПТАЦИИ ПОБЕГОВ ПШЕНИЦЫ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ

В.В. Нохсоров, В.А. Чепалов, К.А. Петров

Изучено изменение содержания индивидуальных каротиноидов в побегах проростков пшеницы после низкотемпературных (1,2,4, и 6°) кратковременных (30 и 180 мин) стрессовых воздействий на их подземные части. Показано, что при действии низких температур (1,2 и 4°С) на корни в 1,4–2,4 раза возрастало содержание лютеина+зеаксантина и β-каротина в листьях 7-дневных растений.

THE ROLE OF CAROTENOIDS IN ADAPTATION OF WHEAT SPROUTS TO LOW-TEMPERATURE STRESS

V.V. Nohksorov, V.A. Chepalov, K.A. Petrov

Change of individual carotenoids content in the sprouts of wheat germs after short (30 and 180 minutes) exposing of their underground parts under stress-making low positive temperatures (1, 2, 4 and 6°C) has been studied. It is shown that under effect of low positive temperatures stress factors (1, 2 and 4°C) to the roots the content of lutein + zeaxantin and carotene in the leaves of 7-day-old plants has been increased by 1,4–2,4 times.

Устойчивость растительного организма определяется в основном способностью к быстрым адаптациям, которые чаще всего создаются за счет изменения активности ферментов. Однако определенную роль играют и низкомолекулярные полиеновые соединения, имеющие систему сопряженных двойных связей, – каротиноиды. Наряду с хлорофиллом б они входят в состав фотосинтетического аппарата (ФСА) и участвуют в поглощении световой энергии. Существенное значение в реакциях фотосинтеза имеет защитная функция каротиноидов, которые, поглощая в области больших энергий, играют роль защитных экранов, предохраняя хлорофилл а и другие биологически активные соединения от фотодеструкции [1]. Кроме того, за последние 10–15 лет исследования по каротиноидам активизировались в связи с новыми данными по их антиоксидантной активности в регулировании окислительно-восстановительных условий в хлоропласте [6].

В своей работе мы исходили из соображений малоизученности этого вопроса в первые часы после действия температурного стресса. В связи с этим была поставлена задача определить содержание каротиноидов у побегов пшеницы при их адаптации к низким положительным (1,2,4 и 6 °C) температурам. Результаты опытов представлены в таблице.

Изменение содержания индивидуальных каротиноидов в листьях проростков пшеницы после низкотемпературных $(1, 2, 4, 6 \, ^{\circ}\mathrm{C})$ кратковременных $(30 \, \mathrm{u} \, 180 \, \mathrm{muh})$ стрессовых воздействий на корни этих проростков

Danuary and the	Неоксантин		Виолаксантин		Лютеин+зеаксантин		β-каротин		Сумма каротиноидов	
Вариант опыта	мкг/г	%	мкг/г	%	мкг/г	%	мкг/г	%	мкг/г	
Контроль	$113,8 \pm 16,8$	100	$95,7 \pm 14,1$	100	$281,3 \pm 20,5$	100	$134,2 \pm 22,0$	100	$625,0 \pm 18,3$	
1 °C, 30 мин	117,4± 29,3	103,2	$100,2 \pm 7,6$	104,8	$293,2 \pm 41,5$	104,2	$162,4 \pm 14,1$	$4 \pm 14,1$ $121,1$ $673,3 \pm 23$		
1 °С, 3 ч	$159,9 \pm 15,7$	140,5	$133,0 \pm 40,1$	139,1	$627,8 \pm 57,0$	223,2	$193,8 \pm 40,0$	144,4	1114,5 ±38,2	
Контроль	$159,0 \pm 20,0$	100	$228,6 \pm 9,6$	100	$382,6 \pm 22,1$	100	$216,1 \pm 20,5$	100	$986,2 \pm 18,0$	
2 °С, 30 мин	$187,6 \pm 8,4$	118	$269,0 \pm 31,0$	117,7	$560,8 \pm 74,0$	146,6	$413,2 \pm 24,5$	191,3	1431,0 ±34,5	
2 °С, 3 ч	$209,4 \pm 8,7$	131,7	$319,8 \pm 34,2$	139,9	$745,0 \pm 28,3$	194,7	$524,2 \pm 47,1$	242,6	$1798,4 \pm 30$	
Контроль	$193,8 \pm 21,8$	100	$196,4 \pm 10,5$	100	$382,4 \pm 19,2$	100	$180,6 \pm 31,5$	100	$953,1 \pm 20,7$	
4 °С, 30 мин	$210,1 \pm 22,2$	108,7	$227,8 \pm 18,1$	115,9	$578,5 \pm 93,0$	151,3	$271,8 \pm 42,7$	150,5	$1288,7 \pm 44$	
4 °С, 3 ч	222,0 ± 11,1	114,6	$268,6 \pm 13,6$	136,7	$633,9 \pm 47,9$	165,8	$223,2 \pm 16,3$	123,7	1347,7 ±22,2	
Контроль	$219,2 \pm 24,7$	100	$218,5 \pm 15,3$	100	460,6 ± 14,1	100	258,1 ± 31,5	100	1156,4 ±21,4	
6 °С, 30 мин	$193,4 \pm 13,7$	88,2	$180,8 \pm 24,2$	82,7	445,8 ± 30,4 96,8 223,5 ± 25,3 86,6		1043,5 ±23,4			
6 °С, 3 ч	$207,6 \pm 19,5$	94,7	$219,8 \pm 16,7$	100,6	$502,5 \pm 38,2$	109,1	$246,1 \pm 20,5$	95,4	1176,1 ±23,7	

Использовались 7-дневные растения пшеницы сорта Приленская-19, выращенные в лабораторных условиях (питательная смесь Гельригеля с четвертичной дозой солей, освещенность Φ AP-0,1 мМ/м $^2 \cdot c^{-1}$). Холодовой шок создавали путем помещения корневой системы проростков пшеницы в термостат (MULTITEMP II 2219) с питательной средой Гельригеля (1/4 доза солей), поддерживая температуру 1, 2, 4, 6 С на 30 и 180 мин. Контролем служили растения той же партии, выдержанные при комнатной температуре. Навеску свежего растительного материала (30 мг) тщательно растирали в фарфоровой ступке с безводным Na₂SO₄ (около 20 мг) и 10-15 мг СаСО3. Измельченный в порошок растительный материал экстрагировали ацетоном. Качественный и количественный состав каротиноидов анализировали методом тонкослойной хроматографии. Суммарный ацетоновый экстракт пигментов наносили на пластинку Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ (10×10 см, Россия). Для хроматографии использовали системы растворителей: бензол:ацетон (7:3). Элюаты каротинов в хлороформе, ксантофиллов в этаноле идентифицировали по спектрам поглощения, регистрированным на спектрофотометре Shimadzu UV-240 (Япония). Количественное содержание каждого из пигментов, выделенного методом ТСХ, рассчитывали по основному максимуму поглощения: В-каротина – при 464 нм, лютеина – при 446 нм, виолаксантина – при 442 нм, неоксантина – при 438 нм, используя удельные коэффициенты экстинкции [4]. Определение проводили в опытах, каждый из которых состоял из 3 параллельных биологических повторностей.

Изменение содержания индивидуальных каротиноидов побегов пшеницы изучали при холодовом шоке (1, 2, 4 и 6 °C) корней растений в течение 30 и 180 мин. Холодовой шок (6 °C) практически не оказывает влияние на содержание каротиноидов. Сходное отсутствие наблюдалось и при 30-минутном действии низких положительных температур на корни. Однако в случае погружения в холодную питательную смесь Гельригеля (1, 2 и 4 °C, 180 мин) корней пшеницы в побегах заметно повышалось содержание лютеина+зеаксантина (223,2; 194,7; 165,8 %) и β -каротина (144,4; 242,6; 123,7 %) соответственно.

Таким образом, холодовой шок корней 7-дневных растений пшеницы (30 и 180 мин) при низких положительных температурах (1, 2, 4 $^{\circ}$ C) приводит к значительному увеличению содержания как лютеина+зеаксантина, β -каротина, так и общей суммы каротиноидов.

Как известно, при действии низких положительных температур на корни побегов пшеницы в условиях многосуточных вегетационных опытов также наблюдалось повышение содержания кислородсодержащих каротиноидов в их листьях, по сравнению с контролем [8]. По мнению автора, увеличение окисленных форм желтых пигментов в листьях связано с последействием пониженных температур в зоне корней и объясняется усилением оттока ассимиляторов из листьев в корни, где интенсивно протекает синтез белка, а следовательно, и синтез пигментов. Многие современные исследования эффектов действия повышенной и пониженной температурой показали, что в органах растений синтезируется специфические стрессовые белки [3]. Кроме них, возрастает содержание специфических низкомолекулярных веществ, участвующих в защитных реакциях, - пролина, углеводов, свободных форм ИУК (ауксина), АБК и др. [2, 4, 7], а также полиаминов, синтез которых меняется в органах растения хрустальная травка как следствие теплового стресса (47 °C, 2 ч) [5]. К таким веществам, по-видимому, относятся и каротиноиды. Они как легко окисляющиеся вещества являются акцепторами кислорода и предохраняют пигмент - белковые комплексы фотосинтетических мембран и хлорофилл от фотоокисления, что, возможно, является одной из причин повышения их накопления в период адаптации растений к низкотемпературному стрессу.

- 1. *Бухов Н.Г.* Динамическая световая регуляция фотосинтеза // Физиология растений. 2004. Т. 51. С. 825-837.
- 2. *Ермаков Е.И., Полевой А.В.* Изменение баланса эндогенных ИУК и АБК в корнях проростков кукурузы при прямом и опосредованном низкотемпературном стрессе // Докл. РАСХН. 2000. №3. С. 16—18
- 3. Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: СО РАН, 2003. 196 с.
- 4. *Кудоярова Г.Р., Усманов И.Ю., Гюли-Заде В.З. и др.* Взаимодействие электрических и гормональных сигналов // Докл. АН СССР. 1990. Т. 310, №6. С. 1511–1514.
- 5. *Кузнецов Вл.В., Ракитин В.Ю., Садомов Н.Г. и др.* Участвуют ли полиамины в дистанционной передаче стрессового сигнала у растений? // Физиол. раст. 2002. Т. 49, №4. С. 136–147.
- 6. Ладыгин В.Г. Биосинтез каротиноидов в хлоропластах водорослей и высших растений // Физиология растений. 2000. №47. С. 904–923.
- 7. Полевой А.В. Эндогенные фитогормоны в этиолированных проростках кукурузы в норме и при температурном стрессе: Автореф. дис ... канд. биол. наук. СПб., 1993. 21 с.
- 8. *Расторгуева Л.И.* Последействие пониженной температуры корневой системы на накопление зеленых и желтых пигментов в листьях некоторых растений // Физиология растений. 1964. Т. 2. С. 316—320.

Серия биологическая

РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОРЕЦЕПТОРАМИ CRY1 И РНУВ СКОТО-И ФОТОМОРФОГЕНЕЗА АРАБИДОПСИСА НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА¹

Д.Г. Павлова, И.Ф. Головацкая

Изучена роль фоторецепторов в регуляции морфогенеза растений арабидопсиса на селективном свету. Эксперименты показали, что фоторецепторы cry1 и phyB оказывают регуляторную роль в ското- и фотоморфогенезе растений на ранних этапах онтогенеза.

REGULATION BY CRY1 AND PHYB PHOTOREZEPTOR OF *ARABIDOPSIS* SCOTO- AND PHOTOMORPHOGENESIS AT EARLY STAGES ONTOGENESIS

D.G. Pavlova, I.F. Golovatskaya

The role of photoreceptors in regulation of Arabidopsis plant morphogenesis on selective light has been studied. Date showed that cryl and phyB photoreceptor plays the regulative role in skoto- and photomorphogenesis of Arabidopsis plants at early stages ontogenesis.

Свет выступает эффективным фактором, регулирующим морфогенез растений. Эта регуляция осуществляется специфическими сенсорными фоторецепторами, поглощающими определенную область спектра. Так, криптохромы поглощают синюю область спектра Φ AP, а фитохромы – красную. Недостаточно изучена роль фоторецепторов в растении на неиндуктивных участках спектра фотосинтетически активной радиации (Φ AP) и возможность их действия на осуществление программы скотоморфогенеза.

В связи с этим *целью* работы было изучение роли фоторецепторов (cry1 и phyB) в морфогенезе в темноте, на синем и красном свету. В соответствии с поставленной целью изучали особенности ското- и фотоморфогенеза проростков исходной линии *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh экотипа Landsberg erecta (Ler) и ее световых мутантов (hy4 и hy3).

Показана зависимость скотоморфогенеза проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Неупh от состава функционирующих сенсорных фоторецепторов. При выращивании проростков арабидопсиса дикого типа *Ler* в темноте наблюдали длинный гипокотиль и маленькие сложенные семядоли. Нарушения на уровне фоторецепторов модифицировали соотношения ростовых процессов гипокотиля и семядолей у проростков мутантов (таблица). Отсутствие криптохрома 1 у проростков мутанта *hy4*, полученного из Ноттингемского центра арабидопсиса, уменьшало размеры гипокотилей, что согласовывалось с нашими данными по аналогичному мутанту Огайского центра арабидопсиса [1]. Другие ростовые реакции отмечены у мутанта *hy3*

¹ Исследование выполнено при поддержке НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (Госконтракт П283).

(см. таблицу), его проростки характеризовались более длинными гипокотилями и маленькими семядолями, чем у *hy4* и Ler. Различия по площади семядоли были связаны с размерами пластинки и длиной черешка.

Линия	Длина гипокотиля, мм	Площадь семядоли, мм ²			
Ler	11,6±0,15	0,167±0,003			
hy4	10,2±0,10	0,160±0,006			
hy3	12,3±0,14	0,123±0,003			

Ростовые параметры 7-дневных этиолированных проростков арабидопсиса

В растениях, растущих на свету, проходят морфогенетические процессы, которые в совокупности называют фотоморфогенезом. Нами показана роль фоторецепторов в регуляции фотоморфогенеза на синем (СС) и красном (КС) свету. У зеленых проростков Ler экотипа Landsberg erecta изменялось соотношение ростовых процессов семядоли и гипокотиля (рис. 1). Происходила активация роста первого и тормозился рост второго структурного элемента побега.

Сравнение действия СС и КС на рост проростков арабидопсиса показало его специфику. На СС проростки исходной линии Ler формировали более короткие гипокотили, чем на КС той же интенсивности (120 мкМ квантов/ 2 с), что свидетельствовало о важности СС в регуляции их роста.

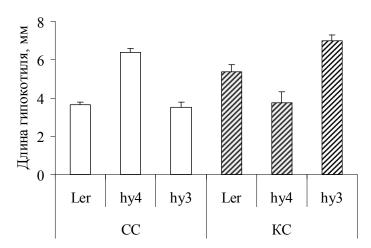


Рис. 1. Длина гипокотилей 7-дневных проростков арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* (L.) Неупh экотипа Landsberg *erecta* Ler и его мутантов, выросших на синем (СС) и красном (КС) свету

CC не оказывал достаточного торможения роста в длину у гипокотиля hy4, определяя большие размеры, чем у дикого типа, что характерно для частично этиолированного проростка. Наблюдаемый фенотип, вероятно, был обусловлен отсутствием фоторецептора cryl и связанным с этим снижением чувствительности к CC. Мутант hy3, у которого нарушен фоторецептор фитохром B (phyB), реагировал аналогично дикому типу, за счет присутствия у него, как и у дикого типа, фоторецептора CC – cryl.

При выращивании на КС исследуемые мутанты показали противоположные ростовые ответы (см. рис. 1). Мутант *hy3* характеризовался меньшей чувствитель-

ностью к КС и более длинными гипокотилями, по сравнению с диким типом. Проростки мутанта hy4 формировали более короткие гипокотили, чем исходная линия, усиливая ростовой ответ на действие КС. Подобная реакция, вероятно, связана с функционированием в проростке фитохромов А и В. Из литературы известно о взаимодействии cryl c phyA и phyB, проявляющемся часто в снижении реакций. На основе наших результатов можно предположить, что более сильное укорочение гипокотиля мутанта hy4 по сравнению с диким типом связано с cryl-независимой деятельностью фитохромов (рис. 2).

Семядоли проростков исходной линии Ler проявляли большую чувствительность к CC, чем к КС (интенсивность 120 мкМ квантов/ $\rm m^2 c$), именно на этом участке они формировали большую поверхность (рис. 2), превышающую в 4,3 раза «красную» семядолю.

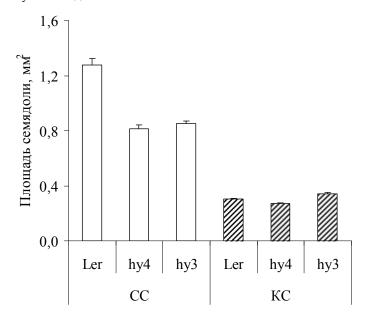


Рис. 2. Площадь семядолей 7-дневных проростков арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* (L.) Неупh экотипа Landsberg *erecta* Ler и его мутантов *hy3* и *hy4*, выросших на красном и синем свету

У обоих мутантов по фоторецепторам (*hy3*, *hy4*) на СС наблюдали слабое растяжение семядолей по сравнению с семядолями дикого типа (рис. 2). На КС аналогично дикому типу формировались маленькие семядоли.

В ходе нашего эксперимента отметили, что влияние света высокой интенсивности наиболее отражает функцию фоторецептора сгу1, потому что в отсутствие рецептора у проростков hy4 не было ростовых реакций гипокотиля на СС. При действии СС низкой интенсивности (5 мкМ квантов/м² с) в процессе деэтиоляции проростков другие авторы наблюдали укорочение гипокотилей hy4 [2, 3], что объяснили функционированием другого фоторецептора синего света – cry2.

Таким образом, нами показано, что ростовые реакции гипокотилей и семядолей являются индикаторами морфогенетических реакций световых мутантных растений арабидопсиса на свет. Состав функционирующих фоторецепторов определяет соотношение роста структурных элементов проростка в темноте. Отсутствие фитохрома В у hy3 обусловливает типичный этиолированный фенотип, отсутствие криптохрома 1 у hy4 — «смешанный» фенотип. Фоторецепторы сгу1 и phyB регулируют рост гипокотилей на участках спектра Φ AP их максимального поглощения

(СС и КС соответственно), а рост семядолей – на СС. Показано ингибирующее действие cry1 на физиологические реакции, контролируемые фитохромами.

- 1. *Карначук Р.А., Тищенко С.Ю., Головацкая И.Ф.* Эндогенные гормоны и регуляция морфогенеза *Arabidopsis thaliana* синим светом // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 2. С. 262–267.
- 2. *Карначук Р.А., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Хрипач В.А.* Действие эпибрассинолида на морфогенез и соотношение гормонов у проростков *Arabidopsis* на зеленом свету // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 4. С. 591–595.
- 3. *Головацкая И.Ф.* Роль криптохрома 1 и фитохромов в регуляции фотоморфогенетических реакций растений на зеленом свету // Физиология растений. 2005. Т. 52. С. 822–829.

Том 275

Серия биологическая

РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ *IN VITRO* ПРИ РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНИНА¹

Л.Ю. Плясунова, Л.В. Ветчинникова, О.Е. Ануфриева

Проведено экспериментальное изучение влияния различной концентрации цитокинина на регенерационную активность карельской березы in vitro. Оценивается возможность управления процессами морфо- и органогенеза при клональном микроразмножении ценных генотипов.

REGENERATION ACTIVITY OF KARELIAN BIRCH IN VITRO AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF CYTOKININ

L.J. Plyasunova, L.V. Vetchinnikova, O.E. Anufrieva

The experimental study of the effect of different concentrations of cytokinin in the Karelian birch regeneration activity in vitro has been conducted. The possibility of process control of morpho- and organogenesis in clonal micropropagation of valuable genotypes is evaluated.

Цитокинины обладают широким спектром действия на растения, однако степень их влияния определяется уровнем концентрации [3, 4]. В физиологически оптимальных концентрациях они позитивно влияют на развитие апикальных меристем и рост побега, но подавляют рост корня [3]. Цитокинины стимулируют клеточное деление и участвуют в биосинтезе пигментов [1–3]. В высоких концентрациях цитокинины проявляют рост-ингибирующее и даже апоптическое действие, могут подавлять рост корней и вызывать опадение листьев [1, 3].

Целью нашей работы явилось экспериментальное изучение регенерационной активности тканей отдельных генотипов карельской березы *in vitro* при различной концентрации цитокинина.

Объектом исследования служили побеги пяти клонов карельской березы *Betula pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, полученные из апикальной меристемы и её производных в условиях *in vitro*. Исходная ткань представляла собой сегменты побегов, состоящие из стебля (длина около 5 мм) и 1–2 листьев. В качестве питательной среды использовали минеральную основу по Мурашиге — Скуга. Культивирование осуществляли в стеклянных сосудах объемом 125 мл (диаметр — 55 мм) в течение 30 сут при температуре 25±2 °С, 16-часовом фотопериоде и искусственном освещении (4500 лк). При проведении опытов в питательную среду вносили цитокинин 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрациях 0,05; 0,1; 0,2 и 0,4 мг/л. Контролем служили побеги, полученные на питательной среде, не содержащей БАП. О влиянии БАП на регенерационную активность тканей судили по их способности к морфо- и органогенезу (рост стебля, формирование листьев и корней).

¹ Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: фундаментальные основы рационального использования».

Исследования показали, что внесение БАП в питательную среду стимулировало рост побегов и накопление биомассы вновь образованных листовых пластинок *in vitro* у всех генотипов (A, Б, В, Γ , Д) карельской березы, причем наибольшие значения были отмечены при концентрациях 0,2 и 0,4 мг/л (на 30–40 и 10–15 % выше контроля соответственно). Очевидно, основной причиной этого явилось положительное влияние БАП на процессы деления и растяжения клеток. Среди изученных генотипов наиболее активный прирост биомассы зеленых побегов в течение опыта наблюдался у клона В: его величина была в 6–10 раз выше по сравнению с контролем. Вместе с тем у побегов генотипа В часто отмечались деформация листьев и искривление стеблей, что свидетельствует об использовании избыточной концентрации цитокинина [4]. В то же время генотип Б характеризовался наиболее высоким коэффициентом размножения, о чем свидетельствовало формирование максимального числа побегов на один эксплант.

Для большинства генотипов преобладающее присутствие цитокинина в среде (0,4 мг/л) стимулировало интенсивное образование каллуса. По всей вероятности, цитокинины играют первостепенную роль в процессе дедифференциации, приводящей к делению и новообразованию каллусной ткани [3].

В варианте опыта без внесения БАП отмечено явно выраженное ингибирование процесса каллусообразования. С другой стороны, отсутствие цитокинина в среде заметно стимулировало образование и рост корней: у генотипа A их длина составила до 10 см, B- до 13 см, $\Gamma-$ до 5 см.

В процессе культивирования растений у листьев происходило постепенное появление желтой окраски, очевидно, обусловленное распадом хлорофилла. Наиболее выраженным оно оказалось при самой низкой из использованных концентраций БАП $(0,05\ \text{мг/л})$, когда масса пожелтевших листьев составляла примерно $20\ \%$ от общей массы листьев. При внесении БАП в концентрациях $0,2\ \text{u}$ $0,4\ \text{мг/л}$ процесс старения листьев тормозился. Вместе с тем, опыты показали, что $2\ \text{(A u }\Gamma)$ из 5 изученных генотипов на протяжении всего опыта не проявили признаков старения и оставались зелеными. Вероятно, это связано с генетическими особенностями их развития, а многообразие ответной реакции клеток изученных генотипов карельской березы, по всей вероятности, определяется спецификой клеточных систем восприятия сигнала и их потенцией реагировать на цитокинин изменением экспрессии генов первичного и вторичного ответов [3], что расширяет возможности для управления процессами морфо- и органогенеза при клональном микроразмножении ценных генотипов.

Таким образом, изучение регенерационной активности тканей карельской березы *in vitro* показало, что направленность процессов морфо- и органогенеза зависит как от концентрации цитокинина, так и от генотипа исходного растительного материала. Отсутствие экзогенного цитокинина вызывает образование корней и побегов. Напротив, его высокие концентрации стимулируют интенсивное каллусообразование.

- 1. *Кулаева О.Н., Кузнецов В.В.* Аналитический обзор: новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигнальных системах целого растения // Вестник РФФИ. 2004. № 2. С. 20.
 - 2. Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высш. шк., 1989. 464 с.
- 3. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 2. С. 295–319.
- 4. Staden J. van, Zaziloma E., George E.F. Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonist // In: E.F. George, M. Hall, G.J. De Kleck. eds. Plant Propagation by Tissue Culture. 2008. Vol. 1. The Background. Springer, the Netherlands. P. 205–226.

Том 275

Серия биологическая

БИОТЕСТИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Н.С. Погуляева, А.С. Сарсацкая

Приводится пример использования метода оценки твердой фазы биологической жидкости в фитоиндикации и экспресс-оценки состояния окружающей среды промышленного города.

BIOTESTING AND DEFINITION OF QUALITY OF THE CITY ENVIRONMENT BY MEANS OF WOOD PLANTS

N.S. Pogulayeva, A.S. Sarsatskaya

To be resulted an example of use of a method of an estimation of a firm phase of a biological liquid in phytoindications and the express train to an estimation of a state of environment of an industrial city.

Зеленые насаждения, являясь неотъемлемой частью городской экосистемы, участвуют в формировании среды обитания и нормализации жизнедеятельности человека. Установлено, что растения обладают уникальной фильтрующей способностью, поглощают из воздуха и нейтрализуют в тканях значительное количество газообразных поллютантов [2].

В настоящее время методы оценки твердой фазы биологической жидкости очень разнообразны и широко используются в медицине [1]. С их помощью исследователь получает возможность интегрально оценить состав и физико-химические свойства жидкости.

Для эксперимента был выбран метод тезиграфии, описанный Л.А. Мороз [3] и адаптированный к работе с растительным материалом. Растительный фильтрат (РФ) наносили дозатором на предметное стекло. В качестве контроля использовали кристаллограмму водного раствора дихлорида меди.

Сравнительная тезиокристаллография древесных растений выявила отличия структурно-морфологических признаков кристаллограмм дихлорида меди (рис. 1).

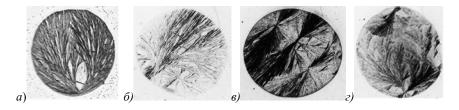


Рис. 1. Кристаллограммы водного раствора дихлорида меди в растительном фильтрате: a — березы повислой; δ — лиственницы сибирской; ϵ — ели сибирской

Выявлено изменение длины кристаллических структур (p=0.028-0.05) в зависимости от вида растения от 7.65 ± 0.2 (березы повислой, лиственницы сибирской) до 1.17 ± 0.03 мм (сосны обыкновенной, ели сибирской) в отличие от контроля (3.89 ± 0.05). Средняя ширина дентрита контрольного образца равна 0.34 ± 0.002 мм.

Для модельного опыта по изучению влияния химических веществ на кристаллогенез в инкубационную среду над растворами свинца, аммиака, серной кислоты и толуола помещали листья березы повислой. На рис. 2 видно, что взятые химические реагенты существенно повлияли на образование кристаллов дихлорида меди.

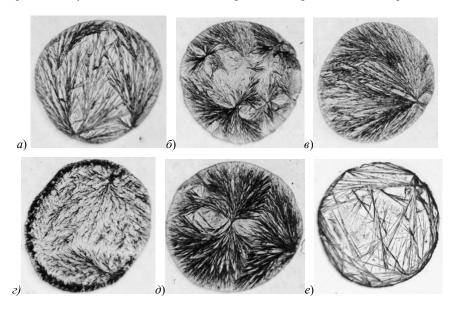


Рис. 2. Кристаллограммы дихлорида меди, полученные в присутствии: $a - P\Phi$; $\delta - P\Phi + Pb$; $\epsilon - P\Phi + NH_3$; $\epsilon - P\Phi + H_2SO_4$; $\delta - P\Phi + Tолуол$; $\epsilon - DH_2O_4$; $\delta - DH_3O_4$; $\delta - DH$

Отмечены изменения не только длины кристаллических структур дихлорида меди, но и смещение центров кристаллообразования (рис. 3). В зависимости от места произрастания березы повислой длина может отличаться от контроля в 1,5–2 раза.

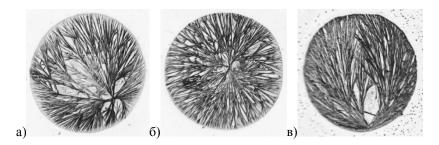


Рис. 3. Кристаллограммы дихлорида меди с фильтратом листьев березы повислой: a — Центральный р-н; δ — Ленинский р-н; δ — Кировский р-н

Полученные тезиокристаллографически результаты вполне согласуются с проведенными ранее исследованиями в области биомониторинга. На модельных пло-

щадках г. Кемерова на протяжении последних лет проводится биоэкологическая оценка, которая показала, что большинство зеленых насаждений являются поврежденными, относятся к II–III классам виталитета. Жизненное состояние растений в городе снижено в 1,5 раза [4].

Таким образом, проведенные исследования по изучению структуры и характера изменения кристаллического рисунка дихлорида меди в зависимости от химических веществ и биологического субстрата, показали возможность применения методов тезиографии в фитотестировании и использования в качестве экспрессоценки состояния не только растений, но и среды их обитания.

- 1. *Мартусевич А.К., Воробьев А.В., Камакин Н.Ф., Зимин Ю.В.* Методы хромокристаллоскопии в свете современной биокристалломики: сущность, роль, перспективы // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2009. №1. С. 78–83
- 2. Петункина Л.О., Ковригина Л.Н., Лыбина Л.М. и ∂p . Разработка системы контроля за состоянием зеленых насаждений промышленного города // Проблемы озеленения городов: альманах. М.: Прима-М, 2004. Вып. 10. С. 152–155.
- 3. *Кристаллографический* метод исследования биологических субстратов: Методические рекомендации / Л.А. Мороз и соавт. М., 1981. 10 с.
- 4. *Сарсацкая А.С.* Биоэкологическая оценка зеленых насаждений и их роль в трансформации серосодержащих поллютантов промышленного города // Вестник молодых ученых МГУ «Ломоносов». Вып. 3. М.: Макс Пресс, 2007. С. 250–253.

Том 275

Серия биологическая

РЕОРГАНИЗАЦИЯ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА ПРИ ГРАВИСТИМУЛЯЦИИ КОРНЕЙ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА¹

Г.А. Пожванов, Д.В. Суслов, С.С. Медведев

Приводятся экспериментальные данные о реорганизации актиновых микрофиламентов в корнях pacmeний Arabidopsis thaliana при гравитропической реакции, а также обсуждается взаимосвязь перестроек актинового цитоскелета с транспортом фитогормона ИУК.

REORGANIZATION OF ACTIN CYTOSKELETON DURING GRAVISTIMULATION OF ARABIDOPSIS ROOTS

G.A. Pozhvanov, D.V. Suslov, S.S. Medvedev

The present research is focused on the actin microfilament reorganization in gravitropic reaction of Arabidopsis thaliana roots. Relationship between the actin cytoskeleton rearrangement and auxin transport is also discussed.

Растения существуют в непосредственном контакте с окружающей средой в системе координат, которую задают факторы среды – направление действия силы тяжести, свет и проч. Реакция растения на изменение своего положения в пространстве реализуется посредством ростового процесса, тропизма. Ростовым ответом на переориентацию относительно вектора силы тяжести является гравитропизм. Как ростовой процесс гравитропизм регулируется фитогормоном ауксином (индолил-3-уксусная кислота, ИУК). Неравномерное распределение ИУК в верхней и нижней части корня или побега обеспечивает различные скорости роста, в итоге приводя растение в нормальное положение. Направление полярного транспорта ауксина в ткани растения определяется активностью специфических белковых переносчиков семейства PIN. Белки PIN1, PIN2, PIN3 играют главную роль в перераспределении ИУК в ходе гравитропической реакции [1]. Расположение белков PIN на плазматической мембране обусловлено процессом везикулярной секреции в клетке, который у растений ассоциирован с моторными белками, связывающимися с актиновым цитоскелетом [2, 3]. Эксперименты, связанные с обработкой корней растений Arabidopsis thaliana L. ингибиторами актинового цитоскелета, показывают, что правильная организация актинового цитоскелета крайне важна для размещения белков PIN в плазматической мембране и полярного транспорта ИУК.

 $^{^{1}}$ Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 08-04-00566а), Правительства города Санкт-Петербурга для молодых учёных — студентов и аспирантов вузов Санкт-Петербурга (проект 2.6/22-04/004).

В данной работе мы изучали динамику актиновых микрофиламентов в клетках стелы и паренхимы корня при переориентации корней арабидопсиса относительно вектора силы тяжести.

Работу проводили на 6-суточных проростках трансгенных растений Arabidopsis thaliana L. DR5::GUS. Эти растения трансформированы ауксин-чувствительным промотором, контролирующим экспрессию репортерного фермента глюкуронидазы, что даёт возможность также определять концентрацию фитогормона ИУК [4]. Растения, выращенные специальным образом на стёклах в вертикальном положении, поворачивали на 90° относительно вектора силы тяжести и фиксировали в 1,5 % параформальдегиде (актин-стабилизирующий буфер, рН 7.0). В работе исследовали организацию актинового цитоскелета после 15, 30, 60 и 120 мин гравистимуляции. Визуализацию актиновых микрофиламентов осуществляли с помощью обработки родамин-фаллоидином. Тотальные препараты проростков арабидопсиса анализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Leica TCS SPE (лазер 532 нм). Визуально и в программе Adobe Photoshop анализировали максимальные проекции оптических срезов, соответствующих центральной области в области апикальной меристемы или стелы в зоне растяжения корня. Для оценки искривлённости актиновых микрофиламентов был предложен индекс искривлённости, учитывающий густоту микрофиламентов и их отклонение от аксиального направления. На конфокальное изображение наносили сетку, в которой 8 аксиальных линий располагали параллельно оси корня с интервалом 2,3 мкм, а 8 радиальных линий помещали перпендикулярно аксиальным с интервалом 4,6 мкм (рис. 2). Индекс искривлённости рассчитывали по формуле

$$i_{curv.} = \sum n_{axial} / \sum n_{radial} \; , \label{eq:curv.}$$

где $n_{\rm axial}$ и $n_{\rm radial}$ — число пересечений аксиальных и радиальных линий соответственно. Полученные индексы для каждого варианта опыта нормировали на индекс искривлённости актиновых микрофиламентов в контроле и представляли в виде гистограммы.

Микрофиламенты F-актина хорошо выявлялись в стеле в зоне растяжения корня, гораздо слабее в паренхиме коры корня и в области апикальной меристемы. Актиновый цитоскелет в стеле представлен преимущественно толстыми пучками филаментов, которые расположены аксиально и до начала гравистимуляции являются относительно прямыми. В клетках коры корня актиновые филаменты также расположены в основном аксиально, но более неоднородны.

Выявлено, что уже после 15 мин гравистимуляции происходят значительные изменения в строении актинового цитоскелета клеток стелы в зоне растяжения. Происходит частичная фрагментация и искривление микрофиламентов, сопровождающиеся нарушением их аксиальной ориентации. После 30 мин гравистимуляции микрофиламенты актина также в значительной степени искривлены и ориентированы преимущественно аксиально. Кроме того, после 15 и 30 мин гравистимуляции отмечено усиление фонового окрашивания. После 60 мин гравистимуляции актиновый цитоскелет клеток стелы переходной зоны корня напоминает цитоскелет контрольных растений, однако отдельные микрофиламенты по-прежнему искривлены. Кроме того, в коре корня появляются отдельные толстые пучки микрофиламентов преимущественно аксиальной ориентации. В зоне апикальной меристемы корня не было обнаружено значительных изменений актинового цитоскелета, кроме появления кольцевых образований, не связанных с ядрами клеток.

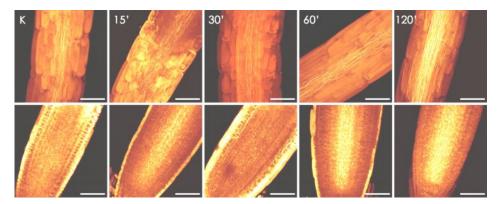


Рис. 1. Реорганизация актинового цитоскелета в зоне растяжения (верхний ряд) и в области апикальной меристемы корня арабидопсиса (нижний ряд) при гравистимуляции в течение 15–120 мин

Видно, что после 15 мин гравистимуляции актиновые микрофиламенты в зоне растяжения искривлены и частично фрагментированы. После 30 мин гравистимуляции в зоне растяжения корня также нарушена аксиальная ориентация актиновых микрофиламентов. После 60 и 120 мин организация актиновых микрофиламентов напоминает исходную (до гравистимуляции, К). В области апикальной меристемы корня не наблюдается значительных изменений в организации актиновых микрофиламентов.

Актиновый цитоскелет визуализирован с помощью окрашивания родаминфаллоидином. Каждое изображение является суммарной проекцией 56 оптических срезов. Масштабная линейка 50 мкм.

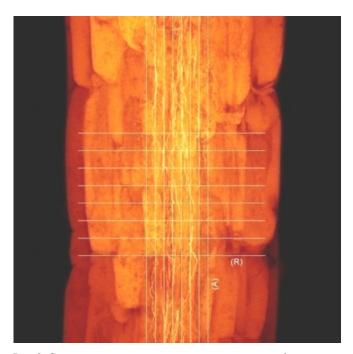


Рис. 2. Схема подсчёта индекса искривлённости микрофиламентов в зоне растяжения корня арабидопсиса. Учитывают число пересечений актиновых филаментов с аксиальными линиями (A) и относят к числу пересечений с радиальными линиями (R)

Значения индекса искривлённости актиновых микрофиламентов возрастают более чем в два раза за первые 15 мин эксперимента, достигая 2,38, а к 30-й мин гравистимуляции снижается до 2,15 и далее приближается исходному значению (1,53 после 60 мин, 1,31 после 120 мин).

Сопоставление результатов работы с исследованиями, ранее выполненными в нашей лаборатории [4], показывает, что события, связанные с реорганизацией актинового цитоскелета в корнях, в первые минуты гравистимуляции предшествуют и появлению латерального градиента ИУК (60÷90 мин), и развитию ростовой реакции. Известно, что сеть актиновых микрофиламентов имеет непосредственное отношение к процессам везикулярной секреции. Возможно, гравитационный стимул на этапе рецепции или трансдукции сигнала, природа которого пока не ясна, каким-то образом меняет ориентацию актиновых микрофиламентов в корне, что изменяет место локализации белков PIN. Таким образом, сеть актиновых микрофиламентов в пределах ткани может задавать направление полярного транспорта ауксина благодаря специфическому расположению переносчиков PIN. В итоге ИУК переходит в нижнюю часть корня, тормозит рост корня в этой части и приводит к развитию гравитропического изгиба. Создаётся впечатление простой детерминированности ростовой реакции на переориентацию растения в поле силы тяжести, однако это не так. В литературе появляются сведения о сложных взаимосвязях и взаимовлиянии ИУК и актинового цитоскелета на процессы полярного транспорта ауксина, везикулярной секреции и пространственной организации актиновых микрофиламентов [5, 6].

- 1. Friml J. Auxin transport shaping the plant // Current opinion in plant biology. 2003. Vol. 7(9). P. 423.
- 2. Paponov I., Teale W., Trebar M. et al. The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives // Trends in plant science. 2005. Vol. 10(4). P. 171–177.
- 3. *Muday G., Peer W., Murphy A.* Vesicular mechanisms that control auxin transport polarity // Trends in plant science. 2003. Vol. 8(7). P. 301–304.
- 4. Пожванов Г.А., Медведев С.С. Метод количественной оценки содержания ауксина по гистохимическому окрашиванию на активность GUS под контролем ауксин-чувствительного промотора // Физиология растений. 2008. Т. 55(5). С. 786—792.
- 5. Nick P., Han M.-J., An G. Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments // Plant Physiology. 2009. Vol. 151. P. 155-167.
- 6. Paciorek T., Zazimalova E., Ruthardt N. et al. Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells // Nature. 2005. Vol. 435. P. 1251–1256.

Том 275

Серия биологическая

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ *NICOTIANA ТАВАСИМ* КАК ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ НУКЛЕАЗ В ПРОТИВОВИРУСНОМ ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ¹

А.В. Савельева, Е.А. Трифонова

Описано создание трансгенных растений табака с увеличенным уровнем экстраклеточной нуклеазной активности, представляющих собой новую генетическую модель для изучения роли нуклеаз в вирусоустойчивости.

TRANSGENIC NICOTIANA TABACUM PLANTS AS A NEW MODEL TO STUDY THE ROLE OF NUCLEASES IN PLANT RESISTANCE TO PATHOGENIC VIRUSES

A.V. Savelyeva, E.A. Trifonova

Transgenic plants with elevated level of extracellular nuclease activity were described. These plants present a new model for investigation of the functional role of apoplastic nucleases in antiviral immunity.

Долгое время получение сортов с повышенной вирусоустойчивостью являлось задачей селекции. С появлением в 70-х генной инженерии получил развитие подход, основанный на трансгенезе. Существующие на данный момент подходы к выбору трансгена для создания растений с повышенным уровнем вирусоустойчивости можно разделить на два основных направления: основанные на экспрессии генов патогенного происхождения и основанные на экспрессии генов, направленных на подавление патогена. В качестве трансгенов в первом случае используют гены вирусных белков оболочки [1], транспортных белков [2], вирусных репликаз [3], некодирующие белок участки вирусного генома [4]. Добиться высокого уровня вирусоустойчивости удавалось лишь по отношению к вирусам, близкородственным к источнику трансгена.

Использование трансгенов, направленных на подавление патогена, позволило устранить эту проблему, поскольку в данном случае идет воздействие на «общий» процесс для всех растительных вирусов. В качестве целевых генов сегодня применяют гены, кодирующие компоненты сигнальных путей высших растений, например гены PR-белков [5], гены рибосом-инактивирующих белков растений [6], рибозимы [7], нуклеазы [8].

В ряде работ были получены линии растений, экспрессирующие PR-белки. Выяснилось, что гиперэкспрессия какого-либо PR-белка в тканях растения не обеспечивает желаемого уровня устойчивости к широкому кругу патогенов, за исключением представителей семейства PR-10, которыми являются внутриклеточные рибо-

 $^{^1}$ Работа поддержана грантом РФФИ (№09-02-01452-а) и в рамках программы РАН «Биологическое разнообразие» .

нуклеазы [9]. Недостаток использования генов рибосом-инактивирующих белков заключается в том, что растения способны накапливать их, это в дальнейшем обусловливает стерильность генетически модифицированных растений.

Получение вирусоустойчивости широкого спектра остается трудной задачей, поскольку в большинстве случаев удается получить устойчивость к одному вирусу или группе родственных вирусов. В работе Ватанабе (2005) было показано, что экспрессия внутриклеточной двуцепочечной дрожжевой рибонуклеазы рас1 позволяет получать растения, устойчивые к широкому спектру вирусов. Однако использование цитотоксичного фермента и экспрессия его во внутриклетоное пространство являются недостатком данного метода. В 2007 г. в работе Трифоновой было показано, что экспрессия в растениях экстраклеточной панкреатической РНКазы Bos Taurus, гидролизующей одноцепочечный субстрат, также повышает уровень вирусоустойчивости растений к ВТМ относительно нетрансгенного контроля [10]. В нашей лаборатории последние подходы были объединены, в качестве целевой последовательности выбран ген экстраклеточной нуклеазы Serratia marcescens, гидролизующей как одноцепочечную, так и двуцепочечную РНК с предпочтением двуцепочечного субстрата. Выбор такой неспецифической нуклеазы позволит оказывать воздействие не только на РНК-содержащие, но и на ДНК-содержащие вирусы растений.

Нами было запланировано получение трех генетических конструкций, содержащих различные варианты гена секреторной нуклеазы *S. marcescens*:

- ген нуклеазы *S. marcescens*, поставленный под контроль 2'-промотора гена маннопинсинтазы, индуцируемого при повреждении ткани (pC27s);
- ген нуклеазы *S. marcescens*, поставленный под контроль сильного конститутивного промотора 35S PHK вируса мозаики цветной капусты (pEarlyGate101 nat);
- химерный ген, состоящий из безлидерного гена нуклеазы *S. marcescens* и нуклеотидной последовательности, кодирующей сигнальный пептид экстраклеточной рибонуклеазы *Z. elegans*, поставленный под контроль 35S-промотора (pEarlyGate101 chim).

Первая конструкция была получена классическим рестриктазно-лигазным способом, остальные две — GATEWAY-методом. Полученные генетические конструкции переносили в растения *Nicotiana tabacum* линии SR1 при помощи агробактериальной трансформации по методу, описанному Deblare с некоторыми модификациями в зависимости от используемого селективного агента [11].

Все полученные регенеранты были протестированы на уровень нуклеазной активности в грубых листовых экстрактах, которая оценивалась путем измерения изменения количества кислоторастворимого материала в препарате высокомолекулярной РНК. Обработка полученных данных (таблица) с помощью модели однофакторного дисперсионного комплекса показала, что полученные для каждой конструкции регенеранты достоверно отличаются повышенным уровнем рибонуклеазной активности относительно нетрансгенного контроля с $p \ge 0,999$.

Линии рас- тений	pC27s (A1)	pEarlyGate101 nat (A2)	pEarlyGate101 chim (A3)	SR1 (A4)	a=4
1	2	3	4	5	6
№ измере- ния	ОД ₂₆₀ , г				
1	2,1	1,8	2,5	1,2	
2	1,9	2	2,1	1,1	
3	1,9	1,9	2,4	1,1	
4	2,2	2,6	2,4	1	
5	1,9	2,7	2	1,3	

Однофакторный дисперсионный комплекс

0	
Окончание	таолииы

1	2	3	4	5	6	
7	2	2,7	2,5	1,2		
8	2,25	2,5	2	1,3		
9	2,3	2,65	2,3	1,3		
10	1,7	2,15	2,5			
11	1,75	2	2			
12	1,95	2,15	2,3			
13	2,3	2,8	2			
14	2,8	2,7	1,9			
15	2,5	2,9	2			
n_i	15	15	15	9	N=54	
\overline{X}	2,097	2,423	2,207	1,19		
Σx_i	31,45	36,35	33,1	10,7	$\Sigma\Sigma x_i=111,6$	
Σx_i^2	67,18	90,09	73,7	12,81	$\Sigma\Sigma x_{i}^{2}=244,24$	
$h=(\Sigma x_i)^2/n_i$	65,94	88,09	73,04	12,72	$\Sigma h=239,79$ $H=(\Sigma \Sigma x_i)^2/N=$ =230,64	

Примечание. n_i – число измерений в отдельной градации; x_i – значение отдельного измерения признака; N – общее количество измерений.

Были получены первичные данные анализа спектра белков с рибонуклеазной активностью в экстрактах трансгенных и контрольных растений в SDS-полиакриламидном геле с добавлением РНК в матрикс разделяющего геля. В результате в белковом экстракте трансгенного растения линии pC27s было зафиксировано появление не характерного для нетрансгенного контроля бэнда, соответствующего по молекулярной массе нуклеазе Serratia marcescens.

Созданные модельные растения после дальнейшего исследования могут быть использованы как для улучшения сортовых качеств культурных растений, так и для фундаментальных исследований роли экстраклеточных нуклеаз в противовирусном иммунитете.

- 1. Beachy R. Introduction: transgenic resistance to plant viruses // Semin. Virol. 1994. Vol. 4. P. 327–328.
- 2. Malyshenko S., Kondakova Ö., Nazarova J. et al. Reduction of tobacco mosaic virus accumulation in transgenic plants producing non-functional viral transport proteins // J. Gen. Virol. 1993. Vol. 74. P. 1149.
- 3. Golembovski D., Lomonossoff G., Zaitlin M. Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 6311.
 - 4. Baulcombe D. RNA silencing in plants // Nature. 2004. Vol. 431. P. 356–363.
- 5. Broglie K., Chet I., Holliday M., et al. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen Rhizoctonia solani // Science. 1991. Vol. 254. P. 1194.
- 6. Wang P., Tumer N. Virus resistance mediated by ribosome inactivating proteins // Adv. Virus Res. 2000. Vol. 55. P. 325–355.
- 7. Huttner E., Tucker W., Vermeulen A. et al. Ribozyme genes protecting transgenic melon plants against potyviruses // Curr. Issues Mol. Biol. 2001. Vol. 3. P. 27.
- 8. Watanabe Y., Ogava T., Takahashi H. Resistance against Multiple Plant Viruses in Plants Mediated by Double Stranded-RNA Specific Ribonuclease // FEBS Letters. 1995. № 372. P. 165–168.
- 9. *Трифонова Е.А, Кочетов А.В., Шумный В.К.* Молекулярные механизмы системной устойчивости растений к вирусным инфекциям и способы повышения вирусоустойчивости путем трансгенеза // Успехи совр. биол. 2007. Т. 127. №1. С. 13–24.
- 10. *Trifonova E.A., Sapotsky M.V., Komarova M.L. et al.* Protection of transgenic tobacco plants expressing bovine pancreatic ribonuclease against tobacco mosaic virus // Plant Cell Rep. 2007. P. 891–901.
- 11. Deblaere R., Reynaerts A., Hofte H. et al. Vectors for Cloning in Plant Cells // Meth. Enzymol. 1987. Vol. 153. P. 277–292.

Том 275

Серия биологическая

ЖИЗНЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ОСОБЕЙ THYMUS PETRAEUS SERG. И ИХ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ В ХАКАСИИ

И.Н. Сафронова, Е.Б. Колегова

Проведено исследование жизненного состояния особей и ценопопуляций Thymus petraeus Serg. в степных растительных сообществах Хакасии. Жизненное состояние особей всех онтогенетических состояний находится на среднем уровне. Жизненное состояние ценопопуляций зависит от числа особей в разных онтогенетических состояниях, субстрата, эколого-ценотических условий.

VITALITY SPECIAL *THYMUS PETRAEUS* SERG. AND THEIR COENOPOPULATIONS IN KHAKASSIA

I.N. Safronova, E.B. Kolegova

The study of living conditions of individuals and coenopopulations Thymus petraeus Serg. in the steppe plant communities of Khakassia. Living conditions of individuals of all ontogenetic states is on average level. Living conditions of the coenopopulations depends on the number of individuals in different ontogenetic states of the substrate, environmental cenotic conditions.

В настоящее время адекватная оценка жизненного состояния растений признается необходимой частью их изучения и является одной из важнейших задач популяционной биологии. Особенно актуальным является изучение жизненного состояния ценопопуляций (ЦП) лекарственных растений, поскольку полученные данные позволяют говорить об их состоянии в природе. В связи с этим целью данного исследования стало изучение жизненного состояния ЦП лекарственного растения тимьяна каменного *Thymus petraeus* Serg. в степных растительных сообществах Хакасии. Исследование проводили в двух ЦП. ЦП 1 изучена на территории государственного природного заповедника «Хакасский», участок «Оглахты», в кустарниковой дифазиево-тимьяновой настоящей степи, в петрофитном ее варианте. Общее проективное покрытие (ОПП) травяного яруса 30 %, проективное покрытие (ПП) вида 5 %. ЦП 2 изучена в Боградском районе, в окрестностях села Первомайское, в ковыльной крупнодерновинной степи. ОПП травяного яруса — 55 %, ПП вида – 5 %.

В ходе исследования в природных условиях в каждой ЦП была изучена жизненность более 250 особей вида [1, с. 44–61]. При этом особи распределяли по онтогенетическим состояниям и учитывали: число скелетных осей (СО), длину СО, число генеративных, вегетативных и отмерших побегов на растении, число придаточных корней, диаметр и высоту куста. Далее для каждого онтогенетического состояния определили 3 балла жизненности и провели распределение особей *Т. реtraeus* по баллам. В статистически обработанном виде полученные результаты представлены в таблице:

	Соотношение жизне	нности	особей :	Thymus	petraeus	Serg. и	их ценоп	опуляциі	И
№ ЦП	Онтогенетическое состояние	Число особей с определенным баллом			F	n	P	P_{max}	$P_{\text{отн}}$
		1	2	3					
	V	3	40	6	2,1	3,1			
1 -	g ₁	5	33	14	2,2	3,3	0,77	37,00	0,02
	g_2	1	5	1	2,0	0,5			
	g_3	_	18	2	2,1	1,3			
	SS	3	24	2	2,0	3,6			
	S	2	7	1	2,0	0,6			
2	V	3	10	1	1,8	0,8			
	g_1	4	19	2	2,0	1,6			
	g_2	2	7	-	1,7	0,6	0,70	15,30	0,04
	g_3	13	10	2	1,6	1,6	0,70	15,50	0,04
	SS	2	1	3	2,2	0,4			

 Π римечание. F — средний балл жизненности каждой онтогенетической группы; n — среднее число особей в каждом онтогенетическом состоянии на единицу площади; P — показатель жизненности ЦП; $P_{\text{мах}}$ — максимальный показатель жизненности ЦП; $P_{\text{отн}}$ — относительный показатель жизненности ЦП.

2.0

Анализ таблицы показал, что среди особей T. petraeus всех онтогенетических состояний в ЦП нет таких, для которых значение среднего балла жизненности было бы максимальным и составило 3. Данный показатель практически одинаков у особей всех ЦП и не превышает 2,2. Показатель жизненности в изученных ЦП отличается незначительно. В ЦП 1 он составляет 0,77 при максимально возможном 37,00, в ЦП 2-0,70 при максимально возможном 15,30. Незначительная разница жизненности ЦП, вероятно, связана с тем, что первая из них, располагаясь на территории заповедника, практически не подвержена выпасу, что способствует сохранению целостности особей и, как следствие, увеличению длительности жизни генеративных особей.

Относительный показатель жизненности ЦП определяется как отношение показателя жизненности ЦП к максимально возможной жизненности на данной площади и изменяется от 0 до 1. Чем ближе значение данного показателя к 1, тем выше жизненность ЦП [2]. Рассчитанный показатель относительной жизненности изученных ЦП подтверждает их низкий уровень, на это указывают и показатели максимальной жизненности.

Таким образом, учитывая средний балл жизненности онтогенетических групп особей T. petraeus, можно представить средний облик изучаемого вида в каждом онтогенетическом состоянии, в конкретных условиях. Встречаемость особей с определенным баллом жизненности позволяет представить реальное соотношение особей разной жизненности в выборке.

- 1. Воронцова Л.И., Гатиук Л.Е., Ермакова И.М. Жизнеспособность особей в ценопопуляции // Ценопопуляции растений (основные понятия и структура). М.: Наука, 1976. С. 44–61.
- 2. *Быченко Т.М.* Методы популяционного мониторинга редких и исчезающих видов растений Прибайкалья: Учеб. пособие. Иркутск, 2008. 164 с.

Том 275

Серия биологическая

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В ЖЕНСКИХ СОЦВЕТИЯХ *ВЕТULA PENDULA* ROTH В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ¹

О.С. Серебрякова, Т.Ю. Кузнецова, Л.В. Ветчинникова

Впервые изучены содержание и динамика пигментов в пестичных дихазиях березы повислой (Betula pendula Roth) и березы карельской (Betula pendula var. carelica (Mercklin) Hämet-Ahti) в процессе их развития в весенне-летний период. Установлено, что в начале внепочечного развития в женских соцветиях содержится в три раза больше хлорофилла а по сравнению с хлорофиллом b. После оплодотворения, несмотря на активное развитие фотосинтетического аппарата, эти различия становились менее существенными.

DYNAMICS OF PIGMENT CONTENT IN THE FEMALE INFLORESCENCES BETULA PENDULA ROTH IN SPRING-SUMMER PERIOD

O.S. Serebrajkova, T.Ju. Kuznetsova, L.V. Vetchinnikova

For the first time studied the content and dynamics of the pigments in the pistillate dihaziyah birch Betula pendula Roth and Karelian birch Betula pendula var. carelica (Mercklin) Hämet-Ahti in their development process in the spring-summer. Found that in the beginning of extrarenal development in female inflorescences contained three times more chlorophyll a than chlorophyll b. After fertilization, despite the active development of the photosynthetic apparatus, these differences became less significant.

Одним из важнейших процессов полового размножения растений является оплодотворение. Оно включает три основные фазы: опыление, прорастание пыльцы и рост пыльцевой трубки в тканях пестика и собственно оплодотворение или образование зиготы [1]. После оплодотворения формирующиеся семена становятся основным аттрагирующим центром питательных веществ и фитогормонов, которые обычно поступают из листьев [2]. Анатомо-морфологически эти процессы исследованы у многих покрытосеменных растений. Физиолого-биохимические аспекты оплодотворения и формирования семян интенсивно изучаются, однако ведутся они преимущественно на травянистых растениях. Древесные растения в этом плане изучены крайне слабо, хотя именно они могут быть модельными объектами, поскольку у некоторых из них (береза, ольха, ива и т.д.) процесс цветения опережает формирование вегетативной сферы.

Целью наших исследований явилось изучение динамики содержания пигментов (хлорофиллов a, b и суммы каротиноидов) в женских сережках $Betula\ pendula$ Roth по мере их внепочечного развития в весенне-летний период.

¹ Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: фундаментальные основы рационального использования».

Основными объектами были береза повислая (Betula pendula Roth) и береза карельская (Betula pendula var. carelica (Mercklin) Нämet-Ahti), произрастающие на экспериментальных участках Института леса Карельского научного центра РАН, расположенных в окрестностях г. Петрозаводска (Республика Карелия). Материалом для исследований служили женские ($\stackrel{\frown}{+}$) соцветия, сбор которых проводили в соответствии с фазами их внепочечного развития в весенне-летний период (с мая по июль): І фаза — удлинение дихазий при сохранении зеленого окраса; ІІ — развитие «воспринимающих» рылец, появление бордового окраса; ІІ — рост зародыша за счет деления клеток (вслед за опылением и оплодотворением); ІV — рост зародыша путем растяжения клеток; V — начало созревания плодов (семян). Для экстракции пигментов использовали 96 %-ный этиловый спирт [3, 4]. Спектрофотометрически в одной вытяжке определяли содержание хлорофилла a, хлорофилла b и суммы каротиноидов [4, 5].

Согласно полученным данным, наибольшее накопление пигментов (от 0,45 до 0,78 мг/г сырой навески) (рис. 1) у изученных видов березы происходило в хлоропластах, содержащихся в тканях соцветия, на этапе подготовки пестичных дихазий к опылению и оплодотворению. Это означает, что весной, когда листья еще не сформировались, женские соцветия участвуют в реализации фотосинтетической функции. По мере дальнейшего развития зародышей содержание пигментов снизилось почти в три раза.

Исследования показали, что в период весенне-летнего развития в пестичных дихазиях содержалось в три раза больше хлорофилла a по сравнению с хлорофиллом b (рис. 2). После оплодотворения, несмотря на активное развитие фотосинтетического аппарата, эти различия становились менее существенными.

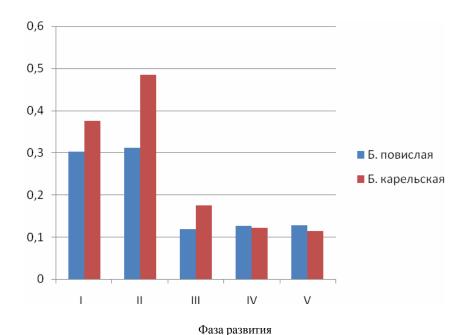


Рис. 1. Общее содержание пигментов (в мг/г сырой массы) в женских сережках березы повислой и березы карельской в весенне-летний период развития

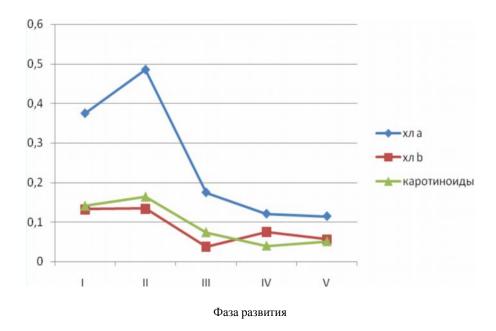


Рис. 2. Динамика содержания хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и суммы каротиноидов (в мг/г сырой массы) в женских сережках карельской березы в весенне-летний период развития

Отмечено, что содержание общего фонда пигментов выше у карельской березы по сравнению с березой повислой, однако достоверно оно различается в фазу удлинения дихазий и развития «воспринимающих» рылец. Различия между видами в концентрации каротиноидов выражены в меньшей степени. Поэтому отношение суммы хлорофилла (a+b) / сумма каротиноидов в период подготовки к оплодотворению составило у березы карельской 3,6, а у березы повислой — 2,8. Увеличение содержания желтых пигментов в фазу роста зародыша (см. рис. 2), вероятно, обеспечивало защиту молекул хлорофилла от разрушения [1].

Таким образом, развитие женских соцветий *Betula pendula* Roth в весеннелетний период сопровождалось существенным изменением количества пигментов: максимальное их содержание наблюдалось в фазу подготовки пестичных дихазий к опылению. После оплодотворения в женских сережках березы содержание пигментов снизилось в три раза, что, вероятно, связано с активным формированием ассимилирующей поверхности у растений.

- 1. Полевой В.В. Физиология растений. М.: Высш. шк., 1989. 464 с.
- 2. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Высш. шк., 2006. 742 с.
- 3. Сахаров О.В. Определение пигментов в пластидах зеленых растений // Методы комплексного изучения фотосинтеза. Л., 1969. С. 165–180.
- 4. Бикмуллин Р.Х., Кулагин А.А. Об эколого-физиологических особенностях березы повислой (Betula pendula Roth) в условиях нефтехимического загрязнения окружающей среды на примере г. Казань // http://www.gbsad.ru/lapin/fisiol drev rast.pdf
- 5. Туманов В.Н., Чирук С.Л. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза. Гродно: Изд-во ГРУ им. Я. Купалы, 2007. 62 с.

ЯВЛЕНИЕ ГИБРИДИЗАЦИИ ПРОГРАММ РАЗВИТИЯ В МОРФОГЕНЕЗЕ СОЦВЕТИЯ МУТАНТА *DETERMINATE* ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)¹

А.А. Синюшин

Описана гибридизация программ развития при формировании соцветия мутанта determinate гороха посевного (Pisum sativum L.), приводящая к образованию органов (листа и цветоноса в его пазухе) переходной структуры.

PHENOMENON OF HYBRIDIZATION OF DEVELOPMENTAL PROGRAMS IN MORPHOGENESIS OF INFLORESCENCE OF *DETERMINATE* MUTANT OF GARDEN PEA (*PISUM SATIVUM* L.)

A.A. Sinjushin

The hybridization of developmental programs during formation of inflorescence of determinate mutant of garden pea (Pisum sativum L.) is described. It leads to appearance of structures (axillary flower-bearing axis and its subtending leaf) of intermediate type.

Морфогенез растений связан с активностью образовательных тканей (меристем), среди которых одной из наиболее важных является апикальная меристема (АМ) побега. Она закладывается в виде почечки зародыша и обычно функционирует в течение всей жизни растения. Один из компонентов ее деятельности – поддержание пролиферативной активности или (в определенный момент) формирование терминальных структур – цветка, соцветия. У основных модельных объектов генетики развития растений – *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae), *Antirrhinum majus* L. (Scrophulariaceae s.l.) и *Pisum sativum* L. (Fabaceae) – АМ остается недифференцированной в процессе нормального онтогенеза, т.е. формирует только органы в латеральном положении (листья, цветки, пазушные оси).

У гороха посевного (*P. sativum*) известен мутант *determinate* (*det*), формирующий в терминальном положении цветонос (рис. 1). Этот мутант послужил исходным материалом при создании ряда высокопродуктивных форм [1]. Нуклеотидная последовательность и экспрессия гена *DET* изучены хорошо [2], однако особенности фенотипического проявления мутации *det* нуждаются в уточнении, которое было проведено в рамках представленной работы.

Фенотип мутантов *det* частично описан в ряде работ отечественных и зарубежных авторов [3–5]. При выполнении настоящей работы использованы два источника мутации *det*, отличные от типовой линии JI1358: линии ДТР (и созданная на ее основе линия ДТР(м); мутация det в этих линиях происходит от мутанта И.А. Поповой [6]) и «Люпиноид» (донором мутации *det* у этой формы является сорт Детерминантный ВСХИ, созданный на основе детерминантного мутанта А.М. Шевченко [1, 7]).

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 10-04-01480).

Аллельность этих форм была подтверждена при скрещивании в ходе представленной работы; гибриды F_1 (ДТР \times «Люпиноид») обладали детерминантным типом роста. Аллельность линии ДТР и типового носителя мутации \det была показана в работе [8].

У мутантов det в пазухе предпоследнего листа на главной оси формируется цветонос нормальной структуры. В следующем узле зачастую развивается лист измененной структуры (однолисточковый или с крайне редуцированной листовой пластинкой, срастающейся с прилистниками – см. рис. 1, B, Γ). Интересно отметить, что лист такой структуры развивается даже у двойных мутантов det af, у которых листовые пластинки в норме не развиваются (мутация afila (af) приводит к образованию листа, состоящего только из усиков [9]). В пазухе последнего листа формируется цветонос, несущий, как правило, два цветка, которые часто срастаются (т.е. оказываются фасциированными). В терминальном положении развивается цветонос, идентичный нормальному пазушному. Всего на главном побеге формируется до трех цветоносов (см. рис. 1, Б); первый пазушный и терминальный цветут практически одновременно и несколько раньше, чем второй пазушный. Можно заключить, что развитие второго бокового цветоноса (предшествующего терминальному) подавлено. У многоцветковой линии ДТР среднее число цветков в первом боковом цветоносе составило $4{,}40 \pm 0{,}06$, во втором $-4{,}13 \pm 1{,}13$, в терминаль-нальный цветонос в большинстве случаев несет крупные брактеи, чаще парные.

Необычная структура последнего пазушного цветоноса может быть интерпретирована следующим образом. Его примордий оказывается в области генетической регуляции, присущей цветку (пазушному органу на оси терминального цветоноса). Иными словами, этот примордий по положению оказывается принадлежащим и главному вегетативному побегу (как зачаток пазушного цветоноса), и терминальному соцветию (как зачаток цветка). Вследствие гибридизации программ развития последний лист обладает признаками редукции (сходен с брактеей), а последний пазушный цветонос — признаками цветка.

Отметим, что «det-подобные» формы отмечаются и у других бобовых. Детерминантный тип роста используют при селекции бобов Vicia faba L. [1]. В ходе проведенных наблюдений удалось обнаружить детерминантные формы в популяциях люцерны, Medicago falcata L. и M. lupulina L. (см. рис. 2), в Западном Подмосковье (Истринский и Рузский районы).

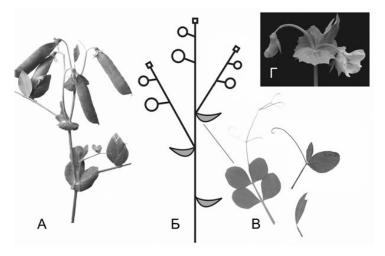


Рис. 1. Соцветие муганта det (линия ДТР) – (A); осевая схема (B); варианты строения последнего листа (B); цветкоподобный последний латеральный цветонос (Γ)

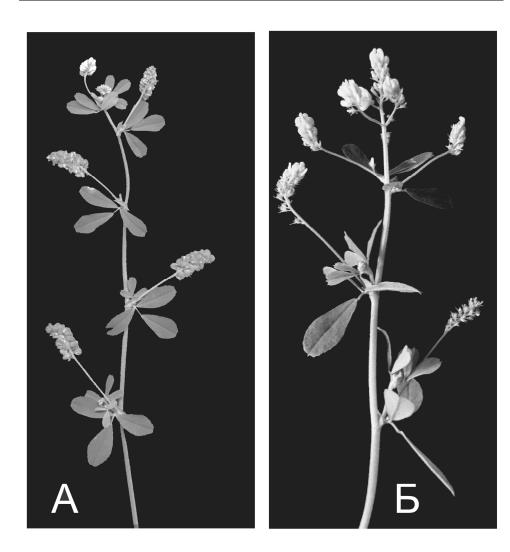


Рис. 2. Морфология соцветий *Medicago lupulina* нормального строения (A) и с детерминантным типом роста (E)

Морфология этих форм подтверждает гипотезу о гибридизации морфогенетических программ в определении строения латеральных цветоносов, непосредственно предшествующих терминальному. У люцерны несколько пазушных кистей, предшествующих терминальной, находятся в пазухах брактей (не листьев) и существенно обеднены.

Таким образом, в ходе развития терминального соцветия у детерминантных форм бобовых (*P. sativum*, *Medicago* p.p.) наблюдается явление гибридизации программ развития. Этот феномен, по-видимому, объясняет постепенную редукцию пазушных цветоносов и кроющих филломов в терминальных соцветиях тех видов, для которых они являются нормальными.

- 1. Кондыков И.В., Зотиков В.И., Зеленов А.Н. и др. Биология и селекция детерминантных форм гороха. Орел, 2006.
- 2. Foucher F., Morin J., Courtiade J. et al. DETERMINATE and LATE FLOWERING are two TERMINAL FLOWERI/CENTRORADIALIS homologs that control two distinct phases of flowering initiation and development in pea // Plant Cell. 2003. Vol. 15. P. 2742–2754.
- 3. Makasheva R.K., Drozd A.M. Determinate growth habit (det) in peas: isolation, symbolization and linkage // Pisum Newslett. 1987. Vol. 19. P. 31–32.
- 4. Swiecicki W.K. Determinate growth (det) in Pisum: a new mutant gene on chromosome 7 // Pisum Newslett. 1987. Vol. 19. P. 72–74.
- 5. Singer S.R., Hsiung L.P., Huber S.C. Determinate (det) mutant of Pisum sativum (Leguminosae: Papilionoideae) exhibits an indeterminate growth pattern // Am. J. Bot. 1990. Vol. 77, № 10. P. 1330–1335.
- 6. Попова И.А. Характеристика некоторых мутантных линий овощного гороха // Химический мутагенез и создание селекционного материала. М., 1972. С. 261–264.
 - 7. Шевченко В.А. Детерминантный неосыпающийся мутант гороха // НТБ ВНИИЗБК. 1993. № 37. С. 8–9.
 - 8. Marx G.A. Supplemental linkage data for chromosome 1 and 7 // Pisum Newslett. 1987. Vol. 19. P. 35–37.
- 9. Gourlay C.W., Hofer J.M.I., Ellis T.H.N. Pea compound leaf architecture is regulated by interactions among the genes UNIFOLIATA, COCHLEATA, AFILA and TENDRIL-LESS // Plant Cell. 2000. Vol. 12. P. 1279–1294.

ХАРАКТЕРИСТИКА МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ${\sf ДЕФИЦИТА}$ ВОДЫ НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ ${\sf ^1}$

М.Д. Тимергалин, Г.В. Шарипова, Д.С. Веселов, Г.Р. Кудоярова

Подобраны условия (температура, освещенность и влажность воздуха) для воспроизведения за относительно короткий срок (в течение 10 дней) в песчаной культуре основных важных стадий реакции на дефицит воды, которые были зарегистрированы ранее в полевых опытах: поддержание транспирации на первой стадии реакции, ее снижение за счет закрытия устьиц — на второй и поддержание оводненности тканей за счет накопления осмотиков — на третьей.

MODEL FOR INVESTIGATION OF WHEAT PLANTS UNDER WATER STRESS

M.D. Timergalin, G.V. Sharipova, D.S. Veselov, G.R. Kudoyarova

Conditions have been chosen for reproducing in rather short term (10 days) under sand culture the main stages of reaction to water deficit observed earlier in field experiments: maintaining transpiration during the first stage, its decline during the second stage and maintaining hydration due to accumulation of osmolites during he the third.

Дефицит воды – один из наиболее важных факторов внешней среды, который приводит к значительным потерям урожая. Изучение того, как растение реагирует на дефицит воды и как эти реакции связаны с формированием засухоустойчивости, представляет несомненный интерес. С точки зрения агрономии засухоустойчивость это способность обеспечивать стабильный урожай в условиях засухи. Отбор засухоустойчивых растений, главным образом, проводят, оценивая урожайность растений в условиях засухи. Вместе с тем в естественных условиях наступление засушливых периодов непредсказуемый процесс, а оценка урожайности требует многолетних трудоемких испытаний. Поэтому не удивительны попытки исследователей выявить физиологические, биохимические и молекулярно-биологические признаки, с помощью которых можно было бы ускорить процесс селекции на засухоустойчивость. В результате многочисленных исследований были выявлены важные особенности реакции растений на дефицит воды, связанные с формированием засухоустойчивости [1]. При этом много внимания уделялось тому, чтобы в лабораторных условиях воспроизвести основные закономерности реагирования растений на засуху, которые проявляются в естественных условиях. В этом плане важно подобрать адекватную модель для проведения исследований. В гидропонической культуре имитация засухи путем добавления нейтральных осмотиков в питательный раствор часто приводит к дефициту кислорода и нарушению поглощения элементов питания. Основной недостаток экспериментов с почвенной культурой заключался в использовании больших объемов субстрата. При этом засуха развивалась медленно. Задача наших исследований состояла в том, чтобы воспроизвести основные описанные в литературе особен-

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект №08-04-97021).

ности реагирования растений на дефицит воды, используя песчаную культуру с относительно небольшим объемом субстрата. Такой поход позволяет свести к минимуму требуемые площади и время проведения экспериментов. Перспективность данной модели связана с тем, что в песчаной культуре дефицит воды наступает быстрее, чем в настоящей почве. Кроме того, использование песка позволяет относительно легко отделять корни и изучать влияние засухи на корневую систему.

Растения пшеницы сорта Безенчукская-139 выращивали в полиэтиленовых стаканах объемом 0,5 л (по 10 растений на горшок). Масса сухого песка в одном стакане составляла 700 г. Перед началом опыта песок насыщали раствором Хогланда – Арнона. Семена растений размещали на глубине 1 см. Опыты проводили в климокамере (Sanyo MDF-351) при 19 °C ночной, 23 °C дневной температурах, 14-часовом световом периоде, 60 % относительной влажности воздуха и освещенности 22000 лкс. В предварительных опытах эти условия были подобраны как оптимальные, обеспечивающие достаточное, но не слишком быстрое испарение воды. Потери воды в результате транспирации контролировали, взвешивая растения 2 раза в день. На 6-й день после посева половину стаканов начали поливать дистиллированной водой, поддерживая относительную влажность на уровне 70 % (контроль). Вторую половину стаканов не поливали, в результате чего относительная влажность песка продолжала снижаться и достигла 30 %-ной на 9-й день после посева растений (опытные растения). Расчеты показали, что благодаря насыщению субстрата раствором Хогланда - Арнона, которое имело место в начале эксперимента, на протяжении самого относительно кратковременного опыта растения не испытывали дефицита ионов. На рис. 1 представлены изменения скорости транспирационных потерь на протяжении эксперимента (10 дней после достижения 70 %-ной влажности песчаного субстрата). Относительное содержание воды определяли, как описано ранее [2[, осмотический потенциал сока из листьев растений – с помощью осмометра (CAMLAB), устьичную проводимость - с помощью порометра (МК Delta-T). Сок из зоны растяжения листьев растений (часть листа, спрятанная в пазухе) собирали после замораживания и оттаивания листьев, гомогенизации и последующего центрифугирования. Длину первого и второго листа и массу побегов и корней измеряли на протяжении эксперимента.

Испарение воды возрастало на протяжении эксперимента в 3 раза у контрольных растений и в 2,5 раза – у опытных (см. рис. 1).

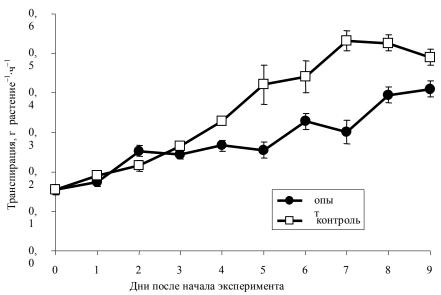


Рис. 1. Влияние засухи на транспирацию растений пшеницы (Представлены средние значения (n=10) трех независимых экспериментов и их стандартные ошибки)

Увеличение транспирации было связано с ростом растений и увеличением площади листьев. Более низкий уровень потери воды опытными растениями, испытывающими дефицит воды, указывает на снижение проводимости их устьиц для паров воды. Этот вывод подтвердили результаты измерений с помощью порометра, которые показали уменьшение устьичной проводимости у опытных растений по сравнению с контрольными в 2,5 раза. Анализ динамики транспирационных потерь показал, что снижение устьичной проводимости у опытных растений по сравнению с контролем происходило лишь к четвертому дню после достижения 70 %-ной влажности песчаного субстрата и возобновления полива контрольных растений. В течение первых трех дней транспирация растений возрастала в одинаковой степени у контрольных и опытных растений. Затем ее уровень продолжал возрастать примерно с той же скоростью у контрольных растений, а у опытных - скорость увеличения транспирации снижалась, и различия по ее уровню между контролем и опытом увеличивались в процессе роста растений и уменьшения влажности субстрата. Эти результаты были получены при тех условиях проведения эксперимента, которые описаны выше. При более высокой температуре и более низкой влажности вода быстрее испарялась из стаканов с растениями и реакция развивалась стремительно (растения быстро увядали, устьичная проводимость была близка к нулевым значениям).

На протяжении всего эксперимента не было обнаружено различий по относительному содержанию воды (ОСВ) в листьях контрольных и опытных растений, которое колебалось в пределах от 95 до 98 %. Колебания уровня ОСВ, вероятно, были связаны с тем, что образцы на анализ брали в разное время суток. Содержание осмотически активных веществ в соке из листьев опытных и контрольных растений также не различалось на протяжении большей части эксперимента, и только в самом конце было зарегистрировано резкое снижение осмотического потенциала в зоне роста листьев опытных растений. Оно составило –1,55 и –1,16 МПа у опытных и контрольных растений соответственно.

Измерение длины листьев не выявило различий по скорости удлинения первого листа опытных и контрольных растений. Различия по длине второго листа между опытными и контрольными растениями проявлялись к моменту его появления на 6-й день эксперимента, когда длина второго листа у опытных растений была на 17 % ниже, чем в контроле. Изменение размеров листа под влиянием дефицита воды было менее значительным, чем изменение скорости транспирации, что еще раз подтверждает, что снижение испарения воды листьями происходило, в основном, за счет закрытия устьиц. Масса всего побега снижалась под влиянием дефицита воды в большей степени, чем масса корня (как сухая, так и сырая). В результате соотношение массы побега и корня в среднем составило 0,86 и 1,1 в контроле и опыте соответственно, что проявлялось уже на 3-й день после начала эксперимента.

Было важно проверить, проявляются ли при данной постановке опыта наиболее важные реакции на дефицит воды, описанные в литературе. Обобщение данных многочисленных полевых и лабораторных опытов позволило выявить 3 фазы реакции растений на постепенное снижение содержания воды в почве [1]. На первой стадии после прекращения полива транспирация поддерживается на уровне растений, получающих достаточное количество воды, на второй — наблюдается снижение транспирации за счет закрытия устьиц. На первой и второй стадии не происходит снижения водного потенциала: сначала за счет поддержания притока воды из корней, затем — за счет снижения ее потери в результате транспирации. На третьей стадии ограничение транспирации уже не способно поддержать водный потенциал растений, но сохранение уровня гидратации может происходить за счет накопления осмотически активных веществ. Как видно из сравнения полученных нами данных с приведенной схемой, наши модельные опыты имитировали все 3 стадии. Сначала

(в течение первых трех дней) растения поддерживали уровень транспирации, затем он снижался, а в конце опыта происходило накопление осмотически активных веществ. На всех трех стадиях относительное содержание воды поддерживалось на уровне хорошо политых растений.

Закрытие устьиц долгое время считали главным механизмом, обеспечивающим защиту растений от засухи [3]. Как и в наших опытах, было показано, что это происходит под влиянием не гидравлического, а химического сигнала, поскольку водный потенциал растений еще не снижается, когда происходит закрытие устьиц. Вместе с тем в последнее время было показано, что в условиях умеренной засухи более важно не закрытие устьиц, а способность растений поддерживать транспирационнный поток [4]. Как известно, закрытие устьиц не может быть панацеей от всех бед, поскольку при этом нарушается газообмен и фотосинтез [5]. В нашем опыте мы не обнаружили снижения скорости роста первого листа, поскольку он перестал расти к четвертому дню, т.е. до того момента, когда произошло закрытие устьиц под влиянием дефицита воды. С появлением второго листа ростингибирующее действие засухи уже начало проявляться, что могло быть связано с подавлением фотосинтеза в результате частичного закрытия устьиц. Таким образом, разработанная нами модель позволяет изучать обе первые стадии реакции растений на дефицит воды. По данным литературы, первая из них важна для растений, растущих в условиях умеренной засухи, а вторая приобретает значение при более сильной засухе [4]. При сильной засухе также важна способность растений накапливать осмотически активные вещества [6], что мы также наблюдали в конце эксперимента. Таким образом, нами подобраны условия (температура, освещенность и влажность воздуха) для воспроизведения за относительно короткий срок (в течение 10 дней) в песчаной культуре основных важных стадий реакции на дефицит воды, которые были ранее зарегистрированы в полевых опытах. В дальнейшем планируется использовать данную модель для исследования роли гормонов в регуляции этих реакций и сравнительного изучения сортов, различающихся по засухоустойчивости.

- 1. Serraj R., Sinclair T.R. Osmolyte accumulation: can it relay help increase crop yield under drought conditions? // Plant Cell Environment. 2002. Vol. 25. P. 333–341.
- 2. *Ахиярова Г.Р., Сабиржанова И.Б., Веселов Д.С., Фрике В.* Участие гормонов в возобновлении роста побегов пшеницы при кратковременном натрий-хлоридном засолении // Физиология растений. 2005. Т. 52, № 6. С. 891–896.
- 3. Davies W.J., Kudoyarova G., Hartung W. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought // Journal of Plant Growth Regulation. 2005. Vol. 24. P. 285–295.
- 4. Chaves M.M., Oliveira M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture // Journal of Experimental Botany. 2004. Vol. 55. P. 2365–2384.
- 5. Jones H.G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration // Journal of Experimental Botany. 1998. Vol. 49. P. 387–398.
- 6. Zhang J., Nguyen H.T., Blum A. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants // Journal of Experimental Botany. 1999. Vol. 332. P. 291–302.

Серия биологическая

АНТИМУТАГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Д.Г. Фатыхова, Я.В. Хилинская, Н.С. Карамова, Й.Р. Абдрахимова, О.Н. Ильинская

Дана оценка антимутагенного потенциала лекарственных растений.

ANTIMUTAGENIC EFFECTS OF MEDICINAL PLANTS

D.G. Fatykhova, J.V. Hilinskaya, N.S. Karamova, J.R. Abdrakhimova, O.N. Ilinskaya

The present research related to evaluation of antimutagenic potential of medicinal plants.

Антропогенная нагрузка ведёт к росту числа изменений генома, лежащих в основе многих наследственных патологий и онкологических заболеваний. Поэтому в этих условиях поиск антимутагенов — соединений синтетического и природного происхождения, защищающих генетический аппарат соматических и половых клеток человека от повреждения, является необходимым. Богатейшим источником полезных лекарственных веществ являются растения. Это источники разнообразных биоактивных соединений (витамины, полисахариды, гликопептиды, аминокислоты, сульфиды, сапонины, полифенолы, терпеноиды, изофлавоны, индолы и другие), обладающие антиоксидантными, антимутагенными, антиканцерогенными и иммуномодулирующими свойствами [1, 2].

Целью настоящей работы явилось исследование антимутагенных эффектов соков и экстрактов лекарственных растений алоэ древовидного (Aloe arborescens L.), золотого уса (Callisia fragrans L)., чистотела большого (Chelidonium majus L.), подорожника большого (Plantago major L.), мать-и-мачехи обыкновенной (Tussilago farfara L.), сныти обыкновенной (Aegopodium podagraria L.), диоскореи дельтовидной (Dioscorea deltoidea L.), полисциаса папоротниколистного (Polyscias filicifolia L.) и женьшеня японского (Panax japonicus L.).

Антимутагенные эффекты лекарственных растений

No	Растения		Антимутагенная активность, %		
			Дес	Био	
п/п	Сок Экстракт		SOS	SOS	
1	Aloe arborescens		_	32±3,1	
2	Callisia fragrans		58±3,2	25±2,1	
3	Chelidonium majus		79±1,5	72±2,9	
4	Plantago major		7±1,85	55±4,0	
5	Tussilago farfara		53±2,3	_	
6	Aegopodium podagraria		_	54±2,8	
7		Dioscorea deltoidea	16±2,1	31±3,5	
8		Polyscias filicifolia	55±1,35	28±1,65	
9		Panax japonicus	81±3,8	43±2,0	

Антимутагенный эффект растительных соков и экстрактов в SOS хромотесте оценивали согласно формуле (Bouhlel et al., 2007)

$$A\Im(\%) = 100 - \frac{IF_1}{IF_2} \cdot 100,$$

где IF_1 – фактор индукции SOS-ответа в присутствии мутагена и исследуемого сока и экстракта; IF_2 – фактор индукции SOS-ответа при действии мутагена.

Сок растений чистотела большого обладает выраженным антимутагенным эффектом. При совместной и предварительной инкубации клеток тестерных бактерий E. coli PQ 37 с налидиксовой кислотой и растительным соком мы наблюдали существенное снижение генотоксического эффекта классического индуктора SOSответа клеток налидиксовой кислоты. Соки растений диоскореи дельтовидной, подорожника большого и алоэ древовидного проявили антимутагенный эффект только в условиях предварительной инкубации с клетками тестерных бактерий E. coli PQ 37, что выразилось в снижении мутагенности налидиксовой кислоты на 32, 55 и 54 % соответственно. Сок растений мать-и-мачехи обыкновенной проявил десмутагенный эффект, что выразилось в снижении генотоксической активности известного мутагена налидиксовой кислоты в SOS-хромотесте в 2 раза. Однако при предварительной инкубации клеток тестерных бактерий E. coli PQ 37 с налидиксовой кислотой сок растений мать-и-мачехи не проявил биоантимутагенного потенциала. Наивысший антимутагенный эффект относительно мутагена в SOS-хромотесте наблюдался при одновременном внесении экстракта женьшеня японского, что выражалось в существенном снижении генотоксического действия на 81 %. Сок золотого уса и сухой экстракт полисциаса папоротниколистного проявили генопротекторные свойства, что выразилось в снижении мутагенного эффекта классического индуктора SOS-ответа клеток налидиксовой кислоты в 2,2 и 2,4 раза соответственно (таблица).

Результаты, полученные нами при исследовании соков и экстрактов растений (Aloe arborescens L.), золотого уса (Callisia fragrans L.), чистотела большого (Chelidonium majus L.), подорожника большого (Plantago major L.), мать-и-мачехи обыкновенной (Tussilago farfara L.), сныти обыкновенной (Aegopodium podagraria L.), диоскореи дельтовидной (Dioscorea deltoidea L.), полисциаса папоротниколистного (Polyscias filicifolia L.) и женьшеня японского (Panax japonicus L.) в SOS-хромотесте свидетельствуют о том, что антиканцерогенные и антимутагенные эффекты этих растениий могут быть обусловлены прежде всего действием их биоактивных компонетов (флавоноиды, сапонины, аминокислоты, терпены, алкалоиды, витамины, органические кислоты, гликозиды). Идентификация точных молекулярных механизмов антимутагенного действия растительных соков и экстрактов требует дальнейшего изучения, т.к. препараты на основе растительного сырья являются перспективными объектами исследований как возможные антимутагенные препараты, позволяющие уменьшить груз генетических мутаций, индуцированных растущей антропогенной нагрузкой окружающей среды.

^{1.} Bouhlel I. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in different extracts from the leaves of Acacia salicina from the center of Tunisia / I. Bouhlel, H. B Mansour., I. Limem // Environmental Toxicology and Pharmacology. 2007. Vol. 23. P. 56–63.

^{2.} Craig W.J. Health promoting properties of common herbs / W.J. Craig // The American Journal of Clinical Nutrition. 1999. Vol. 70. P. 491S – 499S.

Серия биологическая

СРАВНЕНИЕ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И МАЛИК-ЭНЗИМА НЕКОТОРЫХ С4-КСЕРОГАЛОФИТОВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Е.В. Шуйская, Н.В. Жуковская

У 14 однолетних и многолетних С₄-видов с NAD-ME и NADP-ME типами фотосинтеза малатдегидрогеназа представлена 2–3 локусами, из которых два локуса оказались общими для всех изученных видов. Малик-энзим представлен 1–3 локусами, ни один из них не был общим. Наибольший полиморфизм по обоим ферментам наблюдался у однолетних NAD-ME видов.

COMPARISON OF ISOENZYME MALATE DEHYDROGENASE AND MALIC ENZYME OF SOME C₄ XEROHALOPHYTES GROWING UNDER NATURAL CONDITIONS

E.V. Shuyskaya, N.V. Zhukovskaya

Malate dehydrogenase encoded by 2–3 loci in 14 annual and perennial C_4 species with NAD-ME and NADP-ME type of photosynthesis, and two loci were common to all studied species. Malic-enzymes encoded by 1–3 loci, none of them was common to all species. The highest polymorphism for both enzymes was found in annual NAD-ME species.

В настоящее время в мировой флоре выявлено около 1500 видов с C_4 -типом фотосинтеза, которые принадлежат к 19 семействам, и распространены в основном в районах с жарким и засушливым климатом. Анализ продуктов фотосинтеза и активность ферментов углеродного метаболизма показали существование у них двух основных биохимических типов фотосинтеза: NAD-ME (аспартатный) и NADP-ME (малатный). C_4 -NADP-ME тип в основном характерен для растений слабозасолённых почв, в то время как C_4 -NAD-ME тип чаще встречается у галофитов. Важную роль в метаболизме C_4 -видов играет малатдегидрогеназная система, принимая участие в фазе декарбоксилирования цикла Хетча — Слека [4]. У растений изоферментный спектр малатдегидрогеназы состоит не менее чем из двух зон, что соответствует наличию цитоплазматической и митохондриальной форм фермента [3]. У культурных C_4 -видов (кукуруза, сорго, просо, сахарный тросник) найдено от 4 до 8 изоферментов NAD $^+$ -малатдегидрогеназы, а также стресс-индуцированые изоформы [2]. Малик-энзим более консервативен и обычно представлен 1–2 изоферментами [3].

Целью настоящей работы было изучить изоферментный состав малатдегидрогеназы и малик-энзима у различных дикорастущих однолетних и многолетних C_4 -видов с NAD-ME и NADP-ME типами фотосинтеза.

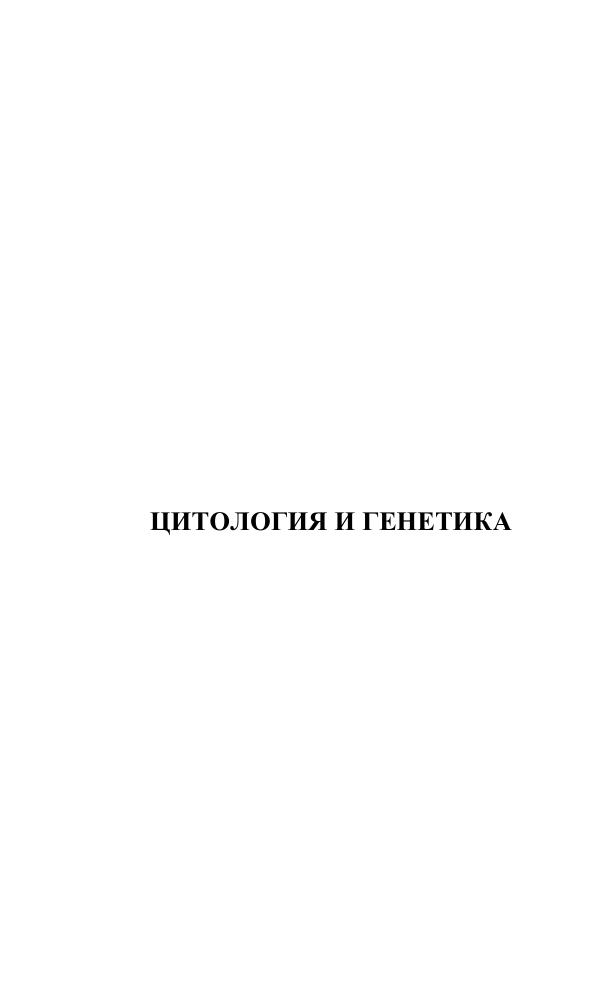
Изоферментный состав NAD⁺-малатдегидрогеназы (MDH, E.C. 1.1.1.37) и NADP⁺-малик-энзима (Me, E.C. 1.1.1.40) изучали методом крахмально-гелевого электрофореза [1, 3] у 14 видов маревых с C4-NAD-ME (*Climacoptera lanata, C. longistilosa, C. turcomanica, Salsola orientalis, S. gemmascens*) и NADP-ME

(S. aperta, S. sogdiana, S. paulsenii, S. pestifer, S. incanescens, S. sclerantha, Halothamnus subaphylla, Haloxylon aphyllum, Kochia prostrata) типами фотосинтеза. Из них виды: S. orientalis, S. gemmascens, Halothamnus subaphylla, Haloxylon aphyllum, K. prostrata многолетние, остальные — однолетние. Семена были собраны в природных популяциях Юго-Западного и Центрального Кызылкума.

Малатдегидрогеназа (МDH) у всех изученных видов, кроме *Haloxylon aphyllum*, представлена тремя зонами активности, предположительно контролируемыми тремя локусами (Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3), из которых Mdh-1 и Mdh-3 обнаружены у всех видов. У *Haloxylon aphyllum* выявлено только две зоны активности, по электрофоретической подвижности соответствующие локусам Mdh-1 и Mdh-3 остальных видов. Наиболее полиморфным оказался локус Mdh-2, по которому у 8 из 13 видов (61,5 %) выявлено более 1 аллели. Локус Mdh-1 был полиморфным у 35,7 % видов, кроме того, у NAD-ME-видов он чаще представлен более быстрыми аллелями, чем у NADP-ME видов. Локус Mdh-3 оказался полиморфным только у 3 изученных однолетних NAD-ME видов. У *Haloxylon aphyllum, Kochia prostrata* и *S. aperta* малик-энзим (Ме) представлен 1 зоной активности, у *S. sogdiana, S. paulsenii, S. pestifer* выявлено 3 зоны, у остальных 8 видов — 2 зоны активности. Быстрая зона (Ме-1) выявлена у 11 видов, средняя (Ме-2) у 5 и медленная (Ме-3) у 12 видов. Наиболее полиморфным оказался локус Ме-3 (58,3 %). По локусу Ме-1 более одной аллели найдено только у трех видов Climacoptera, в то время как локус Ме-2 оказался мономорфным.

Таким образом, у изученных видов MDH представлена небольшим количеством локусов (2–3), в отличие от культурных C_4 -видов, из которых два локуса оказались общими для всех изученных видов. Малик-энзим представлен 1–3 локусами, причем ни один из них не был общим для всех видов. Наибольший полиморфизм по обоим ферментам наблюдался у однолетних NAD-ME видов (процент полиморфных локусов равен 83,3), наименьший — у многолетних NAD-ME и однолетних NAD-ME видов (16,2 и 16,6 % соответственно).

- 1. Гончаренко Г.Г., Падутов В.Е., Потенко В.В. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов. Гомель, 1989. 150 с.
- 2. *Епринцев А.Т., Федорина О.С.* Функционирование малатдегидрогеназной системы в мезофилле и обкладке листьев кукурузы в условиях солевого стресса // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 6. С. 820–827.
 - 3. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. Новосибирск: Наука, Сибирское отд-ние, 1986. 145 с.
 - 4. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез С3 и С4-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 598 с.



Серия биологическая

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДВУХ ВИДОВ SOREX ARANEUS И SOREX SATUNINI (MAMMALIA)¹

О.О. Григорьева, А.Г. Шестак

Затрагивается вопрос полиморфизма хромосомных рас обыкновенной и кавказской бурозубок. Приводятся данные частот аллелей и гетерозиготности.

IDENTIFICATION OF SOREX ARANEUS AND SOREX SATUNINI (MAMMALIA) WITH MICROSATELLITE MARKERS.

O.O. Grigoryeva, A.G. Shestak

In this research we investigated the level of polymorphism of chromome races of Sorex araneus and Sorex satunini. Allele frequency and heterozygosity data are given at this article.

Три хромосомные расы обыкновенной бурозубки *Sorex araneus*, Москва (Мо), Западная Двина (Wd) и Селигер (Sl), принадлежат к трем различным кариологическим группам (Западно-Европейской, Балтийской и Восточно-Европейской соответственно) и обладают морфологическим сходством. Для их идентификации применялись различные методы, основанные на кариотипических, морфологических и биохимических особенностях [1, 2, 4]. Для сопоставления результатов с вышеупомянутыми методами был проведен микросателлитный анализ особей с использованием маркеров, разработанных швейцарскими учеными [3, 5].

Использован материал, собранный в 2006—2009 гг. Объем выборки составил 30 особей обыкновенной бурозубки, отловленных в 11 пунктах Валдайской возвышенности (табл. 1); в выборку также были включены 7 особей, принадлежащих к другому виду — *Sorex satunini*, отловленные в Краснодарском крае, пос. Первомайский.

Таблица 1 Места находок хромосомных рас обыкновенной бурозубки

№ точки	Окрестности населенного пункта	Координаты с.ш./в.д	N, paca
1	Бельково	56°45′/31°28′	2, Wd
2	Волок II	56°51′/32°02′	3, Wd
3	Волок III	56°51′/32°01′	3, Mo
4	Горицы	56°52′/31°51′	2, Wd
5	Скудино	56°01′/31°50′	2, Wd
6	Выползово	56°51′/31°57′	1, Wd
7	Любино	56°58′/32°01′	3, Mo
8	Рогово	56°56′/32°03′	2, Mo
9	Л18	56°58′/32°02′	4, Mo, Sl
10	Л19	56°45′/31°28′	4, Sl
11	Л20	56°59′/32°01′	4, Sl

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РФФИ (№ 09-04-00530-а).

Для анализа ДНК использовали 19 микросателлитных маркеров (A8, B7, B30, D103, D106, D107, L2, L9, L13, L14, L16, L33, L45, L57, L62, L67, L68, L69, L92).

Полиморфизм наблюдался лишь по десяти локусам (A8, B30, D103, D106, D107, L2, L9, L16, L67, L69), что говорит об ограниченности использования генетических диагностических маркеров, разработанных для одних популяций и затем применяемых на совершенно иных. Таким образом, желательно использовать дополнительные генетические маркеры, так как постоянно существует риск, что локус не будет диагностическим в определенной выборке.

Хромосомные расы *Sorex araneus* различаются по четырем локусам (L16, L67, L69, D107). По локусу L9 отличается раса Москва (нет аллели 483 b.р.), по D103 – раса Селигер (одинаковая частота встречаемости аллелей 242 b.р. и 260 b.р.). Раса Западная Двина имеет специфические аллели по локусу L2 (115 b.р.), также она более полиморфна и по локусу L16. Раса Селигер менее полиморфна по локусу A8 (нет аллелей 200 b.р. и 218 b.р.), но это может быть результатом малой выборки. Таким образом, наличие небольшого числа расоспецифичных аллелей говорит о генетической близости рас и подтверждает слабое влияние хромосомных различий на генетическую структуру популяций.

В результате изучения распределения частот аллелей между *S. araneus* и *S. satunini*, обнаружено, что виды достоверно различаются по шести локусам (A8, L2, L9, L69, D106 и D107). Особенно четко виды различаются по локусу L2, по которому образцы *S. satunini* не проходят амплификацию. Можно считать, что локус может быть использован как диагностический. Для *S. satunini* характерен низкий уровень полиморфизма (отсутствуют 16 аллелей по 10 локусам), что может быть следствием селекционного процесса и свидетельствовать о недавнем происхождении вида.

Результаты по изменчивости исследованных локусов представлены в табл. 2. Видны заметные различия по значениям наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности по локусам L9, L16, L67, что может быть следствием неслучайного скрещивания, т.е. данные локусы могут быть вовлечены в отбор.

Таблица 2

Генетическая изменчивость по микросателлитным локусам						
Локус	Пара-		Sorex			
Jiokyc	метры	Wd	Mo	S1	Среднее	satunini
A8	HE	0,1653	0,3750	0	0,2176	0
Ao	НО	0,1667	0,4000	0	0,2143	0
L2	HE	0,6150	0,3950	0,5934	0,5686	_
LZ	НО	0,7500	0,4615	0,4000	0,5641	_
L9	HE	0,5487	0,4717	0,6272	0,5885	0,2188
L9	НО	0,2000	0,6000	0,2143	0,3409	0,5455
L16	HE	0,5493	0,5150	0,2188	0,4794	0,3367
LIO	НО	0,8750	0,8889	0,4000	0,7727	0,6000
L67	HE	0,5650	0,5350	0,4986	0,5616	0,6429
LO7	НО	0,8235	0,7143	0,8125	0,7447	0,8333
L69	HE	0,5124	0,6328	0,4259	0,6205	0,1420
L09	НО	0,7778	0,7692	0,5000	0,6585	0,1429
B30	HE	0,1800	0,1528	0,4012	0,2688	0
D 30	НО	0,3300	0,2857	0,4000	0,2759	0
D103	HE	0,4835	0,1800	0,5000	0,4444	0
D103	НО	0,4286	0,333	0,5000	0,4211	0
D106	HE	0,6150	0,6250	0,6298	0,6347	0,4082
D100	НО	0,6667	0,6667	0,5833	0,6429	0,4444
D107	HE	0,5150	0,6350	0,6605	0,6237	0
D107	НО	0,5714	0,5714	0,7143	0,6190	0

Примечание. НЕ – ожидаемая гетерозиготность; НО – наблюдаемая гетерозиготность.

- 1. *Булатова Н.Ш., Быстракова Н.В., Щипанов Н.А., Орлов В.Н.* Кариологическая дифференциация обыкновенной бурозубки, *Sorex araneus L.*, бассейнах Верхней и Средней Волги (Insectivora, Mammalia) // Докл. РАН. 1999. Т. 366. С. 416–419.
- 2. Орлов В.Н., Булатова Н.Ш., Козловский А.И., Балакирев А.Е. Иерархия внутривидовых таксонов обыкновенной бурозубки, Sorex araneus (Insectivora), и таксономическая структура вида млекопитающих // Зоол. журн. 2004. Т. 83, вып. 2. С. 199–212.
- 3. *Basset P., Yannic G., Yang F. et al.* Chromosome localization of microsatellite markers in the shrews of the *Sorex araneus* group // Chromosome Res. 2004. Vol. 14. P. 253–262.
- 4. Orlov V., Borisov Yu. Chromosome races of the common shrew Sorex araneus Linnaeus, 1758 (Mammalia, Insectivora) from the south part of Valdai Heights (Russia) // Compatitive Cytogenetics. 2007. Vol. 1, № 2. P. 101–106.
- 5. Wyttenbach A., Hausser J. Brief report. Microsatellites in Sorex araneus (Insectivora): highly polymorphic markers for population genetic studies within and between chromosomal races // Hereditas. 1996. Vol. 125. P. 177–181.

Серия биологическая

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ЦИКЛИНОВ: ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ИЗМЕНЕНИЕМ БЕЛКОВ И РОСТОМ СЛОЖНОСТИ ЭУКАРИОТ¹

К.В. Гунбин, И.И. Турнаев, Д.А. Афонников

Показана корреляция между эволюционным изменением циклинов D, E, B3 животных и циклинов В грибов и сложностью организмов. Это указывает на роль этих циклинов в качестве глобальных регуляторов, согласующих программы дифференцировки и пролиферации клеток.

MOLECULAR EVOLUTION OF CYCLINS: THE RELATIONSHIP BETWEEN PROTEIN CHANGES AND INCREASE IN EUKARYOTIC COMPLEXITY

K.V. Gunbin, I.I. Turnaev, D.A. Afonnikov

Correlations between evolutionary changes of animal cyclin D, E, B3, fungal cyclin B and organism complexity were shown. Therefore the functional role of these cyclins could be described as a global regulation of interconnection between cell differentiation and proliferation.

Полногеномные проекты дали возможность исследования молекулярной эволюции методами сравнительного анализа последовательностей генов и белков самых разных видов, но наибольший интерес представляет все-таки не молекулярная эволюция сама по себе, а взаимосвязь между молекулярной эволюцией белков и изменением фенотипа организма. В настоящей работе мы исследовали связь между эволюцией основных циклинов (циклины A, B, D и E) и изменением сложности у животных и грибов. Сначала с использованием метода максимального правдоподобия, реализованного в программе PhyML 3.0, были построены филогенетические деревья исследуемых семейств циклинов. Использовались 3 различных алгоритма реконструкции предков: ANCESCON, FASTML server и PAML 4.4. Для анализа структурной и функциональной эволюции циклинов использовались индексы физико-химических свойств (ФХС) аминокислот из базы данных AAIndex 9.1 [3]. Эволюционные дистанции между двумя белками на одной ветви филогенетического дерева по определённым ФХС были рассчитаны по формуле

$$d_{k,k+1} = R \cdot \frac{\sum_{i=1}^{L} x_i}{L},$$

где x_i — различие по определенному ФХС аминокислот в позиции i безделеционного выравнивания длиной L; R — множитель, учитывающий накопление замен во времени при их эволюционных заменах, рассчитанный с использованием простейшей формулы для гамма-расстояния [Ota, Nei, 1994].

Эволюционные расстояния по филогенетическому пути между общим предком циклинов и каждым из современных белков по ФХС вычислялись по формуле

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-01641-а).

$$D_{\Phi XC} = \sum_{k=1}^{n-1} d_{k,k+1} ,$$

где $D_{\Phi XC}$ – расстояние от корневого узла дерева общего предка до конечного узла – современного белка по изменению определенного ΦXC ; $d_{k,k+1}$ – расстояние между узлами k и k+1 для одной ветви филогенетического пути; n – число узлов на филогенетическом пути.

Известно, что основные циклины D, E, A и B участвуют в регуляции прохождения клетки через временные фазы клеточного цикла и одновременно в регуляции дифференцировки некоторых клеточных типов. Это позволяет предположить возможную взаимосвязь между функциональным изменением циклинов в ходе эволюции и эволюционным усложнением эукариотических многоклеточных организмов. В качестве меры сложности обычно используют число клеточных типов в организмов. В настоящее время точное число клеточных типов для вновь секвенированных организмов неизвестно, но в работе Фогеля и Чотии (2006) было установлено, что увеличение количества белков в ряде белковых суперсемейств коррелирует с увеличением числа клеточных типов у 38 эукариотических организмов. Поэтому в качестве единообразной меры сложности организмов эукариот мы взяли десятичный логарифм числа белков в этих суперсемействах согласно данным, депонированным в базе данных Superfamily 1.73 [2].

Для проверки гипотезы о том, что основные циклины могут быть глобальными регуляторами, осуществляющими взаимодействие между программами дифференцировки клеток (на уровне организма) и клеточным циклом, был проведён корреляционный анализ взаимосвязи между эволюционным изменением циклинов D, E, A, B и B3 животных и циклинов В грибов по каждому из 531 ФХС ($D_{\phi XC}$) из базы данных AAINDEX [3] и количеством белков в белковых суперсемействах, размер которых коррелирует с числом клеточных типов в организмах [1]. Результаты анализа суммированы в таблице. Со сложностью организма значимо положительно коррелировали изменения 27,12 % (от 531) ФХС циклинов Е и 54,61 % циклинов В3 животных, отрицательно — 28,25 % ФХС циклинов D животных, 8,29 % ФХС циклинов A животных и 24,29 % циклинов B грибов. Корреляции между эволюционным изменением по ФХС циклинов В животных и увеличением сложности организмов выявлено не было.

Зависимость между эволюционным изменением по ФХС аминокислот
основных циклинов и эволюционным ростом сложности организмов

Семейства белков	Число последователь- ностей в выборке	Число кор- реляций ФХС* (p < 0,05)	% коррелирую- щих* ФХС	Знак корреляции
СусА животных	47	44	8,29	- (Bce)
СусВ3 животных	28	290	54,61	+ (Bce)
СусВ животных	43	0	0	Отсутствует
СусВ грибов	37	129	24,29	- (Bce)
СусD животных	45	150	28,25	- (Bce)
СусЕ животных	43	144	27,12	+ (Bce)

^{*} Учитывались корреляции только тех Φ XC, достоверность статистической связи которых с усложнением организмов выявлена во всех трех случаях при реконструкции предков с помощью PAML, FASTML и ANCESCON.

Сопоставив данные по корреляциям эволюционных изменений циклинов со сложностью организмов и связанные с мутациями циклинов фенотипические аберрации (по данным из научных публикаций), мы пришли к следующим выводам: 1) корреляция между эволюционным изменением циклинов D, E животных по ФХС аминокислот и сложностью организмов, по-видимому, связана с ключевой ролью этих циклинов в контроле дифференцировки ряда соматических клеточных типов; 2) корреляция между эволюционным изменением циклинов ВЗ животных по ФХС аминокислот и сложностью организмов, по-видимому, связана с ключевой ролью этих циклинов в контроле дифференцировки генеративных клеточных типов; 3) циклины D, E и ВЗ животных, вероятно, являются глобальными интеграторами дифференцировки и пролиферации клеток.

- 1. Vogel C., Chothia C. Protein Family Expansions and Biological Complexity // PLoS Computational Biology. 2006. Vol. 2. P. e48.
- 2. Wilson D. et al. SUPERFAMILY Comparative Genomics, Datamining and Sophisticated Visualisation // Nucleic Acids Res. 2009. Vol. 37. P. D380–D386.
- 3. Kawashima S. et al. AAindex: amino acid index database, progress report 2008 // Nucleic Acids Res. 2008. Vol. 36. P. D202–D205.

Серия биологическая

КОМПЬЮТЕРНАЯ СИСТЕМА АНАЛИЗА РЕЖИМОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ И БЕЛКОВ¹

К.В. Гунбин, М.А. Генаев, Д.А. Афонников

Создана интернет-доступная компьютерная система анализа режимов молекулярной эволюции генов и белков (http://pixie.bionet.nsc.ru/samem/). Анализ режимов эволюции производится на основе расчета отношения частот фиксации радикальных аминокислотных замен к консервативным, на основе исследования скоростей изменения аминокислотных свойств в эволюции белков и на основе статистического соотнесения изменения этих свойств с фенотипическими признаками организмов.

COMPUTER SYSTEM FOR ANALYSIS OF MOLECULAR EVOLUTION MODES OF PROTEIN-CODING GENES (SAMEM)

K.V. Gunbin, M.A. Genaev, D.A. Afonnikov

A web-available computer system for analyzing the molecular evolution modes of genes and proteins was developed (http: // pixie.bionet.nsc.ru/samem/). Computations are based on the ratio of radical to conservative amino acid replacements, on the rate of amino acid changes in the course of protein evolution, and on the statistical relations between evolutionary change of all known amino acid properties and user defined phenotypical features of organisms.

В последнее время появилось огромное количество данных о существовании универсальной связи между уровнем экспрессии гена и скоростью его эволюции [1–3]. В 2008 г. впервые было показано, что эта связь обусловлена отбором против неправильного сворачивания белков вследствие ошибок трансляции [3]. Также показано [3], что этот отбор может быть обнаружен в: 1) сокращении числа ошибок трансляции, 2) сокращении вероятности неправильного сворачивания белка при ошибочной трансляции, 3) уменьшении вероятности неправильного сворачивания и разворачивания белка. Очевидно, что точки приложения отбора 2) и 3) связаны с аминокислотными заменами, по-разному влияющими на структуру белка. Структура белка, его функция и сворачивание определяются комбинацией свойств аминокислот. Проанализировано более 500 свойств аминокислот [4], что позволяет проводить систематические исследования эволюции белок-кодирующих генов. Подходами, направленными на решение этой задачи, являются анализ отношения частот фиксации радикальных аминокислотных замен к консервативным (K_R/K_C) [5, 6] и исследование скоростей изменения физико-химических свойств белков (V_{PC}) в их эволюции [7]. Однако эти подходы обладают существенным недостатком - необходимо знать заранее «адаптивность изменения» определенного свойства аминокислот. Предложенный нами подход базируется на анализе K_R/K_C и V_{PC} , но имеет

¹ Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (№09-04-01641-а); Интеграционными проектами СО РАН (№ 113, 119); Программами РАН № 22 (проект №8), 23 (проект №29), Госконтрактом Министерства образования РФ (№ П857).

два отличия: 1) при анализе используются все известные свойства аминокислот; 2) проводится статистическое соотнесение изменения этих свойств с фенотипическими признаками организмов, что позволяет напрямую связать молекулярную эволюцию с приспособительной эволюцией организмов. На этой основе нами была создана компьютерная система анализа режимов молекулярной эволюции генов и белков.

Система состоит из двух основных конвейеров, анализа эволюции генов и анализа эволюции белков, и двух дополнительных, собирающих выборки генов и белков и производящих их первичный анализ. Основные конвейеры позволяют провести основные этапы обработки данных, комбинируя различные методы множественного выравнивания, построения филогенетического дерева и реконструкции предковых последовательностей. Множественное выравнивание рассчитывается программами MAFFT 6.717 и KALIGN 2.04, филогения — программами FASTTREE 2.1.1 и PHYML 3.0. Предковые последовательности белков реконструируются ANCESCON, FASTML (серверная версия) и CODEML (из пакета PAML 4.4), генов — ANC-GENE, FASTML (серверная версия) и CODEML (из пакета PAML 4.4). Пользователь может рассчитать модель эволюции заданного семейства белков, используя МОDELESTIMATOR 1.1, или воспользоваться обобщенными моделями. Для анализа используются данные о 531 свойстве аминокислот [4]. Общий модуль оценки взаимосвязи эволюций свойств аминокислот и фенотипических признаков реализован на языке R.

Существенной особенностью конвейера анализа генов является возможность исследования разными методами оценки K_R/K_C . Пользователь может воспользоваться как оригинальным методом Жанга (программа HON-NEW) [5], так и методом Смита [6]. При анализе данных обоими методами пользователь может задать число групп для разделения 20 аминокислот. Для каждого из 531 свойства аминокислоты группируются методом К-средних (используя R). При анализе данных методом Смита, для разбиения аминокислотных замен на консервативные и радикальные, пользователь может использовать матрицу BLOSUM. Все неотрицательные (\geq 0) значения в матрице BLOSUM трактуются нами как консервативные, все отрицательные – как радикальные. Для сравнения наблюдаемых значений K_R/K_C со значениями K_R/K_C , свойственными эволюции генов при K_A/K_S =1, с помощью пакета INDELible 1.03 проводится марковское моделирование эволюции генов.

При анализе последовательностей белков существенной особенностью является доработанный нами метод анализа скоростей фиксации различных аминокислотных замен. Он основан на марковском моделировании эволюции белков пакетом INDELible 1.03 и непараметрическом перестановочном тесте, предложенном нами в работе [8]. INDELible 1.03 позволяет учесть детальные особенности эволюции белков (различие частот встречаемости аминокислот и частот их замен у паралогичных групп внутри одного семейства белков, вплоть до учета особенностей эволюции на отдельных ветвях дерева). Тест с перестановками [8] позволяет выявить для каждой ветви филогенетического дерева характерные типы аминокислотных замен, частота которых статистически значимо превышает частоту в смоделированных последовательностях.

- 1. Drummond D.A., et al. Why highly expressed proteins evolve slowly // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2005. Vol. 102. P.14338–14343.
- 2. Drummond D.A., Wilke C.O. Mistranslation-induced protein misfolding as a dominant constraint on coding-sequence evolution // Cell. 2008. Vol. 134. P. 341–352.
- 3. Gout J.F. et al. The relationship among gene expression, the evolution of gene dosage, and the rate of protein evolution // PLoS Genet. 2010. Vol. 6. P. e1000944.

- 4. Kawashima S. et al. AAindex: amino acid index database, progress report 2008 // Nucleic Acids Res. 2008. Vol. 36. P. D202–D205.
- 5. Zhang J. Rates of conservative and radical nonsynonymous nucleotide substitutions in mammalian nuclear genes // J. Mol. EVol. 2000. Vol. 50. P. 56–68.
- $\tilde{6}$. Smith Nick GC. Are radical and conservative substitution rates useful statistics in molecular evolution? // J. Mol. EVol. 2003. Vol. 57. P. 467–478.
- 7. Pupko T. et al. Detecting excess radical replacements in phylogenetic trees // Gene. 2003. Vol. 319. P. 127–135.
- 8. Gunbin K.V., Afonnikov D.A., Kolchanov N.A. Molecular evolution of the hyperthermophilic archaea of the Pyrococcus genus: analysis of adaptation to different environmental conditions // BMC Genomics. 2009. Vol. 10. P. 639.

Серия биологическая

ФЕНОМЕН ПОТЕРИ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА *ТР53*, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЛАГОПРИЯТНЫМ ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Е.В. Денисов, Т.С. Дульцева, Т.В. Сухановская, Е.А. Малиновская, Н.В. Чердынцева

Представлены данные о вкладе Ex4+119G>C полиморфизма гена TP53 в клиническое течение рака молочной железы и причинах преимущественной потери аллелей данного гена, ассоциированных с благоприятным прогнозом, в опухолевой ткани заболевания.

THE LOSS OF *TP53* GENE ALLELES, ASSOCIATED WITH GOOD PROGNOSIS OF BREAST CANCER, IN TUMOR

E.V. Denisov, T.S. Dulceva, T.V. Sukhanovskaya, E.A. Malinovskaya, N.V. Cherdyntseva

The present study considers the impact of the TP53 gene Ex4+119G>C polymorphism on breast cancer prognosis and the reasons of preferential TP53 allele loss in breast tumor.

Ген TP53 является одним из ключевых генов-супрессоров опухолевого роста, функция которого направлена на ограничение вероятности возникновения генетически нестабильных клеток [1-3]. В человеческих популяциях активность белка р53 в значительной степени модифицирована генетическим полиморфизмом, наиболее значимым из которого является точечная замена гуанина на цитозин в 72 кодоне 4-го экзона (Ex4+119G>C, Arg72Pro, rs1042522). Белки p53, кодируемые Ex4+119G>C аллелями, различаются между собой рядом биохимических и физиологических функций [4]. Именно благодаря этому в последнее время уделяется большое внимание к изучению роли Ex4+119G>C полиморфизма гена TP53 в риске формирования и прогрессии рака молочной железы (РМЖ), хотя по данным последних метаанализов связь данного полиморфного варианта с развитием РМЖ не обнаружена [5-7]. Однако в литературе практически отсутствуют сведения о влиянии Ex4+119G>C полиморфизма гена TP53 на прогрессию РМЖ, а имеющиеся данные достаточно противоречивы [8, 9]. Кроме того, функциональная дифференциация между полиморфными белками p53 (p53Pro и p53Arg) может создавать предпосылки для преимущественной потери определенных аллелей гена ТР53, обладающих протективным свойством в отношении прогрессии РМЖ, в опухолевой ткани молочной железы.

В настоящем исследовании нами выполнен анализ Ex4+119G>C полиморфизма гена *TP53* [10] у больных РМЖ с различными патогенетическими характеристиками заболевания, в большинстве своем отражающими признаки опухолевой прогрессии (n=80). Отмечено, что у больных РМЖ с генотипом C/C (Ex4+119G>C) по сравнению с пациентками с G/G и G/C чаще наблюдался клинически более благоприятный локализованный процесс заболевания (83,3 % против 35,7 и 34,4 % соответственно; p=0,03). Кроме того, у женщин с генотипом C/C отмечался только уницентрический

характер опухолевого роста, тогда как у четверти носителей G/G генотипа обнаружены мультифокальные опухоли, более агрессивные по своей природе (табл. 1).

Таблица 1

Частота уницентрического (УЦ) и мультицентрического (МЦ) РМЖ, отсутствие (N_0) и наличие (N_{1-2}) локорегионарного метастазирования у больных с генотипами по полиморфизму Ex4+119G>C гена *TP53*

Патология		Генотипы					
		G/G		G/C		C/C	
		N	%	N	%	N	%
Характер	УЦ	28	75,7	22	81,5	6	100,0
опухолевого роста	МЦ	9	24,3	5	18,5	0	0,0
Р (Ф)		0,80*				-	
Лимфогенное	N_0	15	35,7	11	34,4	5	83,3
метастазирование	N ₁₋₂	27	64,3	21	65,6	1	16,7
Р (Ф)		0,90* 0,03**			3**		

^{*} – различия между больными РМЖ с генотипами G/G и C/C; ** – различия между больными с генотипами G/G и C/C, G/C и C/C.

Проведенный анализ Ex4+119G>C полиморфизма гена *TP53* в опухолевой ткани больных РМЖ показал наличие в 20,0 % (16/80) случаев специфических мутаций в полиморфном сайте данного гена, приводящих к несоответствию генотипа в образцах крови и в опухоли. Большая часть (81,3 %; 13/16) таких мутаций обусловлена угратой одной аллели у гетерозиготных пациенток, в частности, в 84,6 % (11/13) потерей аллели С (табл. 2). Следует также отметить, что потеря Ex4+119G>C аллелей детектировалась почти у половины (40,6 %; 13/32) гетерозиготных носителей. В меньшем числе случаев (18,7 %; 3/16) были обнаружены точечные замены с.214G>C в сайте Ex4+119G>C полиморфизма гена *TP53* (данные не представлены).

Таблица 2 Случаи потери Ex4+119G>C аллелей гена *TP53*, обнаруженные в опухолевой ткани больных раком молочной железы

Ognosou	Conording thous a supplied	LOH	
Образец	Генотип: кровь → опухоль	VNTR	D17S796
1	$G/C \rightarrow G/$ -	-	+
2	$G/C \rightarrow G/$ -	-	+
3	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
4	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
5	$G/C \rightarrow G/$ -	_	_
6	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
7	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
8	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
9	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
10	$G/C \rightarrow G/$ -	+	-
11	$G/C \rightarrow G/$ -	+	+
12	$G/C \rightarrow C/$ -	_	+
13	$G/C \rightarrow C/$ -	_	_

Примечание. LOH – оценка потери гетерозиготности по мини- и микросателлитному локусам; «—» – отсутствие LOH на данном участке; «+» – наличие LOH.

По нашим данным, 84,6 % (11/13) гетерозиготных пациенток с утратой Ex4+119G>C аллелей в опухоли, в большинстве случаев с утратой аллели C, характеризовались аллельным дисбалансом (потерей гетерозиготности) на мини- и микросателлитных локусах: в высоковариабельном участке 1-го интрона гена *TP53* и в локусе D17S796 хромосомы 17p13.1 (табл. 2). Поскольку делеции являются основным механизмом, приводящим к потере гетерозиготности, мы заключили, что утрата аллелей в опухолевой ткани гетерозиготных больных РМЖ обусловлена данным типом нарушений.

Таким образом, в данном исследовании мы показали, что аллель С (Ex4+119G>C полиморфизм) гена *ТР53*, связанная с благоприятным клиническим течением РМЖ, выражающимся в менее агрессивном уницентрическом опухолевом росте и отсутствии локорегионарных метастазов, чаще других теряется в опухоли молочной железы посредством делеции участка данного гена. Вероятно, потеря аллели С, кодирующей белок р53Pro с более высоким по сравнению с р53Arg трансактивационным и репарационным потенциалом [4], придает опухолевым клеткам селективное преимущество в росте, что, в свою очередь, как было показано в другом исследовании [11], может провоцировать низкую безрецидивную и общую выживаемость у больных РМЖ с данным типом мутации гена *ТР53*.

- 1. Vousden K.H., Lane D.P. p53 in health and disease // Nat Rev Mol Cell Biol. 2007. Vol. 8, No.4. P. 275–283.
- 2. *Чумаков П.М. Белок* р53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биологической химии, 2007. Т. 47. С. 3–52.
- 3. *Копнин Б.П., Копнин П.Б., Хромова Н.В. и др.* Многоликий р53: разнообразие форм, функций, опухольсупрессирующих и онкогенных активностей // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2008. Т. 1, № 1. С. 2–9.
- 4. Whibley C., Pharoah P.D., Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications // Nat Rev Cancer. 2009. Vol. 9, № 2. P. 95–107.
- 5. Hu Z., Li X., Yuan R. et al. Three common TP53 polymorphisms in susceptibility to breast cancer, evidence from meta-analysis // Breast Cancer Res Treat. 2010. Vol. 120, № 3. P. 705–714.
- 6. *Ma Y., Yang J., Liu Z. et al.* No significant association between the TP53 codon 72 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of 21 studies involving 24,063 subjects // Breast Cancer Res Treat. 2010. DOI 10.1007/s10549-010-0920-1.
- 7. Zhuo W., Zhang Y., Xiang Z. et al. Polymorphisms of TP53 codon 72 with breast carcinoma risk: evidence from 12226 cases and 10782 controls // J. Exp Clin Cancer Res. 2009. Vol. 28. P. 115.
- 8. Xu Y., Yao L., Zhao A. et al. Effect of p53 codon 72 genotype on breast cancer survival depends on p53 gene status // Int J. Cancer. 2008. Vol. 122, № 12. P. 2761–2766.
- 9. Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М. и др. Молекулярно-генетические факторы прогрессии как критерии прогноза у больных со злокачественными новообразованиями молочной железы // Матер. Х Онкологического конгресса. М., 2006. С. 108–111.
- 10. *Ara Ś., Lee P.S., Hansen M.F. et al.* Codon 72 polymorphism of the TP53 gene // Nucleic Acids Res. 1990. Vol. 18, № 16. P. 4961.
- 11. Bonafe M., Ceccarelli C., Farabegoli F. et al. Retention of the p53 codon 72 arginine allele is associated with a reduction of disease-free and overall survival in arginine/proline heterozygous breast cancer patients // Clin Cancer Res. 2003. Vol. 9, № 13. P. 4860–4864.

ИЗУЧЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННОГО АЛЛЕЛИЗМА ГЕНА VRN-В1 У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ T. AESTIVUM L. 1

М.В. Емцева, Т.Т. Ефремова

Изучается время колошения (цветения) замещённых и почти изогенных линий, имеющих одинаковый генотип по генам Vrn, но с разными аллелями гена Vrn- $B1^S$ u Vrn- $B1^{Dm}$.

THE STUDY OF THE MULTIPLE ALLELISM OF GENE VRN-B1 IN COMMON WHEAT T. AESTIVUM L.

M.V. Emtseva, T.T. Efremova

The present study examines heading (flowering) time of substitution and near-isogenic lines, having identical Vrn genotypes, but with different alleles of gene Vrn-B1: Vrn-B1 and Vrn-B1 Dm .

Мягкая пшеница может быть классифицирована на яровые и озимые формы. Озимым пшеницам, чтобы перейти из вегетативного в генеративное состояние, необходимо продолжительное воздействие низких положительных температур (яровизация), а яровым пшеницам оно не требуется. Известны следующие гены чувствительности к яровизации (от англ. response to vernalization): Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1 (ранее Vrn1, Vrn2, Vrn3), локализованные на хромосомах SA, SB и SD соответственно [1, 2]. Эти три гена обозначают как локусы Vrn-1. Ген Vrn-D4 (ранее Vrn4) расположен на хромосоме SD [3], Vrn5 — на хромосоме TB [4]. Яровой тип развития контролируется, по крайней мере, одним доминантным геном Vrn, а озимый — рецессивными генами Vrn.

Сорта мягкой пшеницы с доминантным геном Vrn-A1 являются более скороспелыми и не чувствительны к яровизации, а генотипы с генами Vrn-B1 и Vrn-D1, наоборот, более позднеспелые и реагируют на яровизацию [5].

Ранее было показано, что разнообразие по времени колошения возможно также за счёт множественного аллелизма локусов Vrn-1. Так, О.И. Майстренко [1] при изучении замещённых линий по сортам Саратовская 29 и Диамант 2 было показано наличие двух аллелей гена Vrn-B1: $Vrn2a^S$ (сейчас $Vrn-B1^S$) у сорта Саратовская 29 и $Vrn2b^D$ (сейчас $Vrn-B1^{Dm}$) у сорта Диамант 2. По экспрессии $Vrn2a^S > Vrn2b^D$. Однако для детального молекулярно-генетического изучения аллельных различий в локусе Vrn-B1 необходимо создание рекомбинантных замещенных или почти изогенных линий по целевому локусу. Это позволит выяснить влияние разных аллелей на скороспелость и хозяйственно важные признаки.

Для экспериментального подтверждения множественного аллелизма были созданы новые генетические модели – две линии озимого сорта Sava с межсортовым замещением хромосомы 5В и две почти изогенные линии по озимому сорту Безос-

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 10-04-00661 а).

тая 1. У этих линий яровой тип развития определяется моногенно, разными аллелями доминантного гена *Vrn-B1*. Целью нашего исследования было изучение времени колошения у полученных линий, в том числе без яровизации и с ней.

Материалом исследования послужили замещённые линии Саратовская 29/5А Мироновская 808 (С29/5А М808) и Диамант 2/5А Мироновская 808 (Дм2/5А М808), использованные в качестве доноров при создании замещенных и изогенных линий [6]. Были изучены линии озимого сорта Sava с межсортовым замещением хромосомы 5В от сортов С29 и Дм2. В этих замещённых линиях хромосома 5В с рецессивным геном vrn-B1 замещена на хромосомы 5В сортов С29 и Дм2 с доминантными генами Vrn-B1. Также были изучены две почти-изогенные линии озимого сорта Безостая 1 (Б1), обладающие аллелями Vrn-B1^S и Vrn-B1^{Dm}.

Замещённые и изогенные линии были выращены в теплице. Каждой линии высевали по 20 зёрен. Ответ на яровизацию определяли после холодной обработки проростков при 1 $^{\circ}$ С в течение 30 дней в темноте. Для изучения времени колошения яровизированные и неяровизированные проростки были одновременно высажены в теплицу при 14-часовом искусственном дне. Дату колошения отмечали в период полного выхода колоса из влагалища верхнего листа, а у почти изогенных линий сорта Б1 отмечали время цветения, т.к. они начинают цвести во флаговом листе. Достоверность различий по датам колошения между линиями рассчитывали с помощью t критерия Стьюдента.

Генотипы и средние количества дней от высадки до колошения/цветения у замещённых, почти изогенных линий и сортов

Линии, сорта	Дней до колошения без яровизации	Дней до колошения после 30-дневной яровизации	Гаплоидный генотип по локусам Vrn-1
Саратовская 29 (С29)	46,7±0,23	_	Vrn-A1 Vrn-B1 ^S vrn-D1
Диамант 2 (Дм2)	45,9±0,47	_	Vrn-A1 Vrn-B1 ^{Dm} vrn-D1
C29/5A M808	44,1±0,46	39,1±0,35	vrn-A1 Vrn-B1 ^S
Дм2/5А М808	59,8±0,53***	49,2±0,49***	vrn-D1
			vrn-A1 Vrn-B1 ^{Dm} vrn-D1
Sava/5B C29	54,8±0,59	47,8±1,09	vrn-A1 Vrn-B1 ^S
Sava/5В Дм2	57±0,54**	$46,7\pm0,62$	vrn-D1
			vrn-A1 Vrn-B1 ^{Dm} vrn-D1
Безостая 1:	60,3±0,6	54,4±1,25	vrn-A1 Vrn-B1 ^S
Vrn-B1 ^S	63,5±0,86**	48,3±1,17***	vrn-D1
Безостая 1:			vrn-A1 Vrn-B1 ^{Dm} vrn-D1
Vrn-B1 ^{Dm}			

Примечание. Достоверно: * p > 0.95, ** p > 0.99, *** p > 0.999.

Как видно из таблицы, у сортов С29 и Дм2 яровой тип развития определяется двумя доминантными генами, а у всех изученных линий — моногенно, разными аллелями доминантного гена Vrn-B1. Сорта С29 и Дм2 не отличаются по времени колошения между собой, при этом созданные на их основе замещённые линии С29/5А М808 и Дм2/5А М808, у которых хромосома 5А с доминантными геном Vrn-A1 была замещена на хромосому 5А озимого сорта с геном vrn-A1, различались по этому признаку. При изучении времени колошения/цветения замещённых линий сортов С29, Дм2 и Sava, а также почти изогенных линий сорта Б1 выявились следующие различия между аллелями гена Vrn-B1. Установлено, что при выращивании без яровизации линии С29/5А М808, Sava/5В С29 и Б1: Vrn-B1^S, имеющие аллель Vrn-B1S, выколашивались раньше носителей аллели Vrn-B1DM на 15, 2 и 3 дня

соответственно. Различие между линиями указывает на влияние на время колошения не только разных аллелей гена Vrn-B1, но и действие других генетических систем, в частности генов фотопериода (Ppd) и скороспелости $per\ se\ (Eps)$. Так, сорт Sava нечувствителен к длине дня и имеет один наиболее сильный локус Ppd-D1 на хромосоме 2D. Сорт E1 несет доминантный локус E1 и E1 добладают одним локусом E1 и E1 добладают одним локусом E1 несет доминантный локус E1 и E1 добладают одним локусом E1 несет доминантный локус E1 несет доминантный дом

При яровизации замещённая линия сорта C29/5A M808 выколосилась на 10 дней раньше линии Дм2/5A M808, а изогенные линии сорта Б1 с аллелью Vrn- $B1^S$ выколосились позже линий с аллелью Vrn- $B1^{Dm}$ на 6 дней. Две замещённые линии сорта Sava достоверно не различались между собой по реакции на яровизацию. Все изученные линии реагировали на 30-дневную яровизацию ускорением колошения, причем линии с более слабой аллелью Vrn- $B1^{Dm}$ делали это сильнее, чем растения с более сильной аллелью Vrn- $B1^S$, на 5, 3 и 9 дней (см. таблицу). Ранее было показано, что сорта и линии, обладающие одним доминантным геном Vrn-B1, реагируют на яровизацию [5]. По нашим данным, линии с аллелью Vrn- $B1^S$.

Вывод. Получены новые подтверждения наличия множественного аллелизма гена Vrn-B1 с различной экспрессией, определяющей различия по времени колошения пшеницы. Линии с аллелью Vrn-B1S выколашивались раньше генотипов с аллелью Vrn-B1Dm. В перспективе использование разных аллелей доминантных локусов Vrn-I увеличивает возможность манипулировать длиной вегетационного периода, что весьма важно для селекции.

- 1. *Майстренко О.И.* Использование цитогенетических методов в исследовании онтогенеза мягкой пшеницы // Онтогенетика высших растений: Сб. науч. тр. / Ин-т генетики Республики Молдова. Кишинев: Штиинца, 1992. С. 98–114.
- 2. Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats // Euphitica. 1996. Vol. 89. P. 49–57.
- 3. Kato K., Nakagawa K., Kuno H. Chromosomal location of the genes for vernalization response, Vrn2 and Vrn4, in common wheat, Triticum aestivum L. // Wheat Inf. Serv. 1993. Vol. 76, P. 53.
- 4. Law C.N., Wolfe M.S. Location of genetic factors for mildew resistance and ear emergence time on chromosome 7B of wheat // Canad. J. Genet. Cytol. 1966. Vol. 8, № 3. P. 462–470.
- 5. *Pugsley A.T.* A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat // Austral. J. Agric. Res. 1971. Vol. 22. P. 21–31.
- 6. Efremova T.T., Arbuzova V.S., Leonova I.N., Makhmudova K. Multiple allelism in the Vrn-B1 locus of common wheat // Cereal Res. Commun. 2010 (in press).

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *HMG1*НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ¹

А.А. Ермошин, О.С. Синенко, В.В. Алексеева, Е.Б. Рукавцова, Я.И. Бурьянов

Изучено влияние экспрессии гетерологичного гена hmg1 в прямой и обратной ориентациях относительно промотора на репродукцию, анатомию листа, фотосинтез и устойчивость к биотическому стрессу у трансгенных растений Nicotiana tabacum L.

THE EFFECT OF *HMG1* GENE EXPRESSION ON THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF TRANSGENIC PLANTS

A.A. Ermoshin, O.S. Sinenko, V.V. Alekseeva, E.B. Rukavtsova, Ya.I. Buryanov

The effect of hmg1 heterologous gene in direct and reverse orientation of the gene towards promoter on reproduction, leaf anatomy structure, photosynthesis and biotic stress resistance of transgenic plants was studied

Введение. Вторичные метаболиты растений разнообразны по химической природе и по выполняемым ими функциям. Один из классов вторичных метаболитов — изопреноиды. В растениях их биосинтез локализован в хлоропластах и цитозоле. Через цитоплазматический путь синтезируются такие изопреноидные соединения, как брассиностероиды, фитостеролы, ряд фитоалексинов, образуются изопреноидные фрагменты цитокининов и убихинонов. Синтез этих соединений начинается с мевалоновой кислоты, за образование которой ответствен фермент 3-окси-3-метилглугарил-КоА редуктаза, кодируемый геном hmg1.

Целью нашей работы являлось изучение эффектов экспрессии гетерологичного гена hmg1 в разных ориентациях относительно промотора у модельного объекта – $Nicotiana\ tabacum$.

Материалы и методы. В работе использованы растения табака сорта Самсун, содержащие гетерологичный ген *hmg1* из *Arabidopsis thaliana* под контролем конститутивного промотора CaMV 35S вируса мозаики цветной капусты [1]. Растения выращивали на станции искусственного климата «Биотрон». Изучали морфологию растений, мезоструктуру листа [2], всхожесть семян поколения Т1. Морфологию и жизнеспособность пыльцы исследуемых линий определяли окрашиванием ацетокармином, активность дегидрогеназ в пыльце — с трифенилтетразолием, кроме того, проращивали пыльцу на 5 %-ной сахарозе. С помощью портативного газоанали-

¹ Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 09-04-00980) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (№ П2364).

затора GFP 3000 (WALTZ) определены интенсивность фотосинтеза, транспирации и дыхания.

Оценку устойчивости к биотическому стрессу проводили на листьях 8-недельных растений. Для этого листовые диски выдерживали 3 мин в ночной культуре *Pseudomonas syringae* либо в воде, после чего инкубировали 42 ч при температуре 25 ° С во влажной камере. Оценивали такие показатели стресса, как уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность каталазы, содержание свободного пролина [3], фенолов и флавоноидов [4].

Результаты и обсуждение. Морфология растений. Нами не обнаружено отличий в высоте, скорости роста и времени начала цветения между контролем и трансгенными линиями. Однако по данным других исследований мутанты по гену *hmg1* отличались низкой высотой растений и задержкой в цветении [5]. В нашем случае отсутствие различий в ростовых показателях может быть объяснено слабой супрессией гена с использованием технологии антисмысловых РНК.

Показано появление прилистников у всех линий трансгенных растений. Контрольные растения имели редуцированные прилистники. У растений со смысловой копией гена *hmg1* прилистники имели длину и ширину около 1,5–2 см. Растения с антисмысловой копией гена имели лентовидные прилистники, до 5 см в длину. Эти изменения в ассимилирующей поверхности могут вносить вклад в продуктивность и водный режим целого растения.

Изменения в генеративной сфере. Известно, что экспрессия генов семейства *hmg* максимальна в цветках растений и подавление их активности приводит к нарушению репродукции растений [5]. Наши результаты согласуются с этими данными. У растений со смысловой копией гена hmg1 («смысловые» растения) и контрольных растений различий не обнаружено. У растений с антисмысловой копией («антисмысловые» растения) наблюдались различные аномалии. Эти растения имели значительно меньше цветков в соцветии, сниженную массу семенных коробочек и уменьшенное количество семян в них. Всхожесть этих семян снижалась до 30 % (в контроле и у «смысловых» растений – более 80 %). Размер пыльцевых зерен «антисмысловых» растений был в среднем на 20 % меньше. При окраске этой пыльцы ацетокармином выявлено отставание цитоплазмы от стенок пыльцевого зерна. Активность дегидрогеназ в пыльце и ее прорастание обнаружены только в единичных пыльцевых зернах в поле зрения микроскопа, тогда как в контроле и у «смысловых» растений окрашивались и прорастали практически все пыльцевые зёрна. Скорость роста пыльцевых трубок «антисмысловых» растений была в 10 раз меньше, чем у контрольных и «смысловых» растений. Таким образом, значительное снижение всхожести семян «антисмысловых» растений и уменьшение их количества может быть объяснено нежизнеспособностью их пыльцы.

Изменение мезоструктуры листа. Показано уменьшение толщины листа на 12 % у «антисмысловых» растений по сравнению с контролем. У «смысловых» растений толщина листа достоверно не отличалась. Листья «антисмысловых» растений характеризовались более плотной упаковкой клеток в листе, а «смысловых» – более рыхлой, чем контрольные (более тонкий лист «антисмысловых» растений содержал на 15 % больше клеток мезофилла, чем контрольный, а «смысловых» – на 27 % меньше). При этом размеры клеток не отличались.

Фотосинтез, дыхание и транспирация трансгенных растений. Некоторые отличия в анатомии листа и предполагаемое повышение содержания брассиностероидов и цитокининов наводят на мысль о возможном изменении интенсивности фотосинтеза, дыхания и транспирации у трансгенных растений. Однако наши экспериментальные данные говорят об отсутствии отличий между исследованными линиями по данным параметрам.

Устойчивость к биотическому стрессу. Цитокинины и брассиностероиды играют значительную роль в адаптации растений к стрессам [6, 7], кроме того, через ацетатно-

мевалонатный путь синтезируются не только фитогормоны, но и некоторые фитоалексины, поэтому интерес представляло изучение устойчивости растений к биотическому стрессу. После воздействия фитопатогенной бактерии Ps. syringae уровень ПОЛ у «смысловых» растений не изменился, что свидетельствовало об отсутствии у этих линий стресса. В контроле и у «антисмысловых» растений в тех же условиях этот показатель возрос на 40-70 %. У всех линий произошло возрастание содержания свободного пролина, у «антисмысловых» и контрольных растений – не более чем на 70 %, тогда как у «смысловых» – на 300 %, что говорит о высокой сопротивляемости данных растений к действию биотического стресса. Активность гваяколовой пероксидазы у «антисмысловых» растений падала, что свидетельствовало об угнетении антиоксидантных систем растения. В контроле и у «смысловых» растений происходил рост активности фермента, но у «смысловых» растений изменение активности было большим, что говорит об их повышенной устойчивости к стрессу. Содержание фенолов и флавоноидов у контрольных и «антисмысловых» растений не изменилось или незначительно повысилось, тогда как у «смысловых» понизилось на 25-30 %. Это может свидетельствовать о сопротивляемости «смысловых» растений к действию патогена за счёт активации синтеза лигнина. Листовые диски контрольных и «антисмысловых» растений проявляли признаки хлороза на седьмые сут эксперимента, что говорит о действии патогена, диски «смысловых» растений оставались зелёными. Можно сделать вывод, что введение дополнительной копии гена hmg1 приводило к повышению устойчивости растений к действию биотического стресса.

Заключение. Получены трансгенные растения табака с изменённым ацетатномевалонатным путём биосинтеза изопреноидов, за счёт введения гетерологичного гена *hmg1* в прямой и обратной ориентациях относительно промотора. Все линии растений не имели существенных отличий в морфологии. В анатомии листа выявлены следующие изменения: более плотная упаковка клеток мезофилла внутри листа и уменьшение его толщины у растений с «антисмысловой» формой гена и более рыхлая упаковка (уменьшение количества клеток мезофилла) у растений со «смысловой» копией гена, при отсутствии изменений в размере клеток. Фотосинтез, дыхание и транспирация у исследованных линий не отличались. Растения с «антисмысловой» копией гена имели аномалии в репродуктивной сфере, отличались низкой всхожестью семян и высокой стерильностью пыльцы. В условиях биотического стресса растения со смысловой копией гена показали большую устойчивость.

Авторы выражают благодарность к.б.н., доценту И.С. Киселёвой (УрГУ, г. Екатеринбург) за помощь в определении газообмена растений.

- 1. Поройко В.А., Рукавцова Е.Б., Орлова И.В., Бурьянов Я.И. Фенотипические изменения трансгенных растений табака с антисмысловой формой гена hmg1 // Генетика. 2000. Т. 36. С. 1200–1205.
- 2. *Мокроносов А.Т., Борзенкова Р.А.* Методика количественной оценки и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции ВНИИ растениеводства. Л., 1978. Т. 61, №3. С. 119.
- 3. *Малёва М.Г., Некрасова Г.Ф.* Методы оценки устойчивости растений к стрессовым факторам. Екатеринбург: Изд-во УрГУ, 2007. 28 с.
- 4. Тютерев С.Л., Кудрявцева В.П., Тарлаковский С.А. и др. Применение методов биохимии в исследованиях по защите растений. Л., 1976. 134 с.
- 5. Suzuki M., Kamide Y., Nagata N., et. al. Loss of function of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase 1 (HMG1) in Arabidopsis leads to dwarfing, early senescence and male sterility, and reduced sterol levels // Plant J. 2004. Vol. 37. P. 750–761.
- 6. Khripach V., Zhabinskii V., de Groot A. Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the XXI Century // Ann. Bot. 2000. Vol. 86. P. 441–447.
 - 7. Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. М.: Наука, 1973. 263 с.

Серия биологическая

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ЯДЕРНОГО ПРОТЕОМА В ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА G₁ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ПРИ ПЕРЕКЛЮЧЕНИИ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОДПРОГРАММ РАЗВИТИЯ У ПШЕНИЦЫ ¹

Р.С. Иванов, Г.Х. Вафина, Э.А. Иванова

На основании экспериментальных данных, полученных на модельной системе яровой Артемовки и выведенного из нее озимого сорта Мироновской 808, предполагается, что молекулярные механизмы находятся на уровне нуклеоплазматических белков, ответственных за сборку нуклеосом, а также ядерного матрикса, ответственного за сборку ферментативных комплексов репликации и транскрипии.

FEATURES OF DYNAMICS NUCLEAR PROTEOM IN SPATIOTEMPORAL REORGANIZATION OF INTERPHASE CHROMATIN G₁ PHASE OF CELL CYCLE DURING THE SWITCHING OF MORPHOGENESIS SUBPROGRAMMS OF DEVELOPMENT IN WHEAT

R.S. Ivanov, G.H. Vafina, E.A. Ivanova

On the basis of experimental data carried out on model system Artemovka (summer) and the transformed from it Mironovsky 808 (winter), is supposed, that molecular mechanisms are at the level nucleoplasm proteins responsible for assembly nucleosome, and the nuclear matrix, responsible for assembly enzymatic complexes of replication and transcription.

Удивительная пластичность растений приспосабливаться к новому образу жизни, быть то в яровой, то в озимой форме и особенно «крупные биохимические различия» этого явления, интересовали ученых давно [1]. Работы по выяснению биохимической молекулярно-генетической основы этого процесса привели к предположению, что различия между «яровостью» и «озимостью» у пшеницы находятся на уровне регуляции экспрессии генома, при сохранении нормального фенотипа без изменений последовательностей ДНК [4]. В этом отношении зрелые зародыши пшеницы: яровая Артемовка и выведенная из неё озимая Мироновская 808 — являются удобной моделью для биохимического анализа самоорганизации переключения морфогенетических подпрограмм развития в процессе инициации роста за счет растяжения клеток в течение G_1 -фазы клеточного цикла. В ряде ра-

¹ Исследование выполнено при поддержке гранта Президента Республики Башкортостан (№ 14, 2010).

бот показано, что аргинин в составе белков активно участвует в процессах, структурирующих упаковку ДНК, т.е. участвует в сократительных процессах, особенно при модификации гуанидиновой группы. Сжатие или растяжение нуклеопротеидных супраструктур клеточного ядра способно экранировать гидрофобные или гидрофильные поверхности белка для межмолекулярных взаимодействий и тем самым влиять на плотность упаковки ДНК и ее транскрипционную активность. Таким образом, в аспекте влияния протеома клеточного ядра на пространственно-временную реорганизацию хроматина наше внимание было сфокусировано на зоны, где находятся *Арг-X* связи.

Целью данной работы было исследование локализации *Арг-Х* чувствительных зон (релаксации) к протеолизу в надмолекулярных структурах клеточных ядер как одного из молекулярно-генетических механизмов пространственно-временной реорганизации хроматина в нормальных условиях и при переводе ярового сорта в озимый.

Объектом исследования служили элитные семена пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сортов Артемовка (яровая) и Мироновская 808 (озимая) (присланные из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова). В определённые интервалы времени -0 ч (воздушно-сухое семя) и от начала замачивания семян: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 ч проводили отделение зародышей от эндосперма. Из зародышей клеточные ядра выделяли по методу [2]. Из очищенных клеточных ядер надмолекулярные структуры: нуклеоплазму (Нп), хроматин непрочно- (Xp-I) и прочно- (Xp-II) связанный с ядерным матриксом (ЯМ), а также ЯМ выделяли при повышении ионной силы раствора. Количество белка в ядрах и ядерных фракциях определяли методом Бредфорд в нашей модификации [3]. *Арг-X* (триптазную) активность во всех вышеперечисленных фракциях ядер оценивали по расщеплению *Арг-X* связей в аргининбогатом белке – протамине [3].

Сравнительный анализ состояния протеома клеточных ядер (рис. 1, а) зародышей Артемовки и выведенной из неё озимой Мироновской 808 показал, что в исследованном временном интервале при изменении морфогенетических подпрограмм развития, прежде вызванных холодовым стрессом, происходит задержка перехода G_1 -фазы в S-фазу клеточного цикла (рис. 1, $a: 18 \rightarrow 21$ ч). Показано (см. рис. $1, \delta$), что в период индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей наблюдаются резкие отличия в содержании белка во внутриядерных супраструктурах, особенно на уровне нуклеоплазмы (Нп), богатой стрессовыми белками и шаперонами, как известно, участвующими в сборке нуклеосом. Анализ локализации Apz-X протеазочувствительности в надмолекулярных структурах хроматина (см. рис. 1, в) показал, что как у озимой, так и у яровой пшеницы наблюдается цикличность активности этого фермента. Период транскрипционной активации хроматина в клеточных ядрах зародышей яровой пшеницы характеризуется четырехэтапной цикличностью протеолитического процессинга белка, а у озимых зародышей двухэтапной цикличностью протеолитического процессинга белка, причем в последнем случае только на уровне ядерного матрикса (ЯМ). Возможно, наблюдаемая последовательность биохимических реакций в процессе ростового морфогенеза и эпигенеза зародышей функционально запрограммирована структурной организацией хроматина в неотрывной связи с ядерным матриксом и отражает молекулярные механизмы, которые несут в себе яровые и озимые зародыши при транскрипционной активации хроматина.

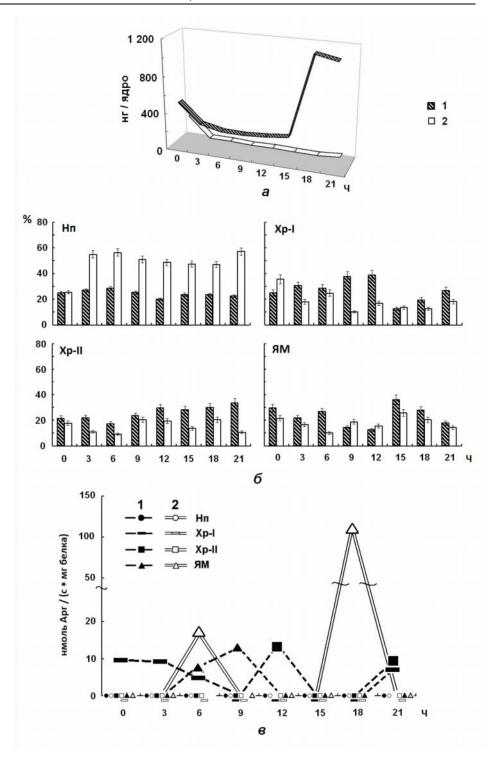


Рис. 1. Динамика внутриядерного протеома (a), выход белковых компонентов (δ) и Арг-Х активность (a) фазы G_1 клеточных ядер зрелых зародышей пшеницы сортов Артемовка (I) и Мироновская озимая (I) в нормальных условиях; Нп — нуклеоплазма; Хр-I — хроматин, непрочно связанный с ЯМ; Хр-II — хроматин, прочно связанный с ЯМ; ЯМ — ядерный матрикс

Таким образом, в процессе инициации ростового морфогенеза зрелых зародышей в течение G_1 -фазы клеточного цикла яровой Артемовки и выведенной из неё озимой Мироновской 808 молекулярные механизмы онтогенетической адаптации и ремоделирования хроматиновых структур при участии Apz-X протеолиза ярко выражены в пространственно-временном ритме у озимой пшеницы Мироновской 808. Причем эти молекулярные механизмы экологической генетики находятся в неотрывной связи с ядерным матриксом, являющимся поверхностью, на которой происходит сборка ферментативных комплексов репликации и транскрипции, а также с нуклеоплазмой, где осуществляется сборка нуклеосом.

- 1. Вавилов Н.И. Избранные труды. М.; Л., 1965. Т. 5. С. 312-313.
- 2. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. Пат. РФ. №1701747 // Бюл. изобр. 1991. № 48.
- 3. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. Пат. РФ. №1733471 // Бюл. изобр. 1992. № 18.
- 4. *Лобов В.П., Даскалюк А.П.* Сравнительное исследование ДНК озимых и яровых форм пшеницы // Докл. Академии наук СССР. 1984. Т. 275, № 1. С. 218–221.

Серия биологическая

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ DRE-CAЙТОВ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ПРОМОТОРАХ *IRF1*, *REL* И *IL12A* ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА

Е.В. Кашина, Е.В. Антонцева, М.Ю. Шаманина, Е.А. Ощепкова, Д.Ю. Ощепков, А.В. Катохин, А.Ю. Гришанова, Д.П. Фурман, В.А. Мордвинов

Ранее при помощи биоинформатического подхода SITECON были идентифицированы несколько новых потенциальных DRE, расположенных в регуляторных районах IRF1, REL и IL12A генов человека. Целью данной работы была проверка функциональной значимости предсказанных DRE сайтов, используя методы ПЦР-РВ и гель-ретардации.

TESTING OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF PUTATIVE DIOXIN RESPONSIVE ELEMENTS IN PROMOTER REGIONS OF *IRF1*, *REL* II *IL12A*HUMAN GENES

E.V. Kashina, E.V. Antontseva, M.Y. Shamanina, E.A. Oshchepkova, D.Y. Oshchepkov, A.V. Katokhin, A.Yu. Grishanova, D.P. Furman, V.A. Mordvinov

Earlier, some new putative dioxin responsive elements (DRE) in promoter regions of IRF1, REL u IL12A human genes were predicted with computer system SITECON. In this study we tested the functionality of the predicted DREs by experimental methods, i.e. electrophoretic mobility shift assay (EMSA) and real-time PCR.

Введение. В настоящее время, по данным ВОЗ, наблюдается увеличение числа аутоиммунных заболеваний и аллергических состояний. Одной из причин этого роста называют ухудшение экологической обстановки и увеличение числа ксенобиотиков в окружающей среде. Известно, что практически любая интоксикация в той или иной степени может стать причиной нарушения иммунного статуса организма. Макрофаги первыми из клеток иммунной системы встречаются с ксенобиотиками и помогают защитить организм от чужеродного воздействия. Огромное количество веществ обладает иммунотоксичностью, однако под определение «иммунотоксиканты» (вещества, которые в минимальных дозах нарушают иммунные реакции организма) подходит ограниченное число соединений. Одним из наиболее изученных иммунотоксикантов является 2,3,7,8-тетрахлордибензо-р-диоксин (ТХДД) [1].

Токсическое действие ТХДД на клетки реализуется через систему арилгидрокарбонового рецептора (AhR), транскрипционного фактора, который участвует в ряде критических клеточных событий в ответ на ксенобиотики или эндогенные сигналы, модулируя экспрессию многих генов в различных тканях [2]. В отсутствие лиганда AhR локализован в цитоплазме, где он взаимодействует с гомодимером белка теплового шока 90 кДа (hsp90) и иммунофилин-подобным белком AIP, образуя гетеротетрамерный коровый цитоплазматический комплекс. После связывания с лигандом AhR перемещается из цитоплазмы в ядро, где происходит диссо-

циация цитоплазматического комплекса, и AhR, связанный с лигандом, образует транскрипционно-активный комплекс с белком Arnt (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator). Комплекс лиганд:AhR:Arnt узнает специфическую коровую последовательность ДНК, называемую DRE (dioxin response element) [3]. Сайт связывания для DRE был идентифицирован как 5'-TnGCGTG-3' последовательность и обнаружен в регуляторных районах нескольких генов-мишеней, таких как СҮР1А1, СҮР1А2 или альдегиддегидрогеназа. Несмотря на существующие исследования в области влияния диоксина на иммунную систему человека [5, 6], набор генов, вовлекаемых в ответ макрофага на диоксин и механизмы их активации, исследован недостаточно.

Ранее с помощью биоинформатического метода SITECON были исследованы регуляторные районы генов цитокинов и транскрипционных факторов, экспрессирующихся в макрофаге, где были обнаружены потенциальные DRE, ответственные за реакцию клетки на воздействие ТХДД [7]. Целью данного исследования была проверка функциональности предсказанных сайтов, используя метод задержки ретардации в геле (EMSA) и ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Материалы и методы. Исследования проводились на перевиваемой клеточной линии моноцитов человека U937, полученной из коллекции клеточных ГНЦ ВБ «Вектор». С целью получения макрофагального фенотипа клетки инкубировали с 4-форбол-12-миристат-13-ацетатом (PMA) в концентрации 0,2 мкг/мл в течение 40 ч, после чего клетки на 3 сут помещали в полную среду (RPMI 1640 (10 %FBS)), не содержащую PMA. Полученные макрофагоподобные клетки обрабатывались 2nM ТХДД (опыт) или 0,1 %(v/v) диметилсульфоксидом (контроль) в течение 15 мин и 24 ч, после чего клетки использовались для получения суммарной PHK и ядерного экстракта. Для получения двуцепочечного зонда 26-нуклеотидные последовательности потенциальных DRE метили P³² в реакции кинирования и гибридизовали с полученым ядерным экстрактом, содержащим ТХДД:АНR:ARNT транскрипционный комплекс. Специфичность связывания ДНК/белковых комплексов анализировали методом задержки в геле, используя специфические антитела к AhR.

Суммарная РНК выделялась с помощью набора AquaPure RNA Isolation Kit, производства «Віо-Rad». Качество и количество выделенной РНК оценивались на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer, а также электрофорезом РНК в 1 % агарозном геле. ДНКазную обработку проводили набором DNAse I, RNase-free фирмы «Fermentas». Для синтеза кДНК использовали набор High Capacity cDNA Archive Kit производства «Applied Biosystems». Уровень экспрессии генов *IRF1*, *IL12A*, *REL*, *CYP1A1*, *ACTB* определяли методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), используя набор реактивов для ПЦР-РВ, в присутствии SYBR Green I производства ЗАО «Синтол» на приборе ABI PRISM 7000. Дизайн праймеров для выбранных генов осуществлялся с помощью программы Primer Express® Software v2.0 (Applied Biosystems).

Результаты и обсуждение. Для доказательства AhR-зависимого механизма индукции *IRF1*, *IL12A*, *REL* в макрофагоподобных клетках U937 под действием 2nM концентрации диоксина была исследована функциональная активность AhR. Появление ДНК-связывающей формы AhR в ядерном экстракте выявляли с помощью метода гель-ретардации. На рис. 1 представлен радиоавтограф электрофоретического распределения ДНК-белковых комплексов, образованных после инкубации ³²P-меченых DRE-содержащих олигонуклеотидов и белков ядерного экстракта, выделенных из клеток, обработанных 2nM концентрацией ТХДД в течение 24 ч. Добавление антител к AhR препятствует формированию ДНК-белковых комплексов, что видно на рис. 1 (из сравнения дорожек 1 и 2; 3 и 4; 5 и 6). Это указывает на

специфичность исследуемых комплексов, так как они ослабляются или исчезают при добавлении антител к арил-гидкрокарбоновому рецептору.

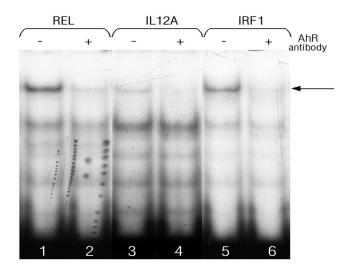


Рис. 1. Связывание ТХДД:АНR:ARNT транскрипционного комплекса с α-P32-мечеными олигонуклеотидами, содержащими DRE

Результаты ПЦР в реальном времени демонстрируют изменение уровней экспрессии исследуемых генов, при воздействии 2nM концентрации диоксина (рис. 2). Интересно, что наблюдаемая индукция происходит в разное время: через 15 мин — для гена IL12A и через 24 ч для генов IRF1 и REL.

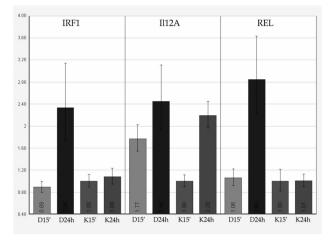


Рис. 2. Уровни экспрессии мРНК генов IRF1, IL12A и REL после обработки 2nM концентрацией ТХДД в макрофагоподобных клетках линии U937. D15′ – клетки обработаны 2nM ТХДД в течение 15 мин; K15′ – клетки обработаны 0,1 % ДМСО в течение 15 мин; D24h – клетки обработаны 2nM ТХДД в течение 24 ч; K24h – клетки обработаны 0,1 % ДМСО в течение 24 ч

Совокупность полученных результатов подтверждает функциональность предсказанных ранее DRE в регуляторных районах генов *IRF1*, *IL12A* и *REL* и позволяет сделать вывод о том, что транскрипционная индукция этих генов опосредуется через Аh-рецепторный путь сигнальной трансдукции.

- 1. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб.: Фолиант, 2004.
- 2. *Connor K.T., Aylward L.L.* Human response to dioxin: aryl hydrocarbon receptor (AhR) molecular structure, function, and dose-response data for enzyme induction indicate an impaired human AhR // Journal of Toxicology and Environmental Health. 2006. Part B, 9: 2. P. 147–171.
- 3. *Mimura J., Fujii-Kuriyama Y*. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). 2003. Vol. 1619, I. 3. P. 263–268.
- 4. Sciullo E.M., Vogel C.F., Li W., Matsumura F. Initial and extended inflammatory messages of the non-genomic signaling pathway of the TCDD-activated Ah receptor in U937 macrophages // Archives of biochemistry and biophysics. 2008. Vol. 480, I 2. P. 143–155.
- 5. Vogel C.F., Sciullo E., Wong P. et al. Induction of Proinflammatory Cytokines and C-Reactive Protein in Human Macrophage Cell Line U937 Exposed to Air Pollution Particulates // Environmental Health Perspectives. 2005. Vol. 113, I. 11. P. 1536–1541.
- 6. Furman D.P., Oshchepkova E.A., Oshchepkov D. Yu. et al. Promoters of the genes encoding the transcription factors regulating the cytokine gene expression in macrophages contain putative binding sites for aryl hydrocarbon receptor // Computational biology and chemistry. 2009. Vol. 33, 1. 6. P. 465–468.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ TNRA В КЛЕТКАХ BACILLUS SUBTILIS ПУТЕМ ПРОТЕОЛИЗА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С БЕЛКАМИ GLNK И GS^1

А.Р. Каюмов, К.П. Федорова

Фактор транскрипции TnrA контролирует экспрессию генов азотного метаболизма в клетках Bacillus subtilis. Регуляция его активности осуществляется путем взаимодействия с белками GlnK или глутаминсинтетазой GS. Диссоциация белка TnrA из комплекса приводит к его протеолизу. В работе обсуждаются вопросы природы сигнала распознаваемого белком TnrA и механизм его защиты от деградации.

THE REGULATION OF TRANSCRIPTION FACTOR TNRA ACTIVITY IN *BACILLUS SUBTILIS* BY PROTEOLYSIS AND INTERACTION WITH GLNK AND GS PROTEINS

A.R. Kayumov, K.P. Fedorova

The transcription factor TnrA controls an expression of nitrogen metabolism genes in Bacillus subtilis cells. Its activity is regulated by interaction with GlnK or glutamine syntetase (GS). The dissociation of TnrA from these proteins leads to its proteolytic degradation. The questions of signal recognized by TnrA and degradation protection mechanism are discussed.

Фактор транскрипции TnrA в условиях азотного голодания контролирует экспрессию множества генов и оперонов в клетках Bacillus subtilis [1]. В условиях недостатка азота фактор TnrA находится в мембраносвязанной форме, образуя комплекс с белками транспорта аммония AmtB-GlnK [2-4]. Трансмембранный белок AmtB осуществляет транспорт ионов аммония в клетку [3, 5]. GlnK - небольшой регуляторный белок, принадлежащий к семейству белков РІІ, и, по всей видимости, выполняющий регуляторную роль, которая остается пока не ясной [3, 5]. При избытке доступного азота возрастает концентрация внутриклеточного глутамина, что, в свою очередь, является причиной подавления активности глутаминсинтетазы (GS) по принципу обратной репрессии. Эта форма глутаминсинтетазы способна формировать белковый комплекс с фактором транскрипции TnrA, снижая способность последнего взаимодействовать с ДНК [1]. Нами было обнаружено, что регуляция активности фактора транскрипции ТпгА происходит также путем его внутриклеточного протеолиза [4]. При удалении источника азота фактор TnrA исчезает из клеток в течение 15 мин. С другой стороны, в штаммах, дефектных по белкам GlnK или AmtB, белок TnrA находится в цитоплазме, и его количество не изменяется в ответ на истощение источника азота [4]. Целью данной работы явилось установить механизм защиты фактора ТnrA от протеолитического расщепления.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Была выдвинута гипотеза, что фактор TnrA не подвержен протелизу в том случае, если он находится в комплексе с каким-либо белком. Известны 2 белка, которые способны взаимодействовать с этим фактором транскрипции, - GlnK и GS. Чтобы установить, связан ли фактор TnrA с одним из этих белков, была проведена иммунопреципитация белка TnrA из клеточных экстрактов исходного штамма B. subtilis 168, и штаммов, дефектных по белкам GlnK и AmtB [3]. Эксперименты показали, что в клетках исходного штамма, выращенного в условиях лимитации по источнику азота, фактор TnrA связан с белком GlnK. После удаления источника азота из среды культивирования количество фактора TnrA в иммунопреципитатах резко снижалось, при этом белок GlnK в них отсутствовал. Это подтвердило наши ранние предположения, что отсутствие доступного азота ведет к диссоциации фактора ТпгА в цитоплазму и его дальнейшему протеолизу. В отличие от исходного, в штамме, дефектном по белку AmtB, белок GlnK элюировался вместе с фактором TnrA из экстрактов клеток, выращенных как в присутствии азота, так и после его удаления из среды культивирования. Этот факт позволил предположить нарушение механизма передачи сигнала для протеолиза фактора TnrA в этом штамме. В иммунопреципитатах из клеточных экстрактов штамма, мутантного по гену glnK, вместе с фактором TnrA обнаруживалась глутаминсинтетаза. Таким образом, при инактивации гена nrgA белок TnrA находится в стабильном комплексе с белком GlnK и в комплексе с глутаминсинтетазой в отсутствие белка GlnK и тем самым защищен от протеолитического расщепления. В исходном штамме удаление источника азота из среды культивирования приводит к быстрой диссоциации фактора транскрипции TnrA из мембранного комплекса с GlnK в цитоплазму клетки и его дальнейшей элиминации.

Чтобы подтвердить полученные результаты, были проведены эксперименты по иммунопреципитации белка GlnK и глутаминсинтетазы. В иммунопреципитатах белка GlnK, полученных из клеточного экстракта выращенных в бедной азотом среде клеток штамма, дефектного по белку AmtB, а также контрольного штамма дикого типа *B.subtilis* 168, обнаруживался белок TnrA. В экстрактах клеток, инкубированных в среде без азота, фактор TnrA элюировался вместе с GlnK только в случае мутантного штамма. Эти данные подтвердили результаты, что при дефекте белка AmtB фактор TnrA связан с растворимой формой белка GlnK. Необходимо отметить, что в штамме дикого типа *B. subtilis* 168 TnrA обнаруживается в комплексе только с мембраносвязанной формой белка GlnK [2]. Результаты иммунопреципитации глутаминсинтетазы показали, что в штамме *B. subtilis glnK* фактор транскрипции TnrA связан с глутаминсинтетазой независимо от доступности азота для клетки.

Таким образом, фактор транскрипции TnrA в клетках *B. subtilis* 168 (дикий тип) находится в мембраносвязанном состоянии в комплексе с белком GlnK; этот комплекс распадается при истощении источника азота в среде. При дефекте гена *amtB* комлекс GlnK-TnrA имеет цитоплазматическую локализацию и стабилен независимо от доступности азота в среде. При дефекте же белка GlnK белок TnrA также находится в цитоплазме, но в комплексе с глутаминсинтетазой, также независимо от наличия доступного азота. Фактор транскрипции подвержен протеолизу только когда он освобождается из комплекса с белком-партнером, поэтому в штаммах с дефектами белков AmtB и GlnK, в которых TnrA находится постоянно в комплексе либо с GlnK, либо с GS, соответственно, не происходит его протеолиза в ответ на истощение азота в среде культивирования.

- 1. Wray L.V. Jr, Zalieckas J.M., Fisher S.H. Bacillus subtilis glutamine synthetase controls gene expression through a protein-protein interaction with transcription factor TnrA // Cell. 2001. Vol. 107. P. 427–435.
- 2. Heinrich A., Woyda K., Brauburger K. et al. Interaction of the membrane-bound GlnK-AmtB complex with the master regulator of nitrogen metabolism TnrA in Bacillus subtilis // J. Biol. Chem. 2006. Vol. 281. P. 34909–34917.
- 3. Detsch C., Stulke J. Ammonium utilization in Bacillus subtilis: transport and regulatory functions of NrgA and NrgB // Microbiology. 2003. Vol. 149. P. 3289–3297.
- 4. Kayumov A., Heinrich A., Sharipova M. et al. Inactivation of the general transcription factor TnrA in Bacillus subtilis by proteolysis // Microbiology. 2008. Vol. 154. P. 2348–2355.
- 5. Saxild H.H., Nygaard P. Genetic and physiological characterization of Bacillus subtilis mutants resistant to purine analogs // J. Bacteriol. 1987. Vol. 169. P. 2977–2983.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДА A_{β} И PRION PROTEIN В ДРОЖЖАХ $SACCHAROMYCES\ CEREVISIAE^{1}$

В.В. Коржова, К.С. Антонец, А.П. Галкин, А.Ф. Сайфитдинова, А.А. Рубель

Рассматриваются нарушения укладки белков, ведущие к патогенезу при амилоидных заболеваниях, и их возможное взаимное влияние в развитии болезни Альцгеймера и прионных заболеваний. Описывается экспериментальная система, позволяющая исследовать непосредственное взаимодействие пептида $A_{\rm B}$ u Prion Protein.

USING OF FLUORESCENCE MICROSCOPY METHODS FOR ANALYSIS OF THE INTERACTION BETWEEN A_{β} PEPTIDE AND PRION PROTEIN IN YEAST SACCHAROMYCES CEREVISIAE

V.V. Korzhova, K.S. Antonec, A.P. Galkin, A.F. Saifitdinova, A.A. Rubel

The present research considers protein misfolding leadind to pathogenesis in amyloidoses and their possible influence on each other in Alzheimer and prion diseases. The experimental system that allows to investigate the direct interactions between A_{β} peptide and Prion Protein is described.

Более 20 болезней человека связаны с аномальной укладкой и агрегацией белков, в норме являющихся растворимыми. Такие заболевания называют «болезнями неправильной укладки» (protein misfolding diseases — PMDs) или амилоидозами. Амилоидозы делятся на инфекционные и неинфекционные. Наиболее известными неинфекционными амилоидозами человека являются болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, хорея Хантингтона, диабет второго типа. К наиболее известным инфекционным амилоидозам, которые также называются прионными заболеваниями, относятся Куру, болезнь Кройцфельда — Якоба у человека и заболевания других млекопитающих — губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота («коровье бешенство»), скрэпи овец и др. [1]. Все эти заболевания в настоящее время являются неизлечимыми.

Наиболее распространенным из амилоидных заболеваний является болезнь Альцгеймера, в настоящее время ею страдает каждый третий человек в возрасте старше 85 лет. Это заболевание связано с образованием агрегатов пептида амилоид-бета (A_{β}) , который образуется в результате разрезания трансмембранного белка APP (Amyloid Precursor Protein) [2]. В последние годы накапливается все больше данных в пользу того, что именно межклеточное накопление этих агрегатов ведет к нарушениям, вызывающим дисфункцию нейронов [3].

 $^{^{1}}$ Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг., Госконтракт П-2619.

Все прионные заболевания связаны с накоплением в тканях головного мозга высокомолекулярных агрегатов белка, получившего название PrP (от Prion Protein). Инфекционным агентом является олигомерная изоформа в норме мономерного PrP^{C} (от cellular) – PrP^{Sc} (от scrapie), устойчивая к воздействию температуры, химических агентов и протеолитических ферментов. Такая аномальная конформация белка обеспечивает передачу заболевания за счет автокаталитической конверсии вновь синтезируемых молекул с использованием олигомерной формы как матрицы [4].

Кроме достаточно давно показанной взаимосвязи [5–7] болезни Альцгеймера и прионных заболеваний, интересной особенностью пептида Аb и белка PrP является их способность к взаимодействию: белок PrP в растворимой изоформе специфично связывает олигомеры амилоида-бета, т.е. является его рецептором, и, таким образом, способен влиять на проявление болезни [8]. Недавние исследования также показали, что процессы, связанные с неправильной укладкой одного из этих белков, являются серьезным фактором риска для аналогичных процессов и агрегации другого [9]. Поэтому интересным представляется изучение возможности взаимодействия и взаимного влияния агрегатов PrP и амилоида-бета.

Большое количество работ убедительно доказывает, что дрожжи представляют собой адекватную модель для исследования амилоидных белков млекопитающих [10].

Важной особенностью использования дрожжевых моделей является возможность визуализировать агрегацию белков с помощью создания химерных конструкций, в которых изучаемый белок слит с репортерной последовательностью, например с флуоресцирующими белками, широко используемыми сейчас в молекулярно-биологических исследованиях [11]. Целью нашей работы является анализ взаимодействия белка PrP и пептида амилоида-бета в дрожжах Saccharomyces cerevisiae.

K настоящему моменту мы получили дрожжевые штаммы, продуцирующие мышиный белок PrP или пептид A_{β} , слитые с разными флуоресцирующими белками, – GFP, CFP и YFP.

Методом флуоресцентной микроскопии мы показали, что продукция белков А_в-GFP и PrP-GFP приводит к формированию в дрожжевых клетках флуоресцирующих агрегатов, которые имеют цитоплазматическую локализацию и не колокализуются с клеточными компартментами. Продукция белка с плазмиды, содержащей только ген GFP, не ведет к образованию агрегатов. Мы также провели биохимический анализ белков PrP-GFP и А_в-GFP. Белковые экстракты, выделенные из дрожжевых клеток, были разделены методом дифференциального центрифугирования на осадочную (нерастворимую) и надосадочную фракции. Результаты Вестерн-блот гибридизации показали, что большая часть белков PrP-GFP и A_β-GFP представлена в осадочной фракции, тогда как в контроле, содержащем GFP, сигнал детектировался только в растворимой фракции. Это свидетельствует о том, что белки PrP-GFP и A_{β} -GFP формируют в дрожжах крупные агрегаты. Анализ устойчивости агрегатов PrP-GFP и A₈-GFP к действию протеиназы К свидетельствует, что они устойчивы к ее действию даже в концентрации протеиназы 40 мкг/мл, тогда как GFP является чувствительным к действию протеиназы K уже при низких концентрациях. Сходной устойчивостью к протеиназе К обладают агрегаты амилоидных белков из мозга больных млекопитающих. Кроме того, с помощью метода полуденатурирующего электрофореза в агарозном геле и Вестерн-блот гибридизации мы показали, что агрегаты PrP-GFP и A_{β} -GFP состоят из высокомолекулярных полимеров, устойчивых к действию 2 % SDS.

Таким образом, биохимический анализ подтверждает, что химерные белки PrP-GFP и A_{β} -GFP формируют в дрожжевых клетках агрегаты, проявляющие свойства амилоидных белков, сходные с агрегатами из мозга больных млекопитающих.

В дальнейшей работе планируется исследование возможности взаимодействия гибридных белков A_{β} и PrP методом FRET с использованием штаммов дрожжей, продуцирующих эти белки, слитые с флуоресцентными – CFP и YFP.

Метод FRET (fluorescence resonance energy transfer, или Förster resonance energy transfer) позволяет изучать взаимодействие белков in vivo. FRET – это физическое явление, обусловленное передачей энергии между двумя хромофорами с помощью с безызлучательного диполь-дипольного спаривания. Для этого получаются конструкции, в которых изучаемые белки слиты один с донором, а другой с акцептором, в качестве которых выступают флуоресцирующие белки. При использовании CFP и YFP, CFP является акцептором, а YFP – донором, т.к. пик эмиссии YFP совпадает с пиком поглощения CFP. Если исследуемые белки тесно взаимодействуют, происходит достаточно эффективная передача энергии. Эффективность передачи и, соответственно, степень взаимодействия белков может быть оценена через скорость фотовыгорания акцептора в присутствии и в отсутствие донора или по увеличению интенсивности флуоресценции акцептора [12–14].

Результаты проведенных исследований помогут не только изучить возможные взаимодействия агрегатов белков A_{β} и PrP, но и оценить возможность их влияния на агрегацию друг друга в живых клетках, а также патогенез вызываемых ими заболеваний. Полученные данные в свою очередь расширят возможности для развития терапевтических подходов.

- 1. Soto C. Protein misfolding and disease; protein refolding and therapy // FEBS Lett. 2001. Vol. 498. P. 204–207.
- 2. Morishima-Kawashima M., Inara Y. Alzheimer's disease: β -amyloid protein and tau // J. of Neuroscience Research. 2002. Vol. 70. P. 392–401.
- 3. Bayer T., Wirths O.P. Intracellular accumulation of amyloid-beta a predictor for synaptic dysfunction and neuron loss in Alzheimer's disease // Frontiers in Aging Neuroscience. 2010. Vol. 2. P. 1–10.
- 4. Prusiner S.B. Early evidence that a protease-resistant protein is an active component of an infectious prion // Cell. 2004. Vol. 116. P. 109.
- 5. Leuba G., Saini K., Savioz A., Charnay Y. Early-onset familial Alzheimer disease with co-existing beta-amyloid and prion pathology // JAMA. 2000. Vol. 283. P. 1689–1691.
- 6. Hainfellner J.A., Wanschitz J., Jellinger K. et al. Coexistence of Alzheimer-type neuropathology in Creutzfeldt-Jacob disease // Acta Neuropatol. 1988. Vol. 96. P. 116–122.
- 7. Parkin E.T., Watt N.T., Hussain I. et al. Cellular prion protein regulates β -secretase cleavage of the Alzheimer's amyloid precursor protein // PNAS. 2007. Vol. 104. P. 11062–11067.
- 8. Gunther E.C., Strittmatter S.M. β-amyloid oligomers and cellular prion protein in Alzheimer's disease // J. Mol Med. 2009. Vol. 88(4). P. 331–338.
- 9. Morales R., Estrada L.D., Diaz-Espinoza R. et al. Molecular cross talk between misfolded proteins in animal models of Alzheimer's and prion diseases // J. of Neuroscience Research. 2010. Vol. 30. P. 4528–
- 10. Галкин А.П., Миронова Л.Н., Журавлева Г.А., Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей, амилоидозы млекопитающих и проблема протеомных сетей // Генетика. 2006. Т. 42. С. 1–13.
- 11. Green L.E., Park Y., Masison D., Eisenberg E. Application of GFP-labeling to study prions in yeast // Protein Pept Lett. 2009. Vol. 16(6). P. 635–641.
- 12. You X., Nguyen A.W., Jabaiah A. et al. Intracellular protein interaction mapping with FRET hybrids // PNAS. 2006. Vol. 103. P. 18458–18463.
- 13. Raicu V., Jansma D.B., Miller R.J.D., Friesen J.D. Protein interaction quantified in vivo by spectrally resolved fluorescence resonance energy transfer // Biochem J. 2005. Vol. 385. P. 265–277.
- 14. Mallik S., Yang W., Norstrom E.M., Mastrianni J.A. Live cell FRET predicts an altered molecular association of heterologous PrPSc with PrPC // J. Biol. Chem. 2010. Vol. 285(12). P. 8967–8975.

Том 275

Серия биологическая

НАСЛЕДОВАНИЕ РОЗОВОЙ ОКРАСКИ ВЕНЧИКА У КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (FRAGARIA × ANANASSA DUCH.) В БЭККРОССНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ

Л.Л. Кузнецова

Описывается характер наследования розовой окраски венчика у октоплоидной земляники. Показано, что сегрегация в потомствах F.× ananassa от анализирующего скрещивания согласуется с теоретическими отношениями, рассчитанными на основе модели полисомического наследования признака с хроматидным типом расщепления аллелей в гаметах.

COROLLA PINK COLOR INHERITANCE IN GARDEN STRAWBERRY (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.) UNDER BACK CROSSING

L.L. Kuznetsova

The present research is concentrated on the inheritance nature of strawberry corolla pink color. It has been shown that segregation in $F.\times$ ananassa test-cross progenies corresponds to the ratios of the predictive model for polysomic inheritance with chromatid type of allele segregation in gametes.

Представители рода Fragaria обычно имеют белый венчик. Присутствие розовой окраски лепесков у октоплоидной культурной земляники (F. × ananassa Duch., 2n = 8x = 56) обусловлено интрогрессией данного признака от сабельника болотного $Comarum\ palustre\ (Potentilla\ palustris\ 2n = 6x = 42)$ в результате межродовой гибридизации [1]. Полученные гибриды послужили исходным материалом для создания первых розовоцветковых сортов земляники декоративного назначения, таких как Pink Panda, Serenata и др. [2]. В настоящее время одним из перспективных направлений селекции крупноплодной земляники стало создание розовоцветковых сортов с ремонтантным типом плодоношения, которые имели бы ценность не только как декоративные, но и как ягодные культуры. Кроме того, формы F. × ananassa с розовыми лепестками представляют большой интерес для изучения нового, эволюционно не свойственного роду Fragaria признака «розовая окраска венчика».

Цель данной работы — изучение характера наследования розовой окраски венчика в скрещиваниях белоцветковой $Fragaria \times ananassa$ с розовоцветковыми гибридами.

В проводимой работе был задействован коллекционный фонд гибридов $Fragaria \times ananassa$ лаборатории популяционной генетики растений Института цитологии и генетики СО РАН. В качестве материнских родительских форм были использованы гибриды с белой окраской венчика и пестичным типом цветков (семья ВК-7), полученные от комбинации скрещивания № 96/10-78-4 \times Крымская ремонтантная. Опылителем послужил F_1 гибрид С 141 (создан компанией ABZ Seeds,

Нидерланды). Сеянцы этого гибрида имели темно-розовую (образец 61-1) и пурпурную (образец 61-2) окраску венчика. Определение окраски лепестков у растений осуществлялось визуально с применением мини-версии шкалы цветовых эталонов Royal Horticultural Society (2005).

В результате скрещивания было получено 729 растений. Генетический анализ выявил сегрегацию в гибридном потомстве, полученном с участием розовоцветковых образцов F. \times ananassa. Потомство разделилось на две группы – с белым и окрашенным венчиком (табл.1). Ранее было показано, что признак «розовая окраска венчика» является доминантным [3]. Для объяснения результатов была использована модель полисомического наследования признака с хроматидным типом расщепления аллелей в гаметах, основанная на гипергеометрическом распределении частот гамет у автополиплоидов и, в частности, у октоплоидной земляники [4]. Реализация данной модели возможна в случае, когда исследуемый признак контролируется двумя аллелями одного гена (P и p). При этом экспрессия альтернативных фенотипов регулируется соотношением доминантных и рецессивных аллелей в генотипе, что обусловливает проявление признака. Поскольку F. \times ananassa является октоплоидом (2n=8x=56), в генотипе сеянца имеется 8 аллелей, ответственных за окраску венчика.

Расчет соответствия между эмпирическим и теоретически ожидаемым расщеплением для моногенно наследуемого признака «розовая окраска венчика» осуществляется по формуле

$$G = 2(\sum f_i \ln f_i / f_{ij}) = 2\sum f_i (\ln f_i - \ln f_{ij}),$$
 (1)

где f_i и f_i – соответственно эмпирические и теоретические частоты конкретного распределения.

Число степеней свободы (df) равно количеству фенотипических классов минус один; пороговым значением берется вероятность соответствия, равная 95 %. Табличное значение G соответствует значениям χ^2 распределения Пирсона [5].

Из табл. 1 следует, что в гибридном потомстве, полученном с участием образца 61-1, выщепляются белоцветковые сеянцы с частотой 3,1 %, что, согласно используемой модели, соответствует генотипу исходного розовоцветкового растения A^4a^4 . При вовлечении в качестве опылителя образца 61-2 белоцветковые сеянцы выщепляются с частотой 1,8 %, что соответствует генотипу пыльцевого родителя A^5a^3 , содержащего пять доминантных аллелей розовой окраски венчика.

Таблица 1 Сегрегация по признаку «розовая окраска венчика» в семенном потомстве

	Предпо-	Отношения фенотипов по окраске венчика					
Комбина-	ла-	белый		окрашенный			Крите-
ция скре-	гаемый	В	теоретиче-	В	теоретиче-	Bce-	рий
шивания	генотип	опы-	ски ожи-	опы-	ски ожи-	ГО	соответ-
щивания	опылите-	те	даемые	те	даемые		ствия G
	ЛЯ						
BK-7 × 61-1	A4a4	16	19, 64	494	490, 37	510	0,75
BK-7 × 61-2	A5a3	4	1,8	214	217,2	218	2,01

Примечание. $G_{0,05} = 3,84$, df = 1.

Среди растений-потомков наблюдался непрерывный ряд изменчивости признака от бледно-розовой окраски до пурпурной, включая все промежуточные оттенки розового цвета. Следуя модели полисомического наследования признаков, в гибридном потомстве F_1 можно ожидать появление пяти фенотипических классов сеянцев, поскольку гаметы материнского растения не несут аллелей, ответственных за появление розовой окраски (табл. 2).

Таблица 2

Отношения фенотипов по признаку «окраска венчика» в анализирующих скрещиваниях

Окраска венчика	Белая	Светло- розовая	Розовая	Темно- розовая	Пурпурная	Всего	G
BK-7 × 61-1							
Ожидаемые	19	125	222	125	19	510	9,3
В опыте	16	107	254	119	14	510	9,3
BK-7 × 61-2							
Ожидаемые	2	24	81	86	25	218	6,58
В опыте	4	15	78	92	29	218	0,58

Примечание. $G_{0.05} = 9,49$, df = 4.

На рис. 1 показано распределение сеянцев по признаку «окраска венчика». В левом конце каждой диаграммы показана частота фенотипов, обусловленных генотипом, совершенно лишенным доминантных факторов. Правее расположены четыре фенотипических класса, генотипы которых имеют по 1, 2, 3 и 4 доминантных аллели соответственно. Сравнивая диаграммы, можно увидеть, что наибольшая доля потомков опылителя 61-1 приходится на розовый фенотип (49, 8 %), тогда как у пыльцевого родителя 61-2 с максимальной частотой (42, 2 %) возникают потомки, имеющие темно-розовый венчик.

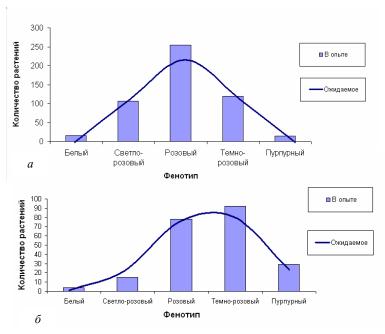


Рис. 1. Фенотипический состав поколения F_1 при анализирующем скрещивании (наследование розовой окраски у *F. ananassa*): $a - BK-7 \times 61-1$, $\delta - BK-7 \times 61-2$

Вывод. Розовая окраска венчика у F. \times ananassa имеет моногенный контроль с хроматидным типом сегрегации доминантного аллеля в семенном потомстве. При этом интенсивность розовой окраски лепестков зависит от количества доминантных аллелей в генотипе растения. Модель моногенного наследования признака с хроматидным типом сегрегации окраски венчика позволяет прогнозировать долю

розовоцветковых гибридных сеянцев с определенной тональностью окраски лепестков в потомстве $F. \times ananassa$.

- 1. Ellis J.R. Fragaria-Potentilla intergeneric hybridization and evolution in Fragaria // Proc. Linnean Society of London. 1962. Vol. 173. P. 99–106.
- 2. Батурин С.О., Кузнецова Л.Л. Состояние и перспективы селекции розовоцветковой крупноплодной земляники (Fragaria × ananassa Duch.) в Западной Сибири // Инф. вестник ВОГиС. 2010. № 1. С. 165–171.
- 3. *Малецкий С.И., Сухарева Н.Б., Батурин С.О.* Наследование пола у апомиктических сеянцев земляники крупноплодной (*Fragaria* × *ananassa Duch.*) // Генетика. 1994. Т. 30, № 2, С. 237–243.
- 4. Weber E. Prufen von Verteilungen. Anpassungstest. Kapitel 13 // Die Grundrib der biologischen Statistik. 9 Auflage. VEB Gustav Ficher Verlag, Jena, 1986. S. 190–199.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК НА КЛАСТОГЕННЫЕ И АНЕУГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ИЗ г. ТАШТАГОЛА

А.А. Лунина, А.В. Ларионов, Ф.И. Ингель, Т.А. Толочко, В.И. Минина, Т.А. Головина

Представлены результаты изучения воздействия повышенных доз излучения от радона на цитогенетические, пролиферативные и витальные показатели лимфоцитов периферической крови детей и подростков. Показано влияние полиморфизмов генов репарации ДНК hOGG1, ADPRT и XpG на изученные показатели.

DNA REPAIR GENES POLYMORPHISMS INFLUENCE TO THE CLASTOGENIC AND ANEUGENIC EFFECTS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS FROM TASHTAGOL.

A.A. Lunina, A.V. Larionov, F.I. Ingel, T.A. Tolochko, V.I. Minina, T.A. Golovina

Effects of exposure by increased residential radon level (> 200 Bq/m³), including cytogenetic, proliferative and vital characteristics of peripheral blood lymphocytes of children and adolescents was studied. The results suggest that polymorphism of DNA repair genes hOGG1, ADPRT and XpG are influenced for studied indicators.

Проблема оценки биомедицинских последствий длительного воздействия малых доз ионизирующих излучений остаётся наиболее сложной, имеющей не только радиобиологическое, но и социально-экономическое значение. В настоящее время установлено, что более 50 % облучения человека от природных источников обусловлено радоном и продуктами его распада. По оценке МАИР радон относится к I группе канцерогенов. В связи с этим актуальным является оценка последствий облучения населения, проживающего на территориях с повышенным содержанием радона.

Наиболее распространенными цитогенетическими методами изучения воздействия ионизирующего воздействия на организм человека являются метод оценки частоты и спектра структурных аберраций хромосом и микроядерный тест в кратковременных культурах лимфоцитов крови, позволяющие учитывать кластогенные и анеугенные эффекты воздействия радиации, а также влияние данного фактора на пролиферативную активность клеток.

Ответные реакции клеток на действие повреждающих факторов, в том числе и радиационной природы, в значительной степени определяются активностью ферментов, участвующих в репарации повреждений ДНК.

В связи с вышесказанным целью настоящей работы стало изучение модифицирующего влияния полиморфизмов генов репарации ДНК ADPRT Val762Ala, hOGG1 Ser326Cys и XpG Asp1104His на цитогенетические, витальные, пролиферативные показатели лимфоцитов периферической крови детей и подростков, подвергающихся воздействию повышенных доз излучения от радона.

Материалом для исследования послужили препараты лимфоцитов периферической крови и образцы ДНК 149 детей и подростков, проживающих в школеинтернате г. Таштагола. Проведенные ранее кафедрой генетики КемГУ замеры удельной объемной активности радона в воздухе жилых и учебных помещений школы-интерната г. Таштагола показали достоверно значимое превышение нормативных значений объемной активности радона.

Подготовку препаратов метафазных хромосом осуществляли с использованием стандартного полумикрометода культивирования лимфоцитов [1]. Учитывали четыре основные категории хромосомных аберраций: хроматидные и хромосомные разрывы (фрагменты); хроматидные и хромосомные обмены. Микроядерный тест проводился с использованием методики Titenko-Holland N. с соавт [2]. Выделение ДНК осуществлялось с использованием метода фенол-хлороформной экстракции. Молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов генов репарации ДНК проводили методом «SNP-экспресс» с использованием коммерческих наборов производства НПФ «Литех» (г. Москва). Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statsoft Statistica 6.0. Достоверность отличий между группами оценивали с использованием U-критерия Манна — Уитни.

Распределение частот аллелей и генотипов генов репарации ДНК в изученной группе соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

При сопоставлении результатов цитогенетического и молекулярногенетического исследований в когорте обследованных из г. Таштагол было выявлено достоверно значимое увеличение частоты хромосомных аберраций у носителей мутантных аллелей генов репарации ДНК (таблица).

Частота хромосомных нарушений в лимфоцитах
с различными вариантами генов репарации ДНК

Полиморфизм		Частота встречаемости, %	Доля клеток с хромосомными аберрациями, %	Количество аберраций на 100 клеток
ADPRT	Val762Val	94(42,53)	4,85±0,32	4,99±0,32
Val762Ala	Val762Ala	98 (44,34)	5,89±0,28*	6,04±0,30*
	Ala762Ala	29 (12,13)	5,50±0,66	5,66±0,68
hOGG1	Ser326Ser	42 (29,37)	4,99±0,37	5,07±0,37
Ser326Cys	Ser326Cys	70 (48,95)	5,99±0,30**	6,17±0,31**
	Cys326Cys	31 (21,68)	5,18±0,43	5,34±0,46
ХрG	Asp1104Asp	55 (40,44)	5,15±0,27***	5,25±0,28***
Asp1104His	Asp1104His	63 (46,32)	5,58±0,37	5,76±0,38
	His1104His	18 (13,24)	6,35±0,50	6,49±0,53

Примечание. *p<0,01 — достоверное отличие гетерозигот по гену ADPRT от гомозигот по аллели дикого типа; **p<0,05 — достоверное отличие гетерозигот по гену hOGG1 от гомозигот по аллели дикого типа; *** p<0,05 — достоверное отличие гомозигот по мутантной аллели гена XpG от гомозигот по аллели дикого типа.

В условиях воздействия повышенных доз радона было показано, что у гомозигот по мутантной аллели гена ADPRT достоверно чаще наблюдается гибель лимфоцитов путем апоптоза по сравнению с гетерозиготами по данному гену $(33,11\pm5,5,47\ u\ 44,93\pm7,70\ cootsetctbeho)$.

Анализ результатов средних значений цитогенетических показателей выявил, что в лимфоцитах, не вступивших в митоз под воздействием $\Phi\Gamma A$ (одноядерные клетки), микроядра отмечаются достоверно чаще у гомозигот по аллели дикого типа гена hOGG1 по сравнению с гетерозиготами $(0,76\pm0,14$ и $0,48\pm0,16$ соответственно).

При изучении модифицирующего влияния полиморфизма гена XpG на цитогенетические показатели лимфоцитов детей и подростков г. Таштагола установлено, что у гетерозигот в лимфоцитах достоверно выше частота встречаемости двуядерных клеток с протрузиями $(2,81\pm0,35)$ по сравнению с гомозиготами по аллели дикого типа $(1,28\pm0,27)$.

Результаты проведенного исследования позволяют констатировать, что полиморфизм генов репарации ДНК оказывает влияние на цитогенетические, пролиферативные и витальные показатели лимфоцитов периферической крови детей и подростков. Носительство мутантных аллелей генов репарации ДНК hOGG1 Ser326Cys, ADPRT Ala962Val и XpG Asp1104His связано с более высокой чувствительностью генома к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды.

- 1. Hungerford P.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. 1965. Vol. 40. P. 333–338.
- 2. Titenko-Holland N., Jacob R.A., Shang N. et al. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in filate // Mutat Res. 1998. Vol. 417. P. 101–114.

Серия биологическая

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ ТАРАКАНОВ РОДА *BLABERUS SERVILLE*, 1831 (DICTYOPTERA, BLATTINA)¹

В.А. Мавропуло, С.В. Лукьянцев, Л.Н. Анисюткин, Д.В. Муха

На основании исследования ядерных и митохондриальных маркеров предложена гипотеза о филогенетических отношениях ряда представителей рода Blaberus.

MOLECULAR PHYLOGENY OF THE GENUS *BLABERUS SERVILLE*, 1831 (DICTYOPTERA, BLATTINA)

V.A. Mavropulo, S.V. Lukyantsev, L.N. Anisyutkin, D.V. Mukha

On the basis of several nuclear and mitochondrial markers analysis the hypothesis of relationships of several Blaberus species is suggested.

Тараканы являются одной из древнейших групп насекомых; среди них известны синантропные виды, имеющие хозяйственное значение как вредители пищевых продуктов и растений, так и переносчики возбудителей инфекционных болезней и паразитов. Изучение представителей данной группы насекомых может обогатить науку ценными данными теоретического значения, а также имеет определенный практический интерес.

Современные представления об эволюции тараканов базируются главным образом на сравнительно-морфологическом анализе и являются во многом дискуссионными. Сравнительные молекулярно-генетические исследования проводились лишь на очень небольшой выборке видов.

Известно, что кластер рибосомных генов имеет сходное строение у всех эукариот. Он состоит из генов 18S, 5,8S, 28S, которые разделены транскрибируемыми спейсерами (ITS1, ITS2), повторяющиеся единицы разделены нетранскрибируемым спейсером (NTS) (рис. 1). Ранее нами было показано, что данный фрагмент является высокоинформативным для филогении данной группы насекомых [1]. На первом этапе данной работы был проведен сравнительный анализ фрагмента рДНК длиной около 2000 пар нуклеотидов (пн), локализованного между универсальными праймерами DAMS-18-DAMS-28, 6 видов тараканов рода Blaberus Serville, 1831 (B. atropos (Stoll, 1813), B. discoidalis Serville, 1839, B. boliviensis Princis, 1946, B. parabolicus Walker, 1868, B. craniifer Burmeister, 1838, B. giganteus Linnaeus, 1758) и Archimandrita tesselata Rehn, 1903, используемого в качестве «внешней группы».

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты № 09-04-01113-а и № 08-04-01402-а) и Программы фундаментальных исследований РАН «Биологическое разнообразие» (подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие»).



Рис. 1. Схема кластера рДНК эукариот (цит. по [2])

Показано, что 3 вида рода *Blaberus* (*B. atropos*, *B. discoidalis* и *B. parabolicus*) имеют идентичную последовательность ДНК в данном районе. Еще один вид этого рода, *B. boliviensis*, отличается от трех предыдущих видов лишь одной заменой. В то же время различия по этому району генома между другими близкородственными видами, например *B. craniifer*, *B. giganteus*, составляет 26 нуклеотидных замен, а количество замен между более далекими частями дерева (*B. giganteus* и *A. tesselata*) составляет 82 нуклеотидных замены (рис. 2).

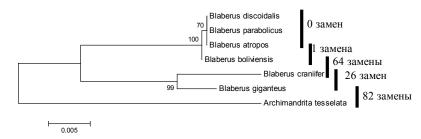


Рис. 2. Филогенетическое древо, построенное на основе анализа последовательности рДНК методом присоединения соседей (neighbor-joining method)

Филогенетический анализ исследуемых видов с использованием другого участка ядерной ДНК, а именно гена гистона Н3 (~300 пн), выявляет сходную топологию филогенетического древа (рис. 3). Отметим, что между четырьмя видами рода *Blaberus*, группируемых при сравнении протяженного участка рДНК в одну кладу (см. рис. 2), в пределах гена гистона Н3 не выявлено ни одной замены (см. рис. 3).

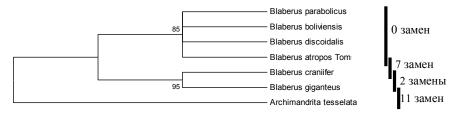


Рис. 3. Филогенетическое древо, построенное на основе анализа последовательности гистона 3 методом присоединения соседей (neighbor-joining method)

На следующем этапе данной работы был проведен анализ исследуемых видов на основе сравнения последовательностей нуклеотидов фрагментов митохондриального генома, а именно, генов цитохромоксидазы I (~1000 пн) и цитохромоксидазы II (~700 пн). Известно, что одной из особенностей митохондириальной ДНК является очень высокая скорость замен нуклеотидов в процессе эволюции. Время фиксации мутаций в митохондриальном геноме примерно в 10–20 раз больше, чем в аналогичных по размеру последовательностях ядерных генов.

В ходе данного анализа было показано, что 4 вида рода *Blaberus*, выделяемые вышеописанными подходами в одну кладу, разделяются на 2 подгруппы: *B. atropos – В. parabolicus* и *B. discoidalis – boliviensis*, причем виды каждой из подгрупп имеют идентичную последовательность анализируемой ДНК, но подгруппы сильно отличаются между собой по количеству замен. Отметим, что результаты анализа генов цитохромоксидазы I и цитохромоксидазы II фактически совпадают (рис. 4, 5).

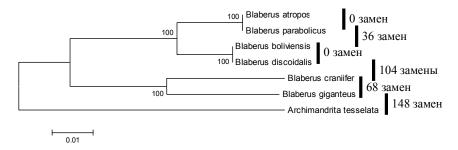


Рис. 4. Филогенетическое древо, построенное на основе анализа последовательности цитохромоксидазы I методом присоединения соседей (neighbor-joining method)

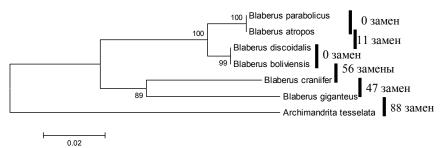


Рис. 5. Филогенетическое древо, построенное на основе анализа последовательности цитохромоксидазы II методом присоединения соседей (neighbor-joining method)

Таким образом, нами был проведен анализ нескольких видов рода *Blaberus* на основе ряда маркеров ядерных и митохондриальных геномов. Отметим, что данный подход широко используется в современных филогенетических исследованиях [2–4]. Нами показано, что 4 вида рода *Blaberus* фактически не отличаются между собой по двум ядерным маркерам, но по митохондриальным маркерам они четко разделяются на две филогенетически отличающиеся группы.

Полученные результаты подтверждают выделение в пределах рода *Blaberus* группы видов *atropos*, включавшей *B. atropos*, *B. parabolicus*, *B. discoidalis*, *B. boliviensis* и *B. anisitsi*, предложенное ранее на основе изучения строения гениталий самцов [5]. В ходе дальнейших исследований предполагается проведение сравнительно-морфологического и кариотипического анализа с привлечением дополнительного материала, что, с нашей точки зрения, позволит сделать окончательные выводы относительно филогенетического статуса исследуемых видов рода *Blaberus*.

- 1. *Mukha D.*, Wiegmann B.M., Schal C. Evolution and phylogenetic information content of the ribosomal DNA repeat unit in the Blattodea (Insecta) / Insect Biochemistry and Molecular Biology. 2002. №32. P. 951–960.
- 2. *Gerbi S.A.* Evolution of ribosomal DNA. In: MacIntyre RJ (ed) The Molecular evolutionary genetics. New York: Plenum Press, 1985. P. 419–517.
- 3. *Inward D., Beccaloni G., Eggleton P.* Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches // Biology letters. 2007. No. 3. P. 331–335.
- 4. Legendre F., Whiting M.F., Bordereau C. et al. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers: Implications for the evolution of the worker and pseudergate castes, and foraging behaviors // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2008. Ne48. P. 615–627.
- 5. Roth L.M. The male genitalia of Blattaria. I. Blaberus spp. (Blaberidae: Blaberinae) // Psyche. 1969. №76 (3). P. 217–250.

Серия биологическая

ХАРАКТЕРИСТИКА КАПСИДНЫХ БЕЛКОВ ДЕНСОВИРУСА РЫЖЕГО ТАРАКАНА BLATTELLA GERMANICA (BGDNV)¹

Е.У. Мартынова, Т.В. Капелинская, Д.В. Муха

Получены препараты высокоочищенных вирусных частиц денсовируса рыжего таракана Blattella germanica – BgDNV и проведен анализ белков, входящих в состав его капсида.

CHARACTERIZATION OF THE STRUCTURAL PROTEINS ENCODED BY THE *BLATTELLA GERMANICA* DENSOVIRUS (*BG*DNV)

E.U. Martynova, T.V. Kapelinskaya, D.V. Mukha

In the present work we describe obtaining the highly purified preparation of viral particles of the German cockroach Blattella germanica – BgDNV and analysis of the proteins constituting the capsid.

Денсовирус рыжего таракана *Blattella germanica* (*Bg*DNV) является представителем подсемейства Densovirinae семейства Parvoviridae. К данному семейству относятся вирусы животных, характеризующиеся икосаэдрическим капсидом размером около 18–26 нм и линейным одноцепочечным ДНК-геномом [2]. В отличие от других парвовирусов, денсовирусы являются значительно менее исследованными, в то время как они имеют большое практическое значение для медицины и хозяйственной деятельности человека.

Ранее в нашей лаборатории была определена стратегия транскрипции генома BgDNV [1]. В данной работе нами была поставлена задача — изучить, какие белки капсида транслируются с мРНК, продуцируемых BgDNV, и как они соотносятся с OPC (открытыми рамками считывания), кодируемыми геномом вируса. Геном BgDNV содержит пять открытых рамок считывания, две из которых кодируют белки капсида, а три другие — регуляторные белки, размер его составляет 5335 нт (номер последовательности в GenBank AY189948) [4].

Для решения поставленной задачи необходимо было получить препарат вирусных частиц *Bg*DNV. Для этого взрослых особей рыжего таракана заражали денсовирусом, погибших тараканов гомогенизировали в жидком азоте, вирусные частицы в полученном экстракте концентрировали ПЭГ 8000. Для дальнейшего получения препаратов очищенных вирусных частиц применяли два следующих подхода:

- 1) центрифугирование в градиенте плотности сахарозы;
- 2) центрифугирование в градиенте плотности CsCl.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований РАН «Биологическое разнообразие» (подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие»).

Второй способ позволил получить высокоочищенный концентрированный препарат вирусных частиц BgDNV, который и был использован в работе.

Белки, входящие в состав капсида, разделяли с помощью 10 %-ного денатурирующего ПААГ-электрофореза, гели окрашивали Кумасси. На рис. 1 представлен пример полученной нами электрофореграммы. На ней можно видеть четыре мажорные полосы 1–4 (соответствующие размеры 97, 85, 80, 57 КДа), а также ряд минорных полос (5–8), причем полоса 4 является наиболее представленной.

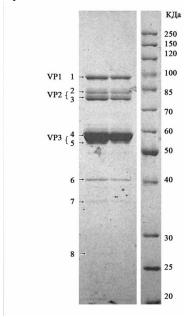


Рис. 1. SDS-PAGE электрофорез белков капсида BgDNV

Полоса *1* по своему размеру была чуть выше предполагаемого белка, который мог бы считываться с первого AUG-кодона определенного нами ранее [1] сплайсированного транскрипта (85,3 КДа), а полоса *4* по своему размеру точно соответствовала предполагаемому белку, считывающемуся со второго AUG-кодона того же транскрипта (56,3 КДа). Полосы *2*, *3*, так же как и минорные полосы, не соответствовали по размеру ни одному из предсказанных белков.

Для дальнейшей идентификации все полосы, № 1-8, были вырезаны из геля и проанализированы методом масс-спектрометрии. На рис. 2 представлены примеры наложения детектированных пептидов на OPC BgDNV, кодирующие структурные белки, полученные с помощью программы Mascot Search (www.matrixscience.com). Уровень значимости для всех проанализированных полос значительно больше 83, являющейся пороговым уровнем достоверности (p<0,05).

Анализ показал, что полосы *I* и *4* действительно соответствуют двум белкам, кодируемым сплайсированным транскриптом, содержащим объединенные в рамке ОРС 1 и 2 [1] и считывающимся с первых двух последовательных АUG-кодонов. Полоса *5* полностью совпадает с полосой *4* и, скорее всего, соответствует альтернативным изоформам белка. Наиболее интересным оказалось полное соответствие полос *2* и *3* ОРС 1, которая может считываться только с несплайсированного транскрипта с вероятным участием механизма leaky-scanning или альтернативной инициации трансляции. Увеличение размеров полос *I* и *2*, *3* относительно предсказанного может объясняться наличием посттрансляционной модификации, напри-

мер, гликозилирования [3]. Минорные полосы 6, 7 и 8 представляют собой результаты частичного протеолитического расщепления полосы 4 (см. рис. 2, D).

Полоса 1 - соответствие ОРС 2

MSTSGLESVPLLPVMSATVEYGGIEPKVHSGYGASPLPVKPTSAAGGAGA GYDKITGSGLGRAASSGIPLMYFISBOEYYMSVPWELBRLPFAEROBLIK PYGVWFWYKSKAGYAGHKKLVMPFRAGCWELGGUFLYFSBURGPGHITGD AKTGSDFIAQODD INYSEAKSDID IQRADTEA IGOP IQEATHSHNPISGT GOVIGAWGLAGKGLVEKLTKKVQYGKYAS

Полоса 1 - соответствие ОРС 1

IIOJICCA 1 — COOTBETCTBUE OPC 1

HPVNINKPPPYERPNUERBINEGGREYAREQYNLALVERGGYFEPPIAAPP
PSPAPNALIQULDELDRILDINFPIOSPOGSGGGTSINSDGPVAGPSSRPDP
VPAQLPVOPSTIGEFACTHSAFEALVTOKRGAEEPPSASTFTKKROGSER
SGSALFGTSGHTOSSINGSTMLDDASSGTINE ISREHTEREREFETTEKKR
FELSEGVADVILEDDIGTTTAPAKRUALTTSLVNIPPEYAFRYNSFAEFN
RLEHITGYFATTCD LIKEYGUNREVAPTABATHSTGATLRIGHKFTETTAKCH
RNNPHLFOSDRDYTTSSDEPHERGHETSTGATLRIGHKFTETTAKCH
RTHTHTPTVATSTGKERGILELYTYTVASOTTISGFPOTIVKYGSETNISHD
LICKQULSAHODEK YAPLTTRABINYGDSTYLEGDIPEKKESQPANYVTPA
GSKIVDLGSVMPETSTGSFAWGGANSRIEGANTHIGH.GVGGATGGDESLHVOVRAUPELGT
AVNTINASSULDCGMYTVYCECLREVSTEPFTYPRGMYSDTPLRSGFTAA
TKTAPHLOTFDRPYEYGRPQRVLNSVEL

А. Результат MALDE-TOF масс-спектрометрического анализа для полосы 1. Score - 338 (p<0,05).

Полоса 2 - соответствие ОРС 1

IONIOGA Z — COOTBETCTBUE OF C.

INPUNINGEPYERPHERIUS COPPRAINS ON LA LYREGGYFEPPIARP
PSPARNAIOLDELDRILDNIP IOSPOOSOGOTINISDOPVAGESSRPP
PSPARNAIOLDELDRILDNIP IOSPOOSOGOTINISDOPVAGESSRPP
PSPARNAIOLDELSTICEPACTISAS PAILVICKROEEPPSASTPIKKINGSEN
SOSAL POTSGUTOGENIGSSTHILDLDASSG INPISSC INVERFERETTIKU
WELSFGWADVILEPDIGTITARAKEWALITISUNIP UNIF HYSTAFINIST AFFN
RUREITGVF ATOCLIKIYOVNPROAF CHADTHSTQATLHOHNFTRIAKOL
RIPCHIESGSBOTTFS SDEPHOF GEFTHANDYTGGFF REPRESENTOTT
TETTITTTYPALSTOKERGLLEYSTVVASQTIDSGFFOYMEYCSETNISHG
GSKIVOLOSVYHESTOF SAVEGANSKREDANTIGHLOWGOVDLKTGFALS
SKIPTOPOTLYKK PREGGGLAVIRGAGOGOSLAVOGORAVPELA
AVNITINASSULDCOMYUTVECELROUSTEPPTYPROWVSDIPLRSQFTAA
TYTARHOLOTPOFFYFORGRULDSVEL AVNTINASSULDCQMYUTVECRLRCVS1 TKTAPMLQTFDRPYFYGKPQRVLNSVEI

Полоса 3 - соответствие ОРС 1

ILOJOCA 3 — COOTBETCTBUE OPC 1

HPWININGPPYERPHNERINGEORPYANEQVILLAURRICQYFEPPIAARP
PSPARNIAI QOLDELDRILLDINFPIOSPCOSGOTSINSDQPVAGPSSRPDP
VPAQLPVQPSTIQEPAQTISAPPAIVTGREGAEEPDSASTPTKNIKVSSER
SEGAL POTSORTIDGRIGS STILL DLASSKS INF ISSO INVEREPRET TEKVE
RELSE GVADVILEPDIGTTTAPARS UALTISLIVAT PUEYAFRYISS FAERI
REBITUTY A THOCH INVERTIFICATE QUALTISTICATE HORSE TELES
REBITUTY A THOCH INVERTIFICATE QUALTISTICATE HORSE TELES
REBITUTY A THOCH INVERTIFICATE QUALTISTICATE HORSE TELES
REBITUTA THOCH INVERTIFICATE QUALTISTICATE HORSE TO SERVINGUE
RESTRUTA GENERAL STOREED LEYSTYMAS QUALTISCH PORTISCH SENSIBLICATE
LICKUT SANDOPERA PLITTRAPHY (DOS TYLPED I PERKES QPARVUTEA
RESTRUTORY SENSIBLICATE GREGORIST CHARGE
RESTRUTA GENERAL CONTROLLED THE CHARGE
RESTRUTA CONTROLLED THE CONTROLLED THE CONTROLLED THE CHARGE
RESTRUTA CONTROLLED THE CONTROLLED THE CONTROLLED T

В. Результат MALDE-TOF масс-спектрометрического анализа для полос 2 и 3. Score – 245 (полоса 2), 248 (полоса 3), p<0,05.

Полоса 4 - соответствие ОРС 1

IIOJIOCA 4 — COOTBETCTBUE OPC 1

HPDNINKEPPEPEPENEREMIEGORPYAREOVILLALVERGOYFEPPTARP
PSPARNIATOOLDELDRILDINFTOSPCOSCOCTENESICPYAGESSEPD
VPACLPVOPSTICEPACTISAPEATIVTGKRGAEEPDSASTPTKIGUESEN
SSALFOTSGUTDGSMGSSTHLDIDASSKOITPISAPEATIVTGKUESEN
KELSECVADVILEPDIGTTTARAKEALITTSLUNIPEYTAFTYRTAKEA
REINHICVARATOOLIKITSVINERVAROTAOTHSTAGHLKINIPTIATAKA
REINHICVARATOOLIKITSVINERVAROTAOTHSTAGHLKINIPTIATAKA
REINHICVARATISTIKCHISCHLEVYTVASQITSOSPEPVINISCESENSID
LIGKQVI.SAMODEKVARITTRAPHYODSTYLPOOTPEKKESOPANVUTPA
GSKIVDI, GSVINIPGASCAGNISKEEDANTI-GHLQVGGVATKOFALIT
RISTETDEDTILTIKEPPEEGGGLINEAGVGGATCODJESLINGGVALVELOT
AVNITIASSULDCOMVITYSCERLEVSTEPPTYPRGWVSDIPLESOFTA AVNTINASSULDCOMYUTVECRLRCVSTEPFTYPRGNVSDIPLRSQFTAA TKTAPHLQTFDRPYFYGKPQRVLNSVEL

Полоса 5 - соответствие ОРС 1

NPVNYNKPPPYERPNWERMNEGQRRYAMEQYNLALVRRGQYFEPPIAARP PSPAPNNAIQDLDELDRLLDNFPIGSPQQSQGGTSNSDQPVAGPSSRPDP PSPANNATOLIPELDRILDNYPIGSPOGSOGTSMSDOPVAGPSSRPPP
PSPANNATOLIPELDRILDNYPIGSPOGSOGTSMSDOPVAGPSSRPPP
PSPADLPYGGSTIGPAGTMSAPEATYTORGEGEREPDSASTFTRÖKUPSEH
SGSALPGTSGNTDGSMGSSTHLDLDASRBINPISRGINVEKERFTFTKKU
RELEGIOVA THOD INIQUINGRAVAGYGATHANTSQATHANNEY FILKOL
REMETHOF YAPTOLD INIQUINGRAVAGYGATHANTSQATHANNEY FILKOL
REMETHOF FOR THE STORGEGGLUKEYYYVASG (THEODOFFOR ROMISKRAYGET
RETHIFF FOR IS TSGKEGGLUKEYYYVASG (THEODOFFOR ROMISKRAYGET
LIGGULSAMODFKYAPLTTRARHYQDSIYLPGDIFEKKSQPARVOFFA
GKKIVDL,GYYMDSTGFSAGCAGNSKREDAHTGHLGHQGGGVJKTGGAL
KSTETDEDTLIYTE PREGGGLYMLAGYGGATGGGCSLHGGVRAVFELGT
AVNTINASSULOCMYTYGCELRGYSTEPTYPRGNYSDIPLRSGETAA
TKTAPHLQTFDRYFYGKPQRVLNSVEL

С. Результат MALDE-TOF масс-спектрометрического анализа для полос 4 и 5. Score – 338 (полоса 4), 263 (полоса 5), р<0,05.

Полоса 6 - соответствие ОРС 1

MPVNYNKPPPYERPNWERMNEGORRYAMEOYNLALVRRGOYFEPPIAARP PSPAPNNAIQDLDELDRLLDNFPIGSPQQSQGGTSNSDQPVAGPSSRPDP VPAQLPVQPSTIQEPAQTMSAPEAIVTGKRGAEEPDSASTPTKK**NKPSEH** VPAQLPYOPSTICEPAQTHSAPFAITVTGKRGAEEPPSASTPTKIRKUSEM SEGALPOTSGTHOSINGSTMLDLASKGINFISSGINFUSPETTEKU KELSEGVADVILEPDIGTTTAPAKRUALTTSLUNIPWEYAFIYMSFAEFN REREITOVFATTOCIKIYQVINPRVAFOTATHISQATLHQHFFTAIKGL RIDDPHESGSDDYTFSSDEPHMPLGFETHADDYTGQKFRPALSKENYGTT TETTITTFTYPALSTGKENGLLYYTYYYASGINSDEPPYHKYCSEPHSHD LIGKGYULGAUGHENTAFATTRARYYQDSIXIPGDIPEKGSGPARWYIFA SKKIVULGYSWIRPSTGFSAUGAUSKENGAHTGHLGHQYGGVINKTGGALS HSTETEDDTHIXTKFPHEGGGLINEAGYGGATCGDQESLHYGVRAVPKLGT AVMTINASSULDCGNYWTYGCKLRCVSTEPFTYPRGWVSDIPLRSQFTAA TKTAPHLQTFDRPYFYKKPQRULNSVEL

D. Пример результата MALDE-TOF масс-спектрометрического анализа для одной из минорных полос (полосы 6). Данный белок является результатом протеолитического отщепления С-концевого участка белка VP3. Score - 161 (p<0,05).

Рис. 2. Результат пептидного фингерпринтинга для белков капсида BgDNV. Пептиды, совпадающие с последовательностью соответствующей OPC, выделены серым цветом фона

Полученный нами результат был дополнительно подтвержден Western-блот гибридизацией с соответствующими ОРС 1 и 2 моноклональными антителами. Таким образом, BgDNV характеризуется тремя структурными белками, обозначенными нами VP1, VP2 и VP3, согласно их относительной электрофоретической подвижности, обладающими одинаковой С-концевой, но уникальными N-концевыми участками.

- 1. *Капелинская Т.В., Мартынова Е.У., Королев А.Л. и др.* Транскрипция генома денсовируса рыжего таракана BgDNV: альтернативный процессинг вирусных РНК // Доклады Академии наук. 2008. Т. 421. С. 256–261.
- 2. Bergoin M., Tijssen P. Molecular biology of densovirinae // S. Faisst, J. Rommelaere (eds), Parvoviruses. From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses. Contributions to microbiology. Karger, Basel. 2000. Vol. 4. P. 1–11.
- 3. *Dumas B., Jourdan M., Pascaud A.-M., Bergoin M.* Complete nucleotide sequence of the cloned infectious genome of *Junonia coenia* densovirus reveals on organization unique among parvoviruses // Virology. 1992. Vol. 191. P. 202–222.
- 4. Mukha D.V., Ghumachenko A.G., Dykstra M.J. et al. Characterization or a new densovirus infecting the German cockroach, Blattella germanica // Journal of General Virology. 2006. Vol. 87. P. 1567–1575.

Том 275

Серия биологическая

АНАЛИЗ СТРУКТУР БЕЛКОВ АРХЕЙ-ПЬЕЗОФИЛОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ КОМПЬЮТЕРНЫХ МЕТОДОВ

К.Е. Медведев, Д.А. Афонников

Исследуются изменения важнейших структурных характеристик белковых молекул под влиянием высокого давления.

ANALYSIS OF PIEZOPHILIC ARCHAEA'S PROTEIN STRUCTURES UNDER THE INFLUENCE OF HIGH PRESSURE WITH THE HELP OF COMPUTER TECHNIQUES

K.E. Medvedev, D.A. Afonnikov

The present research concentrated on exploring the changing characteristics of the major structural protein molecules under the influence of high pressure.

Известно, что живые организмы на Земле могут существовать в экстремальных условиях высоких и низких температур, уровней кислотности, а также давлений. Такие организмы называются «экстремофилы», а их изучение представляет большой интерес. С точки зрения фундаментальной науки, интересно выяснить механизмы приспособления к экстремальным условиям. С другой стороны, сообщества экстремофилов представляют собой источник новых ферментов для биотехнологий. Давление является важным фактором окружающей среды. На рис. 1 показаны значения давлений, которые встречаются на Земле и у живых организмов. Большинство из них живут при атмосферном давлении 0,1 МПа. Но существуют и организмы-пьезофилы, которые способны обитать при давлениях в тысячу раз больших, например, на дне Марианской впадины. Изучение влияния давлений на живые системы позволит понять механизмы адаптации глубоководных организмов, а ферменты, устойчивые к повышенным давлениям, могут быть использованы в биореакторах.

Белки выполняют важнейшие функции в живых системах. Эксперименты показали, что высокие давления могут нарушать структуру белков и их комплексов. При увеличении давления до 200 МПа происходит распад белковых комплексов. При давлении 500 МПа может наблюдаться частичная денатурация белка, и при 1 ГПа он полностью денатурирует. Предполагают, что ключевым фактором такой дестабилизации является проникновение молекул растворителя внутрь гидрофобного ядра белка. В результате могут быть нарушены многие функции клеток. Поэтому изучение механизмов устойчивости белков при повышенных давлениях представляет большой интерес. В последнее время при решении этих задач все больше используется компьютерное моделирование.

Для того чтобы получить модели белковых структур при высоких давлениях в растворе, использовался пакет программ молекулярной динамики GROMACS [1].

Мы моделировали белок при комнатной температуре в кубической ячейке, окруженный молекулами воды и ионами для компенсации заряда. Параметры моделирования были установлены, как рекомендовано в работе Коллинза и соавт. [2]. Исходная модель подготавливалась на основе известных структур из банка PDB и проводилось ее моделирование, эквивалентное 300 пс. В процессе моделирования структура отклонялась от исходной. Однако эти отклонения имели ограниченный характер, что свидетельствовало о стабилизации белка в ходе моделирования. Такая стабилизация наблюдалась при различных давлениях.

Чтобы проанализировать влияние давления на структуру белка, в процессе моделирования модели сравнивали на разных временных интервалах с исходной структурой. Сравнение выполнялось программой СЕ [3]. Мерой сходства взяли среднеквадратичное отклонение (RMSD) С-альфа атомов, которое вычислялось для всего белка по этой формуле. Чем выше RMSD, тем больше отклонение, если структуры идентичны, RMSD равно 0. Чтобы оценить локальные деформации структуры, по аналогичной формуле вычисляли среднеквадратичное отклонение для остатков в скользящем вдоль последовательности окне длиной 10 остатков. RMSDq вычисляли для каждого остатка белка. Структурные характеристики белка (тип вторичной структуры и доступность растворителю) определяли программой DSSP [4].

Чтобы оценить, какие структурные свойства белка могут быть важными для адаптации к условиям высоких давлений, мы провели анализ структур белков, известных у архей рода пирококки, для которых, по данным Гунбина [5], была выявлена эволюция в режиме движущего отбора на этапах смены организмами глубин обитания. Поэтому можно предположить, что замены в этих белках носили в целом адаптивный характер, и мы исследовали вопрос, с какими элементами структуры белка эти замены были связаны. Если адаптивные замены значимо чаще встречались в каком-либо элементе структуры белка, то предполагалось, что он выполняет важную роль в процессе адаптации к высоким давлениям.

Чтобы изучить влияние давлений на структуры белков из мелководных и глубоководных организмов, нами были взяты два гомологичных белка Nip7, участвующих в биогенезе рибосом. Структура белка из глубоководной археи P. abyssi известна. Структуру белка из мелководного организма моделировали по гомологии. В качестве шаблона взяли структуру белка *P. abyssi*, использовали выравнивание последовательностей и программу SWISS MODEL. Анализ полученной модели показал, что структуры моделей очень близки, и среднеквадратичное отклонение не превышает 0,1 Å. Мы исследовали профили локальных деформаций этих белков при повышенных давлениях. Для этого брались модели белка при определенном давлении в разные моменты времени после достижения равновесия от 250 до 300 пс. Анализ показал, что в моделях присутствовали неоднородные деформации, а максимальные отклонения от исходной структуры наблюдаются в диапазоне приблизительно от 65 до 82 аминокислотного остатка. Мы проводили усреднение профилей для двух белков и сравнивали их между собой. Оказалось, что области максимальных деформаций располагаются примерно в одном районе. В то же время для участка связывания РНК (на рис. 1 показаны стрелками) наблюдаются различия: отклонения от исходной структуры меньше в этих районах для белка P. abvssi, что может свидетельствовать о большей стабильности РНК связывающего домена этого белка.

Чтобы рассчитать изменение площади поверхности белка, доступной растворителю, для двух исследуемых белков использовался пакет программ GROMACS. Оказалось, что наибольшему изменению подвергается белок мелководного Furiosus, тогда как белок глубоководного Abyssi показывает лишь незначительное изменение. Кроме того, наибольший скачок изменения площади поверхности белка, доступной растворителю, происходит при перепаде давлений от 0,1 до 100 МПа, что соответствует природным давлениям.

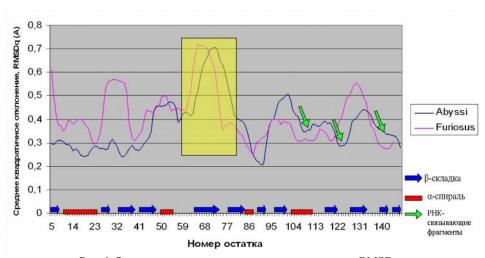


Рис. 1. Зависимость среднеквадратичного отклонения RMSDq от номера аминокислотного остатка для двух исследуемых белков при давлении 150 МПа

Выводы

Получены модели трехмерной структуры лизоцима фага Т4 в диапазоне давлений от 0,1 до 200 МПа при помощи программы GROMACS. Показано, что RMSD моделей от исходной структуры лизоцима фага Т4 не превышает 1,8 Å, а разные участки структуры моделей белка деформируются по-разному. Выявлены участки наибольшей деформации в N- и C-концевых доменах белка, которые качественно согласуются с экспериментальными данными [2].

Проведено сравнение компьютерных моделей терхмерных структур белков Nip7 из $P.\ abyssi$ и $P.\ furiosus$ при давлениях от 0,1 до 200 МПа. Показано, что деформация структуры Nip7 мелководной $P.\ furiosus$ в целом больше, чем у глубоководной $P.\ abyssi$. Структурные деформации PHK-связывающего сайта при высоких давлениях больше у белка из $P.\ furiosus$.

Анализ компьютерных моделей белков Nip7 из *P. abyssi* и *P. furiosus* показал, что с увеличением давления площадь поверхности белка, доступной растворителю, уменьшается. Для моделей Nip7 *P. abyssi* эта площадь меньше и ее относительные изменения меньше, чем у Nip7 из *P. furiosus*. Полученные результаты согласуются с гипотезой о важности взаимодействия белка с растворителем при увеличении давления.

- 1. Van der Spoel D., Lindahl E., Hess B. et al. GROMACS: Fast, Flexible and Free // J. Comp. Chem. 2005. Vol. 26. P. 1701–1718.
- 2. Collins M.D., Hummer G., Quillin M.L. et al. Cooperative water filling of a nonpolar protein cavity observed by high-pressure crystallography and simulation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 16668–16671.
- 3. Shindyalov I.N., Bourne P.E. Protein structure alignment by incremental combinatorial extension (CE) of the optimal path // Protein Engineering. 1998. Vol. 11. P. 739–747
- 4. Kabsch W., Sander C. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features // Biopolymers. 1983. Vol. 22. P. 2577–2637
- 5. Gunbin K.V., Afonnikov D.A., Kolchanov N.A. «Molecular evolution of the hyperthermophilic archaea of the Pyrococcus genus: analysis of adaptation to different environmental conditions» // BMC Genomics. 2009. Vol. 10. P. 639.

Том 275

Серия биологическая

КОЛЛЕКЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ КАК ИСТОЧНИК ИНФОРМАЦИИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ И СОХРАНЕНИЮ ВИДОВОГО И ШТАММОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ

Ю.С. Митрошина, Н.Н. Колоколова

Рассматриваются коллекция фитопатогенных грибов, возможности её получения, изучения и поддержания активности культур с использованием различных методов долгосрочного хранения.

AS A SOURCE OF THE INFORMATION ON RECEPTION AND PRESERVATION SPECIFIC AND STRAIN OF A VARIETY

Y.S. Mitroshina, N.N. Kolokolova

The collection phytopathogenic of fungi, opportunity of its, of reception, study and maintenance of activity of cultures, with use of various methods of a long-term storage is considered.

В последние десятилетия коллекции культур грибов приобрели особо важное теоретическое и прикладное значение. Во-первых, коллекции чистых культур стали важнейшим источником продуцентов биологически активных веществ. Во-вторых, они служат для сохранения генофонда редких и исчезающих видов. В-третьих, препятствуют дублированию и повторению уже открытых штаммов, и, в-четвертых, коллекция фитопатогенных грибов является базой для создания инфекционного фона, который используется как метод диагностики заболеваний растения, а также для выявления устойчивых к болезням форм [1, 2].

В связи со всем вышесказанным, целью работы является изучение, расширение коллекции фитопатогенных грибов и создание электронного каталога с перспективой использования в прикладных и исследовательских работах.

Коллекция чистых культур фитопатогенных грибов биологического факультета ТюмГУ содержит более 50 штаммов. Нами были исследованы 5 семейств, 8 родов, 18 видов и 19 штаммов фитопатогенных грибов, выделенных из различных частей пораженных растений (рис. 1).

Видовая принадлежность штаммов определена по культурально-морфологическим признакам, изучаемым на различных питательных средах: картофельно-глюкозном агаре (КГА) и среде Чапека. Систематика грибов приводится по Л.В. Гарибовой [3].

Среди культуральных признаков на 14-е сут со дня посева штаммов были изучены форма, цвет и структура воздушного и субстратного мицелия колоний. Выявлены видовые и штаммовые различия в отношении данных признаков у разных изолятов при выращивании на двух питательных средах. Все морфотипы различались цветом воздушного и субстратного мицелия, пигментацией, интенсивностью спороношения.

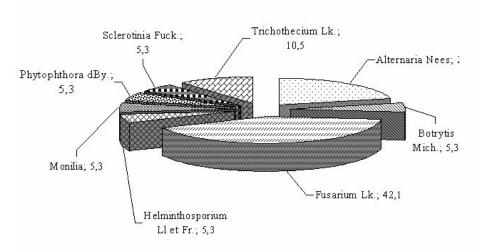


Рис. 1. Процентное соотношение родов в коллекции фитопатогенных грибов

Среди морфологических признаков на 14-е сут со дня посева штаммов были изучены способы и виды конидиального спороношения, форма и размер конидий, отмечено образование склероциев [4–6].

Исследуемые показатели по морфометрическим единицам характеризуются широко дифференцированными значениями как внутри самой популяции штамма на двух средах, так и между разными культурами, что свидетельствует о широком полиморфизме изучаемых объектов.

Для поддержания коллекционных штаммов нами использовались следующие методы длительного хранения штаммов: криоконсервация при -17 и -80 °C в растворе криопротектора (глицерин) и культивирование при +4 °C на скошенном агаре [7, 8]. Перед закладкой на длительное сохранение был проведен учёт жизнеспособности 11 исследуемых штаммов. Контроль жизнедеятельности проводился 2 способами: учет общего числа конидий (прямой метод) с помощью камеры Горяева — Тома и учет жизнеспособных конидий чашечным методом Коха (косвенный метод). Определялись выживаемость культур и успешность выбранных способов хранения.

Таким образом, изучены культуральные, морфологические и фитопатогенные свойства штаммов грибной коллекции кафедры ботаники и биотехнологии растений при сравнении на двух средах (Чапека и КГА), ведется их долгосрочное хранение при температурах -17, $-80\,^{\circ}$ C с использованием глицерина в качестве криопротектора.

- 1. Родигин М.Н. Общая фитопатология. М.: Высшая школа, 1978. 268 с.
- 2. Яковлева Н.П. Фитопатология. Программное обучение. М.: Колос, 1992. 384 с.
- 3. *Гарибова Л.В. и др.* Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. М.: Т-во научных изданий КМК, 2005. 225 с.
- 4. *Билай В.И. и др.* Микроорганизмы возбудители болезней растений. Киев: Наукова думка, 1988. 552 с.
- 5. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
 - 6. Черепанова Н.П. и др. Систематика грибов. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2005. 343 с.
 - 7. Билай В.И. и др. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 551 с.
- 8. *Сафронова В.И. и др.* Использование метода криоконсервации для хранения культур грибов // Второй съезд микологов России. Т. 2. М.: Национальная академия микологии, 2008. С. 112–113.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, СВЯЗАННЫХ С НАНОЧАСТИЦАМИ ФЕРРИТА КОБАЛЬТА

А.Г. Першина, В.Ю. Серебров, А.Э. Сазонов

Исследована функциональная активность плазмидной ДНК, связанной с частицами феррита кобальта, на модели трансформации клеток прокариот и ее доступность для ферментов класса гидролаз.

STRUCTURE-FUNCTIONAL FEATURES OF COBALT FERRITE NANOPARTICLES-BIND PLASMID DNA

A.G. Pershina, V.Yu. Serebrov, A.E. Sazonov

It was investigate functional activity of cobalt ferrite nanoparticles-bind plasmid DNA on the prokaryotic cell transformation model and availability of biomolecule for endonucleases.

Создание гибридных бионанокомпозитных конструкций, включающих магнитные наночастицы и нуклеиновые кислоты, является перспективным направлением бионанотехнологии. Интерес к использованию магнитных наночастиц обусловлен возможностью реализации высокочувствительного детектирования и эффективного управления конструкциями на их основе при наложении внешнего магнитного поля, что имеет громадный потенциал для генодиагностики и генотерапии [1]. Другое направление бионаноконструирования связано с возможностью создания упорядоченных на молекуле ДНК ансамблей наночастиц и высокоспецифичной манипуляции подобными «блоками», используя ферменты (рестриктазы, лигазы, полимеразы) и способность нуклеиновых кислот к гибридизации [2].Первоочередной задачей на пути создания бионаноконструкций является получение знаний о специфике взаимодействия молекулы нуклеиновой кислоты с магнитной наночастицей, возможных конформационных ограничениях либо нарушениях структуры, определяющих в итоге функциональные свойства.

Ранее нами показано, что наночастицы феррита кобальта связываются с молекулами ДНК и формируют бионанокомпозитный комплекс [3]. В данной работе проведено исследование доступности ДНК плазмиды, связанной с наночастицами феррита кобальта, для ферментов и влияния связывания на функциональные свойства биомолекулы.

В работе использовали ДНК плазмиды pBLSK (pBluescript II SK+) («Медиген»), бактериальный штамм Е. coli XL1-blue. Нанопорошок феррита кобальта получен методом механохимического синтеза и представлен сферическими суперпарамагнитными частицами со средним диаметром 10 нм [4]. Суспензию частиц нанопорошка в 10 мМ трис-HCl буфере (pH 5,0) обрабатывали ультразвуком («Bandelin HD2070») в течение 20 мин и центрифугировали 1 мин при 13400 об/мин («Eppendorff») для осаждения агрегатов наночастиц. Формирование бионанокомпозитного комплекса проводили в течение 24 ч в конечном объеме 0,1 мл, содержащем 24 мкг наночастиц феррита кобальта и 4 мкг ДНК плазмиды. Бионанокомпозит отделяли из раствора

методом магнитной сепарации и дважды промывали бидистиллированной водой. Элюцию молекул плазмидной ДНК от частиц проводили PBS-буфером (10 мМ фосфат натрия, 0,3 М хлорид натрия, рН 7,0), либо (перед проведением электрофореза) 50 мМ ЭДТА (рН 8,0). Гидролиз свободной и связанной с наночастицами плазмиды проводили эндонуклеазами DNase I («Promega»), Msp I и Vsp I («Сибэнзим»). Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала 40 нг свободной или связанной с частицами ДНК плазмиды, 2 мкл соответствующего 10× буфера, и определенный фермент (Msp I (45 e.a.)/ Vsp I (30 e.a.)/ DNase I (10 e.a.). Смесь инкубировали 2 ч при 37 °С. Гидролиз останавливали добавлением 2 мкл 0,5 М ЭДТА (рН 8,0). Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК проводили в 1,5 %-ном агарозном геле с использованием трис-ацетатного буфера (рН 8,0) в присутствии бромида этидия в течение 30 мин [5]. ДНК визуализировали под УФ-светом, изображение фиксировали с помощью системы гель-документации («Biokom»). Трансформацию клеток E. coli проводили с использованием CaCl2, с целью контроля эффективности трансформации клетки выращивали на селективной среде LB, содержащей ампициллин 50 мкг/мл, 0,01 % X-Gal и 1 мМ ИПТГ [5].

В результате электрофоретического анализа магнитно-отделенного преципитата (бионанокомпозита) и супернатанта после инкубации плазмиды pBLSK с наночастицами феррита кобальта ДНК не визуализировалась в геле ни в одной из проб. Однако после выдерживания водной суспензии бионанокомпозита с ЭДТА в конечной концентрации 50 мМ происходило отделение ДНК от частиц, и при последующем электрофорезе в геле выявляли 3 высокомолекулярных бенда, соответствующих кольцевой, скрученной и суперскрученной формам ДНК плазмиды (см. рис. 1 дорожка 5). Эти данные подтверждают, что инкубация pBLSK с частицами феррита кобальта приводила к связыванию плазмиды с частицами и формированию бионанокомпозитного комплекса.

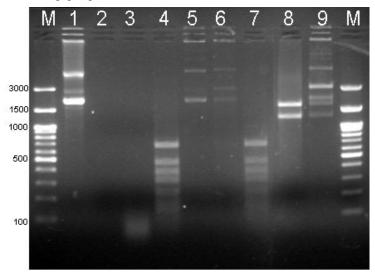


Рис. 1. Электрофореграмма ДНК pBLSK и продуктов ее гидролиза в 1,5 %-ном агарозном геле: М — маркер молекулярного веса, *I* — pBLSK; 2 — pBLSK, гидролизованная DNase I; *3* — pBLSK, связанная с частицами, + DNase I (элюция 50 мМ ЭДТА); *4* — pBLSK, рестриктированная Мsp I; 5 — pBLSK, элюированная от частиц (50 мМ ЭДТА); *6* — pBLSK, связанная с частицами, + Msp I (элюция 50 мМ ЭДТА); *7* — pBLSK, элюированная от частиц PBS-буфером и рестриктированная Мsp I; *8* — pBLSK, рестриктированная Vsp I; *9* — pBLSK, связанная с частицами, + Vsp I (элюция 50 мМ ЭДТА)

При исследовании влияния связывания с наночастицами феррита кобальта на доступность биомолекулы для ферментативного гидролиза, бионанокомпозитный комплекс инкубировали с эндонуклеазой DNase I. Присутствие низкомолекулярных бендов порядка 100 п.н. на электрофореграмме (см. рис. 1, дорожка 3) указывает, что молекулы расщеплялись не полностью, в то время как ДНК нативной плазмиды была полностью гидролизована при тех же условиях (см. рис. 1, дорожка 2). Электрофоретический анализ проб после инкубации с рестриктазами показал, что при обработке Msp I, имеющей сайт узнавания 5'-С^СGG-3', ДНК свободной плазмиды подвергалась полному гидролизу, на что указывает характерный набор фрагментов, выявляемых на электрофореграмме. В результате гидролиза плазмиды, связанной с наночастицами феррита кобальта, при тех же условиях установлено, что ДНК не разрезалась ферментом Msp I (см. рис. 1, дорожка б). При ферментативном гидролизе нативной плазмиды рестриктазой Vsp I, имеющей сайт узнавания 5'-АТ^ТААТ-3', выявляли характерные бенды 1667 п.н. 1235 п.н. и 59 п.н. (см. рис. 1, дорожка 8). В опытной пробе с ферментом Vsp I инкубировали плазмиду, связанную с частицами, в результате электрофоретического анализа выявляли бенды, соответствующие нативной и рестриктированной плазмидной ДНК. Полученные данные позволяют заключить, что гидролиз был несколько затруднен, на что указывает неполнота его прохождения, но не предотвращался полностью, как в случае инкубации с рестриктазой Msp I. Частичное прохождение гидролиза плазмиды, связанной с наночастицами, эндонуклеазами DNase I и Vsp I, позволяет заключить, что протекционное действие обусловлено, вероятно, стерическими факторами, а не ингибирующим действием частиц на ферменты. Наблюдаемое различие в эффективности гидролиза по AT- и GC-сайтам, может быть объяснено преимущественным связыванием наночастиц с GC-парами молекулы ДНК, что приводит к стерическим затруднениям для посадки фермента в большей степени на GC-содержащие сайты. Важно отметить, что при инкубации плазмиды, элюированной от частиц PBS-буфером, с рестриктазой Msp I ДНК рестриктировалась полностью (см. рис. 1, дорожка 7). Таким образом, связывание с наночастицами обратимо и не приводит к необратимым структурным изменениям молекулы плазмиды.

Для оценки функциональных свойств плазмиды pBLSK, несущей ген устойчивости к ампициллину и ген β-галактозидазы, при ИПТГ-индукции которого на питательной среде, содержащей X-Gal, образуются колонии синего цвета, трансформировали клетки *E. coli* [6, 7]. Результаты выращивания клеток на селективной среде после трансформации свободной, связанной с наночастицами и элюированной от частиц плазмидой pBLSK представлены в таблице. Клетки *E. coli*, трансформированные нативной плазмидой pBLSK, образовывали на поверхности твердой селективной среды колонии синего цвета, в то время как после трансформации клеток плазмидой, связанной с частицами, роста колоний не наблюдали. Можно предположить, что плазмидная ДНК, связанная с частицами, не проникала в клетку. С другой стороны, если проникновение в клетку ДНК-плазмиды, связанной с частицами, происходило, она могла быть не доступна для ферментов нуклеинового обмена и генетическая информация (устойчивость к антибиотику) не реализовывалась. Второе предположение хорошо согласуется с данными о значительном снижении доступности ДНК, связанной с частицами для эндонуклеаз.

Для проверки влияния связывания с наночастицами на функциональные свойства молекулы были проведены эксперименты, в которых в качестве вектора трансформации использовали плазмиду, элюированную от наночастиц PBS-буфером. Элюированная плазмида успешно трансформировала прокариотические клетки. Одинаковый уровень трансформации в случае использования в качестве вектора элюированной от частиц плазмиды без и после инкубации с рестриктазой Msp I свидетельствует о том, что связывание с частицами действительно защищало

молекулу плазмиды от ферментативного расщепления. Снижение количества трансформантов, по сравнению с контролем, когда в качестве вектора использовали свободную плазмиду, обусловлено, вероятно, тем, что при инкубации в PBS-буфере не вся ДНК элюируется от частиц.

Эффективность трансформации клеток *E. coli* XL1-Blue, свободной и связанной с наночастицами плазмидой pBLSK

ДНК-вектор	Количество колоний
pBLSK-контроль	10^{3}
pBLSK, связанная с наночастицами	0
pBLSK, элюированная с поверхности наначастиц PBS-буфером	10^{2}
pBLSK, элюированная от наначастиц PBS-буфером после инкубации с MspI	10^{2}

Таким образом, молекулы феррита кобальта связываются преимущественно с GC-парами молекулы ДНК плазмиды pBLSK в трис-HCl буфере и формируют бионанокомпозитный комплекс. Связывание с частицами не приводит к нарушению целостности и функциональной активности молекул ДНК, однако значительно снижает доступность молекулы для ферментов. Способность частиц феррита кобальта при связывании с молекулой ДНК препятствовать взаимодействию с ферментами в сочетании с возможностью разрыва связи может служить мощным инструментом управления функциональной активностью ДНК, а также защиты молекулы от гидролитического расщепления.

- 1. Lu A.H. et al. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application // Angew Chem Int Ed Engl. 2007. № 46(8). P. 1222–1244.
- 2. Niemeyer C.M. Nanoparticles, Proteins, and Nucleic Acids // Biotechnology Meets Materials Science. Angew. Chem. Int. Ed. 2001. № 40. P. 4128–4158
- 3. Першина $A.\Gamma$. и ∂p . Исследование механизмов взаимодействия ДНК и наночастиц феррита кобальта методом ИК-Фурье-спектрометрии // Биоорганическая химия. 2009. № 35(5). С. 674–680.
- 4. *Найден Е.П. и др.* Магнитные свойства и параметры структуры наноразмерных порошковых оксидных ферримагнетиков, полученных методом механохимического синтеза из солевых систем // Физика твердого тела. 2008. № 50. С. 857–863.
- 5. *Маниатис Т. и др.* Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир., 1984.
- 6. Alting-Mees M.A. et al. pBluescriptII: multifunctional cloning and mapping vectors // Methods Enzymol. 1992. № 216. P. 483–495.
 - 7. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННО АКТИВНЫХ ГЕНОВ ПЕЧЕНОЧНОГО СОСАЛЬЩИКА OPISTHORCHIS FELINEUS

М.Ю. Помазной, С.И. Татьков

Обсуждаются результаты секвенирования кДНК библиотеки печеночного сосальщика О. felineus. Особое внимание уделяется наиболее транскрипционно активным генам паразита.

INVESTIGATION OF TRANSCRIPTIONALLY ACTIVE GENES OF TREMATODE OPISTHORCHIS FELINEUS

M. Yu. Pomaznoy, S.I. Tatkov

Results of sequencing of the cDNA-library of the parasite O. felineus are discussed. Special attention is pointed at the most transcriptionally active genes of this parasite.

От описторхоза — паразитарного заболевания, вызываемого у человека плоскими червями из семейства описторхид, страдает в мире около 40 млн человек. Эта инфекция характеризуется длительным течением и тяжелыми последствиями, одними из которых являются онкологические заболевания желчных путей и печени [1]. Болезнь вызывают гельминты семейства описторхид, которое включает в себя таких паразитов, как Clonorchis sinensis, Opisthorchis viverrini, Opisthorchis felineus. Ареал обитания С. sinensis покрывает Китай с ближайшими территориями (включая Гонк-Конг и Тайвань), Корею и север Вьетнама, а О. viverrini является эндемичным для Тайланда и Камбоджии. Паразит О. felineus встречается преимущественно в странах восточной Европы, в том числе в России, Украине и Беларуси, а также широко распространен и среди населения, проживающего в бассейне р. Оби (Западная Сибирь).

В ходе своего развития *O. felineus* сменяет двух промежуточных хозяев (моллюски из семейства битинид, рыбы из семейства карповых) и одного окончательного (млекопитающие, в том числе и человек). Во втором промежуточном хозяине (рыба) паразит достигает стадии метацеркарий. При поедании сырой или плохо прожаренной рыбы окончательным хозяином происходит его заражение метацеркариями *O. felineus*, которые попадают в желчные пути печени и в желчный пузырь, где и развиваются во взрослую особь – мариту. Для создания эффективных средств диагностики описторхоза и препаратов для его лечения необходимо тщательно изучить взаимодействие мариты с организмом окончательного хозяина. Одним из эффективных способов решения такой задачи является получение и изучение кДНК-библиотек мариты *O. felineus*.

В нашей лаборатории были выделены 10 тыс. клонов из полученной ранее невыровненной библиотеки кДНК взрослой стадии развития (мариты) *O. felineus*. Для осуществления крупномасштабного секвенирования клонированных вставок использовали ПЦР, а амплифицированные копии кДНК очищали при помощи набора

Millipore PCR Clean Up Kit на роботизированной станции TECAN. Выделенные ПЦР-фрагменты секвенировали методом Сэнгера. Прочитанные последовательности кДНК далее собирали в контиги с помощью программы Contig Express. Поиск гомологов в белковых базах проводили на удаленных кластерах (г. Новосибирск) с высокой вычислительной мощностью при помощи программы BlastX [2]. Идентификаторы лучших хитов извлекались из текста вывода программы Blast с помощью скриптов на языке программирования Perl. КО термины присваивались хитам с помощью сервера «КО based annotation system» (KOBAS, http://ko-bas.cbi.pku.edu.cn/).

К настоящему моменту были просеквенированы 1200 клонов. Первоначально методом гель-электрофореза были оценены длины вставок, амплифицированные с помощью ПЦР. Как видим из рис. 1, доля «пустых клонов» в изучаемой кДНК-библиотеки не превышает 4 %, максимальный размер вставки — 2000 п.н.

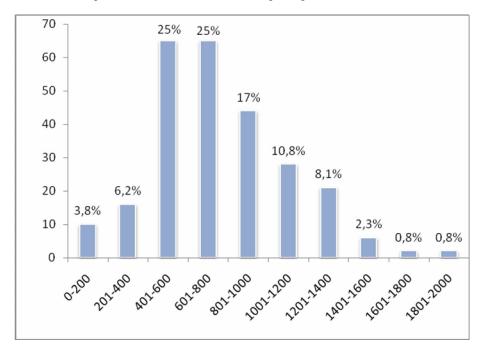


Рис. 1. Распределение длин вставок кДНК-библиотеки мариты *O. felineus*. Анализ проводился гель-электрофорезом в 1,5 %-ном агарозном геле. На горизонтальной оси – размер клонированных последовательностей в парах оснований, а по вертикальной – их доля в общей выборке

Из просеквенированных 1200 кДНК для 769 были определены последовательности EST после удаления малоинформативных сиквенсов. После ассемблирования EST было получено 86 контигов и 281 синглетов, т.е. суммарно 367 уникальных последовательностей. Для 228 уникальных последовательностей нами были найдены гомологи с Expect value не более 10^{-5} в белковой базе Non-redundant, и для 178 уникальных EST найдены гомологи в белковой базе Swissprot с тем же пороговым значением E-value. Для 2 контигов из 86 не удалось найти гомологов в известных белковых базах данных. Для 61 уникальной последовательности удалось присвоить термины KO.

Из 86 контигов 16 включают не менее 5 последовательностей, и эти 16 контигов суммарно составляют 318 последовательностей, т.е. 41 % от всех определенных к настоящему времени EST мариты *O. felineus*.

Среди обнаруженных 228 гомологов с E value $<10^{-5}$ в белковой базе Nonredundant 136 были найдены среди белков шистосом, 49 – у клонорха, 11 – были идентифицированы среди описанных EST описторха. Для оставшейся 31 последовательности EST гомологи были найдены среди белков других организмов, в том числе таких паразитов, как *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Paragonimus westermani*, *Ciona intestinalis*, *Giardia intestinalis*. Также в эту группу входят консервативные белки, которые дают хорошие хиты даже с относительно отдаленными таксономическими группами (рис. 2).

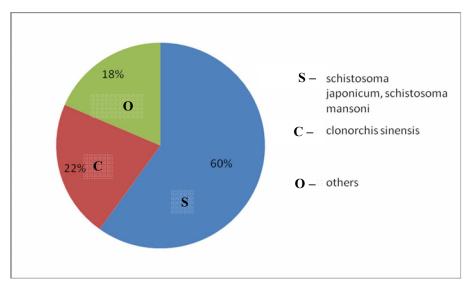


Рис. 2. Соотношение организмов, дающих лучшие хиты при поиске гомологий кДНК O. felineus в белковой базе Non-redundant с помощью программы Blast

Самым распространенным транскриптом оказался миоглобин. Контиг миоглобина содержит 85 EST (11,0 %). Активная транскриция гена гем-содержащего белка миоглобина у низшего беспозвоночного, на первый взгляд, неожиданна, поскольку известно, что у свободноживущих плоских червей миоглобин не обнаруживается. Можно предположить, что в тканях хозяина паразит находится в условии гипоксии, и это вынуждает его повышать эффективность потребления кислорода за счет, в частности, активной транскрипции миоглобина. Подобные явления были обнаружены и по результатам секвенирования транскриптомов родственных трематод: *C. sinensis*, *O. viverrini*.

Вторым по численности оказался контиг, соответствующий EST белка – предшественника вителлина. Находясь в желчных путях, описторх каждый день продуцирует тысячи яиц, что является одной из основных его функций жизнедеятельности. В этом свете сверхпродукция предшественника вителлина является вполне обоснованной. Данные по родственным трематодам аналогичны: предшественник вителлина входит в число пяти самых активно транскрибируемых генов и у *C. sinensis*, и у *O. viverrini*.

К числу наиболее транскрипционно активных генов у описторха относятся и гены, кодирующие цистеиновые протеазы (катепсины). Контиг, гомологичный катепсину F клонорха (E-value 10^{-157}), включает 41 EST из имеющихся 370 (5,3 %).

Достаточно существенную фракцию составляют ферменты, относящиеся к первому классу – оксиредуктаз. Нами было идентифицировано 21 EST оксиредуктаз в транскриптоме мариты *O. felineus*.

Также было выявлено 25 гомологов трансфераз (второй класс ферментов), представляющих собой глутатион-трансферазы (13 вариантов), АТФ-синтазы, а также киназы. Как было установлено ранее, глутатион-трансферазы (GST) печеночных сосальщиков секретируются. Можно предположить, что в результате контакта иммунной системы хозяина O. felineus с GST могут образовываться специфические антитела, определение которых может привести к созданию иммуноферментного диагностикума для определения описторхоза. Изучение возможности избирательного ингибирования глутатион-трансфераз печеночного сосальщика может подвести нас к созданию нового лекарства против данного паразитарного заболевания.

Ферменты, относящиеся к 3–6-му классам, были представлены значительно реже (гидролазы -7; лиазы -2; изомеразы -1; лигазы (синтетазы) -1).

Сапозино-подобные белки, обнаруженные в нашей библиотеке, были представлены двумя контигами, по-видимому, являющимися результатом сплайсинга первичного транскрипта. Каждый из этих контигов включал по 9 последовательностей EST, что составляло существенную фракцию просеквенированного материала. Данные белки могут быть секреторными, а также интегральными – закрепленными в клеточной мембране. Они участвуют в синтезе сфинголипидов, также некоторые их формы обладают нейротрофическим свойством. Известно, что они имеют несколько изоформ, образующихся из одного предшественника – просапозина.

Ряд EST представляют собой белки домашнего хозяйства (house-keeping proteins). Безусловно, к таковым относятся гомологи рибосомальных белков. Нами выявлено 12 контигов, представляющих с очень высокой степенью вероятности (E-value менее 10^{-23}) белки 40S и 60S субъединиц рибосом *O. felineus*. А среди 368 уникальных последовательностей 30 относятся к EST различных рибосомальных белков, которые, однако, все в качестве высоковероятных гомологов имеют соответствующие белки либо шистосом, либо клонорха. То, что среди клонированных последовательностей кДНК-библиотеки *O. felineus* нами были исключительно обнаружены лишь гомологи рибосомальных белков из других родов трематод, является дополнительным косвенным признаком того, что в наших руках находится высокоспецифическая кДНК-библиотека описторха.

В заключение можно отметить, что в ходе данной работы было изолировано 10 тыс. клонов из невыровненной кДНК-библиотеки взрослой стадии паразита человека и животных *О. felineus*. Из неё 1200 клонов были просеквенированы, после обработки полученных последовательностей были восстановлены суммарно 769 последовательностей EST, которые после ассемблирования образовали 366 уникальных последовательностей. Для них был проведен биоинформатический анализ, позволивший для 62 % установить биологическую функцию. Среди отсеквенированных транскриптов *О. felineus* были обнаружены последовательности, кодирующие важные ферменты и в том числе различные регуляторы, выполняющие важные роли в функционировании сигнальных систем. К таким регуляторным элементам относятся кальцийзависимые сигнальные молекулы, гормон роста клеток эпителия — гранулин и индуктор апопотоза — ROS-модулятор.

- 1. Sripa B., Kaewkes S., Sithithaworn P., et al. Liver fluke induces cholangiocarcinoma // PLoS Med. 2007. №4(7). P. e201.
- 2. Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs» // Nucleic Acids Res. 1997. №25. P. 3389–3402.

Том 275

Серия биологическая

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ СЕМЕЙСТВА ВІТНУПІДАЕ НА ОСНОВЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ И ЯДЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ¹

К.В. Романов, В.И. Балышева, А.В. Катохин, В.А. Мордвинов

Проанализированы моллюски семейства Bithyniidae, собранные в Западной Сибири, на Урале, в европейской и дальневосточной части России, и определены морфологически. Филогенетический анализ, основанный на последовательностях СО1 и ITS1, показал кластеризацию образцов согласно определённым видам с хорошей бутстрепной поддержкой. В. tentaculata оказался болге консервативным видом, чем В. trosheli. Последовательности, принадлежащие В. trosheli, показали разделение на два кластера по СО1-маркёру, что не подтвердилось по ITS1. В результате исследования впервые получены данные о генетических различиях внутри и между видами семейства Bithyniidae, создающие базу для дальнейших исследований битинид.

MOLECULAR PHYLOGENY OF SPECIES INTO BITHYNIIDAE FAMILY BASED ON MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR SEQUENCES

K.V. Romanov, V.I. Balysheva, A.V. Katohin, V.A. Mordvinov

Molluscs of Bithyniidae family collected throughout West Siberia, Ural, European and Far East parts of Russia were morphologically defined and then analyzed by molecular approach. Phylogenetic analysis based on CO1 and ITS1 sequences showed clusterisation with good bootstrap support as it was predicted. B. tentaculata was more conservative than B. trosheli. CO1 sequences belonged to B. trosheli were divided into two clusters but this partitioning was not confirmed by ITS1. Information on sequences of the species is the first and can be used for further investigations of the genetic differentiation within the family.

Моллюски семейства Bithyniidae относятся к древней группе раздельнополых переднежаберных моллюсков, обитающих в пресноводных водоёмах. Они являются первыми промежуточными хозяевам в жизненном цикле трематод сем. Opisthorchiidae и более чем полусотни иных видов трематод [1, 2]. В связи с высокой специфичностью отношений паразит — хозяин между трематодами и моллюсками для паразитологических исследований необходимо обладать точными сведениями не только о самом паразите, но и о его хозяевах.

Часть диапазона изменчивости морфологических признаков, используемых для разделения на виды (конхологические признаки и свойства), попадают в рамки фенотипической изменчивости [3], однако продолжают использоваться. До сих пор не вполне ясна систематика внутри семейства битинид, т.е. система родов и количество видов семейства. Существует неопределённость в экологической роли видов семейства как переносчиков возбудителей описторхидозов, в прогнозировании гос-

¹ Работа поддержана программой СО РАН «Геномика, протеомика, биоинформатика», госконтрактом Роснауки (№ 02.512.11.2332) и грантом РФФИ (№ 09-04-12209-офи м).

тальности, т.е. возможности моллюсков быть хозяевами для описторхид, занесённых в результате человеческой деятельности.

Для того чтобы прояснить систематику семейства Bithyniidae, мы проводим исследование филогенетических отношений внутри семейства по молекулярногенетическим маркёрам — последовательностям из митохондриального и ядерного геномов. В дальнейшем это позволит выяснить роль битинид в различных паразитарных системах, а также их гетерогенности по признакам восприимчивости и специфичности к паразитам из разноудалённых популяций.

На первом этапе работы была собрана коллекция битинид. Сбор моллюсков производили вручную с водных растений и погружённых в воду предметов (брёвна, ветки, бытовой мусор). Образцы были определены Е.А. Сербиной (ИСЭЖ СО РАН, Новосибирск), Л.А. Прозоровой (БПИ ДВО РАН, Владивосток) и Т.Я. Ситниковой (ЛИН СО РАН, Иркутск). Для хранения тел моллюсков использовали 70 %-ный этанол, раковины хранили в сухом виде. Геномную ДНК экстрагировали из куска мышцы ноги моллюска.

В качестве молекулярно-генетических маркёров мы использовали фрагмент митохондриального гена, кодирующего первую субъединицу цитохром-с-оксидазы (СО1), ограниченного универсальными праймерами Фолмера (фолмеровский фрагмент) [4]. В качестве ядерного маркёра был выбран некодирующий спейсер рибосомальной ДНК – ITS1, находящийся между генами, кодирующими 18S и 5.8S РНК [5]. Определение нуклеотидной последовательности проводили в межинститутском Центре секвенирования СО РАН.

Первичную обработку и выравнивание прочитанных последовательностей проводили при помощи программы ClustallW [6]. Филогенетический анализ был проведён с использованием программы MEGA v4.2 по алгоритмам Neighbor — Joining и Maximum Parsimony [7].

Нуклеотидная последовательность маркёра СО1 была определена для 39 моллюсков, относящихся к четырём видам (таблица). Для *В. trosheli* маркёр показал 18 вариабельных сайтов, из них 3 транзиции и 15 трансверсий, 5 несинонимичных замен. Для *В. tentaculata* маркёр показал 2 вариабельных позиции, обе позиции – синонимичные трансверсии. Образцы, принадлежащие видам *Р. manchouricus* и *В. Contortrix*, не показали внутривидовой изменчивости.

Для маркёра ITS1 была определена нуклеотидная последовательность для 67 образцов, относящихся к четырём видам (см. таблицу). Образцы, принадлежащие видам *В. tentaculata*, *Р. manchouricus* и *В. contortrix*, не показали внугривидовой изменчивости.

Места сбора образцов и количество расшифрованных последовательностей

Места сбора	Виды	Количество расшифрованных последовательностей		
Wiccia coopa	моллюсков	фрагмента гена СО1	некодирующего фрагмента ITS-1	
1	2	3	4	
Пойма р. Оби (окрестности Новосибирска)	B. trosheli B. tentaculata	12	12	
Реки, впадающие в Обское вдхр.	B. trosheli B. tentaculata	3	6	
Р. Обь (Колпашево, Томская обл.)	B. tentaculata	2	4	
Реки Яя, Кия, Чулым (Томская обл.)	B. trosheli B. tentaculata	3	5	

Окончание	таблины
OKORTURUE	тиолицы

1	2	3	4
Внутренний сток НСО	B. trosheli	4	7
Р. Миасс (г. Челябинск)	B. trosheli	2	2
Чивыркуйский залив, бухта Змеевая (оз. Байкал)	B. contortrix	3	3
Р. Бирюса (Тайшет, Красноярский край)	B. trosheli	3	4
Р. Самара (г. Самара)	B. tentaculata	0	2
Р. Сакмара, р. Урал (г. Оренбург)	B. tentaculata	3	7
Р. Белая (Башкирия)	B. trosheli B. tentaculata	1	4
Р. Исеть (Екб)	B. tentaculata	0	2
Р. Большая Уссурка, Хабаровский край	P. manchouricus	3	9
Всего	39	67	

На основе прочитанных нуклеотидных последовательностей для CO1 и ITS1 были построены филогенетические реконструкции по алгоритмам Neighbor-Joining и Maximum Parsimony, с использованием двухпараметрической модели Кимуры. Построенные деревья по топологии и значениям бутстрепной поддержки существенно не отличались для обоих маркёров.

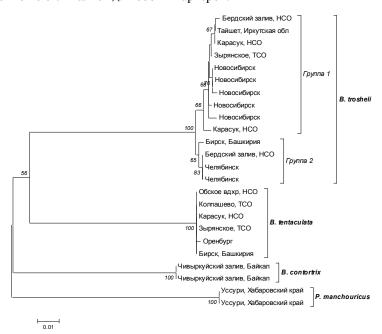


Рис. 1. Филогенетическая реконструкция, построенная по алгоритму Neighbor – Joining с использованием двухпараметрической модели Кимуры, на основе нуклеотидной последовательности маркёра CO1

По обоим маркёрам было показано разделение образцов на клады, соответствующие морфологически определённым видам, при этом по маркёру СО1 образцы вида В. trosheli разделились на две группы, в первую из которых вошли образцы из Новосибирска и Новосибирской области, Томской, Кемеровской областей и Красноярского края. Во вторую группу вошли образцы из Челябинска, Башкирии и Новосибирской области (рис. 1). Филогенетические реконструкции, построенные на основе последовательности ядерного маркёра ITS1, не показали подобного разделения (рис. 2). Это совпадает с результатами, полученными для других семейств переднежаберных моллюсков [8], и может быть объяснено разными частотами замен для митохондриального и ядерного геномов, кодирующие районы митохондриального генома эволюционируют быстрее, чем некодирующие районы ядерного [9].

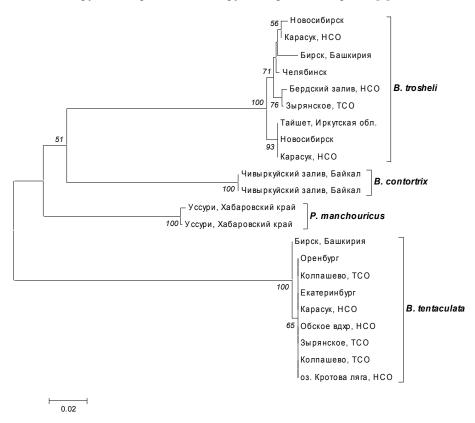


Рис. 2. Филогенетическая реконструкция, построенная по алгоритму Neighbor – Joining с использованием двухпараметрической модели Кимуры, на основе нуклеотидной последовательности маркёра ITS1

Таким образом, в результате проведения исследования генетической изменчивости моллюсков семейства Bithyniidae впервые получены данные о генетических различиях внутри видов *B. trosheli, B. tentaculata, B. contortrix* и *P. manchouricus* и между этими видами, создающие базу для дальнейших исследований семейства. Показано разделение вида *B. trosheli* по митохондриальному маркёру на два кластера.

- 1. *Беэр С.А.* Биология возбудителя описторхоза. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. 335 с.
- 2. Сербина Е.А. Распространение и зараженность трематодами моллюска Bithynia tentaculata (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA: BITHYNIIDAE) в водоемах юга Западной Сибири // Моллюски: морфология, таксономия, филогения, биогеография и экология: Седьмое совещ. по изучению моллюсков. СПб., 2007. С. 232–234.
- 3. *Беэр С.А., Макеева В.М.* Положение и изменчивость битиний (Gastropoda) Западной Сибири // Зоологический журнал. 1973. Т. 52, №5. С. 668–675.
- 4. Folmer O., Black M., Hoeh W. et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1991. T. 3. C. 294–299.
- 5. *Hillis D.M., Dixon M.T.* Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference // The Quaterly Review of Biology. 1991. T. 66, № 4. P. 411–451.
 - 6. http://www.ebi.ac.uk/clustalw/
- 7. *Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S.* MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // Molecular Biology and Evolution. 2007. T. 24.
- 8. *Перетолчина Т.Е., Букин Ю.С., Ситникова Т.Я., Щербаков Д.Ю.* Генетическая дифференциация эндемичного байкальского моллюска Baicalia carinata (Mollusca: Caenogastropoda) // Генетика. 2007. Т. 43. № 12. С. 1–9.
 - 9. Минченко А.Г., Дударева Н.А. Митохондриальный геном. Новосибирск: Наука, 1990. 194 с.

МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗА BACILLUS INTERMEDIUS¹

А.Р. Сабирова, Н.Л. Рудакова, Ю.В. Данилова, Н.П. Балабан, М.Р. Шарипова

Дана характеристика нового члена астаииноподобных протеиназ из баиилл.

METALLOPROTEINASE OF BACILLUS INTERMEDIUS

A.R. Sabirova, N.L. Rudakova, Y.V. Danilova, N.P. Balaban, M.R. Sharipova

The present research related to characterization of new member of astacin-like proteinases from bacilli.

Цинкзависимые металлопротеиназы, или цинкины, широко представлены во всех царствах живых организмов; они распространены повсеместно и вовлечены во многие механизмы жизнедеятельности. Наиболее крупным в составе цинкинов является клан метцинкинов. В его состав входят внеклеточные и мембраносвязанные металлопротеиназы семейств астацинов, серрализинов, адамализинов/репролизинов, матриксинов и некоторые другие семейства. Все представители клана метцинкинов характеризуются наличием продленного мотива активного центра НЕххНхх GxхHD, а также последовательностью Меt-поворота ххМхх. Эукариотические метцинкины играют важную роль в осуществлении различных регуляторных механизмов, вызывают ревматоидный артрит, атеросклероз, воспалительные процессы, деградацию клеток и тканей, онкологию [1]. Одно из крупных семейств клана метцинкинов – астацины – включает в себя ферменты, широко представленные в основном у животных, но не обнаруженные у грибов и растений. Единственным представителем семейства астациноподобных протеиназ у бактерий является флавастацин Flavobacterium meningosepticum. Астацины синтезируются как зимогены с пропептидом и сигнальным пептидом на N-конце зрелого белка и активируются путем протеолитического процессинга [2]. Несмотря на широкое разнообразие металлопротеиназ, бациллярные астациноподобные ферменты ещё не описаны. Работа посвящена выделению и характеристике первой астациноподобной протеиназы бацилл.

В библиотеке хромосомной ДНК *В. intermedius* идентифицирован клон (плазмида рСМ4, предоставленная С.В. Костровым, ИМГ РАН, Москва), обладающий внеклеточной протеолитической активностью. В отличие от сериновых протеиназ, активность этого фермента подавляется ингибиторами для металлопротеиназ — ЭДТА и офенантролином. Секвенирование фрагмента геномной ДНК (AN EU678894.2) с

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-99044), Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК № П815 от 12.05.2010, Аналитической ведомственной целевой Федеральной программы РНП 2.11.1005.

плазмиды рСМ4 показало наличие ОРС, которая соответствовала гену металлопротеиназы тргВі и имела 99 % гомологии с опубликованной последовательностью гена протеиназы Bacillus pumilus SAFR-032 (YP 001488604.1). Ген mprBi, включая регуляторную область, был субклонирован с получением рекомбинантной плазмиды pSA1. При помощи программы SignalP в структуре OPC идентифицирован потенциальный сайт отщепления (ASA) сигнального пептида размером в 29 а.к.о. на N-конце, что подтверждает внеклеточную локализацию соответствующего фермента. В конвертируемой последовательности аминокислот секвенированного нами гена mprBi идентифицировали последовательности, гомологичные продленному мотиву активного центра и структуре метионинового поворота. Таким образом, результаты анализа структуры гена *mprBi* позволяют отнести металлопептидазу к классу метцинкинов. Эти белки, как правило, являются секретируемыми ферментами, которые обнаружены как у животных, так и у микроорганизмов [3]. Тем не менее до сих пор не описан ни один фермент семейства метцинкинов у бацилл. Таким образом, изолированный в работе клон продуцирует металлоэндопептидазу МгрВі, которая является первым представителем семейства метцинкиновых белков у бацилл.

Исследование динамики роста и накопления протеолитической активности металлопротеазы MprBi проводили в протеазодефицитном штамме *B. subtilis BG 2036* (pSA1). Максимум активности фермента наблюдается в культуральной жидкости на 29–31-й ч, что соответствует стационарной фазе роста культуры. Количество свободных спор в культуре рекомбинантного штамма на 30-й ч роста не превышало 4 %, что также подтверждает секреторную природу фермента. Внесение в среду культивирования дрожжевого экстракта в конечной концентрации 0,5 % увеличивало активность фермента и продуктивность культуры на 40 и 10 % соответственно. Пептон в концентрации 2 % повышал активность металлопротеиназы на 35 %. При добавлении в среду казаминовых кислот в концентрации 0,1 % активность фермента увеличилась в 2 раза, а продуктивность – в 5 раз.

Из культуральной жидкости *B. subtilis* (pSA1) с применением гидрофобных сорбентов бацитрацин-силохрома и бутил-сефарозы был выделен и получен в гомогенном состоянии препарат МргВі. Молекулярная масса МргВі, определенная электрофоретически, составила 19 кДа. При исследовании влияния температуры на активность фермента установлено, что оптимум соответствует 50-55 С. Белок проявляет стабильность в интервале температур от 22 до 55 °С. рН-Оптимум действия гомогенного препарата МргВі в универсальном буфере находится в пределах 9,5-10. Методом MALDI-TOF-спектрометрии нами установлена аминокислотная последовательность зрелого белка МргВі. Анализ полученной последовательности показал наличие 2 консервативных структур: мотива активного центра **HE**VGHNFGLPH, а также фрагмента CLMNY, представляющего собой структуру Мет-поворота. Обе последовательности указывают на принадлежность МргВі к клану метцинкинов. Тот факт, что протеиназа МргВі синтезируется с сигнальным пептидом на N-конце молекулы фермента, а также наличие консервативного остатка Туг149 в Меt-повороте дают основание предполагать, что эндопептидаза МргВі относится к семейству астациноподобных пептидаз клана метцинкинов.

Таким образом, нами впервые выделен гомогенный препарат новой астацинподобной внеклеточной металлопротеиназы *В. intermedius*, которая может быть отнесена к семейству астациноподобных пептидаз. Клонирован и секвенирован ген фермента. В структурной области гена *mprBi* идентифицирован специфический продленный мотив активного сайта, сформированный 11 аминокислотами, и Меtповорот, которые характерны для представителей клана метцинкинов. Остается неясным вопрос о функционально-физиологической роли этого фермента. Решение этого вопроса актуально в связи с тем, что цинковые металлопротеиназы играют ведущую роль как в развитии патологических процессов, так и в лечении многих заболеваний.

- 1. *Special* issue: Metzincin metalloproteinases. Editorial // Molecular aspects of medicine. 2008. Vol. 29. P. 255–257.
- 2. Sterchi E.E., Stocker W., Bond J.S. Meprins, membrane-bound and secreted astacin metalloproteinases // Molecular aspects of medicine. 2008. Vol. 29. P. 309–328.
- 3. Gomis-Rüth F.X. Structural aspects of the metzincin clan of metalloendopeptidases // Mol. Biotechnology. 2003. Vol. 24. P. 157–202.

ОБНАРУЖЕНИЕ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ СРЕДИ ШТАММОВ *М. TUBERCULOSIS* ГЕНОТИПОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

А.Ю. Сивков, С.И. Татьков, В.А. Мордвинов

Выявлена группа близкородственных штаммов M. tuberculosis, достоверно ассоциированная с множественной лекарственной устойчивостью. Дальнейшее изучение МЛУ-кластера позволит понять генетические особенности распространившихся МЛУ штаммов микобактерий.

REVEALING MDR-GENOTYPES AMONG M. TUBERCULOSIS STRAINS IN NOVOSIBIRSK REGION

A.Yu. Sivkov, S.I. Tatkov, V.A. Mordvinov

In Novosibirsk region there were revealed a cluster of M. tuberculosis isolates associated with multidrug resistance (MDR) and specific IS6110 RFLP profile containing one or two additional high molecular bands as compared with others. This cluster belongs to Beijing genotype spread widely in Russia. Further genetic investigation of strains from MDR cluster can be useful for understanding genetic reasons of MDR tuberculosis dissemination.

На данный момент около трети населения инфицировано микобактериями туберкулеза (WHO, 2008). Особенно опасными являются микобактерии с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), устойчивые одновременно к двум основным противотуберкулезным препаратам — изониазиду и рифампицину. (WHO, Nov. 2007). Каждый год во всем мире заболевают МЛУ-формами туберкулеза около 400 тыс. лиц (WHO, June 2007). Для лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью требуется более длительная терапия препаратами второй линии, которые стоят дороже и вызывают больше побочных эффектов (WHO, 2008).

При неправильном лечении больных у них могут быть отселектированы штаммы *М. tuberculosis* с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) (WHO, 2008). Такие штаммы способны распространяться воздушно-капельным путем в популяции и с трудом поддаются лечению (WHO, June 2007). В развитых странах с наилучшими на сегодня системами диагностики и лечения туберкулеза удалось добиться излечения больных ШЛУ-туберкулезом лишь в 30 % случаев (WHO, 2008).

По данным ВОЗ, в 2007 г. уже в 35 странах были обнаружены ШЛУ-штаммы *М. tuberculosis* (WHO, Nov. 2007). В России, по-видимому, эти штаммы также представлены. Только в Томской области в течение 2002—2005 гг. было выявлено 30 (6,6%) ШЛУ-штаммов среди исследованных 458 МЛУ-изолятов (WHO, 2008). Дальнейшее распространение ШЛУ- и МЛУ-штаммов угрожает, по мнению ВОЗ, возникновением эпидемии туберкулеза, для борьбы с которой доступных лекарственных средств будет недостаточно (WHO, 2008). Несмотря на предпринимаемые действия, рост заболеваемости МЛУ и ШЛУ туберкулезом продолжается. Возмож-

но, он связан с распространением мутантных вариантов микобактерий, предрасположенных к приобретению МЛУ- и ШЛУ-устойчивости.

Цель работы – выявить в исследуемой выборке штаммов M. *tuberculosis* генотипы, ассоциированные с множественной лекарственной устойчивостью.

Репрезентативная коллекция штаммов *М. tuberculosis* Новосибирской области (2003 г.) была сформирована путем тотального сбора культур, выделяемых от больных туберкулезом, впервые принимающих специализированное лечение менее 1 мес. Исследование мазков, бактериологические посевы производились в противотуберкулезном диспансере г. Новосибирска и Новосибирском НИИ туберкулеза Росздрава. Всего за 2003 г. было выявлено 1699 первичных больных, результаты определения лекарственной устойчивости удалось получить лишь для 607 культур. Для оценки генетического разнообразия штаммов *М. tuberculosis* в Новосибирской области воспользовались методом полиморфизма длин фрагментов рестрикции (IS6110 ПДРФ). Геномную ДНК выделяли по методике [3]. Полученные иммобилизованные рестрикционные фрагменты ДНК *М. tuberculosis* гибридизовали с меченым зондом фрагмента инсерционной последовательности IS6110 по [2]. Кластерный анализ результатов генотипирования проводили с помощью программы ВіоNumerics. Также с её помощью был выполнен статистический анализ рассчитанных дендрограмм и построено консенсусное филогенетическое древо.

Генотипирование выборки методом IS6110 ПДРФ. Из 607 чистых культур, выделенных в 2003 г. от впервые выявленных больных туберкулезом, методом случайных чисел отобрали 230 изолятов. К сожалению, для 57 культур не удалось выделить достаточного количества геномной ДНК, пригодной по качеству для рестрикционного анализа, поэтому ПДРФ-типирование было проведено для 173 изолятов *М. tuberculosis*. По полученным результатам типирования с использованием метода попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA) было построено древо филогенетического родства штаммов *М. tuberculosis* (рис. 1).

На дереве было представлено 157 генотипов, а 24 % исследованных изолятов входили в состав кластеров. Древо содержало 16 кластеров, минимальный из которых включал 2 изолята M. tuberculosis, а самый большой -7.

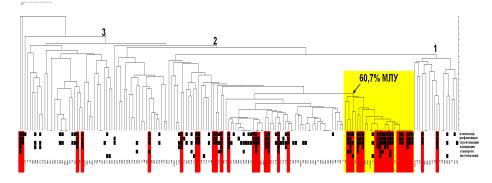


Рис. 1. Распределение типов лекарственной устойчивости по кластерам ПДРФ древа. Черными квадратами показаны устойчивость штамма к противотуберкулезному препарату. В первой строке — устойчивость к изониазиду, во второй — к рифампицину, в третьей — к стрептомицину, в четвертой — к канамицину, в пятой — к этамбутолу, в шестой — к протионамиду. Темным фоном отмечено расположение на древе генотипов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ.) Серым фоном отмечен кластер МЛУ-штаммов

Анализ распределения лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* по ветвям древа. Для определения, могут ли генетические особенности штаммов повлиять на их предрасположенность к приобретению лекарственной устойчивости, мы

исследовали распределение резистентности к противотуберкулезным препаратам по генотипам (см. рис. 1). В среднем по выборке встречаемость штаммов с множественной лекарственной устойчивостью составляла 21,4 %. Однако в некоторых кластерах она статистически достоверно была значительно выше. Так, в составе ветви №2, сформированной Пекинскими штаммами, был выявлен кластер с содержанием в нем МЛУ-штаммов 60,7 %. Таким образом, генотип выявленного кластера статистически достоверно ассоциирует с множественной лекарственной устойчивостью (р<0,00001, по критерию хи-квадрат). Данный генотип, как фактор риска, в 9,96 раза чаще сочетается с множественной лекарственной устойчивостью (модуль Statcalc пакета Ерііпfо) и отличается от других присутствием дополнительных одной или двух высокомолекулярных полос в профиле IS6110.

RFLP генотип отражает распределение по микобактериальному геному элементов IS6110. Эти мобильные элементы могут изменить транскриптом микобактерии. Следовательно, высокий уровень МЛУ в данном кластере может быть обусловлен специфической интеграцией IS6110 элементов в какие-то районы генома *М. tuberculosis*. Возможно, что инактивация или изменение экспрессии какого-то гена с помощью IS6110 элемента приводит к усилению фитнеса и естественному отбору МЛУ микобактерий.

Таким образом, дальнейшее изучение штаммов, входящих в МЛУ-кластер, может быть полезно для понимания генетических причин как МЛУ, так и фитнеса микобактерий.

- 1. Lasunskaiaa E., Ribeiroa C.M., Manichevaf O. et al. Emerging multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence // Microbes and Infection. 2010. Vol. 12. P. 467–475.
- 2. Van Embden J.D., Cave M.D., Crawford J.T. et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology // J. Clin Microbiol. 1993. Vol. 31. P. 406–409.
- 3. Van Soolingen D., Haas P.E. de, Hermans P.W. et al. Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of Mycobacterium tuberculosis // J. Clin Microbiol. 1993. Vol. 31. P. 1987–1995.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЕНА ESCARGOT В КОНТРОЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ DROSOPHILA MELANOGASTER¹

А.А. Зайцев, А.В. Симоненко, Н.В. Рощина, Е.Г. Пасюкова

С помощью анализа инсерционных мутаций и их реверсий исследовано участие гена escargot в контроле продолжительности жизни дрозофилы.

EXPLORATION OF THE ROLE OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* GENE *ESCARGOT*IN LIFESPAN CONTROL

A.A. Zaitsev, A.V. Symonenko, N.V. Roshina, E.G. Pasyukova

Involvement of Drosophila melanogaster gene escargot in lifespan control was analyzed using insertional mutations and their reversions.

Продолжительность жизни (ПЖ) может существенно варьировать между разными популяциями и особями одного вида. Изучение генетических факторов, лежащих в основе такой вариабельности, представляет большой интерес для понимания причин и условий, обеспечивающих высокую ПЖ.

Ранее, в ходе поиска генов, связанных с контролем ПЖ *Drosophila melanogaster*, было установлено, что ген *escargot (esg)*, кодирующий транскрипционный фактор РНК-полимеразы II, помимо участия в регуляции различных клеточных и физиологических процессов, в том числе в формировании и поддержании функционирования нервной системы [1], играет роль в контроле ПЖ [2]. Сравнение средней ПЖ линии w^{II18} и линии w^{II18} ; $esg^{BG01042}$, содержащей встройку вектора $P\{GT1\}$ вблизи 3'-конца гена esg, показало, что инсерция приводит к достоверному увеличению ПЖ самцов. В результате мобилизации вектора был получен набор линий с его эксцизиями: одна линия с полным вырезанием вектора, w^{II18} ; $esg^{3.3}$, и ряд линий с частичным вырезанием. Полное вырезание вектора у самцов приводило к восстановлению ПЖ, характерной для контрольной линии.

Представляло интерес исследование свойств линии с неполным вырезанием векторной конструкции, что позволило бы оценить роль разрыва геномной ДНК и размера встройки в изменении фенотипа. Для этой работы была выбрана линия w^{III8} ; $esg^{5.2}$, содержащая встройку небольшого фрагмента вектора и небольшую делецию геномной ДНК. Для решения поставленной задачи была измерена ПЖ самцов линий w^{III8} (контроль), w^{III8} ; $esg^{BG01042}$ (мутант) и w^{III8} ; $esg^{5.2}$; выборка составила от 100 до 200 особей для каждой линии.

 $^{^{1}}$ Исследование выполнено при поддержке Государственного контракта (№ П317) и гранта РФФИ (№ 09-04-01181-а).

Анализ средней ПЖ показал, что между контрольной и мутантной линиями наблюдаются статистически значимые различия (р = 0,0001). Средняя ПЖ мутантной линии составила 66 дней, что на 53 % превышало ПЖ контрольной линии (43 дня). Эти результаты хорошо воспроизводят результаты, полученные ранее [2]. Средняя Π Ж самцов линии $w^{1/1/8}$; $esg^{5.2}$ составила 46 дней и не отличалась от средней Π Ж контрольной линии (p = 0,1965), в то время как отличия от мутантной линии были высокодостоверны (p = 0,0001). Средняя ПЖ линии w^{III8} ; $esg^{5.2}$ не отличалась также от ранее определенной средней ПЖ линии w^{1118} ; $esg^{3.3}$, характеризующейся полным вырезанием вектора (46 дней). Результаты дисперсионного анализа данных во всех случаях подтвердили результаты сравнения средних значений ПЖ. Множественное сравнение средних позволило разделить исследуемые линии на две группы, в одну из которых входят линия w^{1118} и линия w^{1118} ; $esg^{5.2}$, а в другую — линия w^{1118} ; $esg^{BG01042}$. Сравнение кривых выживания контрольной и мугантной линии (рис. 1) выявило статистически значимые различия между ними (тест Каплана-Мейера: р = 0,0001). Кривые выживания контрольной линии и линии с неполным вырезанием вектора (см. рис. 1) не отличались друг от друга (р = 0,3872). Сравнение кривой выживания линии с неполным вырезанием вектора с кривой выживания мутантной линии, напротив, выявило статистически значимые различия (р = 0,0001). Кривая выживания линии w^{1118} ; $esg^{5.2}$ с неполным вырезанием вектора не отличалась от кривой выживания линии w^{1118} ; $esg^{3.3}$ с полным вырезанием вектора.

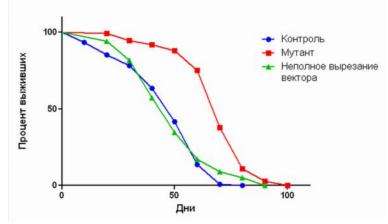


Рис. 1. Кривые выживания самцов исследуемых линий

Проведенный анализ средних значений ПЖ исследуемых линий и кривых их выживания показывает, что встраивание вектора $P\{GTI\}$ вблизи 3'-конца гена esg приводит к увеличению ПЖ самцов, а вырезание вектора или его большей части – к восстановлению ПЖ до уровня, характерного для контрольной линии. Совокупность этих фактов доказывает, что причиной изменения ПЖ является инсерционная мутация.

Линии с полным и неполным вырезанием вектора не отличаются между собой по ПЖ. Этот факт свидетельствует о том, что небольшой фрагмент чужеродной ДНК и небольшая делеция в геномной ДНК, прилегающей к 3'-концу гена esg, не сказываются на функции гена, связанной с его влиянием на ПЖ. Влияние встройки в 3' окружение гена на его функцию может быть связано как с разрывом геномной ДНК, так и с более тонким влиянием встроившихся последовательностей на экспрессию гена. Полученные данные показывают, что разрыв геномной последовательности сам по себе не оказывает влияния на функцию гена esg, связанную с его влиянием на ПЖ, в то время как размер встройки имеет существенное значение.

Можно предположить, что небольшие изменения в структуре изучаемого района не приводят к изменению его пространственных свойств, которые могли бы быть важны для функции гена, либо что в небольшом фрагменте встройки не осталось тех последовательностей, которые в целом векторе играли регуляторную роль и изменили функцию гена *esg*.

Интересно было проверить, меняется ли транскрипция гена esg в результате встройки вектора $P\{GTI\}$ и его полного или неполного вырезания. Эксперимент по определению уровня транскрипционной активности гена esg включал выделение тотальной РНК целых самцов линий w^{I118} , w^{I118} ; $esg^{BG01042}$, w^{I118} ; $esg^{3.3}$ и w^{I118} ; $esg^{5.2}$ в возрасте 1, 10, 20 и 50 дней, получение кДНК и определение концентрации кДНК в исследуемых образцах с помощью метода количественной ПЦР в реальном времени. Количественной характеристикой уровня транскрипции гена esg служило отношение концентрации кДНК исследуемого гена к концентрации кДНК референсного гена gdh в экспериментальном образце. Выделение РНК для всех вариантов опыта проводили два раза. Множественное сравнение средних значений уровня экспрессии гена для каждого возраста выявляет в каждом возрасте лишь одну группу значений (р < 0,05), что говорит о том, что значимые различия между транскрипционной активностью гена в разных линиях отсутствуют (рис. 2).

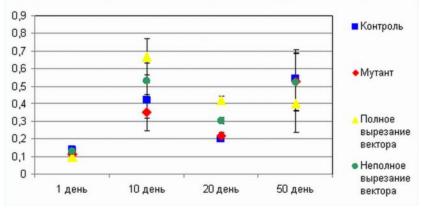


Рис. 2. Уровень экспрессии гена esg у самцов разного возраста

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния встроек чужеродных последовательностей в район геномной ДНК, прилежащий к 3'-концу гена esg, на его транскрипционную активность. Полученный результат может быть связан с тем, что встройка все же влияет на экспрессию гена, но только в одной или нескольких тканях. В качестве продолжения данной работы можно рассматривать анализ транскрипции esg в разных тканях и органах, в том числе в нервной ткани. Нельзя исключить также, что с точки зрения контроля продолжительности жизни важна транскрипция esg в эмбрионах, поскольку именно на этой стадии продемонстрировано его влияние на наиболее важные клеточные процессы [1].

- 1. Cai Y., Chia W., Yang X. A family of snail-related zinc finger proteins regulates two distinct and parallel mechanisms that mediate *Drosophila* neuroblast asymmetric divisions // EMBO J. 2001. № 20. P. 1704–1714
- 2. Magwire M.M., Yamamoto A., Carbone M.A. et al. Quantitative and molecular genetic analyses of mutations increasing *Drosophila* life span // PLoSGenetics. 2010. In press.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ *HYDRANGEA MACROPHYLLA* С ПОМОЩЬЮ ВЕКТОРНОЙ СИСТЕМЫ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*¹

М.В. Скапцов, М.Г. Куцев

Описана трансформация клеток мезофилла листа Hydrangea macrophylla (Thunb.) посредством культивирования листовых пластинок с Agrobacterium tumefaciens штамма EHA 105, который включает в себя бинарную плазмиду pCAMBIA pGFP, содержащую ген флюоресцина и CaMV35S промотор. Данные показали, что степень флюоресценции зараженных образцов выше степени флюоресценции контрольных, что свидетельствует об успешной генетической трансформации.

GENETIC TRANSFORMATION OF HYDRANGEA MACROPHYLLA BY HELP AGROBACTERIUM TUMEFACIENCE VECTOR SYSTEM

M.V. Skaptsov, M.G. Kucev

Transformation of mesophilic cells of folium Hydrangea macrophylla (Thunb) by cultivating laminas with Agrobacterium tumefaciens strain EHA 105, which harbors the binary plasmid pCambia pGFP containing fluorescein gene with the CaMV35S promoter. The results indicated that the level of fluorescence infected samples higher the level of fluorescence controlled samples, this indicates of successful genetic transformation.

Одной из важных задач биотехнологии является получение растений с новыми заданными свойствами. Одним из направлений растительного «биофарминга» и генной инженерии является использование трансгенных растений в качестве продуцентов биологически активных веществ и получение новых сортов растений – продуцентов соединений для медицины, сельского хозяйства и промышленности. Трансформация растений генами, ответственными за синтез клеточных метаболитов, позволяет получать растения со сверхэкспрессией важных биологически активных соединений. С другой стороны, подавление экспрессии этих генов с использованием антисмысловых и интерферирующих рибонуклеиновых кислот предоставляет возможность получать растения с измененными физиологобиохимическими характеристиками и создавать растения, устойчивые к фитопатогенам [1].

Hydrangea macrophylla (Thunb.) – вид растения рода *Hydrangea*, семейства *Hydrangeaceae*, кроме своих декоративных качеств, также является удачным объектом для генетической трансформации, имея сравнительно высокую скорость роста вегетативной части и хорошую продуктивность [2].

¹ Agrobacterium tumefacience штамма ЕНА 105 любезно предоставлена нам сотрудниками Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Исследования были проведены в лаборатории молекулярно-генетического анализа Южно-Сибирского ботанического сада.

Для определения подверженности к заражению *Agrobacterium tumefaciens* (Smith ex Townsend) в тепличных условиях у растения повреждали эпидерму и наносили суспензию агробактерий. По прошествии двое суток лист срезали и исследовали во флуоресцентный микроскоп. У зараженных клеток наблюдается зеленая флюоресценция в синей части спектра, у незараженных – красная [3].

Для выявления количественных показателей трансзиентной экспрессии маркерного гена заражение проводили в лабораторных условиях. Agrobacterium tumefaciens (Smith ex Townsend) инкубировали вместе с образцами Hydrangea macrophylla (Thunb.) в растворе АБ, содержащем ацетосирингон – активатор процессов вирулентности агробактерий [4]. После 2 ч инкубации образцы растений промывали в дистиллированной воде и переносили в чашки Петри, в которых создавали влажную атмосферу на 2 сут. Контрольные и экспериментальные образцы гомогенизировали и осаждали, а супернатант исследовали на степень флюоресценции. Флюоресценцию замеряли на флуорометре BioRad Versa Fluor (таблица).

Зараженный образец	Контрольный образец			
200	90			
100	30			
150	40			
180	73			
250	71			

Показатели флюоресценции Hydrangea macrophylla

Вывод. Свидетельством успешной генетической трансформации является увеличение флюоресценции трансформированных образцов растений в 2 раза по сравнению с фоновой флюоресценцией, что связано с экспрессией гена флюоресцина. Трансформация *Hydrangea macrophylla* геном флюоресцина позволяет проводить дальнейшие эксперименты в области генной инженерии на этом объекте, но уже с другими генетическими конструкциями.

- 1. *Щелкунов С.Н.* Генетическая инженерия: Учеб.-справ. пособие. Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004. С. 496
- 2. \mathcal{K} изнь растений. Т. 5(2). Цветковые растения / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1981. С. 511.
- 3. Дрейпер Д., Скотт Р., Армитидж Ф., Уолден Р. Генная инженерия растений: Лабораторное руководство / Пер. с англ. М.: Мир, 1991. С. 408.
- 4. Γ лик E., Π астернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Пер. с англ. М.: Мир, 2002. С. 589.

Том 275

Серия биологическая

ТАТА-БОКСЫ ГЕНОВ МИКРОРНК (МИРНК), ВНОСЯЩИЕ ВКЛАД В НОРМУ РЕАКЦИИ¹

П.М. Пономаренко, М.П. Пономаренко, В.В. Суслов, Н.А. Омельянчук

Эволюция по Дарвину — это наследуемое изменение нормы реакции. Показана роль TATA-бокса в определении нормы реакции (степени варьирования) экспрессии генов миРНК Arabidopsis thaliana.

TATA-BOXES MICRORNA (miRNA) GENES CONTRIBUTE TO THE NORM OF REACTION

P.M. Ponomarenko, M.P. Ponomarenko, V.V. Suslov, N.A. Omelyanchuk

Evolution after Ch. Darwin is inheritable change in the reaction norm. The impact of the TATA-box in defining the reaction norm (variation degree) of miRNA gene in Arabidopsis thaliana is shown.

Введение. Эволюция по Дарвину – адаптивный переход между изменчивостью – неопределенной (признаки с неустойчивым, варьирующим проявлением) и определенной – константной в группе особей [1]. В современных терминах неопределенная изменчивость – признаки с широкой нормой реакции (НР), т.е. широкой варьируемостью экспрессии гена(ов), а эволюция – переход «дестабилизация ↔ стабилизация» НР. Отбор формирует устойчивость фенотипического проявления признака на уровне организма, чем и обеспечивает дифференциальное переживание особей в популяции [2–4]. В синтетической теории эволюции (СТЭ) организм, напротив, почти исключен из эволюционного процесса: отбор меняет частоту аллелей [5], используя фенотипическое проявление – результат дарвиновой эволюции – как исходный материал².

Дестабилизация НР из-за мутационного изменения обратных онтогенетических связей [4] или стохастической рассогласованности в многошаговых процессах онтогенеза (реализационная изменчивость)³ [6] ведет к росту фенотипической дисперсии при низкой генотипической (парадокс для СТЭ), что адаптивно в стрессовых условиях [3, 6], и/или когда среда меняется на порядок быстрее смены поколений, т.е. адаптивная фиксация мутаций невозможна. При широкой НР фенотип в

¹ Работа поддержана грантами РФФИ (№10-04-00462 и №09-04-01214), Программами РАН № 21 (проект №26), №22 (проект №8) и №23 (проект №29) и Интеграционным проектом СО РАН (№ 119).

² Дарвин [1] рассматривал такой сценарий, как вспомогательный путь эволюции, используя вместо терминов «аллель» и «мутация» садоводческий термин «спорт» – внезапное случайное, но константно наследуемое изменение признака.

³ Реализационная изменчивость выявлена при изучении онтогенеза особей генетически идентичной партеногенетической популяции тутового шелкопряда. Средовая изменчивость нивелировалась условиями культивирования [6]. Ниже (см. Результаты и обсуждение) мы расширяем это понятие на многошаговые молекулярные процессы [10].

каждый момент хотя бы у части популяции случайно может быть адаптивен [4]. Но низкая генотипическая дисперсия и сложность онтогенетических корреляций затрудняют анализ [3] и в итоге — интеграцию СТЭ и организмцентрических теорий. Недавно [7] показано, что нуклеотидный контекст ТАТА-бокса может определять НР: при слабом стрессе адаптивнее оказалась слабогетерогенная популяция Saccharomyces cerevisiae с мутантным ТАТА-боксом, при сильном — высокогетерогенная с ТАТА-боксом дикого типа. Простота и удобство ТАТА-бокса для анализа делают его перспективной моделью для изучения взаимодействия эффектов организмцентрической и СТЭ путей эволюции. У Arabidopsis thaliana мы изучили (таблица) in silico мутации ТАТА-бокса, нарушающие К_{D,ТАТА} (сродство ТАТА-бокса к ТВР — ТАТА-binding protein), в 12 промоторах генов миРНК [8], чьи уровни экспрессии, усредненные по растению или по его различным органам, определяются содержанием тетрануклеотидов WRHW и DRYD в зрелых миРНК [9].

Материалы и методы. *In silico* прогноз $K_{D,TATA}$ оценен в In-единицах оригинальным уравнением равновесия пошагового связывания TBP/TATA [10]:

$$-\ln[K_{D,TATA}(S)] = 10.90 + 0.15 \times PWM_{TATA}(S) - 0.20 \times \ln[K_{D,OH,JHK}](S) - 0.23 \times \ln[K_{D,JH,JHK}](S);$$

где онДНК — одноцепочечная, днДНК — двуцепочечная ДНК; 10,90 — неспецифическое сродство ТВР к ДНК; PWM_{TATA} — максимум общепринятого критерия ТАТА-бокса на последовательности S и ее комплементе S^s ; $-Ln[K_{D,онДНК}]$ — среднее сродство S и S^s к ТВР в позиции максимума критерия; $-Ln[K_{D,днДНК}]$ — среднее сродство всей ДНК к ТВР, оцененное по цепи S или S^s с максимумом критерия; 0,23,0,15,0,20 — коэффициенты стехиометрии шагов: скольжение ТВР по ДНК — остановка на ТАТА — фиксация на ТАТА, пропорциональные количествам нуклеотидов, которые оценены отношением размера ТАТА-бокса (15 нуклеотидов) к длине S (26 нуклеотидов), нормированному на количество (3) этих шагов [11]. Ранее нами показана адекватность данного уравнения для растений [13].

Результаты и обсуждение. Мы изучали неспецифические миРНК (н-миРНК), чья экспрессия выявлена во многих органах и не ограничена одной стадией развития арабидопсиса. МиРНК – регуляторные РНК, экспрессируются с собственных генов и проходят сложный процессинг. Заглушая трансляцию различных генов, они играют важную роль в регуляции эмбриогенеза и морфогенеза [14, 15]. Взаимодействуя с сайтами-мишенями мРНК, миРНК образует гетеродуплекс (ядро нуклеации – 4 нуклеотида). Ранее нами показано: содержание тетрануклеотида WRНW в центре н-миРНК и DRYD на 3'-конце хорошо коррелируют с содержанием н-миРНК, усредненным как по растению, так и по органам² [9]. Таким образом, уровень экспрессии гена зависит от тетрануклеотидного контекста. Такая зависимость, очевидно, отражает важную роль сложного процессинга в регуляции экспрессии миРНК. С другой стороны, учитывая консерватизм последовательности н-миРНК [16], можно сделать вывод, что уровень экспрессии н-миРНК задается уже на ранних стадиях эволюции филума.

¹ Адекватность такой теоретической модели пошагового связывания недавно подтверждена экспериментально [12]. Адекватность *in silico* прогноза на данной длине S подтверждена прямыми измерениями [10].

² Содержание DRYD лучше коррелировало с содержанием зрелой миРНК в корне, что можно объяснить органспецифичностью сайтов-мишеней и, соответственно, несущих их генов [9].

Мутации ТАТА-бокса, нарушающие $K_{D,TATA}$

			Среднее содержание зрелых миРНК [7]				HP										
	Ген миРНК (№ – код гена) [7]	T 7		цветие	СТ	ебель	стј	учок	про	росток	к	рень	лист	г стебля	лист	розетки	(пре-ln),
№	S – ТАТА-бокс с флангами	K _{D,TATA} ln	141()	exp(M ₀) пре-ln		exp(M ₀) пре-ln		exp(M ₀) пре-ln		exp(M ₀) пре-ln	M ₀ ln	exp(M ₀) пре-ln		exp(M ₀) пре-ln	M ₀ ln	exp(M ₀) пре-ln	$\frac{\sigma}{\text{Mean}[e^{M_0}]}$
159	atttttgtcTTTAAAAAgccattcaa	19,11	4,66	105,37	5,24	188,67	4,18	65,37	6,01	405,45	5,53	252,14	5,79	325,38			0,21
160	tttccccTTTATATATTTgtaccaca	20,20	3,47	32,14	3,25	25,79	2,09	8,04	4,68	107,77	5,70	297,38	4,15	63,12	3,37	28,93	0,47
163	gaaaattagTATAAATAAgcatagag	20,68	0,73	2,06	1,69	5,42	0,74	2,09	1,31	3,70	2,05	7,77	4,65	104,06	2,56	12,94	0,72
164	ctttgggccTATATATAcaaaccttt	20,91	3,67	39,15	4,17	64,72	4,27	71,52	4,37	78,65	4,47	87,36	4,52	91,84	4,19	65,69	0,09
165	gttgtgtcTTATTAAAAgcccatctt	19,40	0,66	1,93	0,72	2,05	0,62	1,86	1,00	2,71	1,44	4,22	1,13	3,08	0,72	2,05	0,13
166	tttctcttcTTAAAAAcctcttcttc	18,19	1,50	4,46	1,36	3,88	1,23	3,40	1,52	4,58	1,67	5,31	1,73	5,64	1,38	3,97	0,07
167	tettteTATAAGTATCTATAgegeet	19,96	4,93	138,38	2,14	8,46	5,67	288,59	5,92	373,34	4,14	62,49	5,64	281,46	6,28	531,13	0,29
170	tagcagagTTATTAAATgcttcgcag	19,50	1,46	4,30	1,14	3,13	1,15	3,16	1,93	6,86	-0,28	0,76	1,55	4,71	1,65	5,21	0,18
172	cggtttgtgTATAAAAGacttgcaat	20,18	6,26	521,91	7,77	2368,5	5,02	151,41	3,97	52,85	6,06	428,38	7,77	2368,5	6,22	500,20	0,42
394	tctgaggtcTATTAAAAtccgaatcc	19,46	2,19	8,91	3,02	20,39	1,51	4,50	2,54	12,62	1,40	4,06	2,18	8,80	1,21	3,34	0,26
396	cttgtccccTATAAATATctttctat	19,47	3,19	24,17	4,81	122,12	2,86	17,46	4,27	71,16	4,17	64,39	5,05	155,24	5,76	315,77	0,36
398	tgtgttgtgTATATATAgtagctctc	20,87	0,12	1,12	0,64	1,90	1,71	5,53	-0,11	0,89	1,23	3,42	3,21	24,66	3,53	33,95	0,50
Коэффициент линейной корреляции, г (при значимости α <0,05)							0,585										
Коэффициент ранговой корреляции Кендалла, τ (при значимости α<0,025)							0,515										

В теории динамических систем различают два пути эволюции: во-первых, воздействие (мутация) однозначно отображается в изменении системы, во-вторых, меняется варьируемость параметров – вероятность осуществления того или иного варианта функционирования системы [2], т.е. меняется величина НР. Первый путь эволюции для ми-РНК – многократные дупликации генов ми-РНК с фиксацией немногих замен в кодирующей части – хорошо изучен [14, 16]. Мы рассмотрели одну из возможностей для второго пути.

Мутации ТАТА-бокса могут влиять на величину НР минимум двояко. Вопервых, промотор гена может быть в свободном, репрессированном и преинициированном состоянии. Вероятность последнего, а значит, вероятность экспрессии гена растет с ростом К_{D,ТАТА}. Во-вторых, образование мультимерного преинициаторного комплекса - многошаговый процесс [7], инициируемый ТВР/ТАТА-связыванием, и изменение К_{D,ТАТА} может изменить величину реализационной изменчивости этого процесса. НР каждого из 12 генов н-миРНК оценена величиной коэффициента вариации содержания зрелых н-миРНК (см. таблицу) в разных органах растения². Корреляции между in silico прогнозом K_{D,TATA} и оценками HP оказались достоверны: линейная (r=0,585, α <0,05) и ранговая Кендалла (τ =0,515, α<0,025). Так как в данном случае средний уровень экспрессии н-миРНК как по растению, так и по органам задан тетрануклеотидным контекстом, остается предположить, что мутации ТАТА-бокса меняют варьируемость этого уровня, изменяя величину пула первичных транскриптов, подаваемых на процессинг. Учитывая, что на различных объектах [10] показано - мутации в ТАТА-бок-се могут менять средний уровень экспрессии непосредственно - ТАТА-бокс может быть одним из молекулярно-биологических перекрестков, где встречаются дарвинов и СТЭ пути эволюции, а легкость выявления его мутаций позволяет в дальнейшем изучить последствия такой встречи.

- 1. Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора. СПб., 1991.
- 2. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. М., 1968.
- 3. Трут Л.Н. Эволюционные идеи Д.К. Беляева // Вестник ВОГиС. 2008. Т. 12, № 1. С. 7–18.
- 4. *Суслов В.В., Колчанов Н.А.* Дарвиновская эволюция и регуляторные генетические системы // Вестник ВОГиС. 2009. Т. 13, № 2. С. 410–439.
 - 5. Грант В. Эволюционный процесс. М., 1991.
 - 6. Струнников В.А. Третья изменчивость // Природа. 1989. № 2. С. 17–27.
- 7. Blake W., Balazsi G., Kohanski M. et al. Phenotypic consequences of promoter-mediated transcriptional noise // Molecular Cell. 2006. Vol. 24. P. 853–865.
- 8. Axtell M., Bartel D. Antiquity of microRNAs and their targets in land plants // Plant Cell. 2005. Vol. 17. P. 1658–1673
- 9. Пономаренко М.П., Омельянчук Н.А., Катохин А.В. и др. Содержание микроРНК в Arabidopsis thaliana коррелирует с наличием в последовательностях тетрануклеотидов WRHW и DRYD // ДАН. 2008, Т. 420. С. 703−707.
- 10. Пономаренко П.М., Суслов В.В., Савинкова Л.К. и ∂p . Точное уравнение равновесия четырех шагов связывания ТВР с ТАТА-боксом для прогноза фенотипического проявления мутаций // Биофизика. 2010. Т. 55, № 3. С. 400–414.

¹ Последовательное усложнение регуляции онтогенеза в ходе таких накопительных дупликаций, образования семейств миРНК и организации их в кластеры хорошо согласуется с выявленным палеонтологами [17] последовательным усложнением морфологии долгоживущих — пересекающих границы нескольких эонов — филумов. Интересно, что изменчивость таких филумов хорошо подчиняется закону гомологических рядов Н.И. Вавилова, что, в частности, позволяет организовать фенотипические признаки в радикалы по степени их константности и таксономической значимости [4].

² Пересчет в пре-ln-единицы (см. таблицу) связан с использованием в [8] логарифмической шкалы.

- 11. Ponomarenko P.M., Savinkova L.K., Drachkova I.A. et al. A step-by-step model of TBP/TATA box binding allows predicting human hereditary diseases by single nucleotide polymorphism // Dokl. Biochem. Biophys. 2008. Vol. 419. P. 88–92.
- 12. Delgadillo R.F., Whittington J.E., Parkhurst L.K. et al. The TATA-binding protein core domain in solution variably bends TATA sequences via a three-step binding mechanism // Biochemistry. 2009. Vol. 48. P. 1801–1809.
- 13. *Миронова В.В., Омельянчук Н.А., Пономаренко П.М. и др.* Эффективность связывания ТВР с промотором ARF-генов растений коррелирует с характером влияния ARF белков на транскрипцию (активатор/репрессор) // ДАН. 2010. Т. 433 (в печати).
- 14. *Jones-Rhoades M.W., Bartel D.P., Bartel B.* MicroRNAS and their regulatory roles in plants // Annu. Rev. Plant. Biol. 2006. Vol. 57. P. 19–53.
- 15. Siomi H., Siomi M.C. Posttranscriptional regulation of MicroRNA biogenesis in animals // Mol. Cell. 2010. Vol. 38. P. 323–332.
 - 16. Griffiths-Jones S. The microRNA Registry // NAR. 2004. Vol. 32 (Database issue). D. 109-111.
- 17. Рожнов С.В. Закон гомологических рядов Н.И. Вавилова и архаическое многообразие по данным палеонтологии // Эволюция биосферы и биоразнообразия. М.: КМК, 2006. С. 134–147.

Том 275

Серия биологическая

КОМПЬЮТЕРНАЯ СИСТЕМА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ГЕННЫХ СЕТЕЙ: ИЗУЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИИ ГЕННОЙ СЕТИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ЖИВОТНЫХ ¹

В.С. Тимонов, И.И. Турнаев, М.А. Генаев, К.В. Гунбин

Создана компьютерная система, позволяющая проводить реконструкцию и анализ качественной динамики функционирования предковых генных сетей. Анализ эволюции генных сетей производится на основе расчета предковых последовательностей белков, принадлежащих семействам, которые являются важнейшими компонентами генных сетей. Предсказание функций предковых белков проводится на основе информации об их структурно-функциональных доменах и информации о режимах их эволюции. С использованием созданной системы проведен анализ эволюции генной сети клеточного цикла животных.

PHYLOGENETIC DECOMPOSITION OF GENE NETWORKS: A CASE STUDY OF THE ANIMAL CELL CYCLE GENE NETWORK

V.S. Timonov, I.I. Turnaev, M.A. Genaev, K.V. Gunbin

A computer system for reconstruction and qualitative functional analysis of the ancestral gene networks was developed. Computations are based on the reconstruction of ancestral proteins which belongs to the protein families functionally important to the gene network dynamics. The prediction of ancestral protein functions are based on information about its structure-functional domains and on evolutionary comparative analysis. Using the computer system we analyze the evolution of animal cell cycle gene network.

К настоящему времени расшифрованы последовательности сотен тысяч генов различных видов организмов. В мировой литературе накоплены огромные массивы данных по динамике экспрессии различных генов, выявлены ассоциации различных мутантных аллелей с функциональными аномалиями. Все это создает предпосылки для реконструкции молекулярной эволюции генных сетей. Мы разработали компьютерную систему, осуществляющую «филогенетическую декомпозицию» генной сети. Филогенетическая декомпозиция — это 1) поэтапное объединение узлов генной сети современных организмов, представленных паралогичными белками в порядке их дупликаций от вершины филогенетического дерева семейства белков к его корню, и 2) анализ качественной динамики функционирования каждой предковой генной сети.

Разработанная программная система построена на основе архитектуры клиентсервер. Вычислительные нагрузки берет на себя сервер, в то время как клиент предоставляет исследователям удобные визуальные интерфейсы для работы с генными сетями, их декомпозицией и анализом. При создании программных средств за основу была взята разработанная в ИЦиГ СО РАН система реконструкции и анализа

¹ Исследование выполнено при поддержке грантом РФФИ (№09-04-01641-а); Интеграционными проектами СО РАН (№ 113, 119); Программами РАН № 22 (проект №8), 23 (проект №29), Госконтрактом Министерства образования РФ (№ П857).

генных сетей GeneNet [1]. Будучи созданной еще в 1998 г., она постоянно развивается и совершенствуются с учетом современных требований и технических возможностей. В настоящий момент для визуальной реконструкции и анализа генных сетей применяется третье поколение редактора генных сетей — GeneNetStudio [2].

Представленные в данной работе концепции были реализованы как часть GeneNetStudio в виде модуля PhDe (Phylogenetic Decomposition). Основным назначением модуля являются визуализация и обработка необходимых генных сетей, а также дальнейшее создание из них новых (редуцированных) сетевых моделей с использованием механизма филогенетической декомпозиции. Для кластеризации, поиска соответствующих элементов и построения филогенетических деревьев используется серверная часть системы. Полученная таким образом информация служит основой для создания новой гипотетической предковой генной сети. Сервер основе платформы системы был разработан на SAMEM pixie.bionet.nsc.ru/samem/]. Как уже было сказано, он отвечает за группировку паралогов/ортологов генов и белков генной сети, а также за дальнейшее проведение филогенетической декомпозиции. В настоящий момент по адресу http:// pixie.bionet.nsc.ru/samem/phylodecompose.html общедоступна серверная часть сис-

Для реализации представленных программных средств нами были использованы технологии, базирующиеся на платформе JVM и языке JAVA. В частности: 1) для модульной организации программ была использована технология Eclipse RCP; 2) реализация визуальных пользовательских интерфейсов проводилась пре-имущественно с использованием технологий SWT и QT Jambi; 3) для создания и редактирования сетевых моделей с использованием принципов WYSIWYG была задействована графическая библиотека GEF.

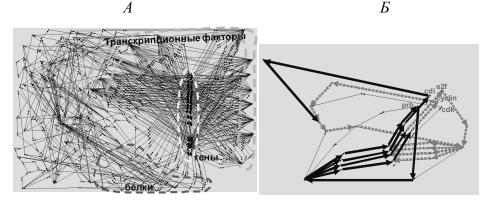


Рис. 1. Филогенетическая декомпозиция генной сети клеточного цикла: A — исходная генная сеть; E — генная сеть после филогенетической декомпозиции (разным тоном и штриховкой выделены антагонистичные регуляторные контуры)

Главными участниками регуляции контрольных точек клеточного цикла у животных являются белки семейств E2F, pRB, циклинов, CDK и CDI. Нами была проведена филогенетическая декомпозиция генной сети клеточного цикла животных, состоящей из белков этих семейств. Простой подсчет числа однонаправленных замкнутых контуров в этой генной сети показал, что генная сеть содержит в себе более 10^5 регуляторных циклов и поэтому является чрезвычайно сложным объектом для исследования динамики функционирования (рис. 1, A). Однако после проведения филогенетической декомпозиции мы получили генную сеть, состоящую из 22 регуляторных контуров (рис. 1, E). Важно отметить, что пошаговая филогенетическая декомпозиция генной сети клеточного цикла выявила, что более E0 % эво-

люционных событий в этой генной сети составляют дупликации с последующим изменением функции одного из дуплицированных белков в сторону образования конкурентного ингибитора/активатора для белка с исходной, предковой, функцией. Иными словами, нами было показано, что в процессе эволюции генной сети клеточного цикла животных появляется множество регуляторных контуров с антагонистичной функцией.

- 1. Ananko E.A. et al. GeneNet in 2005 // Nucleic Acids Res. 2005. Vol. 33. P. D425–D427.
- 2. Miginsky D.S. et al. Approaches to the Computer Reconstruction of the Biological Networks // Intelligent Data Analysis. 2008. Vol. 12. P. 463–479.

Том 275

Серия биологическая

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ПОПУЛЯЦИИ *E. COLI*

Т.С. Тропынина, Г.Х. Вафина, Э.А. Иванова

Экспериментально выявлено, что высокий уровень Арг-Х протеолитической активности в надмолекулярных структурах клеток популяции E. coli отмечается во фракции, соответствующей цитоплазме (Цп) при вхождении бактериальной популяции в стационарную фазу роста. Обсуждается роль Арг-Х протеолиза в жизненном цикле популяции E. coli.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURE OF THE CYCLE OF THE POPULATION OF E. COLI

T.S. Tropynina, G.H. Vafina, E.A. Ivanova

It is experimentally showed, that high level Arg-X proteolytic activity in the supramolecular structures of cells of population E. coli is detected in the fraction corresponding to cytoplasm (CP) at occurrence of the bacterial population in stationary growth phase. Role Arg-X proteolysis in life cycle of population E. coli is discussed.

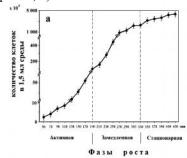
Известно, что основой жизни являются линейные гетерополимеры – нуклеиновые кислоты и белки, которые обладают определенной пространственной организацией на уровне клеточного ядра эукариот и нуклеоида в прокариотической клетке. В бактериальной клетке кольцевая двухцепочечная молекула геномной ДНК скручена в спираль и уложена в виде компактной структуры – нуклеоида, связанной с цитоплазматической мембраной [1]. На разных этапах развития бактериальной клетки ДНК нуклеоида может быть в виде нитей, тяжей, узловатой или тонкой сети. Молекулярные механизмы упаковки бактериальной ДНК в процессе жизнедеятельности до конца еще не выяснены. Главными компонентами в структурной организации упаковки ДНК в эукариотических клетках являются гистоны. Отмечается особая эволюционная консервативность аминокислотных последовательностей у аргининбогатых гистонов эукариот. Известно, что аргинин участвует в сократительных процессах при модификации гуанидиновой группы. Ряд исследователей экспериментально доказали, что в состав нуклеоида E. coli входят гистоноподобные белки [2-5]. Наше внимание было сфокусировано на наличии аргининчувствительных зон в белках функционально структурирующих организацию бактериальной клетки в её жизненном цикле.

Целью данной работы был экспериментальный анализ особенностей Apz-X протеолиза в протеоме клеток бактериальной популяции в процессе их жизненного цикла.

В работе использовался протеом популяции клеток *E. coli* JC-158 [6], штамм был любезно предоставлен нашими коллегами И.В. и Е.Э. Ступак. Клетки *E. coli* выращивали в жидкой питательной среде LB (Луриа–Бертани) [7] при 160 об/мин

до стационарной фазы роста в течение 430 мин. В процессе инкубирования из динамично развивающейся культуры с интервалами в 20 мин отбирали клетки. Из бактериальных клеток фракционировали надмолекулярные структуры согласно методу [8] на основе разрыва слабых и сильных взаимодействий с использованием ступенчатого повышения солевого градиента: 0,14 M NaCl; 0,35 M NaCl; 2 M NaCl; 6 М гуанидин-гидрохлорид с 0,004 % β-меркаптоэтанолом на 0,01 М трис-НСІ буфере при рН 6,8. Надмолекулярные структуры (фракции), содержащие белки, выделенные из клеток E. coli, можно представить соответственно как цитоплазма (Цп), надмолекулярные структуры, непрочно (НС-I), прочно (НС-II) связанные с клеточным остатком (КО) и собственно клеточный остаток с жесткой клеточной оболочкой. Количество белка в надмолекулярных структурах определяли методом Бредфорд в нашей модификации [8]. Арг-Х активность оценивали по расщеплению Арг-X связей в аргинин богатом белке – протамине («Merk») во всех вышеперечисленных фракциях. Активность Арг-Х-протеолиза выражали в нмоль аргинина с 1 -мкг белка одной прокариотической клетки. Числа и точки на рис. 1 представляют среднеарифметические данные.

В нашем эксперименте в активной фазе роста, при достаточном количестве в среде питательных веществ, клетки бактерий растут с наивысшей скоростью (рис. 1, a).



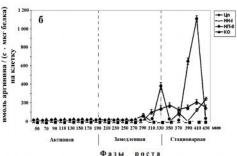


Рис. 1. Динамика увеличения плотности популяции (a) и активности Apz-X-протеолиза в надмолекулярных структурах, выделенных из клеток популяции $E.\ coli$ в течение их жизненного цикла (δ)

При постепенном исчерпании необходимых питательных веществ и накоплении продуктов метаболизма скорость роста бактерий снижается (фаза замедления роста). Затем рост бактерий становится близким к остановке - культура переходит в стационарную фазу. По данным Хмель [9], остановка роста бактерии означает ее переход в стационарную фазу. Анализ Арг-Х активности в надмолекулярных структурах бактерии в течение жизненного цикла популяции представлен также на рис. 1, б. Высокий уровень Арг-Х протеолитической активности отмечается во фракции, соответствующей цитоплазме (Цп) при вхождении бактериальной популяции в стационарную фазу роста (рис. 1, б). Таким образом, экспериментально показано, что Apz-X протеолитическая активность в протеоме клеток популяции E. coli ярко выражена в стационарной фазе роста на уровне, соответствующем фракции цитоплазмы (Цп). Повышение протеолитической активности на уровне цитоплазмы бактериальной клетки в стационарной фазе свидетельствует о том, что клетка находится в состоянии, при котором максимально используется ее внутренний резерв. Синтез новых белков в стационарной фазе прекращен. Наши данные показали, что система Арг-Х протеазочувствительности функционирует в жизненном цикле популяции E. coli.

- 1. *Определитель* бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. М.: Мир, 1997. Т. 1. С. 185.
- 2. Drlica K., Rouviere-Yaniv J. Histonelike proteins of bacteria // Microbiological Reviews. 1987. Vol. 51, № 3. P. 301–319.
 - 3. Schmid M.B. More than just «histone-like» proteins // Cell. 1990. Vol. 63. Nov. 2. P. 451–453.
- 4. *Pettijohn D.E.* Histone-like proteins and bacterial chromosome structure // The Journal of Biological Chemistry. 1988. Vol. 263, №26. P. 12793–12796.
- 5. *İshihama A.* Modulation of the nucleoid, the transcription apparatus, and the translation machinery in bacteria for stationary phase survival // Genes to Cells. 1999. №4. P. 135–143.
- 6. Myrphy D.B., Pembroke J.T. Transfer of the IncJ plasmid R391 to recombination deficient E.coli K12: evidence that R391 behaves as a conjugal transposon // FEMS Microbiology Letters. 1995. Vol. 134. P. 153–158
- 7. *Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж*. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. С. 84.
- 8. *Иванова Э.А., Вафина Г.Х.* Способ получения ядерных фракций, обладающих протеиназной и ингибирующей активностью: А.с. СССР. №1733471 от 07.02.1990. Бюл. 1992. №18 15 мая.
- 9. *Хмель И.А.* Регуляция экспрессии бактериальных генов в отсутствие активного роста клеток // Генетика. 2005. Т. 41, №9. С. 1183–1202.

СУПЕРПРОДУЦЕНТЫ ГУАНИЛСПЕЦИФИЧНЫХ РИБОНУКЛЕАЗ¹

В.В. Ульянова, Р. Шах Махмуд, В.И. Вершинина

Получены данные о регуляции экспрессии генов внеклеточных гуанилспецифичных рибонуклеаз бацилл в условиях голодания. На их основе разработан подход для получения штаммов-суперпродуцентов этих практически значимых ферментов.

SUPERPRODUCERS OF GUANYL-SPECIFIC RIBONUCLEASES

V.V. Ulyanova, R. Shah Mahmud, V.I. Vershinina

The information about regulation of Bacillus extracellular guanyl-specific ribonucleases gene expression under stravation conditions is obtained. On this basis an approach to creation of strains overproducing these practically important enzymes is worked out.

Гуанилспецифичные рибонуклеазы бацилл привлекают внимание исследователей благодаря наличию таких биологических эффектов, как противоопухолевое и противовирусное действие [1–3]. Для получения препаративных количеств РНКаз, которые также могут быть использованы в качестве реагентов для удаления РНК в процессе очистки плазмид, необходим штамм-суперпродуцент. Бактерии, способные к повышенному синтезу РНКаз, получали путем оптимизации продукции фермента микроорганизмом, обработки культур мутагеном с последующим скринингом на наличие штаммов-суперпродуцентов, клонирования генов РНКаз на мультикопийных плазмидах [4–6]. Эти методы позволили добиться 5–10-кратного увеличения активности рибонуклеазы *В. intermedius* по сравнению с природным продуцентом. В настоящей работе предложен иной подход. Он основан на знаниях механизмов регуляции экспрессии генов РНКаз и предусматривает устранение белка – негативного регулятора транскрипции их генов.

Максимальное накопление гуанилспецифичных рибонуклеаз в окружающей среде происходит в начале стационарной фазы роста бактерий. Этот период характеризуется недостатком питательных веществ и высокой плотностью популяции. В этих неблагоприятных условиях переход клеток в покоящиеся формы – споры зависит от активности регуляторного белка SpoOA [7]. Мы исследовали промоторы генов гуанилспецифичных рибонуклеаз бацилл на наличие потенциальных сайтов для взаимодействия со SpoOA белком и обнаружили, что биназоподобные рибонуклеазы (РНКазы В. intermedius, В. pumilus, В. thuringienis), в отличие от барназоподобных (РНКазы В. amyloliquefaciens и В. circulans), таких сайтов не содержат (рис. 1).

¹ Работа поддержана Молодежным грантом РТ №14-24/2010(Γ) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (ГК №П1053 от 31 мая 2010 г.).



Рис. 1. Локализация потенциальных сайтов в промоторах генов гуанилспецифичных рибонуклеаз бацилл для взаимодействия со Spo0A-белком. Сайты на кодирующей цепи выделены маркером, на некодирующей цепи – обведены в рамку

Однако при изучении экспрессии генов РНКаз в рекомбинантных штаммах $B. \ subtilis \ JH642 \ (pheA1 \ trpC2)$ и 667 ($\Delta spo0A667$) установлено, что делеция гена этого регулятора по-разному сказывается на уровне активностей биназо- и барназоподобных рибонуклеаз (рис. 2): рибонуклеаза B. amyloliquefaciens практически не детектировалась, уровень активность РНКазы B. circulans соответствовал контролю, в то время как активность рибонуклеаз В. intermedius, В. pumilus, В. thuringiensis в 5-6 раз превышала контрольные значения. Следовательно, Spo0A-белок, несмотря на наличие в промоторе потенциальных сайтов взаимодействия, не контролирует экспрессию гена РНКазы В. circulans и вместе с тем является активатором экспрессии гена РНКазы B. amyloliquefaciens и негативным регулятором экспрессии биназоподобных рибонуклеаз. В последнем случае его эффект объясняется репрессией регуляторных путей, ведущих к активации синтеза данных РНКаз [6, 8]. Только полное удаление Spo0A-белка оказывает значительное влияние на РНКазную активность, так как в экспериментах с мутантными штаммами, обладающими гиперактивной фосфатазой регулятора Spo0A (фосфатаза Spo0E) и характеризующимися потенциальным присутствием малых количеств Spo0A-белка, отмечено восстановление уровня биназоподобных РНКаз до базового.

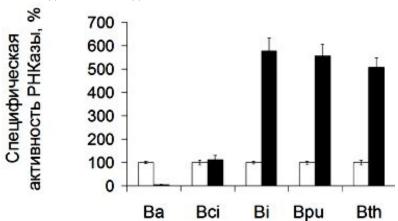


Рис. 2. Экспрессия генов рибонуклеаз бацилл в рекомбинантных штаммах *B. subtilis*, несущих делецию в гене регуляторного белка Spo0A. Уровни активностей РНКаз *B. amyloliquefaciens* (Ba), *B. circulars* (Bci), *B. intermedius* (Bi), *B. pumilus* (Bpu), *B. thuringiensis* (Bth) в рекомбинантных штаммах *B. subtilis* с полноценным Spo0A белком обозначены белыми столбиками, в Spo0A мутантных штаммах — черными

Таким образом, нами были получены суперпродущенты биназоподобных рибонуклеаз. На примере РНКазы *B. intermedius* нам удалось увеличить выход фермента

в 30 раз по отношению к природному продуценту B. intermedius 7P. Вместе с тем данные результаты могут быть использованы и для эффективной экспрессии барназоподобных РНКаз. В этом случае ген барназоподобной рибонуклеазы необходимо поместить под контроль промотора биназоподобной РНКазы и экспрессировать полученную конструкцию в Spo0A-дефектном штамме. Следует отметить, что применение spo0A мутантных штаммов для получения внеклеточных целевых белков имеет такие преимущества, как нарушение синтеза протеолитических ферментов, что способствуют продукции полноразмерных секретируемых белков [9], и неспособность образовывать споры, что важно в крупномасштабных ферментационных процессах [10].

- 1. Makarov A.A., Kolchinsky A., Ilinskaya O.N. Binase and other microbial RNases as potential anticancer agents // BioEssays. 2008. Vol. 30. P. 781–790.
- 2. Edelweiss E., Balandin T.G., Ivanova J.L. et al. Barnase as a new therapeutic agent triggering apoptosis in human cancer cells // PLoS One. 2008, Vol. 3, I. 6. P. e2434.
- 3. Грибенча С.В., Поцелуева Л.А., Баринский И.Ф. и др. Защитная активность РНКазы Bacillus intermedius у морских свинок и кроликов, зараженных уличным вирусом бешенства // Вопросы вирусологии, 2006. Т. 51. С. 41–46.
- 4. Знаменская Л.В., Клейнер Г.И., Паэгле Б.Я. Оптимизация условий культивирования Bacillus intermedius для повышения биосинтеза щелочной внеклеточной РНКазы // Микробиология. 1980. Т. 49, вып. 5. С. 722–726.
- 5. Балабан Н.П., Вершинина В.И., Знаменская Л.В., Чернокальская Е.Б. Устойчивые к антибиотикам мутанты Bacillus intermedius продуценты ряда ферментов // Биологические науки. 1992. Вып. 2. С. 139–143
- 6. Знаменская Л.В., Вершинина О.А., Вершинина В.И., Лещинская И.Б. Экспрессия генов гуанилспецифичных рибонуклеаз Bacillus intermedius и Bacillus pumilus регулируется двухкомпонентной системой транслукции сигнала РНО регулона Bacillus subtilis // Микробиология. 1999. №3. С. 304—311.
- 7. Fujita M., Losick R. Evidence that entry into sporulation in Bacillus subtilis is governed by a gradual increase in the level and activity of the master regulator Spo0A // Genes Dev. 2005. Vol. 19. P. 2236–2244.
- 8. *Ульянова В.В., Золотова М.А., Харитонова М.А. и др.* Роль двухкомпонентной системы ResD-ResE в регуляции экспрессии генов гуанилспецифичных рибонуклеаз бацилл // Мол. ген. микроб. Вирусол. 2008. №3. С. 23–28.
- 9. Kodama T., Endo K., Ara K. et al. Effect of Bacillus subtilis spoOA mutation on cell wall lytic enzymes and extracellular proteases, and prevention of cell lysis // J. Biosci. Bioeng. 2007. Vol. 103, № 1. P. 13–21.
- 10. Oh M.K., Kim B.G., Park S.H. Importance of spore mutants for fed-batch and continuous fermentation of *Bacillus subtilis* // Biotechnol. Bioeng. 1995. Vol. 47. P. 696–702.

Том 275

Серия биологическая

ВЛИЯНИЕ С-КОНЦЕВОГО ДОМЕНА ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ TNRA НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БЕЛКОМ BSGLNK¹

К.П. Федорова, А.Р. Каюмов

В клетках Bacillus subtilis фактор транскрипции TnrA контролирует экспрессию генов азотного метаболизма и в активном состоянии находится в комплексе с регуляторным белком GlnK. Проведено исследование роли С-концевого домена фактора транскрипции TnrA на взаимодействие с белком GlnK in vitro.

INFLUENCE OF THE C-TERMINAL DOMAIN OF FACTOR TRANSCRIPTION TNRA ON ITS INTERACTION WITH BSGLNK PROTEIN

K.P. Fedorova, A.R. Kayumov

The transcription factor TnrA controls an expression of nitrogen metabolism genes in Bacillus subtilis cells and in the active state is associated with the GlnK protein. In this search we examined the role of the C-terminal domain of the factor transcription TnrA on interaction with GlnK protein in vitro.

В клетках *Bacillus subtilis* фактор транскрипции TnrA регулирует экспрессию многих генов и оперонов в условиях недостатка азота [1]. При избытке доступного азота глутаминсинтетаза GS формирует белковый комплекс с TnrA, снижая его способность взаимодействовать с ДНК [1, 2].

Белок TnrA находится в клетках в димерной форме и имеет два функциональных домена [3]. Ранее было установлено, что С-концевая область белка необходима для связывания с глутаминсинтетазой, а N-конец взаимодействует с ДНК. С другой стороны, в функционально активном состоянии фактор TnrA связан с мембраной и находится в комплексе с белком GlnK [4]. Этот белок является регулятором белка AmtB, формирующего трансмембранный канал для транспорта ионов аммония в клетку [5]. Однако остается открытым вопрос о механизмах взаимодействия белков TnrA и GlnK и физиологической роли этого взаимодействия.

Целью работы явилось установить значение С-концевого домена фактора транскрипции TnrA для его взаимодействия с белком GlnK.

Для этого мутантный ген *tnrA* клонировали в экспрессионный вектор pET15b с получением плазмиды pET15TnrA20, продуктом которой является белок TnrA с делетированным С-концом на 20 аминокислот и His-тагом на N-конце белка.

Экспрессионными векторами pET15b-TnrA и pET15b-TnrA20, несущими полноразмерный и укороченный гены tnrA, а также плазмидой pDJ148-GlnK, несущей ген белка GlnK со Strep-тагом на C-конце, трансформировали лабораторный штамм

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

E. coli BL21. Плазмиды pET15b-TnrA и pDJ148-GlnK были предоставлены для работы профессором Форшхаммером из университета г. Тюбингена [4]. В результате очистки белков TnrA и TnrA20 из клеточных лизатов рекомбинантных штаммов E. coli BL21 методом аффинной хроматографии на Ni-NTA сефарозе удалось получить электрофоретически гомогенные белки TnrA и TnrA20, очищенные в 15 раз. Очистку белка GlnK проводили на strep-tactin сефарозе, с получением электрофоретически гомогенного белка GlnK, очищенного в 40 раз.

Наличие высокоочищенных белков позволило исследовать их взаимодействие *in vitro*, а именно установить значение С-концевого домена фактора TnrA для связывания с белком GlnK. Для этого мы воспользовались методом Pull Down анализа. В наших экспериментах сначала мы наносили белок GlnK на стреп-тактин сефарозу (рис. 1, 1). После того как весь несвязавшийся белок был удален с колонки, нанесли нативный белок TnrA, и белок TnrA с делецией 20 аминокислот с С-конца (рис. 1, 5: I, II). Колонки многократно промывали до исчезновения белка TnrA в фильтрате и затем проводили элюцию белков. Пробы элюции анализировали с использованием антител против TnrA и GlnK.

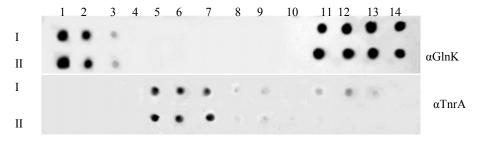


Рис. 1. Dot Blot-анализ взаимодействия белка GlnK с TnrA (I) и TnrA20 (II) после Pull Down-анализа на аффинной Strep-tactin колонке: I – исходный белок GlnK, 2–4, 6–10 – фракции промывки колонки, 5 – исходный белок TnrA (I) / TnrA20 (II), 11–14 – фракции элюции

Полноценный белок TnrA элюировался с колонок вместе с белком GlnK. Это свидетельствует о том, что фактор транскрипции TnrA образует стабильный белковый комплекс с GlnK в условиях *in vitro*. Напротив, мутантный белок TnrA20, имеющий делецию 20 аминокислот с С-конца, не обнаруживался во фракциях элюции GlnK.

Затем был проведен Western Blot-анализ фракций элюции (рис. 2). Из рисунка видно, что полноценный белок TnrA коэлюировался вместе с белком GlnK, в то время как мутантный белок TnrA20 отсутствовал во фракциях элюции.

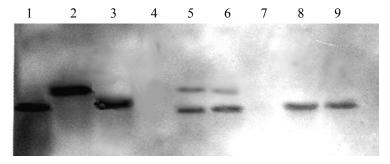


Рис. 2. Western Blot-анализ взаимодействия белка GlnK с TnrA и TnrA20 после Pull Down-анализа на аффинной Strep-tactin колонке: I – GlnK; 2 – TnrA; 3 – TnrA20; 4, 7 – фракции последней промывки колонки перед элюцией; 5, 6 – 1-я и 2-я фракции элюции белковых комплексов GlnK-TnrA; 8, 9 – 1-я и 2-я фракции элюции белковых комплексов GlnK-TnrA20

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что С-концевой домен фактора транскрипции TnrA необходим для его взаимодействия с белком GlnK. Ранее было показано, что С-конец TnrA, а именно несколько аминокислот, необходим для взаимодействия с глутаминсинтетазой и ингибирования ДНК связывающей способности белка TnrA [2]. Поскольку для связывания с белком GlnK также необходим С-конец белка, вероятно, и это взаимодействие тоже какимто образом может регулировать активность фактора транскрипции TnrA.

- 1. Wray L.V., Zalieckas J.M., Fisher S.H. Bacillus subtilis glutamine synthetase controls gene expression through a protein-protein interaction with transcription factor TnrA // Cell. 2001. Vol. 107, № 107. P. 427–435.
- 2. Wray L.V., Fisher S.H. Functional analysis of the carboxy-terminal region of Bacillus subtilis TnrA, a MerR family protein // J. Bacteriol. 2007. № 189. P. 20–27.
- 3. Hobman J.L. MerR family transcription activators: similar designs, different specificities // Mol. Microbiol. 2007. № 63. P. 1275–1278.
- 4. Heinrich A., Woyda K., Brauburger K. et al. Interaction of the membrane-bound GlnK-AmtB complex with the master regulator of nitrogen metabolism TnrA in Bacillus subtilis // Biol. Chem. 2006. Vol. 281. P. 34909–34917.
- 5. Detsch C., Stulke J. Ammonium utilization in Bacillus subtilis: transport and regulatory functions of NrgA and NrgB // Microbiology. 2003. Vol. 149. P. 3289–3297.

Том 275

Серия биологическая

ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ ГАПЛОГРУППЫ N1B Y-ХРОМОСОМЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЧЕЛОВЕКА ВОЛГО-УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА, ЗАПАДНОЙ И ЮЖНОЙ СИБИРИ

К.В. Хамина, В.А. Степанов, В.Н. Харьков, О.В. Штыгашева

Исследованы распространение гаплогруппы N1b Y-хромосомы и филогенетические взаимоотношения между европейским и азиатским кластерами YSTR-гаплотипов в популяциях Волго-Уральского региона, Западной и Южной Сибири.

PHYLOGENY AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE Y-CHROMOSOME HAPLOGROUP N1B IN HUMAN POPULATIONS OF THE VOLGA-URAL REGION, THE WESTERN AND THE SOUTHERN SIBERIA

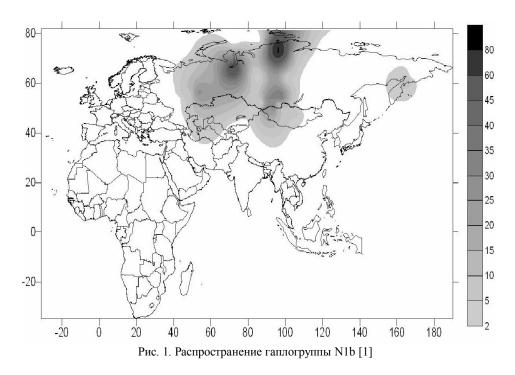
K.V. Khamina, V.A. Stepanov, V.N. Kharkov, O.V. Shtygasheva

The present research concentrated on the distribution of the Y-chromosomes haplogroup N1b and phylogenetic relationships between European and Asian clusters of YSTR-haplotypes in the populations of the Volga-Ural region, the Western and the Southern Siberia.

В популяционной генетике человека интенсивно используются ДНК-маркеры Y-хромосомы. Эта униродительская система наследования позволяет проводить детализированное изучение филогении и филогеографии отдельных линий Y-хромосомы.

Гаплогруппа N1 — одна из самых распространенных линий Y-хромосомы в Северной Евразии, определяющаяся маркером M231. Она включает две основные субклады: N1b и N1c. Гаплогруппа N1b типична для северных самодийских народов, с высокой частотой представлена в популяциях Западной и Южной Сибири, а также Волго-Уральского региона (рис. 1) [1].

Проведен филогенетический анализ гаплогрупп N1b по данным 17 YSTR-маркеров (DYS: 385a, 385b, 388, 389I, 389II, 390, 391, 392, 393, 394(19), 426, 434, 435, 436, 437, 438, 439) популяционных выборок хантов, хакасов, тувинцев, марийцев, коми-ижемцев, коми-зырян, киргизов, якутов. Для того чтобы полученные результаты максимально точно отражали реально существующие эволюционные взаимоотношения между гаплотипами, расчеты проводились с учетом не только результатов популяционных выборок, прогенотипированных в лаборатории эволюционной генетики НИИ медицинской генетики г. Томска, но и литературных данных: шорцы, хакасы, тофалары, эвенки, тувинцы [2], русские [3], ханты, коми [4], ханты, манси [5]. Всего в расчеты было включено 17 популяций.



На основе матрицы генетических расстояний было построена медианная сеть по методу гаплотипов гаплогруппы N1b. Анализ структуры медианной сети гаплотипов показывает что все гаплотипы, принадлежащие к гаплогруппе N1b, разделяются на два кластера – азиатский (N1bA) и европейский (N1bE), что согласуется с литературными данными [4]. К субкластеру N1bA принадлежат гаплотипы сибирских и среднеазитских этносов (хакасов, тувинцев, якутов, алтайцев, шорцев, киргизов) и анатолийских турков. К субкластеру N1bE принадлежат образцы русских и марийцев. В выборках коми и хантов присутствуют гаплотипы как N1bA, так и N1bE. Видимо, это обусловлено относительно недавними миграционными процессами. Модальный гаплотип для всей сети гаплотипов гаплогруппы N1b встречается с максимальной частотой в популяционных выборках хантов и хакасов. Получены достоверные различия между большинством пар сравниваемых этносов по гаплотипам N1b. С помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) показана значительная генетическая дифференциация европейских и азиатских выборок, а также высокая степень межэтнической дифференциации на территории Сибири. Сравнительный анализ оценки времени генерации гаплотипического разнообразия показал, что азиатский кластер старше европейского. Более раннее исследование [4] обнаруживало, что европейский кластер древнее азиатского (время возникновения – 6,8 тыс. лет назад и 6,2 тыс. лет назад соответственно). Полученные нами результаты на существенно расширенном наборе сибирских выборок различной этнической принадлежности указывают на обратное - существенно большее разнообразие именно азиатского кластера гаплотипов. Предположительным местом возникновения гаплогруппы N1b является, таким образом, Западная Сибирь. Вероятно, территория, соответствующая современному ареалу хантов, была первичным очагом генерации разнообразия и экспансии численности предковой группы носителей гаплогруппы N1b. По мере расселения носителей новой гаплогруппы сформировались вторичные очаги генерации разнообразия и экспансии численности — на территории Южной Сибири и Европы. Наличие гаплотипов обоих кластеров в популяционных выборках коми и русских и, как следствие, высокий уровень разнообразия гаплотипов связаны не с близостью к предковой группе, а являются результатом интенсивных миграционных процессов на территории Западной Сибири и Приуралья, имевших место намного позже времени формирования азиатского и европейского кластеров гаплотипов в пределах гаплогруппы N1b.

- 1. Rootsi S. Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in Europe / S. Rootsi, C. Magri, T. Kivisild // J. Hum. Genet. 2004. Vol. 74. P. 128–137.
- 2. Derenko M. Y-chromosome haplogroupe N dispersal from South Siberia to Europe / M. Derenko, B. Malyarchuk, G. Denisova // Hum. Genet. 2007. DOI 10.1007/s10038-007-0179-5. P. 451–460.
- 3. Balanovsky O. Two sources of the Russian patrilineal heritage in their Eurasian context / O. Balanovsky, S. Rootsi, A. Pshenichnov // Am. J. Hum. Genetics. 2008. Vol. 82. P. 236–250.
- 4. *Mirabal S.* Y-chromosome distribution within the geo-linguistic landscape of Northwestern Russia / S. Mirabal, M. Regueiro, A. Cadens // Eur. J. Hum. Genetics. 2009. Vol. 10. P. 101–114.
- 5. Pimenoff V.N. Northwest Siberian populations at the edge of Western and Eastern Eurasian gene pools as revealed by uniparental markers / V.N. Pimenoff, D. Comas, J.U. Palo // Eur. J. Hum. Genetics. 2008. Vol. 9. P. 81–98.

ПОЛИМОРФИЗМ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПРИ МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА 1

А.А. Чередниченко, Т.В. Жейкова, М.В. Голубенко

У населения г. Томска и в выборках больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также в выборках долгожителей и умерших от сердечно-сосудистых заболеваний, изучен полиморфизм митохондриальной ДНК: определена частота гаплогрупп Н и Ј, а также их подгрупп Н1 и Ј1. При сравнении частот исследованного полиморфизма между группами в выборке лиц, умерших от сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте до 55 лет, выявлены более высокая частота гаплогруппы Н по сравнению с больными сахарным диабетом второго типа, а также более высокая частота подгруппы Н1 по сравнению с больными ишемической болезнью сердца и с популяционной выборкой.

MITOCHONDRIAL DNA POLYMORPHISM IN HUMAN MULTIFACTORIAL DISEASES

A.A. Cherednichenko, T.V. Zheykova, M.V. Golubenko

Mitochondrial DNA polymorphism has been studied in Tomsk population and in groups of patients with cardiovascular diseases, as well as in samples of long-livers and peoples with early death from cardiovascular diseases. Haplogroups H and J, and their subclusters H1 and J1 were determined. Comparison of the studied haplogroup frequencies has shown that in the group of whose who died because of cardiovascular diseases before 55, there was higher frequency of haplogroup H than in the patients with diabetes mellitus type 2, and higher frequency of haplogroup H1 than in the patients with ischemic heart disease and in the population sample.

Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека кодирует белки, входящие в состав комплексов электронтранспортной цепи митохондрий. Учитывая важную роль белковых продуктов мтДНК в фундаментальном процессе синтеза АТФ, этот локус может играть роль в генетике различных мультифакториальных заболеваний. Кроме того, митохондрии являются основным источником активных форм кислорода в клетке, и это указывает на возможное влияние вариантов мтДНК на процесс старения. С целью изучения связи полиморфизма митохондриального генома с предрасположенностью к сердечно-сосудистым заболеваниям и с продолжительностью жизни в выборках населения Западной Сибири (Томск, Новосибирск, Кемерово), дифференцированного по состоянию здоровья, было проведено определение наиболее распространенной у европейцев гаплогруппы Н мтДНК и ее подгруппы Н1, а также гаплогруппы Ј, которая является неблагоприятным фоном для развития митохондриальных заболеваний, и ее подгруппы J1. Гаплогруппу Н определяли по отсутствию сайта рестрикции для эндонуклеазы AluI в позиции 7025 мтДНК (замена 7028СТ), гаплогруппу J – по отсутствию сайта рестрикции для эндонуклеазы Bst2UI в позиции 13704 (замена 13708AG), подгруппы Н1 и J1 – по отсутствию

 $^{^1}$ Исследование выполнено при поддержке ФЦП «Кадры» (ГК № 02.740.11.0284 и ГК № П713).

сайта рестрикции для фермента *Bsh*1236I в позиции 3008 (замена 3010GA). В качестве материала для исследования были использованы образцы тотальной ДНК из банка ДНК НИИ медицинской генетики СО РАМН. Были исследованы следующие группы:

- группа долгожителей (247 человек, 22 % мужчин, 78 % женщин) сформирована из жителей городов Томска и Новосибирска, достигших возраста 90 лет и старше, средний возраст составил 92 года;
- группа пациентов с ишемической болезнью сердца и инфарктом миокарда в анамнезе (211 человек, 85 % мужчин, 15 % женщин, средний возраст 55 лет) собрана на базе НИИ кардиологии СО РАМН г. Томска и НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН г. Кемерова;
- выборка умерших до 55 лет (100 человек, 84 % мужчин, 16 % женщин, средний возраст смерти 47,3 года, причиной смерти в 97 % случаев были заболевания сердечно-сосудистой системы) была сформирована на базе ОГУЗ «Бюро судебномедицинской экспертизы Томской области», источником ДНК послужили аутопсийные образцы;
- выборки больных гипертонией (135 человек, 62 % мужчин, 38 % женщин, средний возраст 48 лет) и сахарным диабетом второго типа (118 человек, 44 % мужчин, 56 % женщин, средний возраст 50,6 лет) собраны в НИИ кардиологии СО РАМН (г. Томск);
- контрольная группа (425 человек, 53 % мужчин, 47 % женщин, средний возраст 46,6 года) сформирована на базе клиник СибГМУ и представляет собой популяционную выборку жителей г. Томска преимущественно славянского происхождения, не страдающих тяжелыми заболеваниями.

Сравнение частот изученных полиморфных вариантов между группами проводили с помощью критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса. Статистически значимыми считали различия с уровнем значимости менее 0,05.

Данные о распространенности гаплогрупп H и J, в том числе H1 и J1, приведены в таблице.

Частоты гаплогрупп мтДНК среди населения г. Томска, в группах с различной
продолжительностью жизни и у больных мультифакториальными заболеваниями

Выборка	№	Гаплогруппа Н, %	В т.ч. гапло- группа Н1, %	Гаплогруппа Ј, %	В т.ч. гапло- группа J1, %
Население г. Томска	425	38,35	11,76*	7,29	5,87
Гипертония	135	38,52	12,59	5,19	4,44
Сахарный диабет	118	30,51*	11,02	11,86	10,17
Ишемическая болезнь сердца	211	41,23	8,06**	6,64	6,64
Умершие до 55 лет	100	45,00	20,00	4,00	4,00
Долгожители	247	36,44	13,77	8,50	8,10

Примечание. N — численность выборки, * — p<0,05, ** — p< 0,005 соответственно при сравнении с группой умерших до 55 лет.

Частота гаплогруппы Н колебалась от 30,5 % в группе больных сахарным диабетом второго типа до 45 % в выборке аутопсийных образцов. Различия между этими двумя группами были статистически значимы (χ^2 =4,27; p=0,0389). Для гаплогруппы J наблюдалась обратная ситуация: наименьшая частота зарегистрирована в группе умерших (4 %), а наибольшая – у больных сахарным диабетом (11,86 %), однако в данном случае различия недостоверны. Почти все образцы гаплогруппы Ј относились к подгруппе Ј1. Полученные оценки частот соответствуют данным, известным для других популяций европейского происхождения. Около трети образцов ДНК гаплогруппы Н принадлежали к подгруппе Н1, за исключением выборок с ишемической болезнью сердца, где Н1 составила только 20 % от всех Н, и выборки умерших, где 44 % мтДНК гаплогруппы Н принадлежали к Н1. Эти различия также были статистически значимы (χ^2 =8,13; p=0,0044). Кроме того, частота Н1 среди аутопсийных образцов была значимо выше, чем в популяционной выборке (χ^2 =4,07; p=0,0438). В остальных случаях при сравнении частот изученных маркеров в различных группах с популяционной выборкой, а также выборок больных — с долгожителями и с умершими до 55 лет, уровень значимости превышал пороговое значение.

Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли распространенных полиморфных вариантов митохондриальной ДНК человека в формировании фенотипа сердечно-сосудистой системы.

Том 275

Серия биологическая

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ МЕЖСОРТОВОМ ЗАМЕЩЕНИИ ХРОМОСОМ 5А И 5D МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ САРАТОВСКАЯ 291

Е.В. Чуманова, Т.Т. Ефремова

Изучались замещенные линии пшеницы Саратовская 29 по хромосомам 5A и 5D по 4 количественным признакам: высота растения, число колосков, число зерен и масса зерен главного колоса. Большинство замещенных линий не отличались от реципиента по изучаемым признакам.

THE STUDY OF VARIABILITY OF QUANTITATIVE TRAITS IN INTERVARIETAL SUBSTITUTION LINES WITH CHROMOSOMES 5A AND 5D IN COMMON WHEAT SARATOVSKAYA 29

E.V. Chumanova, T.T. Efremova

Four quantitative traits of substitution lines of wheat cv. Saratovskaya 29 with chromosomes 5A and 5D were studied, namely plant height, number of spikelets in the spike, grain number and grain weight. Studied traits of most substitution lines didn't differ from the recipient.

В свете современных представлений большинство хозяйственно ценных признаков мягкой пшеницы имеют полигенный характер наследования, что затрудняет их изучение с помощью традиционных генетических методов исследования [1]. В настоящее время дальнейшее успешное развитие исследований в этом направлении связано с использованием современных методов реконструкции генома пшеницы на основе межсортового замещения отдельных хромосом, для изучения эффектов привнесенных хромосом на проявление ценных и адаптивно значимых признаков, локализации и картирования генов [2, 3].

Целью работы являлось изучение линий пшеницы сорта Саратовская 29 с межсортовым замещением хромосом 5A и 5D по ряду количественных признаков и оценка вклада хромосом донора на зерновую продуктивность главного колоса (число колосков главного колоса, число зерен и масса зерна с колоса) и высоту растения.

Материалом для исследования послужили 10 линий пшеницы Саратовская 29 (С29) с межсортовым замещением хромосомы 5D (линии и сорта перечислены в таблице) и 20 линий пшеницы С29 с межсортовым замещением хромосомы 5A [4], выращенные в поле, в условиях, благоприятных для налива и созревания зерна. Также были изучены сорт-реципиент С29 и 15 сортов доноров мягкой яровой пшеницы. Сорт-реципиент С29 – сильная пшеница-улучшитель, по силе муки непревзойденная. Урожайность, по данным государственного сортоиспытания, в среднем 20–30 ц/га,

¹ Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 10-04-00661 а).

при благоприятных условиях – до 42. К недостаткам относятся неустойчивость к полеганию (особенно в увлажненных условиях) и низкое содержание белка в зерне.

Сеяли вручную на опытном поле ИЦиГ СО РАН в 2008 г. Замещенные линии (ЗЛ), сорт-реципиент и сорта-доноры сеяли на делянках шириной 1 м по 20 зерен в рядке по 3 рядка каждой линии и сорта. Опыт проводили в двукратной повторности. Для структурного анализа брали по 27 колосьев ЗЛ, сортов-доноров и реципиента и анализировали высоту растений, число колосков главного колоса, число зерен главного колоса и массу зерен главного колоса. Проводили сравнение между ЗЛ и соответствующим сортом-донором и ЗЛ и С29 на установление достоверных различий. Для оценки значимости различий между средними значениями двух выборочных совокупностей использовали критерий Стьюдента (*t*-критерий).

1.Высота растения

В настоящее время повышение генетического потенциала урожая пшеницы связывают в первую очередь с укорочением стебля высокостебельных сортов. Самой благоприятной в условиях Западной Сибири считается высота 80–100 см, так как она обеспечивает устойчивость к полеганию. В нашем эксперименте большинство ЗЛ имеют более длинный стебель, чем реципиент С29, или достоверно не отличаются от него. И это несмотря на то, что в качестве доноров хромосомы 5A и 5D были использованы низкорослые сорта: S64, SC66, Бур34, ЯП, Гиб21. Известно, что гиббереллинечувствительные гены короткостебельности *Rht1*, *Rht2*, *Rht3*, *Rht10* локализованы на коротких плечах 4B и 4D хромосом мягкой пшеницы [5].

2. Число колосков главного колоса

По числу колосков главного колоса превышение над реципиентом отмечено у ЗЛ, получивших хромосому 5А от озимых доноров Мир808, Ул, Ск35, а также ярового позднеспелого сибирского сорта Мил321 и изогенной линии ТD Vrn В с более длительным вегетационным периодом. При этом ЗЛ по сорту Мил321 не достигла уровня своего ярового сорта-донора (озимые сорта не изучались). Также и ЗЛ по хромосоме 5D от одноменных озимых доноров Ул и Ск35 превышали реципиент. Остальные ЗЛ по хромосомам 5А и 5D не имели существенных различий с С29. Число колосков главного колоса у большинства ЗЛ оказалось меньше, чем у исходных сортов доноров.

3. Число и масса зерен главного колоса

Число зерен главного колоса связано с числом колосков, а также с длиной колоса. По числу и массе зерна с колоса ЗЛ не имели достоверного превышения над реципиентом, но среди них, как и в случае с числом колосков в колосе, можно выделить три ЗЛ по хромосоме 5А от доноров Мир 808, Ул, Ск35. Эти линии недостоверно, но превышали реципиент по изучаемым признакам или были на его уровне. Можно предположить, что в более благоприятный год эти ЗЛ имели бы более высокую продуктивность. Две линии C29/5A S64 и C29/5A SC66 имели достоверное увеличение массы зерен колоса над своими донорами, которые были по этому признаку существенно хуже, чем C29.

 одуктивности колоса у за доноров и Саратовской 2	іний,

Линия, сорт	Высота растения, см	Число колосков	Число зерен	Масса зерен
1	2	3	4	5
Саратовская 29 (С 29)	$110,7 \pm 6,16$	$15,16 \pm 1,12$	$42,72 \pm 4,12$	$1,66 \pm 0,22$
С 29/ 5А Мир 808	$116,5 \pm 5,70$	$17,60 \pm 1,00$	44,10±3,90	1,68±0,23
С 29/ 5D Мир 808	115,1±5,40	15,30±1,00	43,90±2,80	1,44±0,24
С 29/ 5А Ульяновка	121,9±4,30	17,9±0,93* ^Д	45,5±4,8	1,48±0,22
С 29/5D Ульяновка	115,5±3,3	17,1±1,1	42,7±3,6	1,5±0,19
С 29/5А Скороспелка 35	111,5±2,9	18,1±0,91* ^Д	47,2±4,6	1,83±0,25
С 29/5D Скороспелка 35	114,5±6,6	14,8±1,2	40,3±2,7	1,4±0,19
Скала	100,93 ±7,16	$15,48 \pm 1,08$	$37,16 \pm 3,0$	$1,2 \pm 0,19$
С 29/ 5А Скала	125,33 ±3,94** ^{С29} *Д	$15,28 \pm 1,14$	$40,64 \pm 2,98$	$1,45 \pm 0,17$
Sieta Cerros 66	56,93± 4,15	$16,68 \pm 1,44$	$52,96 \pm 0,23$	$0,96 \pm 0,23$

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
C29/5A SC 66	$115,27 \pm 4,79****^{C29}$	$16,68 \pm 1,22$	$48,52 \pm 5,7$	$1.8 \pm 0.35 * ^{C29}$
Новосибирская 67 (Н67)	112,4 ±3,62	$17,84 \pm 1,55$	$45,12 \pm 5,99$	$1,66 \pm 0,24$
C29/5A H67	$118,07 \pm 4,01$	$15,12 \pm 1,09$	$42,24 \pm 2,65$	$1,6 \pm 0,16$
C29/5D H67	$117.0 \pm 6.8 * ^{C29}$	$14,76 \pm 0,78 * ^{C29}$	$39,32 \pm 2,98$	$1,5 \pm 0,2$
Янецкис Пробат (ЯП)	$99,2 \pm 3,05$	$19 \pm 1{,}15$	$54,72 \pm 5,95$	$1,71 \pm 0,27$
С29/5А ЯП	117,0 ± 4,64*** C29	$16,32 \pm 1,35$	$40,52 \pm 3,36 * ^{C29}$	$1,4 \pm 0,25$
С29/5D ЯП	$119,27 \pm 4,23****^{C29}$	$14,64 \pm 0,7**^{C29}$	$46,32 \pm 3,59$	$1,77 \pm 0,19$
Грекум 114 (Гр114)	$103,67 \pm 5,65$	20.08 ± 0.95	$47,4 \pm 2,52$	$2,21 \pm 0,28$
С29/5А Гр114	$114,13 \pm 5,85$	14,4 ± 1,22*** C29	$40,72 \pm 2,91$	$1,44 \pm 0,16 * ^{C29}$
С29/5D Гр114	$122,67 \pm 4,55**^{C29}$	$16,2 \pm 1,0 * ^{C29}$	44,4 ±3,37	$1,62 \pm 0,26$
Безенчукская 98 (Без98)	119,47±4,41	17.8 ± 0.87	$55,72 \pm 5,3$	$1,62 \pm 0,29$
С29/5А Без98	123,87± 4,5 * ^Д	$15,24 \pm 1,05 * ^{C29}$	$42,2 \pm 4,07 * ^{C29}$	$1,33 \pm 0,24$
Кзыл Бас	$124,93 \pm 4,57$	$18,64 \pm 1,04$	$49,92 \pm 4,39$	$1,52 \pm 0,3$
С29/5А Кзыл Бас	112,27± 5,42* C29	$14,88 \pm 1,05 * ^{C29}$	$43,28 \pm 4,54$	$1,22 \pm 0,19$
Бурятская 34 (Бур34)	97,3±3,21	19,44±1,21	48,09±4,80	1,73±0,23
С29/5А Бур34	122,9±4,29*** C29	15,70±1,32** ^{C29}	42,19±3,78	1,44±0,23
Кзыл Шарк (Кз Ш)	$126,7 \pm 3,82$	16,20±0,91	37,80 ±4,11	$1,36 \pm 0,25$
C29/5A K3 III	118,2±3,80	16,42±0,92	45,20±4,39	1,36±0,29
Комета	$116,9 \pm 6,60$	$19,10\pm0,86$	$43,24 \pm 3,20$	$1,60 \pm 0,13$
С29/5А Комета	117,9±3,19	15,40±1,38* ^{C29}	42,20±3,58	1,42±0,23
Мильтурум 321	114±6,9	18,5±1,1	45,45±5,12	1,29±0,25
С29/5А Мил 321	124,7±3,60* ^Д	17,60±0,58* ^Д	47,00±5,38	1,67±0,36
Мильтурум 553	115,2±3,52	18,22±1,15	39,00±5,11	1,06±0,20
С29/5А Мил 553	111,9±3,20	16,40±1,07	40,90±3,18	1,08±0,13
Гибрид 21 (Г21)	89,2±4,60	14,62±1,19	36,00±4,91	1,30±0,21
С29/5D Г21	119,6±6,2*** ^{C29}	14,50±1,21	43,4 ±4,50	1,17±0,19* ^Д
Диамант (Дм)	117,5±6,70	16,23±2,08	40,50±5,39	1,43±0,24
С29/5D Дм	116,8±3,40	16,4±1,18	43,6±5,2	1,48±0,21
Sonora 64 (S64)	$64,5 \pm 2,52$	$13,70 \pm 1,12$	$42,40 \pm 4,60$	$1,03 \pm 0,16$
C29/5A S64	111,3±4,20*** C29	15,1±1,00	44,6±4,3	1,5±0,18* ^{C29}
С 29/ 5А Атлас 66	122,3±5,8	17,4±1,00	42,1±6,49	1,14±0,30
С 29/5D Атлас 66	116,1±7,0	16,1±1,10	44,2±3,00	1,7±0,24
C 29/5A Festigvai	126,5±2,90* ^Д	15,8±1,19	43,4±3,6	1,47±0,19
C 29/ 5A TD Vrn B	124,2±3,9* ^Д	18,6±0,65* ^Д	38,6±4,5	1,32±0,25* ^Д
C 29/5A Federation	121,5±4,7	17,1±0,7	45,2±3,3	1,66±0,24
C 29/5D Chinese Spring	117,3±4,7	15,00±1,20	46,9±3,70	1,46±0,24

Примечания: 1. $p \ge 0.95$, ** $p \ge 0.99$, *** $p \ge 0.999$.

2. С29 – отклонения от сорта С29, Д – от сорта-донора.

Выводы. При замещении хромосом 5A и 5D сорта C29 гомологичными хромосомами от 15 сортов-доноров показано, что замещенные линии достоверно не отличались от реципиента по изученным признакам.

- 1. *Терновская Т.К., В∂овиченко Ж.В.* Зависимость результатов генетического анализа самоопыляющихся видов злаков от природы картирующией популяции // Цитология и генетика. 2003. № 3. С. 67–79.
- 2. Sears E.R. Chromosome engineering in wheat. Stadler Symposia. University of Missouri, Columbia, 1972. Vol. 4. P. 23–28.
- 3. Snape J.W., R. Sarma S.A. Quarrie et al. Mapping genes for flowering time and frost tolerance in cereals using precise genetic stocks // Euphytica. 2001b. Vol. 120. P. 309–315.
- 4. *Ефремова Т.Т., Майстренко О.И.* Создание линий с межсортовым замещением отдельных хромосом пшеницы на основе чужеродного гена-маркера ржи // Генетика. 1996. Т. 32, № 2. С. 252–258.
- 5. McIntosh R.A., Hart G.E., Devos K.M. et al. Catalogue of gene symbols for wheat // Proc. 9th Inter. Wheat Gen. Symp. Canada, Saskatchewan, 1998. Vol. 5. 236 p.

Том 275

Серия биологическая

НАШИ АВТОРЫ

Абдрахимова Йолдыз Раисовна к.б.н., доц. каф. физиологии расте-

ний биолого-почвенного факультета Казанский федеральный универ-

ситет

Алексеева Валерия Витальевна к.б.н., н.с. лаборатории биотехно-

логии растений УРАН филиала Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Ов-

чинникова (г. Пущино)

E-mail: lera@fibkh.serpukhov.su

Амстиславская Тамара Геннадьевна с.н.с. лаборатории нейрогеномики

поведения Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

E-mail: amst@bionet.nsc.ru

Андросова Вера Ивановна к.б.н., доц. каф. ботаники и физио-

логии растений Петрозаводского государственного университета

E-mail: vera28@karelia.ru к.б.н., Зоологический институт

РАН (г. Санкт-Петербург) E-mail: dictyoptera@zin.ru

Антонец Кирилл Сергеевич студент биолого-почвенного фа-

Анисюткин Леонид Николаевич

Антонцева Елена Вячеславовна

культета Санкт-Петербургского государственного университета к.б.н., н.с. лаборатории регуляции экспрессии генов Института цито-

логии и генетики СО РАН

(г. Новосибирск) E-mail: schly@mail.ru

Ануфриева Ольга Евгеньевна студент эколого-биологического

факультета Петрозаводского госу-

дарственного университета E-mail: evan@sampo.ru

Аполинарьева Ирина Константиновна м.н.с. Сибирского физико-

технического института аграрных проблем Россельхозакадемии

E-mail: ira1976@bk.ru.

к.б.н., с.н.с., зав. сектором эволю-Афонников Дмитрий Аркадьевич ционной биоинформатики Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: ada@bionet.nsc.ru Бабешина Лариса Геннадьевна к.б.н., доц. каф. фармакогнозии с курсами ботаники и экологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) E-mail: lbabeshina@yandex.ru аспирант ст. препод. ХТИ – филиал Бабушкина Елена Анатольевна Сибирского федерального университета (г. Абакан) E-mail: babushkina70@mail.ru аспирант каф. ботаники Биологиче-Бабичева Наталья валерьевна

ского института Томского государственного университета

E-mail: babichevaNV@yandex.ru Бабкина Ирина Борисовна ассистент каф. ихтиологии и гидробиологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: shib@ngs.ru магистрант каф. зоологии позво-Баздырев Андрей Валерьевич

ночных и экологии Биологического института Томского государственного университета, член Совета Экологического центра «Стриж» E-mail: valerich@sibmail.com,

oxyura@mail.ru

Балабан Нелли Павловна к.б.н., с.н.с. каф. микробиологии биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: NellyBalaban@yandex.ru

Институт цитологии и генетики СО Балышева Василина Игоревна

РАН (г. Новосибирск)

к.б.н., проф. каф. ботаники биоло-Бардонова Людмила Капитоновна го-географического факультета Бурятского государственного уни-

верситета (г. Улан-Удэ)

аспирант лаборатории микробиоло-Барашкова Полина Владимировна гической защиты растений Всероссийского НИИ защиты растений

РАСХН (г. Санкт-Петербург)

Батурин Сергей Олегович к.б.н., м.н.с. Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

E-mail: SO baturin@mail.ru

Бахвалова Валентина Николаевна к.б.н., с.н.с. лаборатории патологии

насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН

(г. Новосибирск)

E-mail: bvntbe@yandex.ru

Бедарева Алёна Владимировна аспирант биологического факультета Кемеровского государственного университета E-mail: leona511@mail.ru специалист Хакасского технического Белокопытова Лилиана Владимировна института (филиал Сибирского федерального университета) (г. Абакан) E-mail: white lili@mail.ru Белокрылова Дина Олеговна студент факультета естественных наук Новосибирского государственного университета E-mail: belokrylova dina@mail.ru аспирант Института цитологии и Белоусова Ирина Игоревна генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: ira.belousova@gmail.com Белоусов Михаил Валерьевич д.фарм.н., проф., зав. каф. фармации Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) Бобров Юрий Александрович к.б.н., доц, докторант Института биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар) E-mail: orthilia@yandex.ru к.б.н., н.с. Института цитологии и Брагин Аркадий Владимирович генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: bragin@bionet.nsc.ru к.б.н., с.н.с., лаборатории сравни-Брагина Юлия Валерьевна тельной генетики поведения Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (г. Москва) E-mail: julia bragina@mail.ru Брыкина Ирина Александровна м.н.с. Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) Булатова Ольга Владимировна к.б.н., ст. препод. каф. физиологии человека и животных и валеологии биологического факультета Кемеровского государственного университета E-mail: olgakemsu@mail.ru Бурьянов Ярослав Иванович д.б.н., проф., зав. лабораторией биотехнологии растений Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (г. Пущино) E-mail: buryanov@fibkh.serpukhov.su Бурыкин Юрий Геннадьевич к.б.н., м.н.с. НИИ биофизики и медицинской кибернетики при Сургутском государственном универ-

ситете

E-mail: yriig@yandex.ru

Бутов Сергей Николаевич ст. препод. каф. биофизики биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета Быкова Мария Юрьевна аспирант каф. физиологии человека и животных Уральского государственного университета им. А.М. Горького (г. Екатеринбург) E-mail: mr bykova@mail.ru д.б.н., академик СО РАН, ректор Ваганов Евгений Александрович Сибирского федерального университета (г. Абакан) E-mail: rector@sfu-kras.ru с.н.с. Института биологии Уфимского Вафина Гюльнар Хамидовна НЦ РАН лаборатории математической и молекулярной генетики E-mail: evilina@anrb.ru Вершишина Валентина Ивановна к.б.н., доц. каф. микробиологии биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: Valentina.Vershinina@ksu.ru Веселов Дмитрий Станиславович д.б.н., с.н.с. лаборатории физиологии растений Уфимского НЦ РАН E-mail: veselov@anrb.ru д.б.н., доц., руководитель группы био-Ветчинникова Лидия Васильевна технологии воспроизводства древесных растений Института леса Карельского НЦ РАН (г. Петрозаводск) E-mail: vetchin@krc.karelia.ru Владимирова Наталья Владимировна м.н.с. лаборатории зоологического мониторинга Института систематики и экологии животных СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: nv-vlad@yandex.ru Волонцевич Роман Владимирович магистрант каф. зоологии позвоночных и экологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: wrw 17@mail.ru студент каф. биофизики биолого-Войцехович Карина Олеговна почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета E-mail: carvoice@mail.ru к.б.н., старший преподаватель Галкин Алексей Петрович Санкт-Петербургского государственного университета Ганюшкин Лев Васильевич к.б.н., с.н.с. лаборатории витаминов и микроэлементов НИИ природопользования и экологии Севера при Сургутском государственном уни-

верситете

E-mail: botany surgu@mail.ru

Генаев Михаил Александрович аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: mag@bionet.nsc.ru Гафарова Роза Камиловна м.н.с. Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) E-mail: r-gafarova@yandex.ru Голованова Елена Васильевна к.б.н., доц. каф. зоологии и физиологии Омского государственного педагогического университета E-mail: syberian@rambler.ru д.б.н., доц., проф. каф. физиологии Головацкая Ирина Феоктистовна растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: golovatskaya@mail.tomsknet.ru Головина Татьяна Александровна в.инж. каф. генетики биологического факультета Кемеровского государственного университета к.б.н., с.н.с. НИИ медицинской генети-Голубенко Мария Владимировна ки СО РАМН (г. Томск) E-mail: maria-golubenko@medgenetics.ru к.б.н., зам. директора Института Голохваст Кирил Сергеевич нефти и газа Дальневосточного государственного технического университета (г. Владивосток) E-mail: droopy@mail.ru к.б.н., доц. каф. биотехнологии Гомбоева Саяна Владимировна Восточно-Сибирского государственного технологического университета (г. Улан-Удэ) E-mail: sv2@rambler.ru аспирант каф. фармацевтической Горина Яна Валерьевна химии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). E-mail: yana 20@bk.ru ст. препод. каф. зоологии и эколо-Городилова Светлана Николаевна гии Красноярского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева E-mail: gorodilova@kspu.ru аспирант Института биологических Горохова Ольга Гаврильевна проблем криолитозоны СО РАН (г. Якутск) E-mail: golya2007@yandex.ru Гребенникова Анастасия Евгеньевна магистрант каф. ботаники биологического факультета Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: anastgrebennikova@yandex.ru

Григорьева Ольга Олеговна	аспирант, м.н.с. Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Се-
	верцова РАН (г. Москва) E-mail: grig_forever@mail.ru
Грицких Марина Витальевна	м.н.с. лаборатории генетики Института биологии Карельского научного центра РАН (г. Петрозаводск) E-mail: genmg@mail.ru
Гришанова Алевтина Юрьевна	д.б.н., проф., зав. лабораторией биохимии чужеродных соединений НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН (г. Новосибирск)
Громова Ирина Сергеевна	E-mail: agrish@soramn.ru студент психологического факультета Псковского государственного педагогического университета им. С.М. Кирова
Грушецкая Татьяна Александровна	E-mail: Shabby1987@yandex.ru магистрант биолого-почвенного
трушецкай татьяна тыскеандровна	факультета Санкт-Петербургского
Гуляева Анна Федоровна	государственного университета E-mail: tan9@sibmail.com ассистент каф. ботаники Кузбасской государственной педагогической академии (г. Новокузнецк) E-mail: annagulyaeva86@mail.ru
Гунбин Константин Владимирович	к.б.н. н.с. Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
Гурьев Артем Михаилович	E-mail: genkvg@bionet.nsc.ru к.фарм.н., в.н.с. ЦНИЛ Сибирского государственного медицинского
Давыдова Александра Николаевна	университета (г. Томск) студент биолого-почвенного фа- культета Санкт-Петербургского государственного университета E-mail: tenarven@mail.ru
Данилова Юлия Васильевна	магистрант биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: Danilova146@mail.ru
Девина Наталья Игоревна	к.б.н., препод. Таможенного колледжа Оренбургского государственного аграрного университета E-mail: glinale@mail.ru
Дейнеко Елена Викторовна	д.б.н., проф., зав. лабораторией биоинженерии растений Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: deineko@bionet.nsc.ru

Дейс Татьяна Владимировна аспирант каф. зоологии и физиологии Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: tatyana 0884@mail.ru аспирант Биологического институ-Денисов Евгений Владимирович та Томского государственного университета, м.н.с. лаборатории онкоиммунологии НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск) E-mail: d evgeniy@oncology.tomsk.ru студент медико-биологического Дульцева Татьяна Сергеевна факультета Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) E-mail: myfantasy@list.ru Дьяченко Егор Владимирович магистрант Биологического института Томского государственного университета E-mail: tsu1571@mail.ru студент биологического факультета Екимова Виктория Михайловна Тюменского государственного университета E-mail: victoria1705@list.ru м.н.с. лаборатории биотехнологии Елисеева Мария Андреевна и биоинженерии при каф. физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: feniks216@rambler.ru Емцева Мария Васильевна аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: emtseva@bionet.nsc.ru. Ендонова Галина Батоевна к.б.н., доц. каф. неорганической и аналитической химии Восточно-Сибирского государственного технологического университета (г. Улан-Удэ) E-mail: endonova gb@mail.ru магистрант биологического фа-Ермошин Александр Анатольевич культета Уральского государственного университета им. А.М. Горького (г. Екатеринбург) E-mail: ermosh@e1.ru. Есипенко Елена Александровна м.н.с. лаборатории физиологии высшей нервной деятельности НИИ биологии и биофизики (г. Томск) E-mail: esic05@sibmail.com Ефимова Марина Васильевна к.б.н., доц. каф. физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государ-

> ственного университета E-mail: stevia555@mail.ru

Ефремова Татьяна Тимофеевна	к.б.н., с.н.с. лаборатории хромо-
	сомной инженерии злаков Института цитологии и генетики СО РАН
	(г. Новосибирск)
	E-mail: efremova@bionet.nsc.ru
Жейкова Татьяна Владимировна	аспирант НИИ медицинской гене-
	тики СО РАМН (г. Томск)
	E-mail: zheykova@mail.ru
Журавлёва Ирина Александровна	аспирант каф. биологии Вятского
	государственного университета
	(г. Киров) E-mail: S-dulcamara@yandex.ru
Жуковская Наталья Валерьевна	к.б.н. Института физиологии расте-
жуковская паталья валерьська	ний им. К.А. Тимирязева РАН
	(г. Москва)
	E-mail: zhukovskayanv@rambler.ru
Задирака Евгений Сергеевич	аспирант Карельской государст-
	венной педагогической академии
	(г. Петрозаводск)
D 6	E-mail: zadiraka_evgenii@mail.ru
Задубровская Инна Валерьевна	аспирант Института систематики и экологии животных СО РАН
	(г. Новосибирск)
	E-mail: neoliya@mail.ru
Задубровский Павел Александрович	м.н.с. лаборатории структуры и
	динамики популяций животных
	Института систематики и экологии
	животных СО РАН. (г. Новоси-
	бирск)
Замяткина Маргарита Александровна	E-mail: etolog@mail.ru студент факультета естествознания
Замяткина маргарита Александровна	Красноярского государственного
	педагогического университета им.
	В.П. Астафьева
	E-mail: margarita88-08@mail.ru
Зайцев Алексей Анатольевич	студент каф. генетики биологиче-
	ского факультета Московского го-
	сударственного университета им.
	M.B. Ломоносова E-mail: zaitsev 09@mail.ru
Зубрикова Ксения Юрьевна	студент биологического факультета
5, op 10 p. 22	Кемеровского государственного
	университета
Зеленская Анна Евгеньевна	магистрант Биологического ин-
	ститута Томского государствен-
	ного университета
Hannan Branan Company	E-mail: nostoc@bk.ru
Иванов Руслан Сергеевич	м.н.с. лаборатории прикладной микробиологии Учреждения РАН
	микрооиологии у чреждения г Агг Института биологии Уфимского
	НЦ
	E-mail: evilina@anrb.ru
	∞

клеточной биологии Института шитологии и генетики СО РАН

E-mail: alenakashi@mail.ru

(г. Новосибирск)

Иванова Эвилина Алексеевна г.н.с. Института биологии Уфимского НЦ РАН лаборатории математической и молекулярной гене-E-mail: evilina@anrb.ru Измайлов Станислав Федорович д.б.н., проф., зав. лабораторией азотного обмена Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва) E-mail: sf.izmailov@list.ru д.б.н., проф. каф. микробиологии Ильинская Ольга Николаевна биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: Olga.Ilinskaya@ksu.ru Ильницкая Елена Игоревна студент биологического факультета Кемеровского государственного университета E-mail: olgakemsu@mail.ru Ингель Фаина Исааковна д.б.н., в.н.с. лаборатории генетического мониторинга Института экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина РАМН (г. Москва) магистрант биологического фа-Иркитова Алена Николаевна культета Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: Elen171987@mail.ru студент факультета естествознания Ишмухаметова Маргарита Наильевна Кемеровского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева E-mail: ishmuharita 89@mail.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории генетиче-Капелинская Татьяна Викторовна ских основ биоразнообразия Института общей генетики им. Н.И., Вавилова РАН (г. Москва) E-mail: tkapel@rambler.ru к.б.н., доц. каф. микробиологии Карамова Назира Сунгатовна биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета. E-mail: Nazira.Karamova@ksu.ru Катохин Алексей Вадимович к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной и клеточной биологии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: katokhin@bionet.nsc.ru Кашина Елена Валентиновна м.н.с. лаборатории молекулярной и

Каюмов Айрат Рашитович к.б.н., ст. препод. каф. генетики Казанского федерального университета. E-mail: kairatr@yandex.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории генетики Кизилова Елена Александровна развития Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: pinus@bionet.nsc.ru Кипятков Владилен Евгеньевич д.б.н., проф., зав. каф. энтомологии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета E-mail: vladilen.kipyatkov@gmail.ru студент естественно-Кириллов Алексей Александрович географического факультета Владимирского государственного гуманитарного университета E-mail: aleks-kirillov@mail.ru Климов Андрей Владимирович к.б.н., ст. препод. каф. ботаники естественно-географического факультета Кузбасской государственной педагогической академии (г. Новокузнецк) E-mail: populus0709@mail.ru студент химико-биологического Князев Станислав Юрьевич факультета Омского государственного педагогического университета E-mail: statusomgpu@gmail.com ст. препод. каф. ботаники и общей Колегова Евгения Борисовна биологии Института естественных наук и математики Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова (г. Абакан) E-mail: kolegova e@mail.ru Колоколова Наталья Николаевна к.б.н., доц., каф. ботаники и биотехнологии растений биологического факультета Тюменского государственного университета E-mail: campanella2004@mail.ru Коломейцева Галина Леонидовна д.б.н., с.н.с. Главного Ботанического сада РАН (г. Москва) E-mail: kmimail@mail.ru Конева Вера Викторовна к.б.н., доц. каф. ботаники Биологического института Томского государственного университета E-mail: collema@mail.ru Корж Анна Петровна аспирант каф. фармации Сибирско-

го государственного медицинского

университета

E-mail: floristic@list.ru

Корж Александр Павлович	к.б.н., доц. каф. общей и приклад-
	ной экологии и зоологии биологи-
	ческого факультета Запорожского
	национального университета E-mail: 312922@rambler.ru
Коржова Виктория Валерьевна	студент биолого-почвенного фа-
поржова вистория валервевии	культета Санкт-Петербургского
	государственного университета
	E-mail: viktoria.calitera@gmail.com
Коробкова Татьяна Сергеевна	к.б.н., директор Якутского ботани-
-	ческого сада Института биологиче-
	ских проблем криолитозоны СО
	РАН (г. Сыктывкар)
	E-mail: korobkova_t@list.ru
Кочеткова Мария Тимофеевна	к.б.н., доц. каф. зоологии и эколо-
	гии Псковского государственного
	педагогического университета им.
	C.M. Кирова E-mail: Zooeko2008@rambler.ru
Кошелев Василий Александрович	к.б.н., доц. Мелитопольского госу-
Кошелев Василии Александрович	дарственного педагогического уни-
	верситета им. Б. Хмельницкого
	E-mail: koshelev4@mail.ru
Краснов Ефим Авраамович	д.фарм.н., проф. каф. фармацевти-
	ческой химии Сибирского государ-
	ственного медицинского универси-
	тета (г. Томск)
74	E-mail: krasnov.37@mail.ru
Крутецкая Зоя Иринарховна	д.б.н., проф., зав. каф. биофизики
	биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государст-
	венного университета
	E-mail: zk@bio.pu.ru
Крутецкая Нина Иринарховна	инж. каф. биофизики биолого-
	почвенного факультета Санкт-
	Петербургского государственного
	университета
	E-mail: zk@bio.pu.ru
Крутенкова Елена Павловна	аспирант каф. физиологии человека
	и животных Томского государст-
	венного университета E-mail: len—k@yandex.ru
Кудоярова Гюзель Радомесовна	д.б.н., проф., зав. лабораторией фи-
пудопрови г посить г идомессовии	зиологии растений Уфимского НЦ
	PAH E-mail: guzel@anrb.ru
Кузнецов Александр Александрович	м.н.с. Гербария им. П.Н. Крылова
- '*	Биологического института Томско-
	го государственного университета
	E-mail: kuznetsov_aa@sibmail.com
Кузнецова Любовь Леонидовна	аспирант Новосибирского государ-
	ственного аграрного университета
	E-mail: childofsiberia@mail.ru

Кузнецова Татьяна Юрьевна	к.б.н., м.н.с. Института леса Ка-
	рельского НЦ РАН
	(г. Петрозаводск)
	E-mail: tatyvet@mail.ru
Кулебякина Елена Викторовна	аспирант Петрозаводского государ-
	ственного университета
	E-mail: cyta@rambler.ru
Куликов Александр Викторович	д.б.н., доц. каф. физиологии Ново-
	сибирского государственного уни-
	верситета, в.н.с. лаборатории ней-
	рогеномики поведения Института
	цитологии и генетики СО РАН
	(г. Новосибирск)
L'	E-mail: v_kulikov@bionet.nsc.ru
Куранова Валентина Николаевна	к.б.н., доц. каф. зоологии позвоночных и экологии Биологического
	института Томского государствен-
	ного университета
	E-mail: kuranova49@mail.ru
Курилова Лидия Сергеевна	к.б.н., доц. каф. биофизики биоло-
nypinioza vingini espreszia	го-почвенного факультета Санкт-
	Петербургского государственного
	университета E-mail: cozzy@mail.ru
Куровская Лариса Валерьевна	к.б.н., доц. каф. лесного хозяйства и
	ландшафтного строительства Био-
	логического института Томского
	государственного университета
	E-mail: l_kurovskaya@mail.ru
Курхинен Юрий Павлович	д.б.н., проф. Института рыбы и ди-
	чи Финляндии (г. Хельсинки), Ин-
	ститута леса Карельского НЦ РАН
	(г. Петрозаводск) E-mail: Juri.Kurhinen@rktl.fi
Куцев Максим Геннадьевич	к.б.н., зам. директора по НР Южно-
Куцев Максим I сппадвевич	Сибирского ботанического Сада
	E-mail: bot@asu.ru
Кучеров Дмитрий Александрович	аспирант биолого-почвенного фа-
J I I I I I I I I I I I I I I I I I I I	культета Санкт-Петербургксоко
	государственного университета
	E-mail: cyathus@yandex.ru
Ларионов Алексей Викторович	аспирант каф. генетики биологиче-
	ского факультета Кемеровского
	государственного университета
Лебедев Олег Евгеньевич	д.б.н., проф. каф. биофизики биоло-
	го-почвенного факультета Санкт-
	Петербургского государственного
	университета Е-mail: oeleb@fnii nu ru
Лебедева Ольга Николаевна	E-mail: oeleb@fnii.pu.ru к.б.н., зам. директора по НР Инсти-
леоедсва Олы а пиколасвна	тута биологии Карельского НЦ
	РАН (г. Петрозаводск)
	E-mail: olebedeva@krc.karelia.ru

венного университета E-mail: ssmedvedev@mail.ru

Лукьянцев Сергей Владимирович к.б.н., доц., каф. защиты растений Томского государственного университета E-mail: lukyantsev@list.ru аспирант каф. генетики биологиче-Лунина Анна Александровна ского факультета Кемеровского государственного университета E-mail: coldunica@mail.ru аспирант Института систематики и Любая Татьяна Евгеньевна экологии животных СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: elektra t@inbox.ru Ляпков Сергей Марленович к.б.н., с.н.с. каф. биологической эволюции биологического факультета Московского государственного университета E-mail: lyapkov@mail.ru Мавропуло Валерия Анатольевна аспирант Института общей генетики им. Н.И. Вавилова (г. Москва) PAH E-mail: mavropulov@gmail.com Малиновская Елена Анатольевна к.м.н., н.с. лаборатории онкоиммунологии НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск) E-mail: apkon@oncology.tomsk.ru аспирант Института общей генети-Мартынова Елена Уразовна ки им. Н.И. Вавилова РАН (г. Москва) E-mail: transpozaza@rambler.ru Матвеев Леонид Эдуардович в.инж. лаборатории биотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: vam@niboch.nsc.ru Матрухан Татьяна Ивановна магистрант Химикобиологического факультета Мелитопольского государственного педагогического университета им. Б. Хмельницкого E-mail: matryhan@rambler.ru Медведев Кирилл Евгеньевич аспирант лаборатории теоретической генетики Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: kirill-medvedev@yandex.ru Медведев Сергей Семёнович д.б.н., проф., зав. каф. физиологии и биохимии растений, зав. лабораторией биологии развития растений биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государст-

110	и авторы
Мельницкая Анастасия Валерьевна	к.б.н., ст. препод. каф. биофизики биолого-почвенного факультета Санкт- Петербургского государственного университета
Минина Варвара Ивановна	E-mail: avm242@hotbox.ru к.б.н., с.н.с. Института экологии человека СО РАН, доц. каф. генетики биологического факультета Кемеровского государственного
Миронова Виктория Владимировна	университета E-mail: vminina@mail.ru к.б.н., м.н.с. лаборатории теоретической генетики Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибурах)
Митрошина Юлия Сергеевна	бирск) E-mail: kviki@bionet.nsc.ru студент каф. ботаники и биотехно- логии растений биологического факультета Тюменского государст- венного университета
Могилина Анна Александровна	E-mail: Aska-x@yandex.ru аспирант биологического факуль- тета Кемеровского государственно-
Мордвинов Вячеслав Алексеевич	го университета Е-mail: mog-anna@yandex.ru д.б.н., зав. лабораторией молеку- лярной и клеточной биологии Ин- ститута цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
Морозова Ирина Валерьевна	E-mail: mordvin@bionet.nsc.ru аспирант Института леса Карельского научного центра РАН (г.
Морозова Марьяна Владимировна	Петрозаводск) аспирант лаборатории нейрогеномики поведения Института цитологии и генетики СО РАН
Морозова Ольга Владимировна	(г. Новосибирск) Е-mail: morozova.maryana@mail.ru д.б.н., с.н.с. лаборатории микро- биологии Института химической биологии и фундаментальной ме-
Морозова Татьяна Сергеевна	дицины СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: MOV@niboch.nsc.ru студент Биологического института Томского государственного уни-
Mayayan Ayawayyan Canraanyy	верситета E-mail: Lastaliya@sibmail.com

Мочалов Александр Сергеевич

аспирант каф. ботаники Томского

государственного университета E-mail: mochalow@sibmail.com

	147
Муравская Евгения Андреевна	аспирант Карельской государственной педагогической академии (г. Петрозаводск)
Мурзаханов Евгений Булатович	E-mail: evgeniya_arinich@mail.ru директор Экологического центра «Стриж» (г. Томск) E-mail: strizh@mail.tsu.ru
Мурсалимов Сергей Рамильевич	аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: mursalimovsr@gmail.com
Мустафина Лилия Рамильевна	к.м.н., н.с. ФГУ «Томский НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА»
Муха Дмитрий Владимирович	E-mail: mustafinalr@rambler.ru д.б.н., проф., зав. лабораторией генетических основ биоразнообразия Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (г. Москва)
Насирова Арзу Рамазановна	E-mail: dmitryVmukha@gmail.com аспирант НИИ биофизики и медицинской кибернетики при Сургутском государственном университе-
Никитин Андрей Валентинович	те. E-mail: nasirova_arzu_@mail.ru м.н.с. лаборатории азотного обмена Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева (г. Москва) РАН E-mail: nitrogenexchange@mail.ru
Никитич Полина Александровна	студент Биологического института Томского государственного уни- верситета
Никифоров Леонид Анатольевич	E-mail: Polinkanick@mail.ru соискатель каф. фармации ФПК и ППС Сибирского государственного медицинского университета
Новокрещенных Валентина Алексеевна	E-mail: nla83@mail.ru магистрант Биологического института Томского государственного университета
Новоселова Екатерина Сергеевна	E-mail: volna29@mail2000.ru аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: esn@bionet.nsc.ru
Норбоева Баирма Дамбаевна	студент Института пищевой инженерии и биотехнологии Восточно- Сибирского государственного технологического университета (г. Улан-Удэ). E-mail: sv2@rambler.ru
Нохсоров Василий Васильевич	студент биолого-географического факультета Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова (г. Якутск) E-mail: NohVasyaVas@mail.ru

Окуловская Анна Георгиевна аспирант каф. ботаники Сургутского государственного университета E-mail: clepsine@mail.ru с.н.с. Института цитологии и гене-Омельянчук Надежда Анатольевна тики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: nadya@bionet.nsc.ru к.б.н., м.н.с. лаборатории теорети-Ощепков Дмитрий Юрьевич ческой генетики Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: diman@bionet.nsc.ru м.н.с. лаборатории теоретической Ощепкова Евгения Александровна генетики Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: nzhenia@bionet.nsc.ru Павлова Дарья Геннадьевна инженер лаб. биотехнологии и биоинженерии Биологического института Томского государственного университета E-mail: darja@vtomske.ru д.б.н., проф., зав. каф. экологии и Пак Ирина Владимировна генетики биологического факультета Тюменского государственного университета E-mail: pakiv57@mail.ru Памирский Игорь Эдуардович к.б.н., ассистент каф. биологической химии Амурской государственной медицинской академии (г. Благовещенск) E-mail: pamirsky@mail.ru Паничев Александр Михайлович д.б.н., к.г-м.н., в.н.с. лаборатории экологии и охраны животных Тихоокеанского института географии ДВО РАН (г. Владивосток) E-mail: sikhote@mail.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории экологии Панов Виктор Васильевич сообществ позвоночных животных Института систематики и экологии животных СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: bvntbe@yandex.ru магистрант биолого-почвенного Панова Анна Алексеева факультета Санкт- Петербургского государственного университета E-mail: AnemoneNemorosa@yandex.ru Пасюкова Елена Генриховна д.б.н., зав. лабораторией геномной изменчивости Института молеку-

лярной генетики РАН (г. Москва)

E-mail: egpas@rambler.ru

Першина Александра Геннадьевна н.с. Центральной научноисследовательской лаборатории, аспирант каф. биохимии и молекулярной биологии Сибирского государственного медицинского университета E-mail: allysyz@mail.ru к.б.н., доц. каф. ихтиологии и гид-Петлина Альбина Петровна робиологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: icht@bio.tsu.ru д.б.н., с.н.с. Институт биологиче-Петров Клим Алексеевич ских проблем криолитозоны СО РАН (г. Якутск) E-mail: kap 75@bk.ru Плясунова Любовь Юрьевна аспирант Института леса Карельского НЦ РАН (г. Петрозаводск) E-mail: lyubov-kosta@yandex.ru бакалавр биологического факульте-Погуляева Наталья Сергеевна та Кемеровского государственного университета E-mail: sarsatskaya@mail.ru аспирант, инженер биолого-Пожванов Григорий Александрович почвенного факультета Санкт- Петербургского государственного университета, и.о. н.с. лаб. аналитической фитохимии Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (г. Санкт-Петербург) E-mail: pozhvanov@gmail.com Помазной Михаил Юрьевич студент факультета естественных наук Новосибирского государственного университета E-mail: pomaznoy@gmail.com к.б.н., с.н.с. Института цитологии и Пономаренко Михаил Павлович генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: pon@bionet.nsc.ru аспирант Института цитологии и Пономаренко Петр Михайлович генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: pon@bionet.nsc.ru магистрант Биологического инсти-Попова Ольга Владимировна тута Томского государственного университета E-mail: popova-olga87@yandex.ru Потапов Михаил Анатольевич к.б.н., в.н.с лаборатории структуры и динамики популяций животных Института систематики и экологии животных СО РАН. (г. Новосибирск) E-mail: map@ngs.ru

430 Humi	авторы
Потапова Ольга Федоровна	м.н.с. лаборатории структуры и динамики популяций животных Института систематики и экологии животных СО РАН
Пропастилова Ольга Юрьевна	(г. Новосибирск) E-mail: ofp@ngs.ru н.с. Иститута мониторинга клима- тических и экологических систем CO PAH (г. Томск) E-mail: propastilova@mail.ru
Пулькина Светлана Васильевна	к.б.н., доц. каф. цитологии и генетики Томского государственного
Рак Анна Степановна	университета студент биологического факультета Кемеровского государственного университета
Рогова Наталья Сергеевна	E-mail: Vrednaya123@mail.ru аспирант каф. прикладной физики ФТИ Томского политехнического
Романов Константин Владимирович	университета E-mail: rogova@interact.phtd.tpu.ru аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
Романов Виктор Юрьевич	E-mail: rkv@bionet.nsc.ru. студент естественно- географического факультета Куз- басской государственной педагоги- ческой академии (г. Новокузнецк)
Рочева Мария Ивановна	E-mail: victor-dionis@mail.ru магистрант биолого-почвенного факультета Санкт- Петербургского государственного университета
Рощина Наталья Викторовна	E-mail: t4kzpt@list.ru к.б.н., н.с. лаборатории геномной изменчивости Института молекулярной генетики РАН (г. Москва) E-mail: nwumr@mail.ru
Рубель Александр Анатольевич	к.б.н., н.с. Санкт-Петербургского
Рудакова Наталья Леонидовна	государственного университета аспирант биолого-почвенного фа- культета Казанского федералього университета
Рукавцова Елена Борисовна	E-mail: puphen@rambler.ru д.б.н., с.н.с. лаборатории биотехно-логии растений Института биоорганической химии. им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Рыжакова Надежда Кирилловна	(г. Пущино) E-mail: ruk@fibkh.serpukhov.su к.фм.н., доц. каф. прикладной фи- зики ФТИ Томского политехниче- ского университета E-mail: rnk@interact.phtd.tpu.ru

Сабирова Альбина Рушановна аспирант биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: albina-12@mail.ru Савельева Анна Валентиновна аспирант факультета естественных наук Новосибирского государственного университета E-mail: savelevaav@gmail.com. Сагалакова Лидия Сергеевна аспирант каф. ботаники биологогеографического факультета Бурятского государственного университета (г. Улан-Удэ) E-mail: adilsag@yandex.ru д.м.н., зам. зав. ЦНИЛ Сибирского Сазонов Алексей Эдуардович государственного медицинского университета (г. Томск) E-mail: biotech@ssmu.net.ru Сайфитдинова Алсу Фаритовна к.б.н., с.н.с. Санкт-Петербургского государственного университета ассистент каф. физиологии челове-Сарсацкая Анна Сергеевна ка и животных и валеологии биологического факультета Кемеровского государственного университета E-mail: sarsatskaya@mail.ru студент Института естественных Сафронова Ирина Николаевна наук и математики Хакасского госуниверситета им. Н.Ф. Катанова (г. Абакан) E-mail: saphronovairina@mail.ru Светлик Михаил Васильевич к.б.н., м.н.с. лаборатории физиологии высшей нервной деятельности НИИ биологии и биофизики (г. Томск) E-mail: mihasv@ssmu.ru д.б.н., зав. лабораторией гидро-Свириденко Борис Фёдорович морфных экосистем НИИ ПиЭС Сургутского государственного университета E-mail: bosviri@mail.ru к.б.н., доц., и.о. зав. каф. сельскохо-Семенов Сергей Юрьевич зяйственных биотехнологий Биологического института Томского государственного университета E-mail: Pure@sibmail.com Семина Марина Юрьевна студент биологического факультета Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: MarinaSemina@list.ru Серебров Владимир Юрьевич д.м.н., зав. каф. биохимии и молекулярной биологии Сибирского государственного медицинского университета E-mail: serebrov@ssmu.ru

	1
Серебрякова Оксана Сергеевна	аспирант Института леса Карельского НЦ РАН (г. Петрозаводск)
Сивков Антон Юрьевич	E-mail: 531521@mail.ru к.б.н., лаборатория молекулярной и клеточной биологии Института цитологии и генетики СО РАН
Сивков Геннадий Сергеевич	(г. Новосибирск) Е-mail: sivkov@bionet.nsc.ru д.в.н., проф., директор Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии (г. Тюмень)
Силантьева Марина Михайловна	E-mail: vniivea@mail.ru д.б.н., проф. каф. ботаники биологического факультета Алтайского государственного университета
Симоненко Александр Владимирович	(г. Барнаул) Е-mail: msilan@mail.ru студент каф. генетики биологиче- ского факультета Московского го- сударственного университета им. М.В. Ломоносова
Синенко Ольга Сергеевна	E-mail: zaitsev_09@mail.ru студент Уральского государствен- ного университета (г. Екатерин- бург)
Синюшин Андрей Андреевич	к.б.н., ассистент каф. генетики био- логического факультета Москов- ского государственного универси- тета им. М.В. Ломоносова E-mail: sinjushin@pisumsativum.org
Синякова Надежда Александровна	аспирант Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: libra@ngs.ru
Ситникова Наталья Владимировна	стажер-исследователь лаборатории микробиологической защиты растений Всероссийского НИИ защиты растений РАСХН (г. Санкт-Петербург)
Скапцов Михаил Викторович	студент биологического факультета Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: mikhaeles1990@rambler.ru
Соколова Александра Александровна	аспирант Сургутского государственного университета E-mail:aleks-surgut@rambler.ru
Соколова Галина Геннадьевна	д.б.н., проф., декан биологического факультета АГУ (г. Барнаул) E-mail: Dean@asu.ru
Степанов Вадим Анатольевич	д.б.н., зав. лабораторией эволюционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск)

Стрелкова Алена Эдуардовна студент каф. ихтиологии и гидробиологии Биологического института Томского государственного университета E-mail: icht@bio.tsu.ru Стрельникова Инна Юрьевна к.б.н., доц. каф. зоологии и физиологии биологического факультета Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: S19V@yandex.ru н.с. Института цитологии и генети-Суслов Валентин Владимирович ки СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: valya@bionet.nsc.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории биологии Суслов Дмитрий Владимирович развития растений биологопочвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета E-mail: souslov@mail.ru студент Биологического института Сухановская Татьяна Викторовна Томского государственного университета E-mail: 16_dream@sibmail.com д.б.н., руководитель центра геном-Татьков Сергей Иванович ных исследований лаборатории молекулярной и клеточной биологии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: tatkovs@gmail.com Тимергалин Максим Данилович аспирант Института биологии Уфимского НЦ РАН (г. Уфа) E-mail: timermax@mail.ru. м.н.с. Института цитологии и гене-Тимонов Константин Владимирович тики (г. Новосибирск) E-mail: vtimonov@bionet.nsc.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории микро-Токарев Юрий Сергеевич биологической защиты растений Всероссийского НИИ защиты растений РАСХН (г. Санкт-Петербург) E-mail: jumacro@yahoo.com Толочко Татьяна Андреевна ст. препод. каф. генетики биологического факультета Кемеровского государственного университета Томилова Ирина Николаевна к.б.н., доц. каф. зоологии и физиологии Алтайского государственного университета (г. Барнаул) E-mail: tomilova@bio.asu.ru Топчиева Людмила Владимировна руководитель группы молекулярной биологии Института биологии Карельского НЦ РАН (г. Петрозаводск) E-mail: topchieva@krc.karelia.ru

Трифонова Екатерина Александровна к.б.н., н.с. лаборатории генетической инженерии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: trifonova.k@rambler.ru Тропынина Татьяна Сергеевна м.н.с. лаборатории математической и молекулярной генетики Учреждения РАН Института биологии Уфимского НЦ (г. Уфа) E-mail: tropynina.ts@mail.ru аспирант биологического факуль-Трофимов Олег Владимирович тета Тюменского государственного университета E-mail: oleg v trofimov@mail.ru м.н.с Института цитологии и гене-Турнаев Игорь Иванович тики (г. Новосибирск) E-mail: turn@bionet.nsc.ru Тюменцева Наталья Валерьевна к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) E-mail: tumen80@mail.ru к.б.н., н.с. каф. микробиологии Ульянова Вера Владимировна биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: ulyanova.vera@gmail.com аспирант биолого-почвенного фа-Фатыхова Диана Газинуровна культета Казанского федерального университета E-mail: fadi@bk.ru Федоренко Ольга Михайловна к.б.н., с.н.с. лаборатории генетики Института биологии Карельского НЦ РАН (г. Петрозаводск) E-mail: fedorenko om@mail.ru студент биолого-почвенного фа-Федорова Ксения Павловна культета Казанского федерального университета E-mail: ksunchik-@mail.ru м.н.с., аспирант Института физио-Федотов Сергей Александрович логии им. И.П. Павлова РАН (г. Москва) E-mail: serg900@yandex.ru Федураев Павел Владимирович студент факультета биоэкологии Российского государственного университета им. И. Канта (г. Калининград) E-mail: pavelf15@mail.ru Филимонова Марина Вячеславовна к.б.н., с.н.с. лаборатории витаминов

> и микроэлементов НИИ природопользования и экологии Севера

E-mail: botany surgu@mail.ru

(г. Сургут)

E-mail: hramtsova15@mail.ru

Филиппова Александра Владимировна к.б.н., доц. каф. ботаники биологического факультета Кемеровского государственного университета E-mail: sasha@kemsu.ru аспирант биологического факуль-Фролов Дмитрий Александрович тета Запорожского национального университета E-mail: frolov988@yandex.ru Фурман Дагмара Павловна д.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярно-генетических систем Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) E-mail: furman@bionet.nsc.ru аспирант каф. ботаники Бурятского Халтанова Елена Петровна государственного университета (г. Улан-Удэ) E-mail: haltanova.lena@mail.ru Хамина Ксения Васильевна студент Биологического института, Томского государственного университета E-mail: khamina@mail2000.ru Харина Татьяна Георгиевна к.б.н., с.н.с. Сибирского ботанического сада Томского государственного университета E-mail: babichevaNV@yandex.ru к.б.н., с.н.с. лаборатории эволюци-Харьков Владимир Николаевич онной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск) E-mail: vladimir.kharkov@medgenetics.ru Хилинская Яна Валентиновна студент биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: yamochka88@yandex.ru Ходенёва Наталья Николаевна студент факультета естественных наук Новосибирского государственного университета E-mail: natalya.khodeneva@gmail.com Холбоева Светлана Александровна к.б.н., доц. каф. ботаники Бурятского государственного университета (г. Улан-Удэ) E-mail: kholboeva@mail.ru Храмцова Юлия Сергеевна к.б.н., н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, ассистент каф. физиологии человека и животных Уральского государственного университета им. А.М. Горького (г. Екатеринбург)

Чеботарева Елена Николаевна	аспирант Института биоорганиче-
Чевычелов Александр Павлович	ской химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва) Е-mail: Chebotareva.Lena@gmail.com д.б.н., зав. лабораторией генезиса почв и радиоэкологии Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (г. Сыктывкар) Е-mail: chev.soil@list.ru
Чепалов Валентин Азотович	н.с. Института биологических про- блем криолитозоны СО РАН (г. Якутск) E-mail: cva74@mail.ru
Чердынцева Надежда Викторовна	д.б.н., проф., руководитель лаборатории онкоиммунологии НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск)
Чередниченко Анастасия Андреевна	магистрант Биологического института Томского государственного университета
Чичерина Галина Сергеевна	E-mail: anastasiacheee@rambler.ru аспирант лаб. патологии насекомых Института систематики и экологии животных (г. Новосибирск) E-mail: bvntbe@yandex.ru
Читаева Елена Александровна	студент биологического факультета Тюменского государственного уни-
Чупахина Галина Николаевна	верситета д.б.н., проф., зав. каф. медицинской экологии факультета биоэкологии Российского государственного университета им. И. Канта (г. Калининград) E-mail: tchoupakhina@mail.ru
Чуманова Евгения Владимировна	студент агротехнологического факультета Новосибирского государственного аграрного университета E-mail: emtseva@bionet.nsc.ru
Шалыгина Анна Сергеевна	магистрант каф. ботаники Биологического института Томского государственного университета E-mail: blessing08@mail.ru.
Шаманина Марина Юрьевна	м.н.с. лаборатории молекулярной и клеточной биологии Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
Шамшев Антон Владимирович	E-mail: marinash@bionet.nsc.ru студент каф. биофизики биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета E-mail: fanger2009@yandex.ru

Шарипова Гузель Вакильевна к.б.н., н.с. лаборатории физиологии растений Уфимского НЦ РАН E-mail: g.v.sharipova@mail.ru к.б.н., проф. каф. микробиологии Шарипова Маргарита Рашидовна биолого-почвенного факультета Казанского федерального университета. E-mail: Margarita.Sharipova@ksu.ru аспирант каф. микробиологии био-Шах Махмуд Раихан лого-почвенного факультета Казанского федерального университета E-mail: raihan.shah@gmail.com к.б.н., с.н.с. ФГУ «Томский НИИ Шилкина Елена Сергеевна курортологии и физиотерапии ФМБА» E-mail: glualena@yandex.ru д.б.н., проф., зав. каф. ботаники Шепелева Людмила Федоровна Сургутского государственного университета E-mail: botany surgu@mail.ru м.н.с. Института проблем экологии Шестак Анна Геннальевна и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (г. Москва) E-mail: anna elven@mail.ru студент Биологического института Шестакова Галина Александровна Томского государственного университета. E-mail: wushu8@yandex.ru д.м.н., проф., ректор Хакасского Штыгашева Ольга Владимировна государственного университета (г. Абакан) E-mail: olgashtygasheva@rambler.ru Шуйская Елена Викторовна к.б.н., н.с. Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва). E-mail: evshuya@mail.ru к.б.н., ст. лаб. музея зоологии по-Юрьев Анатолий Леонидович звоночных биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета E-mail: yuriev@bk.ru студент биолого-почвенного фа-Юрьев Иван Иванович культета Иркутского государственного университета E-mail: yurev ivan87@mail.ru Юсубов Мехман Сулейманович д.х.н., проф., зав. каф. общей химии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) Юшков Борис Германович д.м.н., проф., зам. директора по НР, зав. лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии Инсти-

тута иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург)

СОДЕРЖАНИЕ

БОТАНИКА

К читателям «Трудов ТГУ»	3
Бабичева Н.В., Харина Т.Г., Пулькина С.В. Применение анатомических и	
цитогенетических методов в изучении перспективного лекарственного	
растения Eupatorium cannabinum L.	9
Белокопытова Л.В., Бабушкина Е.А., Ваганов Е.А. Влияние климатических	
факторов на радиальный прирост и анатомическое строение годичных	
	12
Бобров Ю.А. Изменение структуры побега некоторых вересковых	
	15
Ганюшкин Л.В., Филимонова М.В., Шепелева Л.Ф. Особенности	
накопления микроэлементов хвойными растениями Мамонтовского	
месторождения в условиях нефтезагрязнения	18
Горохова О.Г., Чевычелов А.П., Коробкова Т.С. Продуктивность	
смородины черной, произрастающей на мерзлотной почве	21
Гребенникова А.Е., Силантьева М.М. Оценка экологического состояния	
ботанического памятника природы «Колыванский борок» (Алтайский край,	
Курьинский район)	24
Грицких М.В., Федоренко О.М., Топчиева Л.В., Лебедева О.Н.	
Сравнительный анализ генетической структуры природных популяций двух	
видов растений <i>Arabidopsis</i> с разной степенью панмиксии	27
Гуляева А.Ф. Анализ флоры мезофильных травянистых лесов Кузнецкой	
котловины	30
Журавлёва И.А., Бобров Ю.А. Структура монокарпического побега Solanum	
dulcamara L. (Solanaceae)	34
Кириллов А.А., Коломейцева Г.Л. Предпосылки создания в России	
национальной коллекции страстоцветов и её сохранение в культуре ex situ	37
Конева В.В. К изучению эпилитных лишайников Томской городской	
агломерации	40
Кузнецов А.А. История изучения рода Woodsia на территории Сибири	
Куровская Л.В., Шестакова Г.А. Принципы проектирования	
	46
<i>Мочалов А.С.</i> Применение методов многомерного шкалирования в	
сравнительной флористике	50
Никитич П.А. Микрофлора тундровых почв Западно-Сибирской равнины	
Никифоров Л.А., Бабешина Л.Г. Особенности морфолого-анатомического	
строения некоторых представителей семейства Lemnaceae S.F. Gray	57
Норбоева Б.Д., Ендонова Г.Б., Гомбоева С.В. Выявление антимикробной	
активности скабиозы	.61

Окуловская А.Г., Свириденко Б.Ф. Зигнемовые водоросли (Zygnematales)	
северных районов Западно-Сибирской равнины	64
Пропастилова О.Ю. Онтогенетическая и возрастная структура	
субценопопуляций <i>Pinus sibirica</i> du tour в лесах в долине р. Актру (Северо-	
Чуйский хребет, Центральный Алтай)	67
Рак А.С., Филиппова А.В. Ландшафтная характеристика городского парка	
отдыха им. В. Волошиной	70
Рогова Н.С., Бабешина Л.Г., Рыжакова Н.К. Корреляционные связи между	
содержанием химических элементов сфагновых мхов и их экологическими	
оптимумами по трофности	72
Романов В.Ю., Климов А.В. Анализ флоры высших сосудистых растений	
гор Марганцевая и Скала (Кузнецкий Алатау)	76
Сагалакова Л.С., Бардонова Л.К. Сравнительная биоморфологическая	
характеристика облепихи (Селенгинское среднегорье)	78
Халтанова Е.П., Холбоева С.А. Разнообразие видов рода Iris L. в Бурятии	81
<i>Шалыгина А.С., Конева В.В.</i> Первые сведения о лишайниках рода Cladonia	
окрестностей города Анжеро-Судженска (Кемеровская область)	83
ВИЛОПООЕ	
Бабкина И.Б., Петлина А.П., Стрелкова А.Э. Морфоэкологические	
особенности ротана-головешки на ранних этапах постэмбрионального	
развития (оз. Сенная Курья, окр. г. Томска)	87
Баздырев А.В., Мурзаханов Е.Б. Новая информация о кречётке в	
Алтайском крае, Новосибирской и Омской областях	90
Баздырев А.В. Орнитологическая ценность Кулундинского озера	
Белокрылова Д.О., Голубица А.Н., Железова А.И., Ходенёва Н.Н.,	
Кизилова Е.А. Заселение гонад химерных мышей потомками эс клеток	
различного происхождения и плоидности	96
Белоусова И.И., Амстиславская Т.Г. Влияние сексуального опыта на	
половое мотивационное и копуляторное поведение крыс Вистар и Охуѕ	100
Владимирова Н.В. Пространственно-типологическая структура и	
организация населения панцирных клещей (Oribatida: Brachypylina,	
	104
Волонцевич Р.В., Куранова В.Н., Ляпков С.М. Возрастная и межгодовая	
изменчивость репродуктивных характеристик локальной популяции	
остромордой лягушки (<i>Rana arvalis</i> Nilsson 1842) пригорода Томска	107
Голованова Е.В. Дождевые черви Омской области	
Грушецкая Т.А., Барашкова П.В., Ситникова Н.В., Токарев Ю.С.	
Вертикальная и горизонтальная передача микроспоридий в лабораторной	
культуре Ostrinia spp. (Lepidoptera: Pyraustidae)	115
Давыдова А.Н. Особенности подкожной мускулатуры ласки	
(Mustela nivalis L., 1766)	118
<i>Девина Н.И.</i> Линейные размеры печени у коз оренбургской пуховой	
породы в онтогенезе	121
Дьяченко Е.В. Структура лесных орнитокомплексов Нижнего Прикетья	
Задирака Е.С., Курхинен Ю.П., Кулебякина Е.В., Муравская Е.А.	
Некоторые результаты учётов численности летяги (<i>Pteromys volans</i> L.)	
на севере Европы	127
Задубровская И.В., Потапова О.Ф., Задубровский П.А., Потапов М.А.	12/
Влияние взаимных брачных предпочтений на репродуктивные характеристики	
у трех видов грызунов	130
Князев С.Ю. Мезофауна лесостепи Омской области	
TOWNED C.10. INTOSOCPAYING MOCOUTERIN OMERON OUMACTN	1 54

Кошелев В.А. Степные рефугиумы позвоночных животных в Северном	
Приазовье: состояние, эффективность и перспективы сохранения	138
$\mathit{Kyчеров}\mathcal{A}.A.,\mathit{Kunяmков}\mathit{B.E.}$ «Пан или пропал»: каннибализм, эффект	
группы и синхронный выход личинок из яиц у жука-листоеда	142
<i>Любая Т.Е.</i> Возраст перехода на самостоятельное питание самцов и самок	
водяной полевки (Arvicola terrestris)	145
Матрухан Т.И. Сезонные аспекты экологической структуры луговых	
птиц Северного Приазовья	148
Новокрещенных В.А. Сравнительная характеристика населения птиц	
поселков Прикетья	151
Попова О.В. Тихоходки мелководной зоны западного побережья южного	1.50
Байкала	133
охотничьего фазана от размеров яиц	156
<i>Юрьев А.Л., Юрьев И.И.</i> Некоторые черты биологии язя <i>Leuciscus idus</i>	130
(Linnaeus, 1758) среднего течения реки Нижняя Тунгуска	160
	100
ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ	
Бедарева А.В., Могилина А.А., Зубрикова К.Ю. Особенности восприятия	
запахов противоположного пола молодыми людьми	165
<i>Брагин А.В.</i> Простые наблюдения за социальным поведением как	
основа для анализа соматических отклонений организма	168
Бурыкин Ю.Г., Соколова А.А. О некоторых физиологических механизмах	
восприятия человеком слабых световых стимулов	171
Быкова М.Ю., Юшков Б.Г. Особенности биохимического состава	
межклеточного вещества костного мозга при остром асептическом воспалении	174
Гафарова Р.К., Брыкина И.А., Юшков Б.Г. Состояние микроциркуляторного	
русла ишемизированной мышцы при изменении функциональной активности	177
Т-системы иммунитета	1//
<i>Паничев А.М., Голохваст К.С.</i> Литофагиальные способы корреции нарушений вещественного состава и пространственно-временной структуры организмов	101
Голохваст К.С., Памирский И.Э., Паничев А.М. Обзор веществ,	101
участвующих в биоминерализации	185
Городилова С.Н., Ишмухаметова М.Н. Биохимические показатели крови	105
некоторых видов бесхвостых амфибий (Rana arvalis, R. amurensis, Peopleox	
ridibunda) на территории Средней Сибири	190
Громова И.С., Кочеткова М.Т. Особенности адаптации и распределения	
активности у студентов разных курсов обучения	193
Дейс Т.В., Томилова И.Н. Особенности реакции на напряженную	
умственную работу младших подростков с разным уровнем агрессивности и	
социометрическим статусом	196
Замяткина М.А. Бурая жировая ткань в лабораторных моделях	
замедленного старения	199
Зеленская А.Е. Влияние наноразмерного диоксида титана на поведение	201
крыс — — — — — — — — — — — — — — — — — — —	201
Ильницкая Е.И., Булатова О.В. ЭЭГ-реакции и субъективная оценка	204
юношами запаховых проб девушек	204
психофизиологического эксперимента по изучению эмоциональной составляю	шей
когнитивных процессов	
Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Войцехович К.О.,	201
<i>Шамшев А.В.</i> Препарат глутоксим, вызывающий реорганизацию актиновых	
филаментов в макрофагах	210
1 1	

Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Бутов С.Н.,	
Крутецкая Н.И. Роль элементов цитоскелета в действии окисленного	
глутатиона и глутоксима на транспорт Na ⁺ в коже лягушки	213
Морозова М.В. Влияние стресса и алкоголя в пренатальном периоде	
на половое предпочтение самцов мышей.	215
Насирова А.Р. Развитие женской патологии в Югре с позиции теории	
хаоса и синергетики	218
Π анова $A.A.$, Φ едотов $C.A.$, $Б$ рагина $IO.B.$ Влияние социального опыта на	
локомоторную активность и поведение ухаживания самцов Drosophila	221
melanogaster	221
Рочева М.И. Выявление топического представительства бинауральных	225
характеристик среднемозгового отдела слуха – заднего двухолмия	225
Семина М.Ю., Стрельникова И.Ю. Влияние различных факторов	220
на состояние органа слуха у студентов	228
Синякова Н.А., Куликов А.В. Участие белка gp130 в механизме действия	•••
бактериального липополисахарида на поведение и нервную систему мышей	230
Трофимов О.В., Екимова В.М., Читаева Е.А., Пак И.В., Сивков Г.С.	
Некоторые цитогенетические и протеомные изменения в крови при лейкозе	
крупного рогатого скота	233
Федураев П.В., Чупахина Г.Н. Влияние макроэлементов питательной	
среды на биосинтез биофлавоноидов у тимофеевки луговой на ранних этапах	
онтогенеза	238
Храмцова Ю.С., Тюменцева Н.В. Репаративная регенерация семенника	
при введении различных иммунокорректоров	241
Чеботарева Е.Н., Рукавцова Е.Б., Бурьянов Я.И. Вакцины против гепатита	
на основе трансгенных растений: результаты доклинических испытаний	245
Особенности экспериментальной инфекции диких мелких грызунов вирусом	
клещевого энцефалита (ВКЭ)	248
Шилкина Е.С., Мустафина Л.Р. Сезонные особенности содержания	
нуклеиновых кислот при немедикаментозной коррекции печени в	
эксперименте	252
ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, МИКРООРГАНИЗМОВ И БИОТЕХНОЛОГИ.	σ
	Л
Ануфриева О.Е., Ветчинникова Л.В., Морозова И.В., Андросова В.И. О	
жирнокислотном составе липидов талломов лишайника Нуродутпіа	
physodes (L.) NYL.	257
Аполинарьева И.К., Батурин С.О. Всхожесть семян в зависимости	
от сроков плодоношения ремонтантной крупноплодной земляники	
(Fragaria x ananassa Duch.)	260
Горина Я.В., Краснов Е.А., Бабешина Л.Г. Исследование химического	
состава и анатомических признаков некоторых видов рода Stellaria	264
Ефимова М.В., Елисеева М.А. Регуляция эпибрассинолидом морфогенеза	
и содержания фотосинтетических пигментов в проростках Arabidopsis	
thaliana (L.)	267
<i>Иркитова А.Н., Соколова Г.Г.</i> Переработка отходов молочного	
производства	272
Корж А.П., Гурьев А.М., Белоусов М.В., Юсубов М.С. Выделение и	
исследование строения водорастворимых полисахаридов из цветков	
календулы лекарственной Calendula officinalis L	275
Кулагина Ю.М., Головацкая И.Ф. Влияние селена на рост и развитие	
растений пшеницы	278
•	

Морозова Т.С., Семёнов С.Ю. Перспективы технологии производства	
биобутанола из гидролизатов лигноцеллюлозного сырья	.281
Мурсалимов С.Р., Дейнеко Е.В. Ультраструктурные особенности	
цитомиксиса как нормального клеточного процесса в ходе микроспорогенеза	
табака	.284
Никитин А.В., Измайлов С.Ф. Нитратный сигналинг сахарозосинтазы и	.20.
локализация нитратассимилирующей функции у растений	.287
Новоселова Е.С., Миронова В.В. Математическое моделирование	.207
распределения ауксина в проводящих тканях Arabidopsis thaliana	.289
Нохсоров В.В., Чепалов В.А., Петров К.А. Роль каротиноидов в адаптации	.20)
побегов пшеницы к низкотемпературному стрессу	.292
Павлова Д.Г., Головацкая И.Ф. Регуляция фоторецепторами cry1 и phyB	. 272
ското- и фотоморфогенеза арабидопсиса на ранних этапах онтогенеза	.296
Плясунова Л.Ю., Ветчинникова Л.В., Ануфриева О.Е. Регенерационная	.270
активность карельской березы <i>in vitro</i> при различной концентрации	
цитокинина	.300
Погуляева Н.С., Сарсацкая А.С. Биотестирование и определение качества	. 500
городской среды с помощью древесных растений	.302
Пожванов Γ .А., Суслов Д.В., Медведев С.С. Реорганизация актинового	. 302
цитоскелета при гравистимуляции корней растений арабидопсиса	.305
Савельева А.В., Трифонова Е.А. Трансгенные растения Nicotiana tabacum	. 505
как генетическая модель для изучения роли нуклеаз в противовирусном	
иммунитете растений	.309
Сафронова И.Н., Колегова Е.Б. Жизненное состояние особей	. 309
Тhymus petraeus Serg. и их ценопопуляций в Хакасии	.312
Серебрякова О.С., Кузнецова Т.Ю., Ветчинникова Л.В. Динамика	. 312
содержания пигментов в женских соцветиях Betula pendula Roth в	
весенне-летний период развития	.314
Синюшин А.А. Явление гибридизации программ развития в морфогенезе	. 514
соцветия муганта determinate гороха посевного (Pisum sativum L.)	.317
Тимергалин М.Д., Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудояров Г.Р.	.317
Характеристика модели для изучения влияния дефицита воды на растения	
пшеницы	.321
Фатыхова Д.Г., Хилинская Я.В., Карамова Н.С., Абдрахимова Й.Р.,	.321
<i>Ильинская О.Н.</i> Антимутагенные эффекты экстрактов лекарственных	
растений	.325
<i>Шуйская Е.В., Жуковская Н.В.</i> Сравнение изоферментного состава	. 525
малатдегидрогеназы и малик-энзима некоторых С ₄ -ксерогалофитов,	
произрастающих в естественных условиях	.327
произрастающих в естественных условиях	.321
ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА	
Григорьева О.О., Шестак А.Г. Использование микросателлитов для	
идентификации двух видов Sorex araneus и Sorex satunini (Mammalia)	331
Гунбин К.В., Турнаев И.И., Афонников Д.А. Молекулярная эволюция циклинов:	. 551
зависимость между изменением белков и ростом сложности эукариот	33/
Гунбин К.В., Генаев М.А., Афонников Д.А. Компьютерная система	. 554
анализа режимов молекулярной эволюции генов и белков	337
Денисов Е.В., Дульцева Т.С., Сухановская Т.В., Малиновская Е.А.,	. 551
<i>Чердынцева Н.В.</i> Феномен потери в опухоли молочной железы аллелей	
тена <i>TP53</i> , ассоциированных с благоприятным прогнозом заболевания	3/10
Емцева М.В., Ефремова Т.Т. Изучение множественного аллелизма	. 540
емцева М.В., Ефремова Т.Т. изучение множественного аллелизма гена VRN-B1 у мягкой пшеницы Т. aestivum L.	3/12
топа <i>и пот-ы</i> у мянкой ишеницы 1. иези <i>чин</i> L	. 543

Ермошин А.А., Синенко О.С., Алексеева В.В., Рукавцова Е.Б.,	
<i>Бурьянов Я.И.</i> Влияние экспрессии гена <i>hmg1</i> на физиолого-биохимические	
характеристики трансгенных растений	346
Иванов Р.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.Особенности динамики ядерного	
протеома в пространственно-временной реорганизации интерфазного	
хроматина g_1 фазы клеточного цикла при переключении морфогенетических	
подпрограмм развития у пшеницы	349
Кашина Е.В., Антонцева Е.В., Шаманина М.Ю., Ощепкова Е.А.,	
Ощепков Д.Ю., Катохин А.В., Гришанова А.Ю., Фурман Д.П., Мордвинов В.А.	
Экспериментальная проверка функциональной активности потенциальных	
DRE-сайтов, обнаруженных в промоторах IRF1, REL и IL12A генов человека	353
Каюмов А.Р., Федорова К.П. Регуляция активности фактора	
транскрипции tnra в клетках Bacillus subtilis путем протеолиза и	
взаимодействия с белками Glnk И GS	357
Коржова В.В., Антонец К.С., Галкин А.П., Сайфитдинова А.Ф.,	
Рубель А.А. Использование методов флуоресцентной микроскопии для	
анализа взаимодействия пептида A _β и Prion Protein в дрожжах	
Saccharomyces cerevisiae	360
Кузнецова Л.Л. Наследование розовой окраски венчика у крупноплодной	
земляники (Fragaria x ananassa Duch.) в бэккроссных скрещиваниях	363
Лунина А.А., Ларионов А.В., Ингель Ф.И., Толочко Т.А., Минина В.И.,	
Головина Т.А. Модифицирующее влияние полиморфизма генов репарации	
ДНК на кластогенные и анеугенные эффекты у детей и подростков из	
г. Таштагола	367
Мавропуло В.А., Лукьянцев С.В., Анисюткин Л.Н., Муха Д.В.	
Молекулярная филогения тараканов рода Blaberus serville, 1831 (Dictyoptera,	
Blattina)	370
Мартынова Е.У., Капелинская Т.В., Муха Д.В. Характеристика капсидных	
белков денсовируса рыжего таракана Blattella germanica (BgDNV)	374
$Mедеедее K.E.$, $Aфонников \mathcal{L}A$. Анализ структур белков архей-пьезофилов	
под влиянием высокого давления с помощью компьютерных методов	378
Митрошина Ю.С., Колоколова Н.Н. Коллекция фитопатогенных грибов	
как источник информации по получению и сохранению видового и	
штаммового разнообразия	381
Перишна А.Г., Серебров В.Ю., Сазонов А.Э. Структурно-функциональные	
особенности молекул нуклеиновых кислот, связанных с наночастицами	
феррита кобальта	383
Помазной М.Ю., Татьков С.И. Исследование транскрипционно	
активных генов печеночного сосальщика Opisthorchis felineus	387
Романов К.В., Балышева В.И., Катохин А.В., Мордвинов В.А.	
Молекулярная филогения видов моллюсков семейства Bithyniidae на основе	204
митохондриальных и ядерных последовательностей.	391
Сабирова А.Р., Рудакова Н.Л., Данилова Ю.В., Балабан Н.П.,	206
Шарипова M.P. Металлопротеиназа Bacillus intermedius	396
Сивков А.Ю., Татьков С.И., Мордвинов В.А. Обнаружение в	
Новосибирской области среди штаммов M. tuberculosis генотипов,	200
ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью	399
Зайцев А.А., Симоненко А.В., Рощина Н.В., Пасюкова Е.Г.	
Исследование роли гена Escargot в контроле продолжительности жизни	400
Drosophila melanogaster	402

Скапцов М.В., Куцев М.Г. Генетическая трансформация	
Hydrangea macrophylla с помощью векторной системы Agrobacterium	
tumefaciens	.405
Пономаренко П.М., Пономаренко М.П., Суслов В.В., Омельянчук Н.А.	
ТАТА-боксы генов микроРНК (миРНК), вносящие вклад в норму реакции	.407
Тимонов В.С., Турнаев И.И., Генаев М.А., Гунбин К.В. Компьютерная	
система филогенетического анализа генных сетей: изучение эволюции генной	
сети клеточного цикла животных	.412
Тропынина Т.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А. Физиолого-биохимические	
особенности жизненного цикла популяции E. coli.	.415
Ульянова В.В., <i>Шах Махмуд Р., Вершинина В.И.</i> Суперпродуценты	
гуанилспецифичных рибонуклеаз	.418
Федорова К.П., Каюмов А.Р. Влияние с-концевого домена фактора	
транскрипции TnrA на его взаимодействие с белком BsGlnK	.421
Хамина К.В., Степанов В.А., Харьков В.Н., Штыгашева О.В. Филогения и	
филогеография гаплогруппы N1b Y-хромосомы в популяциях человека Волго-	
Уральского региона, Западной и Южной Сибири	.424
Чередниченко А.А., Жейкова Т.В., Голубенко М.В. Полиморфизм	
митохондриальной ДНК при мультифакториальных заболеваниях человека	.427
Чуманова Е.В., Ефремова Т.Т. Изучение изменчивости количественных	
признаков при межсортовом замещении хромосом 5A и 5D мягкой пшеницы	
Саратовская 29	.430
Наши авторы	
•	

Научное издание

Труды Томского государственного университета

Серия биологическая:

Фундаментальные и прикладные аспекты современной биологии

Материалы Первой Всероссийской молодежной научной конференции, посвященной 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете

Редактор В.Г. Лихачева Подготовка оригинал-макета Д.М. Кижнера

Подписано в печать 01.10.2010 г. Формат $70\times108^1/_{16}$. Печ. л. 29,0; усл. печ. л. 27,0; уч.-изд. л. 27,5. Тираж 500. Заказ