



*Министерство образования и науки Российской Федерации  
ГОУВПО «Мордовский государственный университет  
имени Н.П. Огарева»*

# **СТУДЕНТЫ – НАУКЕ XXI ВЕКА**

## **СБОРНИК НАУЧНЫХ РАБОТ СТУДЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

САРАНСК  
ИЗДАТЕЛЬСТВО МОРДОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА  
2006

УДК  
ББК

Редакционная коллегия:

д.б.н. *Л. В. Кузьмичева*, к.б.н. *А. Г. Каменев*, д.б.н. *В. А. Кузнецов*,  
д.б.н. *А. С. Лукаткин*, д.б.н. *В. В. Ревин* (отв. редактор),  
к.б.н. *А. Б. Ручин* (отв. редактор), д.б.н. *В. А. Трофимов*

**Студенты – науке XXI века: Сб. научн. работ студ. биолог. фак-та /** Редакол.: В. В. Ревин и А. Б. Ручин (отв. ред.) и др. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2006. – 80 с.

В сборнике представлены работы студентов биологического факультета по различным проблемам физиологии, биохимии и генетики животных и растений, биотехнологии, проблемам загрязнения окружающей среды.

Тематика представленных сообщений разнообразна и будет интересна как специалистам биологам и экологам, так и неспециалистам, интересующимся указанными направлениями.

УДК  
ББК

© макет А.Б. Ручин, 2006  
© Коллектив авторов, 2006

## ВЛИЯНИЕ ПЕКТИНА НА УРОВЕНЬ ХОЛЕСТЕРИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Л.В. Аникина, Н.В. Альба

В современный период научно-технического прогресса и социально-экономических преобразований экологическая ситуация в нашей стране оказалась неблагоприятной для здоровья человека. Это привело к изменению в структуре заболеваемости населения: сердечно-сосудистые, онкологические и гастроэнтерологические заболевания (ГЭЗ) заняли приоритетное место среди прочих заболеваний населения Республики Мордовия и города Саранска [1]. Проблема ГЭЗ, в особенности гастрита и язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, в настоящее время полностью сохраняет свою актуальность в связи с широкой распространенностью, расширением возрастного диапазона заболевания и нередким сочетанием с заболеваниями других органов и систем. Гастрит, по определению Покровского В.И., – это заболевание желудка, характеризующееся воспалением его слизистой оболочки. Различают острую и хроническую форму гастрита, причем последняя нередко осложняется язвенной болезнью, которая, в свою очередь, характеризуется образованием дефекта (язвы) в слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, а также расположенных под ними тканей [1].

В последние годы усилиями ряда авторов удалось глубже изучить патогенез гастрита и язвенной болезни и понять, что бактериальный компонент (*Helicobacter pylori*) является лишь иницирующим звеном, а затем ведущая роль отводится деструктивным процессам, которые, в свою очередь, зависят от структурно-функционального состояния биомембран.

Одним из структурных компонентов биомембран, вызывающим их дестабилизацию, является холестерин (ХС). При поступлении с пищей избытка ХС, дополнительное его вхождение в мембрану клеток понижает ее жидкостные свойства, что отражается на проницаемости мембраны для ионов и ее метаболической активности в целом. Поэтому определение ХС при гастрите и язве является одним из наиболее информативных критериев расстройства липидного гомеостаза. Более того, ХС в больших количествах оказывает структурно-деформирующий эффект на липопротеиновые частицы плазмы крови, в частности на липопротеины низкой плотности (ЛПНП), являющиеся основной транспортной формой ХС в ткани, в результате чего они становятся атерогенными и поэтому также могут служить критерием глубины нарушения липидного обмена [1, 2].

Для обнаружения изменений в липидном составе крови у больных ГЭЗ, нами было обследовано 10 пациентов, среди которых 8 человек с гастритом, причем половина с гастритом с повышенной кислотностью, остальные – с пониженной кислотностью, и 2 человека с язвой, а также 30 практически здоровых людей (доноров), показатели которых выбраны в качестве контроля. При анализе липидного спектра больных и здоровых людей использовали методики определения содержания ХС в сыворотке крови (по Ильку, 2000) и ЛПНП (по Алейниковой, 1988) (табл. 1).

При анализе данных о содержании ХС и ЛПНП в крови больных ГЭЗ, мы отмечаем общее повышение их уровня у всех пациентов (табл. 1). Так, содержание в крови ХС при язвенной болезни возрастает на 64,8%, по сравнению с контролем. По этому показателю к язве приближается гастрит с повышенной кислотностью: уровень ХС при нем увеличивается на 64,3%. Между тем при гастрите с пониженной кислот-

ностью концентрация ХС в крови возрастает на 40,7%, по сравнению с нормой. Разный процент повышения концентрации ХС показывает зависимость степени роста этого показателя от глубины патогенеза заболевания. Следствием повышения уровня ХС в крови является интенсификация процессов перекисного окисления липидов, что, в свою очередь, вызывает окисление ЛПНП и увеличение их атерогенных форм на 69,6% при язвенной болезни, и на 66,7% и 50,4% соответственно при гастритах с повышенной и пониженной кислотностями. Увеличение этих показателей, по-видимому, связано с деградацией как липидных, так и белковых участков и перераспределением зарядов на поверхности части липопротеинов [2] (рис. 1)

Таблица 1 – Средние биохимические показатели содержания холестерина (ХС) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови больных ГЭС

Исследуемая группа	ХС, ммоль/л M ± m	ЛПНП, г/л M ± m
Контроль	4,30 ± 0,28	3,40 ± 0,20
Язвенная болезнь	12,20 ± 3,40***	11,2 ± 3,20***
Гастрит с повышенной кислотностью	12,05 ± 3,5***	10,2 ± 2,90***
Гастрит с пониженной кислотностью	7,25 ± 2,05***	6,86 ± 1,97***

\* – по отношению к донорам (\*\*\*) – p < 0,001

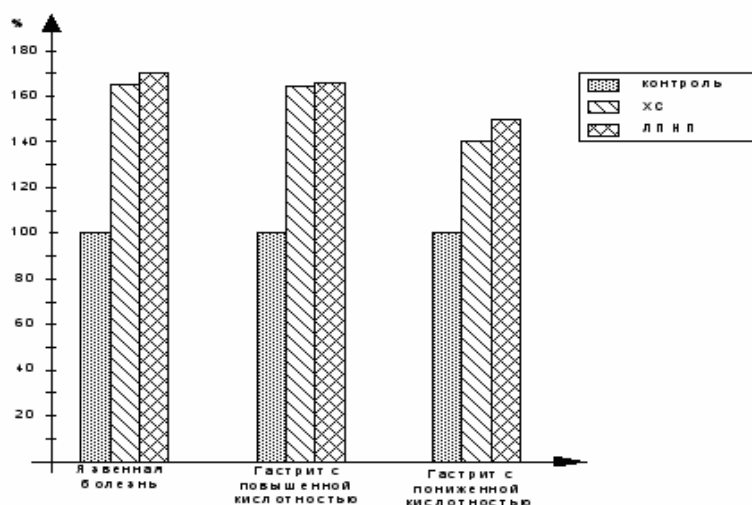


Рисунок 1 – Содержание ХС и ЛПНП в крови больных гастроэнтерологическими заболеваниями по сравнению с контролем (нормой)

Современное медикаментозное лечение заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) должно быть комплексным, с индивидуальным подходом к учету возможных ведущих патогенетических механизмов, направленных на повышение резистентности и защитных свойств слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. В связи с этим весьма интересны перспективы использования пектинов в качестве веществ, многопланово воздействующих на организм человека [3, 4].

В настоящее время научно доказаны сорбционные, детоксикационные, бактерицидные, спазмолитические, иммуномодулирующие свойства пектина. Пектин обладает выраженным энтеросорбентным эффектом, является протектором при поступлении в организм радионуклидных металлов. Имеются данные Е.Б. Лазаревой о вы-

раженном гипохолестеронемическом эффекте пектина. Благодаря исследованиям, проведенным ВОЗ и ФАО, установлено, что назначение пектина в качестве пищевой добавки оказывает противоязвенный эффект, регулирует перистальтику кишечника, нормализует моторную функцию желчевыводящих путей и, как следствие, улучшает работу всего ЖКТ [3, 4, 5].

Основываясь на данных о благоприятном воздействии пектина на функциональное состояние органов пищеварения, мы применили препарат БАД-Пекто производства «Мегавитпром» № 024161/07–2000 регистрации в РФ, представляющего собой смесь, состоящую из трех пектиновых компонентов, выделенных из апельсина, лимона и грейпфрута, в качестве лечебно–профилактического средства при гастрите и язве. Проводилось стационарное лечение (на фоне комплексной диетической и лекарственной терапии) 10 больных.

Нами применялся 3%-ный раствор пектина внутрь (пероральный прием) 1 раз в день: утром натощак. Данная доза согласуется с рекомендациями Минздрава, согласно которым суточная потребность в пектиновых веществах для обычных групп населения должна составлять для взрослых 3–4 г в день, а для детей – 1–2 г [4]. Продолжительность лечения БАД–Пекто составила 10 дней, по прошествии которых у всех больных вновь была взята кровь на определение содержания в ней исследуемых показателей: ХС и ЛПНП (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние БАД-Пекто на содержание холестерина (ХС) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови больных гастроэнтерологическими заболеваниями

Исследуемая группа	ХС, ммоль/л М ± m	ЛПНП, г/л М ± m
Контроль	4,30 ± 0,28	3,40 ± 0,20
Язвенная болезнь	9,45 ± 2,75***	9,95 ± 2,85***
Гастрит с повышенной кислотностью	8,87 ± 2,55***	9,00 ± 2,57***
Гастрит с пониженной кислотностью	5,30 ± 1,67*	6,07 ± 1,72**

\* – по отношению к донорам (\* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001)

При обработке полученных данных было выяснено, что после 10–дневного применения 3%-ного раствора пектина содержание ХС (*in vivo*) в сыворотке крови в группе больных язвой уменьшилось на 23,5%, а у больных с гастритом обеих групп – в среднем на 26,5%, однако оно не достигло контрольных показаний (рис. 2). Подобным образом пектин оказывает положительное влияние на концентрацию ЛПНП: по прошествии 10 дней у больных всех трех групп происходит снижение их уровня в среднем на 11,5% (рис. 3). Одним из возможных механизмов снижения ХС и ЛПНП в крови при включении пектина в рацион является связывание желчных кислот, главным образом холевой и дезоксихолевой, т.е. продуктами метаболизма ХС. Это связывание, вероятно, происходит через образование Са–мостиков между карбоксильными группами пектинов и молекулами желчных кислот [3]. Таким образом, на основании полученных данных можно рекомендовать включение пектина в повседневный пищевой рацион в качестве препарата, оказывающего гипохолестеронемическое действие и улучшающего общее состояние здоровья: отмечается уменьшение болей в области желудка, горечи во рту и изжоги [5].

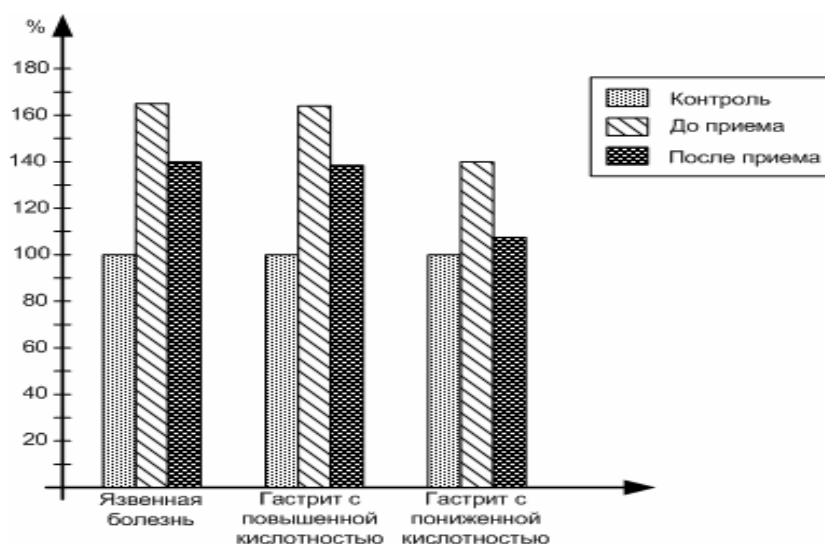


Рисунок 2 – Содержание ХС у исследуемых групп больных до и после приема БАД-Пекто.

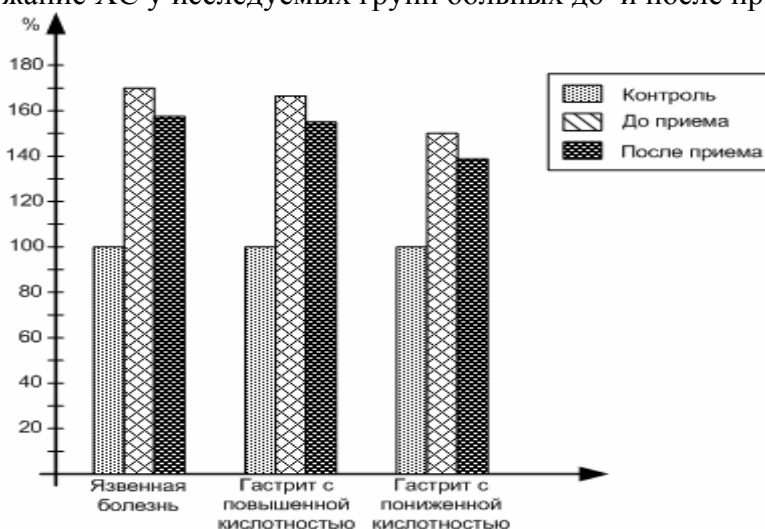


Рисунок 3 – Содержание ЛПНП в крови исследуемых групп больных до и после приема БАД-Пекто.

Мы, конечно, далеки от мысли, что полученные нами данные по влиянию пектина на липидный обмен, главным образом на ХС и ЛПНП, являются исчерпывающими, но, тем не менее, полагаем, что они значительно расширяют знания по данному вопросу и могут служить практической основой для пектиновой терапии больных ГЭЗ, а, следовательно, являются весьма перспективными и требуют дальнейшего глубокого клинического изучения.

1 Покровский, В.И. Популярная медицинская энциклопедия – 3-е изд. – В одном томе. Аборт-Ящур. – М.: «Советская энциклопедия», 1991. – 688с.

2 Власов, А.П. Роль нарушений липидного гомеостаза в патогенезе перитонита / А.П. Власов, В.А. Трофимов, Р.З. Аширов. – Саранск: Изд-во Морд. ун-та, 2000. – 208 с.

3 Лазарева, Е. Б. Опыт и перспективы использования пектинов в лечебной практике /Е. Б. Лазарева, Л. Л. Меньшиков // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – 2. – С. 37–39.

4 Берикетов, А.С. Методические указания по использованию в лечебно-профилактических целях пектинов и пектиносодержащих продуктов № 5049–89. МЗ СССР, Госагропром УССР. Киев: Урожай. – 1990. – 16 с.

5 Альба, Н. В. Использование пектина в лечебно-профилактических целях при гастрите и язве желудка / Н. В. Альба, Л. В. Аникина, С. В. Белякова // Естественнонаучные исследования: теория, методы, практика. – Саранск, 2004. – С. 91–93.

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МАКРОФАГОВ

А.Ю. Асаинова, О.Н. Аксёнова

Макрофаги являются производными мезенхимы и относятся к лимфоидному ряду. Они обладают способностью к амебоидному движению, заглатыванию и перевариванию с помощью внутриклеточных ферментов различных частиц и растворенных веществ – как эндогенных, так и чужеродных. В настоящее время интенсивно исследуется роль макрофагической системы в воспалительном и инфекционном процессах, поэтому наиболее подробно экспериментально изученным объектом из числа этих клеток является перитонеальный макрофаг (**ПМФ**). Важную роль в исследованиях активности и функций макрофагов, а также для проведения молекулярно-генетических исследований играет метод искусственного культивирования. В данном случае культивирование означает поддержание жизнеспособности, поскольку известно, что нормальные дифференцированные макрофаги млекопитающих, как правило, *in vitro* не размножаются. Однако проблема культивирования макрофагов достаточно сложна: необходимо соблюдать ряд условий содержания этих клеток в культуре, особенно, если они выделяются из воспалительного экссудата, где могут быть повреждены и элиминироваться путем некроза или апоптоза [1, 2]. Проблема поддержания жизнеспособных перитонеальных макрофагов в культуре недостаточно изучена, в соответствии с этим нами сформулирована цель: изучить теоретические и практические аспекты проблемы культивирования (*in vitro*) перитонеальных макрофагов. В соответствии с целью поставлены следующие задачи исследования: 1) выявить жизнеспособность **ПМФ**, выделенных из брюшной полости крыс линии Wister; 2) подобрать оптимальные условия культивирования **ПМФ**; 3) определить тип гибели **ПМФ** при культивировании *in vitro* в течение 6, 12, 24, 48 часов.

Мы культивировали макрофаги в среде Хенкса с добавлением антибиотиков на предметных стеклах во влажной камере. Через определенный промежуток времени проводили тест с трипановым синим на жизнеспособность клеток, окрашивали их с АО и по Поппенгему-Крюкову. Такой метод получения однослойных культур широко применяется. Он дает возможность исследовать отдельно клетки и взаимоотношение между ними в нормальных и измененных экспериментальных условиях. Для культивирования **МФ** используют и специально сконструированные камеры (например, камеры Тревана и Робертса, Круикшенка, Купера и Конрана и др.).

При содержании **ПМФ** в культуре до 6 часов их жизнеспособность составила 95-98% (рис. 1). Выделенные макрофагальные клетки имели круглое или овальное ядро достаточно большого размера, содержащее 1-2 ядрышка, цитоплазма очерчена не резко. При культивировании макрофагальных клеток дольше 6 часов наблюдается их массовая гибель. Содержание жизнеспособных **ПМФ** снижается до 1-8% (рис. 1). Причем **ПМФ** погибает преимущественно путем апоптоза (90-96%). Содержание некротических клеток составило 1-2% (рис. 2). При содержании **ПМФ** в культуре мы не стимулировали их гибель путем апоптоза или некроза. Таким образом, в условиях культивирования **ПМФ** отличаются высокой жизнеспособностью в течение 5-6 часов, при содержании клеток в культуре дольше 6 часов наблюдается их гибель путем апоптоза.

Нами получены данные по жизнеспособности культивируемых **ПМФ**, выделенных из брюшной полости крыс линии Wister, а также по их склонности к индуцируемой гибели путем некроза или апоптоза при культивировании *in vitro* в течение 6,

Жизнеспособность, %

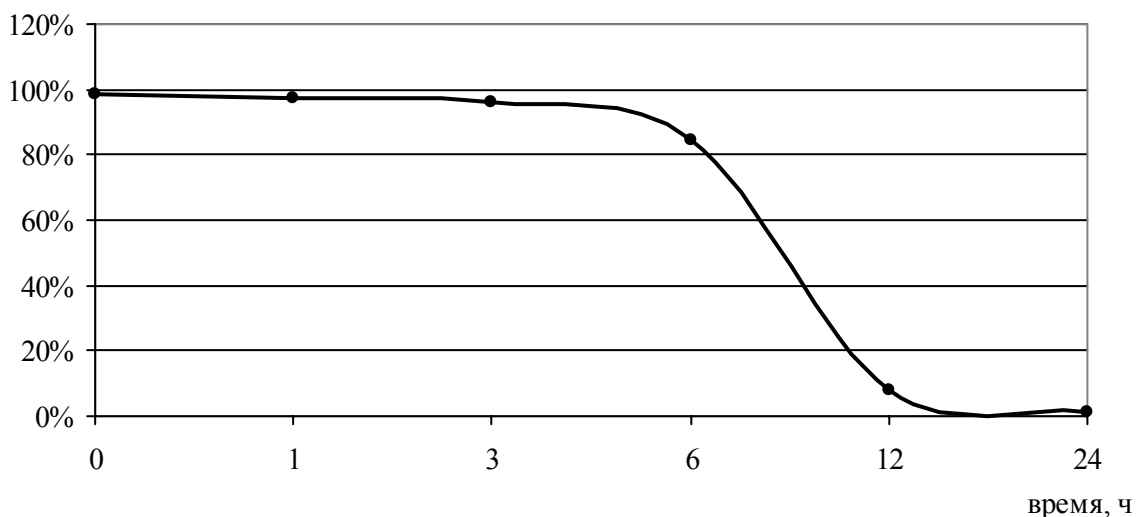


Рисунок 1 – Изменение содержания жизнеспособных ПМФ в культуре с течением времени.

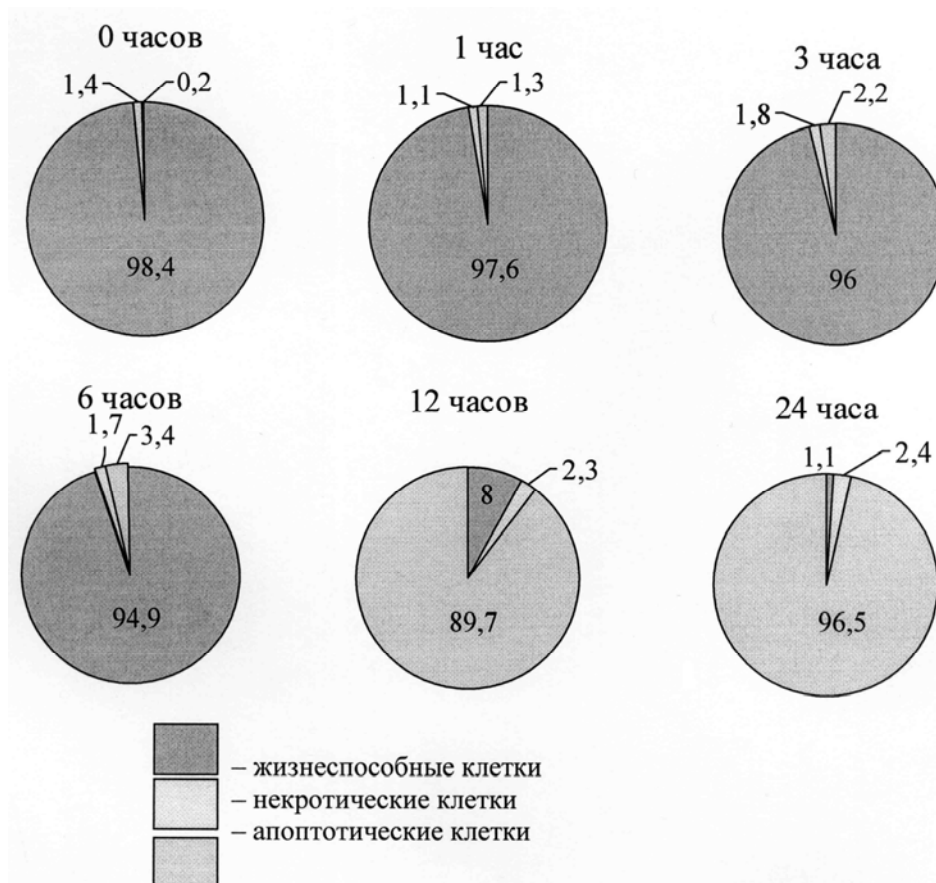


Рисунок 2 – Изменение соотношения между жизнеспособными апоптотическими и некротическими клетками в культуре с течением времени.

12, 24, 48 часов. После 6-ти часов культивирования отмечается высокий процент клеток, погибающих путем апоптоза.

1. Хансон, К.П. Апоптоз: современное состояние проблемы / К.П. Хансон // Известия АН. Серия Биологическая, 1998. – №2. – С.134-141.
2. Самуилов, В.Д. Программируемая клеточная смерть / В.Д. Самуилов, А.В. Олескин, Е.М. Лагунов // Биохимия, 2000. – Т. 65 – № 8 – С. 1029 –1046



## РАСТИТЕЛЬНЫЙ ПОКРОВ ПОЙМЕННЫХ ОЗЕР МОРДОВСКОГО ПРИСУРЬЯ

Е.В. Варгот, Т.Б. Силаева

К настоящему времени имеются многочисленные исследования флоры и растительности различных водных объектов [1]. Способность водных макрофитов накапливать различные поллютанты делают возможным использование их для долговременной индикации. Поэтому необходима организация многолетних наблюдений за растительными сообществами водоемов [2]. Кроме того, изучение флоры и растительности водоемов дает понятие о возникновении, историческом развитии этой группы растений, а также предполагает возможные тенденции в их дальнейшем развитии [3].

Растительный покров пойменных озер Мордовского Присурья специально почти не изучался. Имеются лишь сведения о флоре водоемов во флористических списках Мордовского Присурья и окрестностей биостанции Мордовского университета, а также специально изучена флора озера Инерка [4, 5, 6]. Поэтому объектами наших исследований стали расположенные в этом районе пойменные озера. Целью данной работы является изучение флористического и фитоценотического состава озер Мордовского Присурья. Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

- выявить флористический и фитоценотический состав растительного покрова указанных пойменных озер;
- составить конспект их флоры и продромус растительности;
- проанализировать структуру флоры и синтаксономический состав растительности озер- стариц;
- определить значения запасов фитомассы водных растений на изучаемых озерах- старицах;
- определить значения коэффициентов степени зарастания и показателей фитомассы указанных водоемов.

Исследование водной и прибрежно-водной флоры и растительности проводилось в период с 20 июня по 14 августа 2005 года в Симкинском лесничестве Большеберезниковского района и Николаевском лесничестве Дубенского района. Полевые флористические исследования проведены традиционным маршрутным методом. Всего было обследовано 26 озер. Также мы использовали материалы исследований озера Инерка в 2001 году [6]. В данной работе приведен перечень видов "водного ядра" флоры пойменных озер Мордовского Присурья, то есть при составлении списка водных растений мы использовали подход А.В. Щербакова и В.Н. Тихомирова [3, 7].

В результате изучения флоры пойменных озер Мордовского Присурья было выявлено 136 видов высших сосудистых растений, относящихся к 67 родам и 56 семействам. В озере Тростное был зарегистрирован мох *Riccia fluitans* (единичный экземпляр).

Отдел *Equisetophyta* составляет 1,47% флоры, *Equisetophyta* - 1,47%, *Magnoliophyta* – 97,06%. В том числе 59,5% приходится на класс *Liliopsida* и 40,5% - на класс *Magnoliopsida*. Значительное участие однодольных во флоре является особенностью гидрофильной флоры Мордовского Присурья.

На долю 6 ведущих по видовому разнообразию семейств приходится 79 видов, что составляет 46,8% общего состава флоры гидрофитов. Это такие семейства как *Superaceae*, *Potamogetonaceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Ranunculaceae* и *Juncaceae* (19, 13, 12, 8, 6 и 6 видов соответственно). Семейства *Lemnaceae*, *Labiatae* и *Scrophulari-*

*aceae* содержат по 4 вида; сем. *Sparganiaceae*, *Alismataceae*, *Hydrocharitaceae*, *Gru-ciferae*, *Callitrichaceae*, *Lytracae*, *Umbelliferae*, *Primulaceae* и *Compositae* – по 3 вида; сем. *Equisetaceae*, *Typhaceae*, *Najadaceae*, *Nymphaeaceae*, *Haloragaceae*, *Boraginaceae*, *Lentibulariaceae* и *Rubiaceae* – по 2 вида. В остальных 14 семействах отмечено по 1 виду растений. Семейственный спектр типа *Cyperaceae* – *Potamogetonaceae* – *Poaceae* также является особенностью флоры «водного ядра» Мордовского Присурья.

По числу родов лидируют семейства *Poaceae*, *Cyperaceae*, *Hydrocharitaceae* (9, 4 и 3 рода соответственно). 11 семейств представлены 2 родами, а остальные семейства включают по одному роду. Наибольшим видовым богатством отличаются роды *Potamogeton*, *Carex*, *Juncus* и *Ranunculus* (13, 9, 6 и 5 видов соответственно). Род *Scirpus* включает 5 видов, роды *Eleocharis*, *Rumex* и *Polygonum* содержат по 4 вида; роды *Sparganium*, *Callitrichae*, *Lemna* – 3 видами. 16 родов включают по 2 вида, а остальные – по одному виду.

Согласно классификации жизненных форм И.Г. Серебрякова, среди водных растений преобладают поликарпические длиннокорневищные травы (50 видов; 36,7%), поликарпические кистекорневые травы (29 вида; 16,9%), монокарпические однолетние травы (22 видов; 16,1%), что объясняется таким фактором как непостоянный уровень воды в старицах рек. На поликарпические надземностолонные травы приходится 12 видов, на поликарпические короткорневищные травы – 9 видов, на поликарпические рыхлокустовые травы – 8 видов, 6 видов – на поликарпические ползучие травы, 3 вида – на поликарпические стержнекорневые травы. По одному виду приходится на поликарпические подземностолонные травы, лиановидные кустарники и монокарпические многолетние и двулетние травы. Заметим, что среди водных растений совсем нет деревьев и кустарников.

По степени приспособленности к условиям жизни в водной среде растения изучаемой флоры принадлежат к 4 экологическим группам (экотипам): I – гидрофиты (39 вид), II – гелофиты (15 видов), III – гигрогелофиты (33 вида), IV – гигрофиты (49 видов). Из 136 видов водной флоры, в основном, в непроточных озерах, встречаются виды *Utricularia minor* и *Utricularia vulgaris*, которые являются плотоядными. Остальные растения являются автотрофами.

Из жизненных форм по Раункиеру преобладают гемикриптофиты, гелофиты и терофиты (60, 41 и 18 видов соответственно). Далее следуют геофиты (15 видов). Со всем малочисленны нанофанерофиты (1 вид) и травянистые хамефиты (1 вид).

Отмечено преобладание видов с голарктическим (45 вида; 34,7%), евразийским (33 видов; 24,2%) и плюрирегиональным (20 видов; 14,7%) ареалами, что еще раз подчеркивает такую особенность водных видов, как большие площади ареалов. По принадлежности к широтной географической группе преобладают плюризональные виды (69 видов; 50,7%) и бореальные виды (56 вида; 41,5%). На бореально-неморальные, степные и гипоарктобореальные виды, вместе взятые, приходится лишь 8,2%.

Из эколого-фитоценологических групп преобладают, конечно же, водные и прибрежно-водные растения (67 видов; 49,2%). Гораздо менее многочисленные лугово-болотные (17 видов; 12,5%), водно-болотные (12 видов; 8,8%), болотные (11 видов; 8,08%), сорные и сорно-луговые (по 8 видов; по 6,4%), лесно-болотные (6 видов; 4,8%), лесные и луговые (по 2 вида; 1,6%), лесно-луговые и прибрежно-аллювиальные растения (по 1 виду; по 0,8%).

В хозяйственной деятельности человека используются и водные растения. Кормовых насчитывается 22 вида, лекарственных растений – 17 видов, пищевых – 3

вида. К медоносным растениям можно отнести 19 видов, 2 вида имеют красильные свойства. В декоративном отношении могут быть использованы 15 видов. Дубильными свойствами обладают 4 вида, к группе технических растений относят 2 вида. Крахмалоносными являются 6 растений. Столько же видов могут быть применены в качестве удобрений при массовом скоплении в озерах. 1 растение используется как поделочное. Являются ядовитыми для животных и для человека 10 растений.

При составлении продромуса растительности озер Мордовского Присурья использовался указанный выше доминантно-детерминантный подход [1]. Все ассоциации водных и прибрежно-водных растений включены в тип водной растительности, который содержит 3 группы классов (настоящая водная растительность, прибрежно-водная растительность и гигрогелофитная растительность), в которые включены классы формаций настоящей водной растительности и гелофитной растительности. Всего выделено 6 групп формаций, которые включают 29 формаций и 44 ассоциации.

Для выяснения степени зарастания озер были подсчитаны показатели степени их зарастания и показатели фитомассы [1]. Согласно показателю степени зарастания (эта величина характеризует степень зарастания поверхности озер) к очень слабо заросшим относится участок оз. Старая Сура ( $P_c = 4\%$ ), к слабо заросшим – озера Гусиное ( $P_c = 7\%$ ), Широкое ( $P_c = 9\%$ ) и Инерка ( $P_c = 10\%$ ). Умеренно заросшими являются озера Медведка ( $P_c = 12\%$ ), Монашкино болото ( $P_c = 12\%$ ), Долгое ( $P_c = 15\%$ ), Желтенькое ( $P_c = 16\%$ ), Затон ( $P_c = 18\%$ ), Черное ( $P_c = 18\%$ ), Глубокое ( $P_c = 23\%$ ), а значительно заросшими – Пыжевка ( $P_c = 31\%$ ) и Пиявочное болото ( $P_c = 32\%$ ). К сильно заросшим нами отнесены озера Тростное ( $P_c = 53\%$ ), Дельфин (пойма р. Суры в районе биостанции Мордовского университета,  $P_c = 65\%$ ) и безымянное озеро в пойме р. Суры в Дубенском районе ( $P_c = 65,0\%$ ), к очень сильно заросшим – озера Желтое ( $P_c = 68\%$ ), Круглое ( $P_c = 70\%$ ), Кучапа ( $P_c = 77\%$ ), Сальвиниевое ( $P_c = 78\%$ ), Сосновка ( $P_c = 78\%$ ) и Барское ( $P_c = 82\%$ ). Сплошь заросшим является озеро Луговое ( $P_c = 98\%$ ), расположенное на границе Республики Мордовия и Ульяновской области. Таким образом, по площади покрытия водными макрофитами поверхности озер самым заросшим является озеро Луговое.

Судя по показателю фитомассы (характеризует скорость зарастания водоема) к очень слабо зарастающим относятся озера Широкое ( $P_f = 0,13 \text{ кг/м}^2$ ), Долгое ( $P_f = 0,17 \text{ кг/м}^2$ ), Пыжевка ( $P_f = 0,23 \text{ кг/м}^2$ ), Желтенькое ( $P_f = 0,26 \text{ кг/м}^2$ ), Затон ( $P_f = 0,28 \text{ кг/м}^2$ ), Черное ( $P_f = 0,30 \text{ кг/м}^2$ ), участок Старой Суры ( $P_f = 0,31 \text{ кг/м}^2$ ), Глубокое ( $P_f = 0,36 \text{ кг/м}^2$ ), Гусиное ( $P_f = 0,36 \text{ кг/м}^2$ ), безымянное пойменное озеро ( $P_f = 0,58 \text{ кг/м}^2$ ), Монашкино болото ( $P_f = 0,59 \text{ кг/м}^2$ ), Инерка ( $P_f = 0,66 \text{ кг/м}^2$ ), Медведка ( $P_f = 0,78 \text{ кг/м}^2$ ) и Тростное ( $P_f = 0,79 \text{ кг/м}^2$ ), к слабо зарастающим – озера Кучапа ( $P_f = 1,09 \text{ кг/м}^2$ ), Круглое ( $P_f = 1,11 \text{ кг/м}^2$ ), Пиявочное болото ( $P_f = 1,12 \text{ кг/м}^2$ ), Дельфин ( $P_f = 1,30 \text{ кг/м}^2$ ), Барское ( $P_f = 1,38 \text{ кг/м}^2$ ), Верхние Черники ( $P_f = 1,53 \text{ кг/м}^2$ ), Кучуги ( $P_f = 1,57 \text{ кг/м}^2$ ) и Калэрке ( $P_f = 1,79 \text{ кг/м}^2$ ), к умеренно зарастающим – Сальвиниевое ( $P_f = 2,39 \text{ кг/м}^2$ ), Сосновка ( $P_f = 2,81 \text{ кг/м}^2$ ) и Луговое ( $P_f = 3,00 \text{ кг/м}^2$ ), к значительно зарастающим – участок озера Желтое ( $P_f = 3,22 \text{ кг/м}^2$ ). По приведенным данным можно предположить, что быстрее всего в следующую стадию сукцессионного процесса (стадию низового болота или пойменного луга) перейдут озера Желтое, Луговое, Сосновка и Сальвиниевое. Нужно отметить, что наибольший вклад в продукцию биомассы вносят такие виды как *Stratiotes aloides*, *Elodea canadensis*, *Nuphar lutea*, *Potamogeton natans*, *P. lucens*, *Ceratophyllum demersum* и некоторые другие.

В общем, необходимо обратить внимание на тот факт, что озера, расположенные с севера района исследований зарастают сильнее, чем озера, расположенные южнее. Возможно, это связано с построением Сурского водохранилища и, как следствие, уменьшением потока воды в период весенних паводков. Такой процесс зарастания носит не только естественный ход, и уже чувствуется антропогенное вмешательство в водные экосистемы Присурья.

Красная книга Республики Мордовия вышла в 2003 году [8]. Не миновали включения в нее и растения изучаемой нами группы (всего их 10): *Salvinia natans*, *Potamogeton acutifolius*, *P. gramineus*, *P. obtusifolius*, *Najas major*, *N. minor*, *Ranunculus polyphyllus*, *Elatine hydropiper*, *Trapa natans*, *Senecio tataricus* (категории статуса редкости 2, 4, 4, 3, 2, 1, 3, 3, 1, 3 соответственно), то есть, это виды уязвимые и редкие. Кроме "краснокнижных" растений к редким и исчезающим на территории Мордовского Присурья относятся *Sparganium minimum*, *Potamogeton friesii*, *Zannichellia palustris*, *Scolochloa festucacea*, *Cyperus fuscus*, *Scirpus radicans*, *Scirpus tabernaemontani*, *Calla palustris*, *Nymphaea candida*, *Nuphar lutea*, *Elatine alsinastrum*, *Utricularia minor*, *Lemna gibba*. Эти растения были внесены в список редких в 1996 г. [5, 9]. Во время полевых исследований В.К. Левиным и группой студентов был найден новый вид для Республики Мордовия - *Potamogeton nodosus*. Кроме того, нами впервые в Мордовском Присурье найдены *Potamogeton acutifolius* и *P. gramineus* и обнаружены новые местонахождения *Salvinia natans*, *P. obtusifolius*, *Senecio tataricus*, *Scirpus radicans*, *Potamogeton friesii*, *Zannichellia palustris*, *Cyperus fuscus*, *Scirpus radicans*, *Calla palustris*, *Elatine alsinastrum*, *Utricularia minor*. Таким образом, на исследованной территории выявлено 23 вида редких и исчезающих растений. Из них нами не зарегистрированы *Ranunculus polyphyllus*, *Elatine hydropiper*, *Sparganium minimum*, *Scolochloa festucacea* и *Scirpus tabernaemontani*.

Местообитания всех этих растений находятся на территории охотничьих заказников "Присурье" и "Клуб правильной охоты", где водные растения специально не охраняются. Порой люди даже не понимают важности охраны водных растений, в то время как они играют важную роль в экологических цепях водоемов. На территории Мордовского Присурья существует лишь одно озеро, охраняемое как памятник природы. Это озеро Инерка, где произрастают *Salvinia natans*, *Najas major*, *N. minor*, *Trapa natans*, *Calla palustris*. Исследования водных объектов в районе р. Суры показали, что эти водоемы очень интересны во флористическом отношении и их необходимо охранять в целях сохранения всего биоразнообразия водных растений. На наш взгляд, необходимо также объявить памятниками природы как эталоны естественной окружающей среды озера Медведка и Калэрке. На озере Медведка произрастают редкие *Salvinia natans*, *Potamogeton acutifolius*, *Senecio tataricus*, *Elatine alsinastrum*, семь видов рдестов и другие водные растения из различных семейств. Озеро Калэрке интересно тем, что здесь отмечена большая популяция *Potamogeton gramineus*, занимающая четвертую часть озера, шесть видов рдестов, *Utricularia minor*, и, кроме того, это озеро является местообитанием самой большой в Мордовии колонии малой крачки, занесенной в Красную книгу Республики Мордовия.

1 Папченков, В. Г. Растительный покров водоемов и водотоков Среднего Поволжья / В. Г. Папченков. – Ярославль: ЦПМ МУБ и НТ, 2001. – 200 с.

2 Распопов, И. М. Особенности зарастания больших озер при усилении антропогенного пресса / И. М. Распопов // Водные ресурсы. – 1992. – № 2. – С. 100 – 105.

3 Щербаков, А. В. Атлас флоры водоемов Тульской области / А. В. Щербаков. – М. : Рус. университет, 1999. – 45 с.

- 4 Ларькина, Л. В. Флора окрестностей биологической станции Мордовского университета им. Н. П. Огарева / Л. В. Ларькина, В. К. Левин. – М.: Изд-во Москов. ун-та, 1981. – 31 с.
- 5 Тихомиров, В. Н. Конспект флоры Мордовского Присурья: Сосудистые растения / В. Н. Тихомиров, Т. Б. Силаева. – М. : Изд-во Москов. ун-та, 1990. – 82 с.
- 6 Отчет о проведении научно-исследовательских работ по теме «Схема организации и развития рекреационной зоны «Озеро Инерка» Республики Мордовия» / Руководитель проекта д.б.н., профессор В.В. Ревин, ответственный исполнитель д.г.н., профессор А.А. Ямашкин. Саранск, 2002. – 82 с.
- 7 Щербаков, А. В. Изучение и анализ региональных флор водоемов / А. В. Щербаков // Гидробиотаника: Методология, методы. – Рыбинск: ОАО «Рыбинский дом печати», 2003. – С. 56 – 69.
- 8 Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 1: Редкие виды растений, лишайников и грибов / Сост. Т. Б. Силаева. – Саранск: Мордов. кн. изд-во, 2003. – 288 с.
- 9 Силаева, Т. Б. Редкие и исчезающие растения Мордовии / Т. Б. Силаева, В. Н. Тихомиров, С. Р. Майоров. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 1996. – 72 с.

## ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ФОСФОЛИПИДОВ СПИННОГО МОЗГА КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ, КАК МОДЕЛИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

И.А. Ворожко, М.Е. Степанов, Э.С. Ревина

Рассеянный склероз - тяжелое хроническое заболевание центральной нервной системы, часто поражающее людей молодого возраста, причем женщин примерно в 1,5 раза чаще, чем мужчин, в связи с чем, на данный момент, стало актуальным решение данной проблемы. Согласно современным представлениям, развитие рассеянного склероза зависит как от генетической предрасположенности, так и от факторов внешней среды [1]. Важная роль в изучении механизмов болезней человека, а также в испытаниях возможных способов их лечения и предотвращения принадлежит экспериментальным модельным заболеваниям лабораторных животных. В случае рассеянного склероза, этиология и патогенез болезни не выяснена, поэтому используются модельные патологии. Для этого служит экспериментальный аллергический энцефаломиелит (ЭАЭ), индуцированный путем введения энцефалитогенной эмульсии [2]. Одним из малоисследованных остается вопрос нарушения липидного гомеостаза при рассеянном склерозе. В связи с этим становится очевидным, что нарушения обмена липидов являются иницирующим звеном в патогенезе различных заболеваний, в том числе рассеянного склероза [3]. Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы было изучение изменения фосфолипидного состава в спинном мозге кролика при экспериментальном рассеянном склерозе.

Нами были поставлены следующие задачи:

1. Изучить качественный и количественный состав фосфолипидов в спинном мозге кролика в норме и при ЭАЭ.
2. Исследовать действие демифосфона на фосфолипидный состав спинного мозга кроликов на различных стадиях течения заболевания.

ЭАЭ представляет собой нейропаралитическое заболевание, в клинике которого наблюдаются параличи конечностей и парезы, глазных мышц, расстройства координации движений, потерей массы. Исследование проводили на взрослых кроликах (породы шиншиллы, самцов) массой 2,8-3,5 кг. ЭАЭ вызывали путем однократной внутрикожной инокуляции в подушечки лап 1 мл (по 0,25 мл в каждую лапу) энцефалитогенной эмульсии. Кролика забивали на 27-30 день и проводили исследование че-

тырех отделов спинного мозга: шейного, грудного, поясничного, крестцового. Выделяли липиды из спинного мозга кролика. Экстракцию проводили по методу Блайя Дайера. Фракционирование выделенных липидов осуществляли с помощью тонкослойной хроматографии в системах Брокхьюза. В первом направлении использовали систему растворителей Х:М аммиак (25%): вода (90:54:5:8 по объему), во втором - Х:М : ЛУК (90:40:10:4 по объему). Обнаружение разделение ФЛ проводили используя смесь — метанол: серная кислота (конц.), после опрыскивания которым сжигали пластинки. После этого появились черные пятна ФЛ [4].

В результате нами было обнаружено и определено количественно 6 фракций ФЛ, нумерацию проводили с нижнего правого пятна от основания. Нам было известно, что в первую фракцию входит лизофосфатидилхолин; во вторую сфингомиелин; в третью фосфатидилхолин; в четвертую фосфатидилсерин; в пятую фосфатидилинозитол; в шестую - фосфатидилэтанолламин.

Количественное содержание  $\text{KН}_2\text{PО}_4$  индивидуальных фракций ФЛ определяли с помощью калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных образцов, содержащих неорганический фосфат в интервале от 0 до 10 мкг. Содержание ФЛ выражали в мкг неорганического фосфата, содержащегося в 1 мг общих липидов ( $\text{P}_{\text{фр}}$  мкг/ОЛ мг). Для вычисления количественного распределения индивидуальных фосфолипидов принимали их общее количество за 100% и рассчитывали долю каждого (табл. 1). Из представленных данных видно, что после введения энцефалитогенной эмульсии наблюдаются количественные изменения в составе фосфолипидов.

Таблица 1. Фосфолипидный состав спинного мозга кролика в норме и при ЭАЭ (в  $\text{P}_{\text{фр}}$  мкг/ОЛ мг)

ЭАЭ	№	СМ	ФХ	ФС	ФИ	ФЭА	Сумма ФЛ
Средняя форма	1	0,285	0,3	0,221	0,055	0,484	1,373
	2	0,104	0,083	0,028	0,035	0,16	0,423
	3	0,076	0,305	0,302	0,036	0,45	1,189
	4	0,249	0,297	0,173	0,02	0,484	1,244
Тяжелая форма	1	0,242	0,242	0,18	0,021	0,304	1,05
	2	0,194	0,206	0,156	0,044	0,308	0,928
	3	0,35	0,145	0,18	0,009	0,25	0,865
	4	0,284	0,174	0,1	0,004	0,323	0,964
Контроль	1	0,18	0,263	0,187	0,052	0,491	1,193
	2	0,94	0,256	0,194	0,053	0,381	1,098
	3	0,15	0,208	0,159	0,042	0,318	0,911
	4	0,298	0,291	0,208	0,03	0,484	1,338
Средняя форма + лечение	1	0,236	0,18	0,26	0,02	0,42	1,151
	2	0,211	0,23	0,21	0,05	0,38	1,123
	3	0,125	0,166	0,111	0,028	0,24	0,676
	4	0,3	0,145	0,08	0,007	0,408	0,954
Тяжелая форма + лечение	1	0,17	0,2	0,198	0,013	0,28	0,889
	2	0,194	0,214	0,154	0,014	0,318	0,901
	3	0,3	0,23	0,25	0,007	0,298	1,216
	4	0,29	0,1	0,15	0,014	0,285	0,881

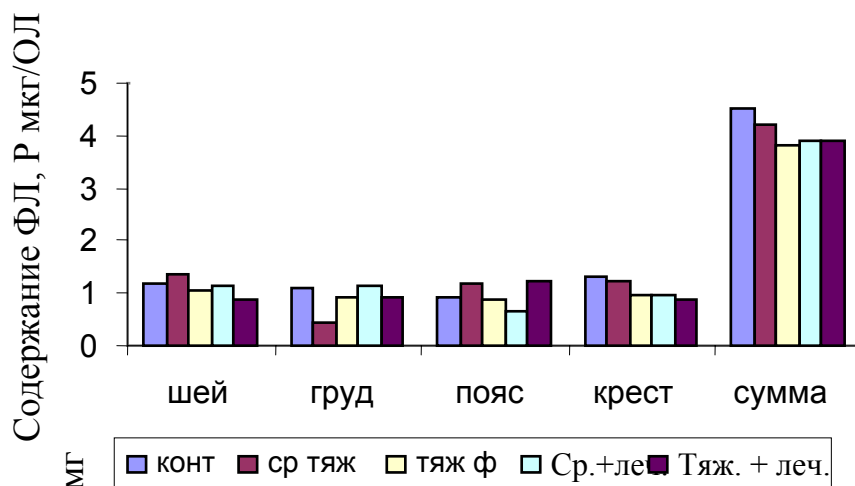


Рисунок 1 – Содержание суммарных фосфолипидов в норме и при ЭАЭ.

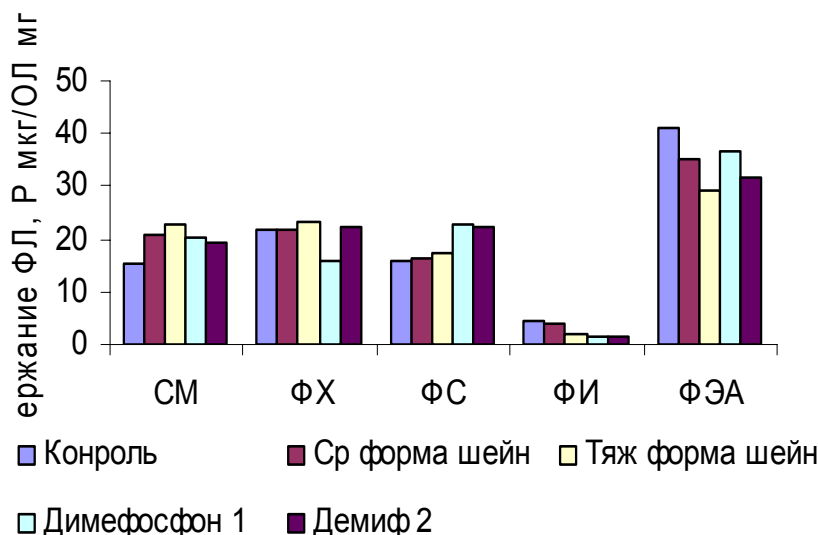


Рисунок 2. Содержание фосфолипидов в шейном отделе.

Суммарное количество ФЛ, по отношению к контролю, на разных этапах течения болезни и при ее лечении, снизилось по отношению к контролю у средней формы на 6,8%, тяжелой 16,7%, при лечении средней формы на 14,0% и при лечении тяжелой формы заболевания на 14,4% (рис. 1). Это подтверждает тот факт, что при инициации ЭАЭ снижается количество ФЛ, через их разрушение при процессах демиелинизации и ПОЛ.

Потеря суммарного количества фосфолипидов в спинном мозге кролика в основном за счет снижения доли ФИ, ФХ и ФЭА. Инициация ЭАЭ вызывает не только снижение содержания доли отдельных фосфолипидов, но и перераспределения процентного соотношения между ними [5].

В шейном отделе значительных изменений в суммарном соотношении не наблюдается. В средней форме возросло содержание СМ на 34% по отношению к контролю, а содержание ФЭА напротив уменьшилось на 14%.

Процентное увеличение ФХ, ФС и ФИ составило 14%; 18%; 5,7% соответственно. Общее содержание ФЛ возросло на 14,8%. При тяжелой форме также увеличилось содержание СМ на 84%, ФИ и ФЭА на 59,6; и 38% относительно контроля. Про-

центное уменьшение ФХ и ФС не превышают 7%. Сумма ФЛ понизилась на 12%. При лечении димефосфоном заболеваний средней формы также замечено увеличение СМ и ФС на 31%; и 39%. Здесь замечено уменьшение доли ФХ, ФИ и ФЭА на 31,5%; 61,5%; и 14% включительно, но общее понижение содержания ФЛ составило 3,5%.

Показатели потерь фосфолипидов при лечении тяжелой формы заболевания более значительные, по отношению к контролю, они составили 25,4%. Существенно уменьшилась доля ФИ и ФЭА (на 75%; и 43%). Также снизилась доля ФХ на 23%. Повышение отмечено только ФС на 5,8; и СМ на 5,5% (рис. 2).

После введения энцефалитогенной эмульсии во всех отделах спинного мозга качественных изменений в составе фосфолипидов не наблюдается, наблюдаются лишь изменения в их количественном соотношении. Суммарное количество фосфолипидов снижается на 20%, причем в большей степени в грудном (в 1,3 раза) и поясничном (в 1,5 раза) отделах. При инициации ЭАЭ общее содержание СЖК в шейном и грудном отделах увеличивается, а в поясничном отделе уменьшается.

Анализ полученных данных и собственных результатов позволяют предположить, что процессы демиелинизации запускаются деградацией фосфолипидов и прежде всего фосфоинозитидов, через активацию специфических фосфолипаз С.

- 1 Хохлов, А.П. Миелонопатии и демиелинизирующие заболевания / А.П. Хохлов, Ю.Н. Савченко. - М: Медицина, 1990. - 207 с.
- 2 Завалишина, И.А. Избранные вопросы теории и процесса рассеянного склероза / И.А. Завалишина, В.И. Головкина. - М.: Медицина, 2000. - 240с.
- 3 Birnbaum, G. Heat shock proteins and multiple sclerosis / G. Birnbaum, O. Abramsky, H. Ovidia. - 1997. - V. 23, NL - P.171-182.
- 4 Гусев, Е.И. Рассеянный склероз / Е.И. Гусев, Т.Д. Демина, А.Н. Бойко - М.: Нефть и газ, 1997. - 463 с.
- 5 Болдырев, А.А. Введение в биомембранологию. - М.: Агропромиздат, 1990. - 208 с.

## **ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРОВАННОГО ВОЗДУХА НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

О.Г. Грачева, А.М. Орешин, Т.Н. Гудошникова

В настоящее время обсуждается тема влияния ионизированного воздуха на организм человека и подопытных животных. Интерес к этому обусловлен, прежде всего, тем, что отрицательные ионы, генерируемые аэроионизаторами, благотворно влияют на процессы, протекающие в живых системах. Вместе с тем, механизмы такого влияния недостаточно хорошо изучены, в частности, мало известно о процессах, протекающих при действии избыточных количеств кислорода на организм. А.Л. Чижевский открыл биогенное действие электрических зарядов воздуха на организм. Он первым установил, что отрицательные аэроионы кислорода действуют благотворно на все функции организма, улучшают здоровье, излечивают многие заболевания, продляют жизнь. Воздух с дефицитом аэроионов кислорода, его электрическая недостаточность ведут к гипоксии со всеми вытекающими последствиями. По выражению А.Л. Чижевского, воздух, лишенный аэроионов кислорода, подобен пище без витаминов или воде без минеральных солей.

До настоящего времени мало известно о тонких механизмах такого влияния на живые системы. Слабо изучено также влияние разных доз аэроионов на организм, в особенности высоких доз, способных привести к отрицательным последствиям. Це-



лью данной работы являлось исследование влияния аэроионов люстры Чижевского на жизненный цикл и развитие плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Была поставлена задача выяснить влияние различных доз ионизированного воздуха на живой объект и прояснить отрицательные аспекты данного влияния.

Объектом исследования служили дикие линии дрозофилы. Для определения степени воздействия аэроионов кислорода проводилось облучение непосредственно перед скрещиванием при температуре 23° С. Для опыта взяты экспозиции 15, 30, 60 мин, контроль (облучение не проводилось). В процессе постановки эксперимента проводились фенологические наблюдения за состоянием личинок и родителей, проводилось сравнительное наблюдение состояния объектов в разных экспозициях. Помимо этого выделялись политенные хромосомы *Drosophila melanogaster* и проводился сравнительный анализ степени влияния ионизированного воздуха на кариотип. Фенологические наблюдения сводились к установлению времени вылупления, созревания и окукливания личинок, а также проводился подсчет количества и размеров личинок дрозофилы.

Результаты наблюдений за относительными изменениями жизненного цикла показаны на рисунке 1. Данные по изменению количества личинок, их размерам и толщине представлены на рисунках 2, 3, 4.

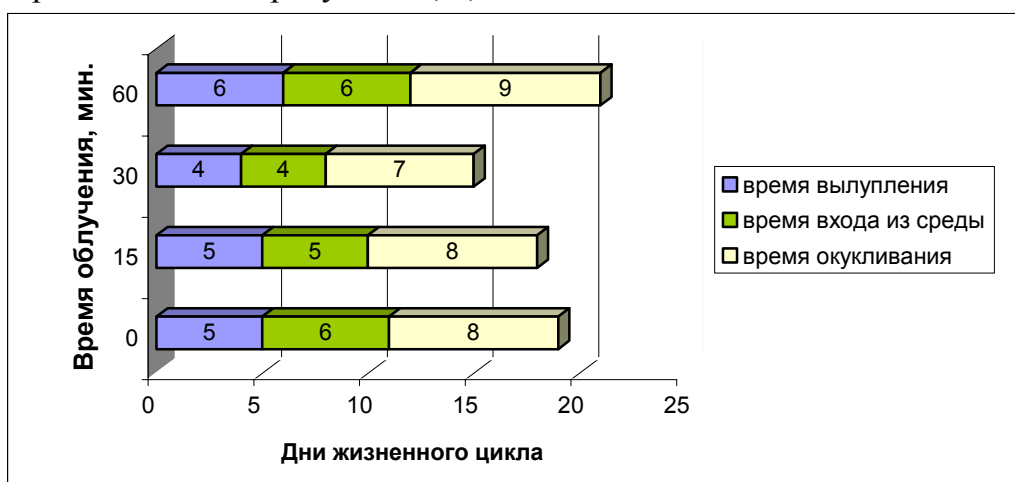


Рисунок 1 - Зависимость времени входа личинок *D. melanogaster* в разные стадии жизненного цикла от времени облучения ЛЧ.

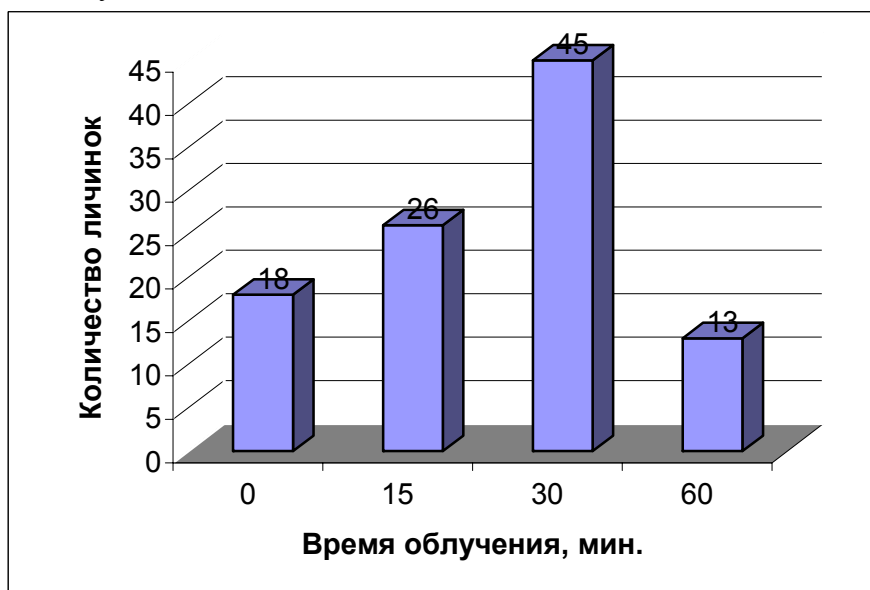


Рисунок 2 – Зависимость количества личинок от времени облучения.

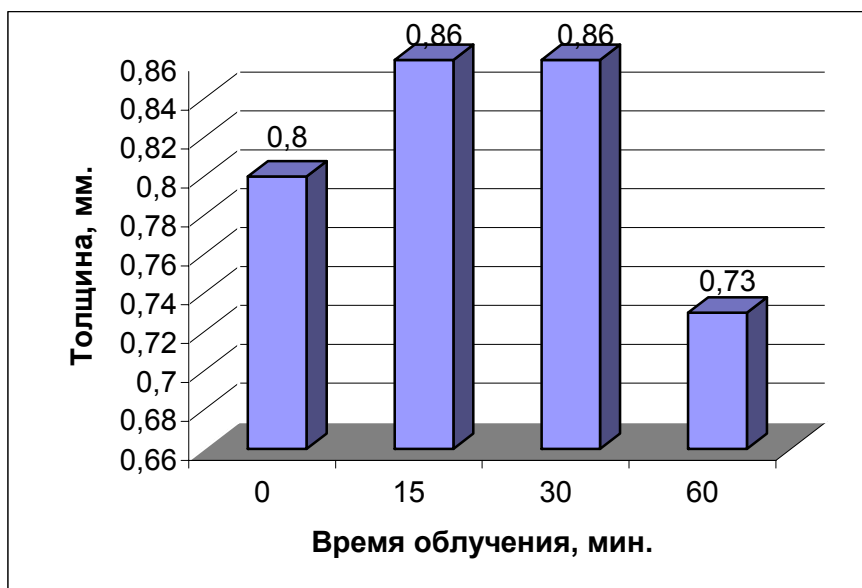


Рисунок 3 – Зависимость толщины личинок от времени облучения.

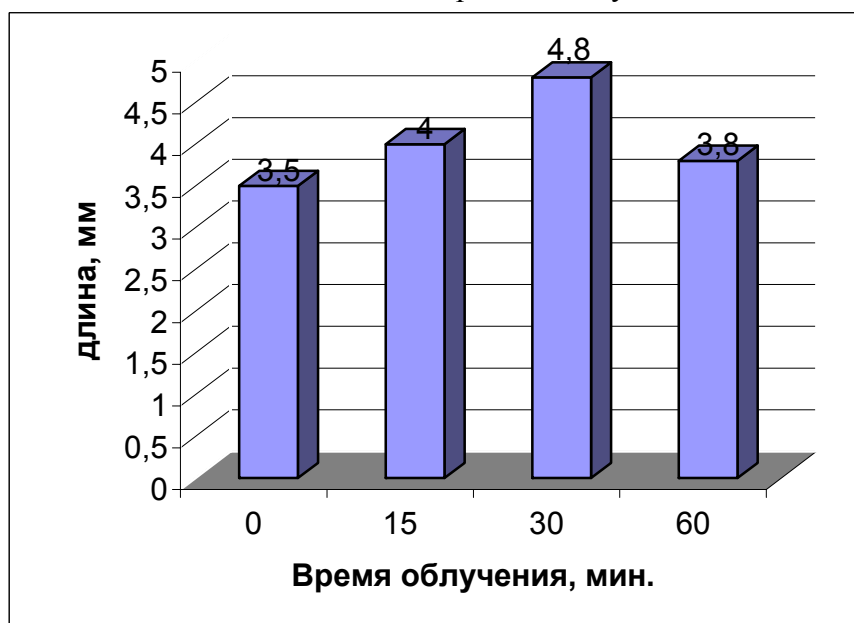


Рисунок 4 – Зависимость длины личинок от времени облучения.

Исходя из полученных данных, можно сказать, что при средних дозах (30 минут) облучения люстры Чижевского происходит довольно сильная стимуляция личинок *Drosophila melanogaster*, что приводит к уменьшению времени прохождения ими исследованных стадий жизненного цикла, увеличению их количества и размеров. Это может служить ярким доказательством положительного влияния отрицательно заряженных аэроионов на организм.

При большом же времени облучения полученные результаты дают основание предположить, что высокая концентрация аэроионов (в частности, интересующих нас ионов кислорода) способна привести к замедлению жизненного цикла и изменению в отрицательную сторону их морфологических характеристик. В соответствии с этим, можно предположить, что в данном случае в организме личинок возрастает активность процессов, вызванных активными формами кислорода, что приводит к угнетению жизненных функций.

В процессе цитогенетических исследований, заключавшихся в выделении и наблюдении политенных хромосом, что было выяснено, что в результате процесса облучения в опыте со временем экспозиции 60 мин количество хромосомных aberrаций заметно выше, чем в контроле и двух других опытах.

Это служит подтверждением предположения о том, что долгое воздействие люстры Чижевского приводит к увеличению содержания активных форм кислорода в организме личинок *Drosophila melanogaster*. Таким образом, мы установили, что при 30-минутном облучении ионизированным воздухом дрозофилы происходит увеличение скорости роста и развития личинок. При облучении в течение 60 минут наблюдается снижение этих показателей. 15-минутное облучение приводит к незначительному положительному эффекту.

## **ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НАД-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В НЕЙТРОФИЛАХ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Ю.А. Дарькина, О.С. Новожилова, Р.Е. Киселева

НАД-зависимые ферменты – ферменты, катализирующие дегидрирование субстратов с использованием в роли акцепторов водорода любых молекул, кроме кислорода. Они катализируют перенос водорода от окисляемого субстрата на соединения – акцепторы, которые при этом восстанавливаются. НАД-зависимые ферменты представляют собой двухкомпонентные ферменты и состоят из белковой части (апофермента) и небелковой части, функцию которой в большинстве случаев выполняют никотинамидные коферменты (ЛДГ) и реже флавиновые коферменты (СДГ). Они участвуют в процессах промежуточного обмена веществ (ферментативных реакциях, приводящих к разрушению или синтезу определенной биомолекулы), превращения энергии (энергия в макроэргических фосфатных связях накапливается или расходуется). ЛДГ – цинксодержащий фермент, катализирующий восстановление ПВК в молочную кислоту при гликолизе. СДГ катализирует окисление (дегидрирование) янтарной кислоты в фумаровую кислоту. Активность этих ферментов изменяется при бронхолегочных заболеваниях, в частности при бронхите. Хронический бронхит (ХБ) – диффузное поражение бронхиального дерева, обусловленное раздражением воздухоносных путей вредными агентами, характеризующееся развитием воспалительного процесса и склеротическими изменениями в более глубоких слоях бронхиальных стенок, сопровождающееся гиперсекрецией слизи, нарушением очистительной функции бронхов (кашель, одышка).

Материалом исследования служила кровь доноров и больных хроническим бронхитом. Отбор крови проводили утром натощак путем пункции локтевой вены одноразовыми шприцами. Были исследованы активность ЛДГ и СДГ, а поскольку у больных хроническим бронхитом наблюдалось повышение уровня ПОЛ, то для анализа использовались антиоксидантные препараты: эмоксипин, мексидол, димефосфон. При хроническом бронхите существенно изменяется активность ЛДГ и СДГ. Активность СДГ при ХБ до введения эмоксипина в среднем составила 44,2 нмоль сукцината/мин на 1 мг белка. При воздействии эмоксипина активность СДГ при ХБ (при инкубации с эмоксипином 5 мин) в среднем составила 63,3 нмоль сукцината/мин на 1 мг белка, а при инкубации с эмоксипином 30 мин – 37,9 нмоль сукцината/мин на 1 мг белка. Активность СДГ до введения эмоксипина меньше активности СДГ лейко-

цитов крови доноров на 24,7%, а при воздействии эмоксипина (при инкубации 5 мин) активность СДГ превышает активность СДГ доноров на 7,8%, а при инкубации 30 мин – меньше на 35,8%.

Активность ЛДГ при ХБ до введения лекарства в среднем составила 350 Е/л. А при воздействии эмоксипина (инкубация 5 мин) активность данного фермента при ХБ в среднем равна 382 Е/л, а при инкубации с эмоксипином 30 мин – 394 Е/л. Активность ЛДГ до введения лекарства превышает ЛДГ лейкоцитов крови доноров на 18,6%, а после введения эмоксипина (инкубация 5 мин) превышает активность ЛДГ доноров на 29,5%, а при инкубации 30 мин – превышает на 33,6% (табл. 1).

Таблица 1 - Активность СДГ и ЛДГ лейкоцитов крови доноров и при воздействии эмоксипина при хроническом бронхите

Группы обследуемых	ЛДГ, Е/л			СДГ, нмоль сукцината/мин на 1мг белка		
	Доноры n=10	295±0,001			58,7±0,09	
	Инкубация с эмоксипином (37°С)					
	0	5	30	0	5	30
Больные ХБ n=5	350±0,07	382±0,07	394±0,07	44,2±0,09	63,3±0,13	37,9±0,08

Активность СДГ при ХБ до введения мексидола в среднем составила 51,7 нмоль сукцината/мин на 1мг белка. При воздействии мексидола активность СДГ при ХБ (при инкубации с мексидолом 5 мин) в среднем составила 64,7 нмоль сукцината/мин на 1мг белка, а при инкубации с мексидолом 30 мин – 63,9 нмоль сукцината/мин на 1мг белка. Активность СДГ до введения лекарства при ХБ меньше активности СДГ лейкоцитов крови доноров на 11,9%, а при воздействии мексидола (при инкубации 5 мин) активность СДГ при ХБ превышает активность СДГ доноров на 10,2%, а при инкубации 30 мин – больше на 8,9%. Активность ЛДГ при ХБ до введения лекарства в среднем составила 360 Е/л. А при воздействии мексидола (инкубация 5 мин) активность данного фермента при ХБ в среднем равна 383 Е/л, а при инкубации с мексидолом 30 мин – 398 Е/л. Активность ЛДГ до введения лекарства превышает ЛДГ лейкоцитов крови доноров на 22%, а после введения мексидола (инкубация 5 мин) превышает активность ЛДГ доноров на 29,8%, а при инкубации 30 мин – превышает на 34,9% (табл. 2).

Таблица 2 - Активность СДГ и ЛДГ лейкоцитов крови доноров и при воздействии мексидола при хроническом бронхите

Группы обследуемых	ЛДГ, Е/л			СДГ, нмоль сукцината/мин на 1мг белка		
	Доноры n=10	295±0,001			58,7±0,09	
	Инкубация с мексидолом (37°С)					
	0	5	30	0	5	30
Больные ХБ n=5	360±0,07	383±0,069	398±0,069	51,7±0,01	64,7±0,014	63,9±0,014

Активность СДГ при ХБ до введения лекарства в среднем составила 67,4 нмоль сукцината/мин на 1мг белка. При воздействии димефосфона активность СДГ при ХБ (при инкубации с эмоксипином 5 мин) в среднем составила 70,9 нмоль сукцината/мин на 1 мг белка, а при инкубации с димефосфоном 30 мин – 61,5 нмоль сук-

цината/мин на 1 мг белка. Активность СДГ до введения лекарства при **ХБ** больше активности СДГ лейкоцитов крови доноров на 14,8%, а при воздействии димефосфона (при инкубации 5 мин) активность СДГ при **ХБ** превышает активность СДГ доноров на 20,8%, а при инкубации 30 мин – больше на 4,8%.

Активность ЛДГ при **ХБ** до введения лекарства в среднем составила 480 Е/л, а при воздействии димефосфона (инкубация 5 мин) активность данного фермента при **ХБ** в среднем равна 460 Е/л, а при инкубации с димефосфоном 30 мин – 495 Е/л. Активность ЛДГ при **ХБ** до введения лекарства превышает ЛДГ лейкоцитов крови доноров на 62,7%, а после введения димефосфона (инкубация 5 мин) превышает активность ЛДГ доноров на 55,9%, а при инкубации 30 мин – превышает на 67,8% (табл. 3). У больных бронхолегочными заболеваниями в лейкоцитах крови наблюдается повышенный уровень **ПОЛ**. В ходе исследования было установлено, что тяжелое течение заболеваний бронхолегочного аппарата до введения антиоксидантного лекарства характеризуется повышением процессов **ПОЛ** и, наоборот, снижением **АОА**. До введения мексидола уровень **ПОЛ** составил 1,49 имп/сек, а после его введения (инкубация 5 мин) – 4,66 имп/сек, при инкубации 30 мин – 3,13 имп/сек. **АОА** до введения мексидола равна 7,5 ед/мл, при применении препарата (инкубация 5 мин) – 8,3 ед/мл, а при инкубации 30 мин – 9,5 ед/мл. Уровень **ПОЛ** до введения лекарства меньше уровня **ПОЛ** лейкоцитов крови доноров на 30,4%, а после введения эмоксипина (инкубация 5 мин) превышает уровень **ПОЛ** доноров на 118%, а при инкубации 30 мин – превышает на 46,3%. **АОА** до введения лекарства больше уровня **АОА** лейкоцитов крови доноров на 6,8%, а после введения эмоксипина (5 мин) превышает уровень **АОА** доноров на 18,2%, а при инкубации 30 мин – превышает на 35,3% (табл. 4).

Таблица 3 - Активность СДГ и ЛДГ лейкоцитов крови доноров и при воздействии димефосфона при хроническом бронхите

Группы обследуемых	ЛДГ, Е/л			СДГ, нмоль сукцината/мин на 1мг белка		
	0	5	30	0	5	30
Доноры n=10	295±0,001			58,7±0,09		
	Инкубация с димефосфоном(37°С)					
	0	5	30	0	5	30
Больные ХБ n=5	480± 0,12	460±0,12	495±0,12	67,4±0,008	70,9±0,11	61,5±0,09

Таблица 4 – Показатели интенсивности процессов **ПОЛ** и **АОА** в лейкоцитах крови доноров и больных **БЛЗ** при воздействии эмоксипина

Группа обследуемых (n=5)	ПОЛ имп/сек	АОА ед/мл
Доноры (n=10)	2,14±0,045	7,02±0,68
Больные БЛЗ до введения эмоксипина	1,49±0,75	7,5±1,63
Больные БЛЗ после введения эмоксипина (инкубация 5 мин)	4,66±2,33	8,3±1,65
Больные БЛЗ после введения эмоксипина (инкубация 30 мин)	3,13±1,56	9,5±1,90

До введения мексидола уровень **ПОЛ** составил 1,53 имп/сек, а после его введения (инкубация 5 мин) – 4,68 имп/сек, при инкубации 30 мин – 3,13 имп/сек. **АОА** до введения мексидола равна 8,6 ед/мл, при применении препарата (инкубация 5 мин) – 9,7 ед/мл, а при инкубации 30 мин – 10,7 ед/мл (табл. 5).

Таблица 5 – Показатели интенсивности процессов **ПОЛ** и **АОА** в лейкоцитах крови доноров и больных БЛЗ при воздействии мексидола

Группа обследуемых (n=5)	ПОЛ имп/сек	АОА ед/мл
Доноры (n=10)	2,14±0,045	7,02±0,68
Больные БЛЗ до введения мексидола	1,53±0,77	8,6±1,53
Больные БЛЗ после введения мексидола (инкубация 5 мин)	4,68±2,34	9,7±1,72
Больные БЛЗ после введения мексидола (инкубация 30 мин)	3,13±1,56	10,7±1,90

Уровень **ПОЛ** до введения лекарства меньше уровня **ПОЛ** лейкоцитов крови доноров на 28,5%, а после введения мексидола (инкубация 5 мин) превышает уровень **ПОЛ** доноров на 119%, а при инкубации 30 мин – превышает на 46%. **АОА** до введения лекарства больше уровня **АОА** лейкоцитов крови доноров на 23 %, а после введения мексидола (инкубация 5 мин) превышает уровень **АОА** доноров на 38%, а при инкубации 30 мин – превышает на 52%.

До введения димефосфона уровень **ПОЛ** составил 1,56 имп/сек, а после его введения (инкубация 5 мин) – 4,48 имп/сек, при инкубации 30 мин – 3,20 имп/сек. **АОА** до введения димефосфона равна 9,1 ед/мл, при применении препарата (инкубация 5 мин) – 10,0 ед/мл, а при инкубации 30 мин – 11,2 ед/мл (табл. 6). Уровень **ПОЛ** до введения лекарства меньше уровня **ПОЛ** лейкоцитов крови доноров на 27%, а после введения димефосфона (инкубация 5 мин) превышает уровень **ПОЛ** доноров на 109%, а при инкубации 30 мин – превышает на 50%. **АОА** до введения лекарства больше уровня **АОА** лейкоцитов крови доноров на 30 %, а после введения мексидола (инкубация 5 мин) превышает уровень **АОА** доноров на 42%, а при инкубации 30 мин – превышает на 60%.

Таблица 6 – Показатели интенсивности процессов **ПОЛ** и **АОА** в лейкоцитах крови доноров и больных БЛЗ при воздействии димефосфона

Группа обследуемых (n=5)	ПОЛ имп/сек	АОА ед/мл
Доноры (n=10)	2,14±0,045	7,02±0,68
Больные БЛЗ до введения мексидола	1,56±0,78	9,1±1,59
Больные БЛЗ после введения мексидола (инкубация 5 мин)	4,48±2,24	10,0±0,75
Больные БЛЗ после введения мексидола (инкубация 30 мин)	3,20±1,59	11,2±1,95

У всех обследованных групп на фоне высокого уровня **ПОЛ** отмечено снижение **АОА**, но после применения препарата (эмоксипин, мексидол, димефосфон) с течением времени **ПОЛ** постепенно снижается, а **АОА**, наоборот, повышается. Применение антиоксидантных препаратов – эмоксипина, мексидола, димефосфона – снижает уровень **ПОЛ**.

1 Барнашова, Г.С Ферменты / Г.С. Барнашова, Р.Е. Киселева, Н.В. Альба, Л.В. Кузьмичева. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2003. – 84 с.

2 Кретович, В.Л. Введение в энзимологию / В.Л. Кретович. – М.: Наука, 1986. – 336 с.

- 3 Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука. – 1983.
- 4 Лифшиц, В.М. Биохимические анализы в клинике: Справ. М.: Триада – X., 2002. – 284 с.
- 5 Кочетов, Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: Высш. шк., 1980. – 272 с.

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОЯВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛИСТЬЯХ ОГУРЦА

С.В. Ешкина, Т.Е. Кистенева, А.С. Лукаткин

Условия окружающей среды крайне динамичны и не всегда оказывают положительный эффект на жизнедеятельность организмов. Во многих случаях условия внешней среды могут достигать опасных для организмов величин. Способность к защите от действия неблагоприятных абиотических, биотических и антропогенных факторов среды – столь же обязательное свойство любого организма, как питание, движение, размножение и др. Поскольку повреждающих факторов множество, возникшие способы защиты от них оказались самыми разнообразными – от метаболических механизмов до морфологических приспособлений [1]. Однако многие факторы среды, к которым растение эволюционно не приспособлено, могут оказывать стрессовое воздействие на организм, приводящее к различным физико-химическим аномалиям в клетках растений, повреждению их структур и метаболических функций [2].

В последние годы все большее значение приобретает проблема загрязнения среды тяжелыми металлами, действие которых служит сигналом напряжения механизмов антиоксидантной защиты и развитию окислительного стресса [3]. В связи с этим изучение устойчивости растений к стрессовым воздействиям и механизмов антиоксидантной защиты является актуальным направлением современной биоэкологии. Цель данной работы – выявить влияние ионов меди и экзогенных антиоксидантов на проявления окислительного стресса в растениях огурца.

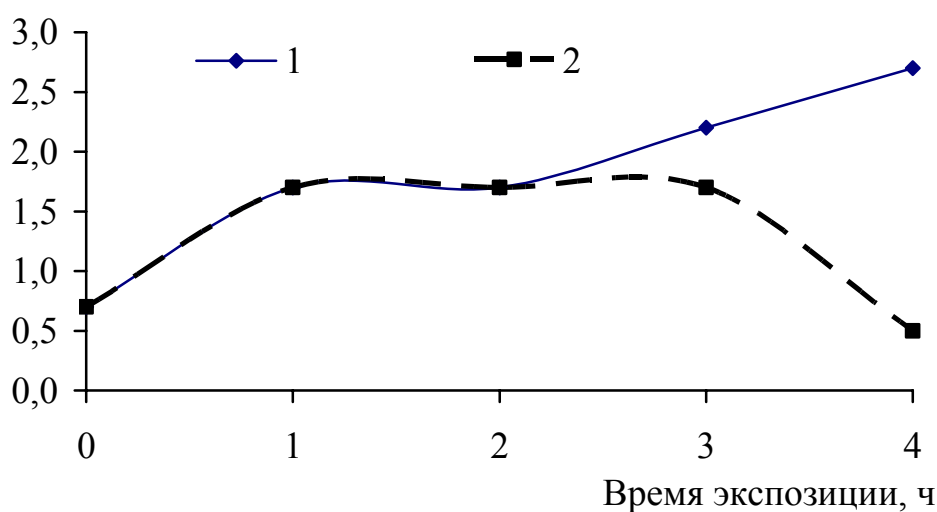
Материалом для работы служили 7-11 дневные проростки огурца (*Cucumis sativus* L.) сорта Вязниковский 37. Растения выращивали в лабораторных условиях в сосудах с почвой (среднесуглинистый деградированный чернозем, по 2 кг) при температуре 22-25 °С, освещение люминесцентными лампами ЛБ-40 с освещенностью 5 клк, влажность почвы 60-80 % от полной влагоемкости, относительной влажности воздуха около 80 %. По достижении растениями возраста 7-11 суток отделяли первые и вторые настоящие листья, и высежки из них помещали в чашки Петри с водой, растворами  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ , аскорбиновой кислоты или глутатиона и выдерживали различное время – от 0,5 ч до 4 ч. Затем в листьях определяли скорость генерации супероксидного анион-радикала методом, в основе которого лежит способность этого радикала окислять адреналин в адренохром. Сразу после инкубации измеряли оптическую плотность образовавшегося адренохрома против гомогената с водой на спектрофотометре СФ-40 при длине волны 480 нм. Скорость генерации рассчитывали в единицах оптической плотности в минуту ( $\epsilon = 4020 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) [2]. Определение проводили в трех отдельных опытах, каждый из которых состоял из 3 повторностей. Значение на рисунках представляют среднее арифметическое из трех опытов с их стандартными ошибками. Статистическую обработку проводили с помощью программы Microsoft Excel.

При оценке действия ТМ на генерацию  $O_2^{\bullet-}$  были получены следующие результаты. Концентрация  $O_2^{\bullet-}$  в клетках высечек из листьев контрольной (выдерживаемой в дистиллированной воде) группы растений была относительно низкой. Измерения, проведенные сразу после экспозиции в растворе  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  высечек показали быстрое усиление генерации  $O_2^{\bullet-}$  в листьях при концентрациях раствора  $10^{-4}$  М и  $10^{-2}$  М (рис. 1).

В первом случае наиболее высокое стационарное содержание обнаружено при 4-часовой экспозиции (увеличение по сравнению с контролем в 4 раза). Причем с удлинением времени выдерживания происходило увеличение концентрации  $O_2^{\bullet-}$  на всем протяжении опыта. При более высокой концентрации раствора  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  ( $10^{-2}$  М) максимальное значение уровня  $O_2^{\bullet-}$  наблюдалось уже при 1-часовой экспозиции (увеличение в 2,6 раза к контролю). При 4-часовой экспозиции происходило уменьшение концентрации  $O_2^{\bullet-}$ .

Из представленных данных видно, что экспозиция растений огурца в растворах  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  вызвала в их клетках возникновение проявлений окислительного стресса, в частности усиливала образование супероксидного анион-радикала. Однако при разных концентрациях ионов  $Cu^{2+}$  этот процесс во времени развивается неодинаково. Подобную несогласованность проявлений одного и того же явления, видимо, можно объяснить различной скоростью формирования и функционирования внутриклеточных механизмов, направленных на элиминацию нарушений, вызванных окислительным стрессом.

Генерация  $O_2^{\bullet-}$ ,  $\times 10^{-5}$  м/г



1 – концентрация раствора  $10^{-4}$  М; 2 – концентрация раствора  $10^{-2}$  М

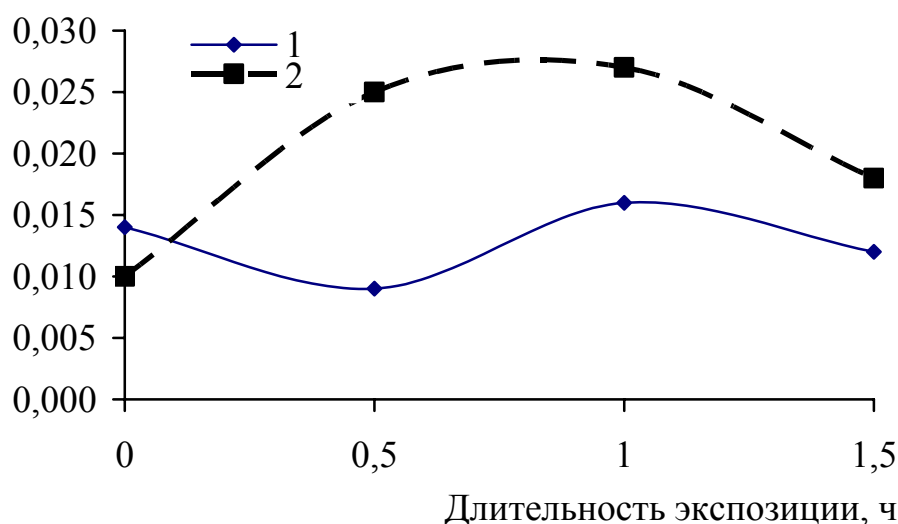
Рисунок 1 – Влияние длительности экспозиции высечек листьев огурца в растворе  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  разной концентрации на генерацию  $O_2^{\bullet-}$ .

При оценке действия антиоксидантов на генерацию  $O_2^{\bullet-}$  в высечках листьев огурца можно видеть, что разные формы и концентрации антиоксидантов неодинаково влияют на образование  $O_2^{\bullet-}$  (рис. 2). Так, при действии аскорбата (0,5 М) интенсивность генерации  $O_2^{\bullet-}$  в первые 30 минут повышалась и уже к 1-часовой экспозиции достигла наивысшего уровня. После этого уровень  $O_2^{\bullet-}$  начал понижаться. Отсюда можно сделать вывод, что 0,5 М аскорбат свои антиоксидантные свойства начал



проявлять после 1-часовой экспозиции. Аналогичная картина наблюдается и при действии 100 мкМ глутатиона. В первые 30 минут уровень  $O_2^{\bullet -}$  понижался, после чего начал расти, а к 1,5- часовой экспозиции снизился до уровня контроля. Возможно, это связано с малой концентрацией глутатиона или с малой длительностью экспозиции. Но из рис. 2 видно, что оба антиоксиданта способны тушить  $O_2^{\bullet -}$ , и возможно их экзогенное добавление в растения для повышения у последних устойчивости к окислительным процессам, в том числе и к воздействию ТМ.

Скорость генерации  $O_2^{\bullet -}$ , мкМ/г·мин.



1 – глутатион; 2 – аскорбат

Рисунок 2 – Влияние длительности выдерживания листьев огурца в растворах глутатиона (0,1 мМ) и аскорбата (0,5 М) на скорость генерации  $O_2^{\bullet -}$ .

В представленной работе показано, что в клетках растений огурца при экспозиции в растворах ТМ (в частности,  $Cu^{2+}$ ) инициируется усиление генерации АФК в результате нарушения баланса защитных антиоксидантных систем. Чувствительность растений к ТМ, видимо, определяется слабым функционированием систем антиоксидантной защиты, а также низкой способностью противостоять вторичным нарушениям, опосредованным изменениями на клеточном и молекулярном уровнях, поэтому экзогенная обработка растительных объектов синтетическими и природными АО может быть перспективным способом повышения устойчивости к неблагоприятным факторам, в том числе и к тяжелым металлам [4].

1. Полевой, В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
2. Лукаткин, А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс / А. С. Лукаткин. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.
3. Sharma, P. N. Induction of oxidative stress by deficiency and toxicity of zinc in wheat plants grown in solution culture / P. N. Sharma, S. S. Bisht, P. Kumar, M. K. Mishra // *Indian J. Agric. Biochem.* – 1999. – V. 12, No 1. – P. 10 – 13.
4. Меньшикова, Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньшикова, И. К. Зенков // *Успехи современной биологии.* – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 442 – 455.

## ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОЙ И ПЕРЕМЕННОЙ СОЛЕННОСТИ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ *DANIO RERIO*

И.В. Кавайкина, В.А. Кузнецов

Любой живой организм на протяжении всего жизненного цикла в разные периоды и этапы развития находится в тесном взаимодействии с окружающей его средой обитания. В местах естественных нерестилищ многих видов рыб развитие икры и последующее личиночное развитие протекает в условиях постоянного изменения температуры и других экологических факторов [1].

Изучение условий размножения и развития промысловых рыб приобретает все большую значимость при решении вопросов рационального использования, воспроизводства и охраны рыбных ресурсов [2]. Исследование влияния астагичности факторов среды на эмбрионально-личиночное развитие рыб имеет не только теоретическое, но и важное прикладное значение. Оно отражается и на биологии взрослых рыб, определяет их численность и продуктивность, плодовитость, особенности половых циклов, распространение в водоемы с другим гидрологическим режимом [3].

В эмбрионально-личиночный период развития рыб очень высока смертность, не вся икра, отложенная в естественных условиях успешно развивается и достигает личиночного возраста. Определенное ее количество гибнет в процессе развития в результате неблагоприятно складывающихся условий, - низких или высоких температур, недостатка кислорода, механических повреждений и так далее [4, 5]. В связи с этим чрезвычайно существенно иметь как можно больше конкретных данных, касающихся закономерностей изменения температуры воды, содержания в ней газов, солей, концентрации ионов водорода непосредственно на нерестилищах рыб в период их нереста и последующего развития икры. Это позволило бы более детально изучить влияние вышеупомянутых факторов на развитие и выживаемость икры в природных условиях [6, 7]. В лаборатории имеется возможность строго поддерживать в процессе инкубации необходимый уровень определенного воздействия, т.е. регулировать силу и длительность действия любого фактора [8]. Целью данной работы является исследование влияния постоянной и переменной солености на эмбриональное развитие *Danio rerio*.

Материалом изучения служили оплодотворенные икринки *Danio rerio*, инкубированные в чашках Петри при постоянной температуре в  $28,0^{\circ}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , которая, согласно литературным данным [9] является оптимальной для развития икры исследуемого вида. В каждую чашку Петри помещали по 10 икринок, находящихся на этапе оплодотворения с развившимся бугорком на анимальном полюсе. В процессе инкубации икры постоянно отбирали погибшую икру и периодически под микроскопом МБА-1 (увеличение 10х) на не менее чем 5 икринках отмечали этапы эмбрионального развития. Кроме абсолютных показателей скорости эмбрионально-личиночного развития *Danio rerio* использовали относительные единицы:  $\tau_0$  – тау-ноль и  $\tau_s$  – тау-сомит-интервал [10]. После осеменения брали 10 оплодотворенных икринок и до 4 – 5 борозд дробления непрерывно с интервалом 0,02–0,05  $\tau_0$  наблюдали за ее развитием под микроскопом МБА-1. Фиксировали интервалы между появлением борозд последующих делений дробления у 3–4 продвинутых икринок. Расчет «детлафа» проводили по формуле, предложенной Т.Б. Рудневой (1972).

$$\tau_0 = \frac{И2 - И4}{2},$$

где И2 и И4 – интервал между появлением борозд 2 – 4 делений (в мин).

Тау-сомит-интервал ( $\tau_s$ ) определяли непосредственно в период инкубации икринок при различных постоянных и переменных режимах исследуемых факторов по методике, описанной Ю.Н. Городиловым (1985).  $\tau_s = (T_2 - T_1) / (N_2 - N_1)$ , где  $T_{1,2}$  – время в начале и в конце изучаемого периода;  $N_{2,1}$  – числа сомитов в это время [11]. При изучении влияния постоянной солености на эмбриональное развитие *Danio rerio* использовали постоянные режимы фактора от 0 до 5‰ (толерантный диапазон для большинства пресноводных гидробионтов). Требуемый уровень солености получали растворением в воде определенного, в зависимости от значения фактора, количества NaCl. За контроль брали обычную водопроводную воду, отстоянную в течение двух суток. При изучении влияния переменной солености использовали 12-ти часовые колебания фактора в диапазонах: 0-1; 0-2; 0-3; 0-4; 0-5‰.

Постоянный уровень солености по-разному оказывает влияние на развитие икры *Danio rerio*. Осолонение воды до 2‰ стимулирует эмбриональные процессы (рис. 1). По сравнению с обычной водопроводной водой, которую мы принимали за контроль, эмбриональное развитие ускорилось в 1,2 раза. При концентрации NaCl в 2‰ начало дробления началось на 0,13 часа раньше по сравнению с контролем. Начальный этап сомитогенеза также опережал контроль, но уже на 1,92 часа. Если рассмотреть время образования 5 пар сомитов при осолонении воды до 2‰, то оно составило 9,58 часа, тогда как при 0‰ – 11,5 часа. намного больше. Выход предличинок из оболочек при концентрации NaCl 2‰ начался уже через 58,38 часа, тогда как в контроль – только через 70,06 часа.

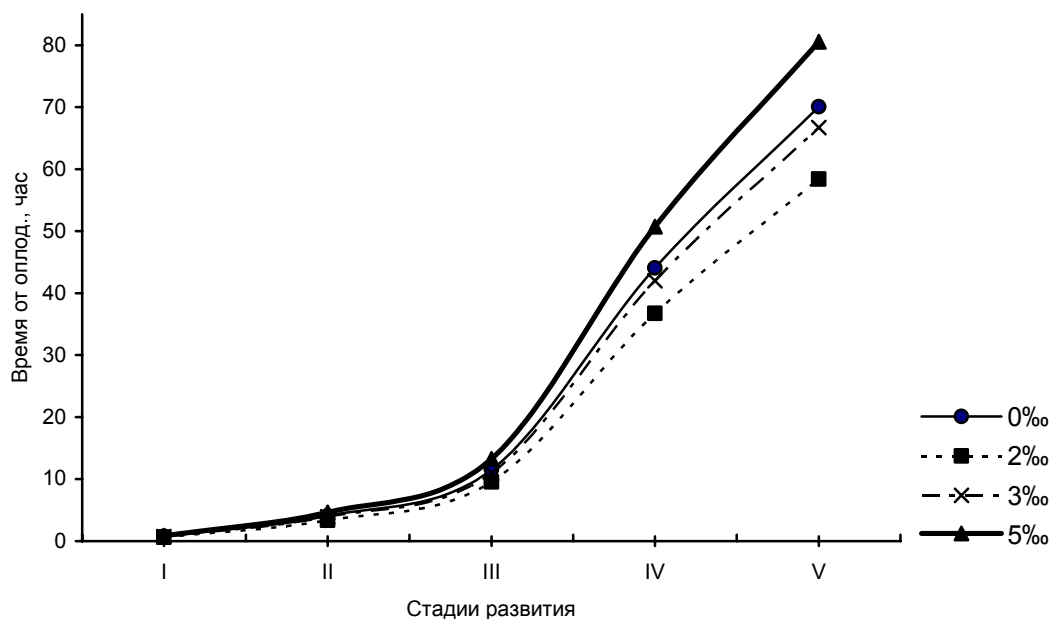


Рисунок 1 - Скорость развития икры *Danio rerio* при постоянной солености. Ось абсцисс – время с момента оплодотворения, час; ось ординат – стадия развития: I – стадия дробления на этапе образования 2 бластомеров; II – образование зародышевого кольца; III – стадия образования 5 пар сомитов; IV – пигментация туловища; V – вылупление предличинок.

При постоянном режиме солености в 2‰ тау-сомит-интервал имел минимальное значение, которое постепенно возрастало как при снижении, так и при увеличении концентрации NaCl, причем при 4-5‰ величина  $\tau_s$  была. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными. Именно этот уровень солености указывается в качестве оптимального для многих рыб [12], поэтому данное значение со-

лености принимали в качестве стационарного оптимума в исследованиях по влиянию постоянных режимов на эмбриональное развитие *Danio rerio*.

Меньшее значение солености до 1‰ также ускорило эмбриональное развитие, но степень проявления имевшегося эффекта была меньше, чем при 2‰. Стадия образования двух бластомеров при солевом составе воды 1‰ на 0,09 часа наступила позже, чем при солености 2‰. Но в отношении к контролю – в 1,06 раза раньше. На стадии гастрюляции образование зародышевого кольца при концентрации NaCl 1‰ имело место через 3,87 часа с момента осеменения, тогда как в пресной воде только через 4,06 часа. Стадия образования 5 пар сомитов как и этап выхода предличинок при солености 1‰ наступили в 1,1 раза быстрее, чем в контроле.

Дальнейшее увеличение солености до 3‰ и выше привело к постепенному снижению скорости развития икры *Danio rerio*. Если при 2‰ – дробление на стадии образования двух бластомеров произошло через 0,63 часа, то в отношении к концентрации 3‰ этот временной показатель увеличен до 0,74 часа. Аналогичная зависимость в отношении срока вылупления. При 2‰ – 58,38 часа, тогда как при 3‰ – 66,72 часа с момента осеменения до выхода предличинок.

Концентрация NaCl до 4‰ и выше оказывала угнетающее действие на развитие икры *Danio rerio* (рис. 1). Если при солености 4‰ на начальный этап дробления и стадию образования двух бластомеров потребовалось 0,79 часа, то в контроле всего 0,76 часа. Проанализировав стадию образования зародышевого кольца, следует отметить, что в отношении к 0‰, она наступила на 0,03 часа позже. Также и конечный этап эмбрионального развития – на 7,01 часа позже, чем вылупление эмбрионов *Danio rerio* в пресной воде.

Аналогичный замедленный процесс эмбриогенеза наблюдался и в галорезиме 5‰, только при этой концентрации начало дробления на 0,11 часа, а процесс вылупления на 10,51 часа протекали позже по отношению к контролю. Величина тау-сомит-интервала была максимальной при солености 5‰.

Более высокий темп эмбрионального развития икринок *Danio rerio* при постоянной солености (2‰) сопровождался повышением их выживаемости. Так, в сравниваемых постоянных значениях солености и контроля выживаемость икринок при концентрации NaCl 2‰ оказалась максимальной и составила 90%, что в 1,28 раз выше, чем в контроле ( $p < 0,01$ ) (рис. 2). При 1‰ – чуть меньше (80%). При солевом составе до 4‰ уровень выживаемости намного меньше, по сравнению с контролем (40%). При 5‰ наблюдалась минимальная выживаемость икры *Danio rerio* 15%, что в 4,7 раз меньше уровня в контроле ( $p < 0,05$ ) и в 6 раз меньше в отношении к выживаемости в благоприятной концентрации равной 2‰.

Периодические колебания солености в пределах толерантного диапазона ведут к ускорению роста и развития, оптимизации энергетики и улучшения физиологического состояния рыб. Таким образом, осолонение воды до 1-2 ‰ стимулирует ростовые процессы, тогда как концентрация соли выше 3‰ – угнетает рост и развитие эмбрионов и личинок рыб [13].

Переменный режим солености неоднозначно влияет на эмбриональное развитие *Danio rerio*. Вследствие того, что в природных условиях наблюдаются суточные и сезонные флуктуации абиотических факторов, их периодические колебания просто неизбежны. Имеются данные, что не только статичность, но также и динамичность факторов среды в определенных пределах является оптимумом для развития и роста рыб [10]. Периодическое осолонение воды в пределах 0-2‰ оказывает наиболее благоприятное воздействие на скорость развития икры. Изменение солености в пределах указанного диапазона заметно ускорило процесс эмбриогенеза в 1,08 раза по сравне-

нию с константным оптимальным режимом и в 1,3 раза по сравнению с пресной водой. В данном переменном галорезиме начальная стадия дробления начиналась уже через 0,59 часа от осеменения, а стадия образования 5 пар сомитов через 8,85 часа, тогда как при 2‰ только через 0,63 часа – образование двух бластомеров и через 9,58 часа – формирование 5 пар сомитов. Тау-сомит-интервал в галорезиме 0-2‰ был минимальным не только по отношению к другим галорезимам с переменной соленостью, но и к постоянной концентрации NaCl 2‰, то есть переменная соленость в режиме 0-2‰ наиболее выгодна для развития икры. Если при концентрации солености 2‰ вылупление начиналось через 58,38 часа, то режим 0-2‰ способствовал вылуплению эмбрионов уже через 53,89 часа, что на 4,49 часа раньше. Полученные данные, прежде всего, еще раз подтверждают сделанный ранее вывод о положительном влиянии колебаний экологических факторов на процесс эмбриогенеза *Danio rerio*.

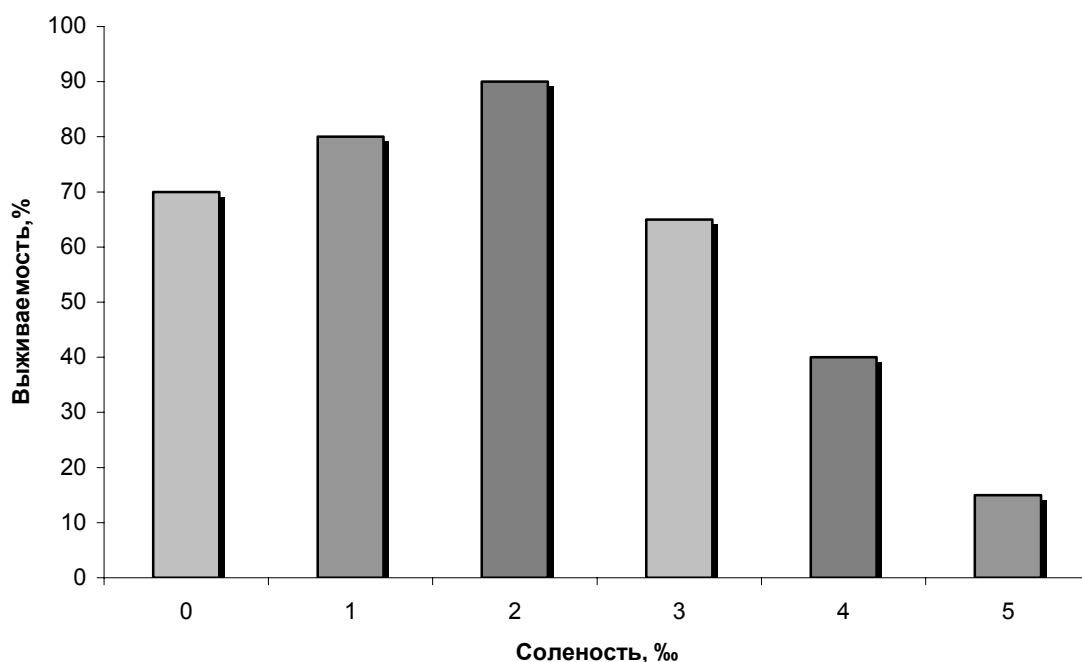


Рисунок 2 - Выживаемость икры *Danio rerio* при постоянных значениях солености, в % от исходного количества.

Меньший диапазон колебаний солености в пределах 0-1‰ также оказывал благоприятное воздействие на временные характеристики эмбриогенеза *Danio rerio*, но темп этого процесса в несколько раз меньше, чем при режиме 0-2‰ (рис. 3). Стадия образования двух бластомеров начиналась на 0,02 часа раньше, чем в константном оптимальном режиме (2‰); образование зародышевого кольца на 0,13 часа раньше; начальный этап сомитогенеза наступил уже через 9,20 часа, тогда как при 2‰ – только через 9,58 часа. Выход предличинок из оболочек при переменном галорезиме 0-1‰ занял на 2,33 часа меньше по отношению к 2‰.

При расширении перепадов фактора солености до 3‰ также наблюдалось ускорение темпа эмбриогенеза, но с небольшим отставанием во времени от этапов развития при колебаниях солености в пределах 0-2‰ (на 0,05 часа). При колебаниях солевого состава в диапазонах 0-4‰ и 0-5‰ стадия вылупления начиналась намного позже, чем в воде с соленостью 2‰. В галорезиме 0-4‰ – на 16,6 часа позже, а при 0-5‰ – даже на 20,08 часа. Иными словами, содержание икры в попеременных суточных галорезимах выше 0-3‰ ингибирует процесс ее эмбрионального развития, причем режим 0-5‰ оказывает наиболее губительное воздействие. Показатель времени

сомитогенеза в галорезиме 0-4‰ в 1,28 раз обладал замедленным эффектом по сравнению с константным оптимальным режимом (2‰), а при 0-5‰ – этот показатель составляет 1,34 часа. На основе полученных данных можно сделать вывод, что наибольшая скорость развития икры наблюдалась не в пресной или слегка осолоненной воде, а при попеременном нахождении икры в этих условиях.

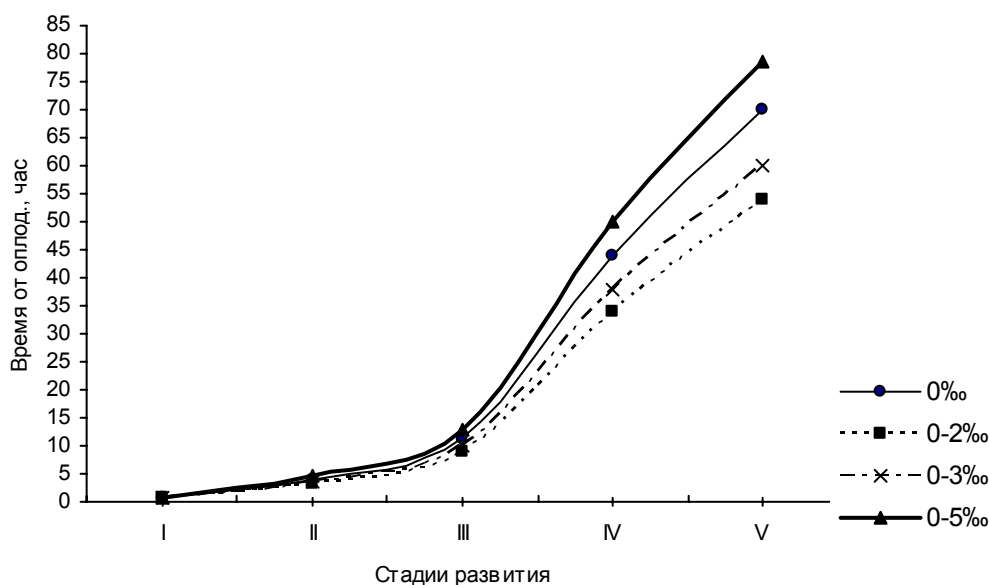


Рисунок 3 - Скорость развития икры *Danio rerio* при переменной солености. Ось абсцисс – время с момента оплодотворения, час; ось ординат – стадии развития: I – стадия образования 2 бластомеров; II – образование зародышевого кольца; III – стадия образования 5 пар сомитов; IV – пигментация туловища; V – вылупление предличинки.

Более высокий темп эмбрионального развития икринок *Danio rerio* при переменной солености сопровождался повышением их выживаемости. Так, в сравниваемых переменных и постоянных значениях солености выживаемость оказалась соответственно в 1,09 раза выше в условиях инкубации икры в переменных суточных галорезимах (рис. 4).

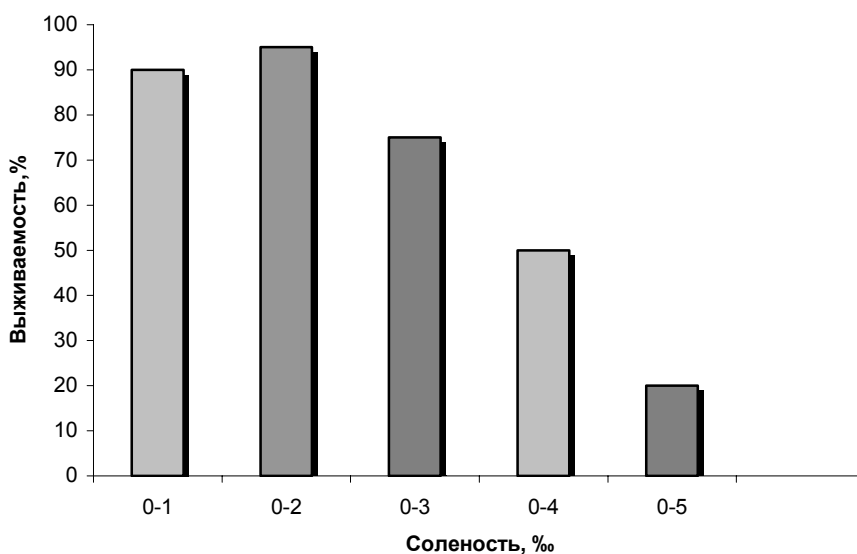


Рисунок 4 - Выживаемость икры *Danio rerio* при переменных значениях солености, в % от исходного количества.

Максимальный процент выживаемости (95%) наблюдался в переменном режиме NaCl 0-2‰. Минимальная величина выживаемости имела место при периодическом осолонении воды до 5‰ и составила всего 15%.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективном использовании постоянных и переменных режимов солености при инкубации икры рыб, тем более, что наряду с ускорением эмбрионального развития в наиболее оптимальных постоянных и переменных режимах наблюдается значительное увеличение выживаемости, особенно в критические периоды, что имеет большое значение в практике рыборазведения.

- 1 Анисимова, И.М., Лавровский, В.В. Ихтиология. - М.: Агропромиздат, 1991. - 287 с.
- 2 Воробьева, Э.И. Влияние внешних факторов на микроструктуру оболочек икры. - М.: Наука, 1986. - 108 с.
- 3 Аминова, В.А., Яржомбек, А.А. Физиология рыб. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1984. - 200 с.
- 4 Константинов, А.С. Статический и астатический оптимум абиотических факторов в жизни рыб // Тез. докл. I Конгресса ихтиологов России, 1997. М.: ВНИРО, 1997. С. 221-222.
- 5 Оммани, Ф. Рыбы. - М.: Мир, 1975. - 192 с.
- 6 Резниченко, П.Н. Влияние постоянной температуры инкубации на выживаемость икры плотвы // Особенности развития некоторых рыб и амфибий в связи с их экологией. - М.: Изд. Акад. наук СССР, 1962. - 267 с.
- 7 Костомарова, А.А. Влияние голодания на развитие личинок костистых рыб // Особенности развития некоторых рыб и амфибий в связи с их экологией. - М.: Изд. Акад. наук СССР, 1962. - 267 с.
- 8 Жукинский, В.Н. Влияние абиотических факторов на разнокачественность и жизнеспособность рыб в раннем онтогенезе. - М.: Агропромиздат, 1986. - 248 с.
- 9 Бенюмов, А.О. Продолжительность первых митотических циклов в стадировании эмбриогенеза у *Danio rerio* // Онтогенез. - 1995. - Т. 25, № 2. - С. 132-138.
- 10 Детлаф, Т.А. Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных животных. - М.: Наука, 2001. - 211 с.
- 11 Макеева, А.П. Эмбриология рыб. - М.: Изд-во МГУ, 1992. - 215 с.
- 12 Хлебович, В.В. Критическая соленость биологических процессов. - Л.: Наука, 1974. - 241 с.
- 13 Белый, Н.Д. Развитие икры и личинок судака *Lucioperca Yucioperca L.* и леща *Abramis brata L.* в низовьях Днепра при разной солености воды // Вопр. ихтиологии. - 1987. - Т. 7, № 1. - С. 187-191.

## ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ

Е.А.Козлова, Г.С. Барнашова

Различные природные антропогенные факторы могут оказывать существенное влияние на соотношение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной активности (АОА) у пресноводных гидробионтов [1]. Различные биотические и абиотические факторы, такие как температура, рН, соленость, жесткость воды, содержание растворенного кислорода, формы метала, продолжительность воздействия, состояние организма, могут влиять на процессы ПОЛ у гидробионтов [2]. Анти-

оксидантная системы у рыб сформировалась в ходе эволюции, и интерес представляет определение соотношения **ПОЛ** и **АОА** в зависимости от физиологических и экологических особенностей, также роли этих систем в процессе адаптации к среде обитания [3]. Основным субстратом перекисного окисления являются жирные кислоты, входящие в состав клеточных мембран, а липидный состав ткани рыб зависит в большей степени от эколого-физиологических условий среды [4]. Целью нашей работы было определить влияние эколого-физиологических условий и эколого-биохимических особенностей на процессы перекисного окисления липидов по влиянию антропогенных факторов и факторов внешней среды.

Исследования проводились в течение 2004–2005 гг. на особях золотого карася и белого толстолобика разного возраста, отловленных в водоемах п. Кадошкино и с. Ст. Авгуры Краснослободского района. Для подбора оптимальных условий извлечения фермента использовали мышечную ткань золотого карася, живущего в водоемах Кадошкинского района. Для этого 10 г мышечной ткани рыбы гомогенизировали и заливали раствором 0,2 М трис-НСl. После этого проводили фильтрацию и центрифугировали. В полученном экстракте определяли **АК** по вышеуказанной методике. Первоначально проводили экстракцию при температуре 18°C в течение 30 мин, используя количество растворителя в соотношении 1:1, 1:2, 1:5. Судя по полученным данным экстракты из мышечной ткани лучше готовить 1:5 (50 мл растворителя на 10 г ткани). Судя по активности фермента, при данных условиях он лучше переходит в раствор. Результаты представлены в таблице 1.

В другой серии опытов мы изменяли pH растворителя. В качестве растворителя использовали трис-НСl 0,2 М при различных значениях pH: 7,2; 7,87; 8; 8,5. При этом лучшие показатели **ПОЛ** были получены при приготовлении экстракта при pH = 7,2. Результаты приведены в таблице 2.

Следующая серия опытов проводилась с целью выявления влияния температуры и времени на показатели **ПОЛ** при получении экстракта из мышечной ткани золотого карася. Извлечение каталазы вели в течение 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 24 ч, при температуре +4°C, +18°C, +38°C. При этом наибольшая активность каталазы наблюдалась при t = (+4) °C, в течение 24 ч. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 1 – Показатели **ПОЛ** при приготовлении экстракта мышечной ткани золотого карася в зависимости от количества растворителя (0,2 Мтрис-НСl; pH = 7,2)

Наименование показателя	Температура, °C	Ткань : раствор (г : мл)		
		10:10	10:20	10:50
ДК (Ио)	18	0,4006	0,5402	0,6940
m		0,006	0,012	0,009
σ		0,029	0,053	0,041
АК, мкат/г ткани	18	0,1518	0,3677	1,1872
m		0,019	0,024	0,007
σ		0,085	0,108	0,030

Таким образом, наилучшими условиями извлечения фермента каталазы из мышечной ткани золотого карася являются: гидромодуль 1:5, температура +4 °C, время экстракции 24 часа и pH раствора 7,2.

У рыб имеется хорошо сбалансированная система **АОА** и **ПОЛ**, обеспечивающие нормальную жизнедеятельность и способствующие к разным условиям среды



[5]. Соотношение этих параметров в организме рыб зависит от сезона и связанных с ним колебаниями температуры, солености, содержание кислорода и pH [4].

Мы исследовали белого толстолобика в разные времена года, определяя активность каталазы и индекс окисленности диеновых конъюгатов в мышечной ткани.

Нами были проведены опыты по определению активности каталазы в мышечной ткани белого толстолобика в зависимости от сезона года. Первая проба была взята в октябре 2004 г., вторая – в феврале 2005 г., третья – в апреле 2005 г., и четвертая в июне 2005 г. Результаты этих исследований приведены в таблице 4.

Анализируя результаты таблиц, можно сказать, что в осенний период наблюдается наименьшая активность каталазы и индекса окисленности диеновых конъюгатов. Это связано с переходом рыб к состоянию покоя в зимний период. Наибольшее значение этих показателей в летний период, что свидетельствует подготовке рыбы к нерестовому сезону.

Высокое значение показателей ПОЛ в зимний период объясняется физиологическими особенностями рыбы белого толстолобика в водоемах-охладителях, с температурой +3-+6 С. Причем, при таких температурах от имеет более высокие темпы роста, чем другие виды рыб в аналогичных условиях [6].

С развитием промышленности и сельского хозяйства наметилось резкое ухудшение обстановки в водоемах, связанного с усилением негативного воздействия сточных вод на качество воды и организм пресноводных гидробионтов. В связи с этим возникла потребность очистки сточных вод на очистных сооруже-

Таблица 3 – Извлечение каталазы из мышечной ткани золотого караса в зависимости от температуры и времени (0,2 М трис-HCl; pH = 7,2).

Температура, °C	Время экстракции															
	30 мин				1 ч				2 ч				24 ч			
	E <sub>к</sub> , 410 нм	E <sub>оп</sub> , 410 нм	E, мкат/г	E <sub>к</sub> , 410 нм	E <sub>оп</sub> , 410 нм	E, мкат/г	E <sub>к</sub> , 410 нм	E <sub>оп</sub> , 410 нм	E, мкат/г	E <sub>к</sub> , 410 нм	E <sub>оп</sub> , 410 нм	E, мкат/г	E <sub>к</sub> , 410 нм	E <sub>оп</sub> , 410 нм	E, мкат/г	
4°C	0,25	0,182	0,4347	0,25	0,146	0,664	0,25	0,139	0,710	0,25	0,059	1,221	0,25	0,004	0,026	
m	0,000	0,009	0,055	0,000	0,005	0,079	0,000	0,007	0,043	0,000	0,004	0,026	0,000	0,004	0,026	
σ	0,000	0,019	0,123	0,000	0,011	0,177	0,000	0,015	0,097	0,000	0,009	0,058	0,000	0,009	0,058	
18°C	0,25	0,234	0,095	0,25	0,226	0,144	0,25	0,14	0,703	0,25	0,069	1,151	0,25	0,069	1,151	
m	0,000	0,005	0,032	0,000	0,005	0,033	0,000	0,007	0,079	0,000	0,003	0,021	0,000	0,003	0,021	
σ	0,000	0,011	0,071	0,000	0,011	0,073	0,000	0,016	0,177	0,000	0,007	0,047	0,000	0,007	0,047	
38°C	0,25	0,185	0,415	0,25	0,153	0,568	0,25	0,185	0,415	0,25	ингибир.		0,25			
m	0,000	0,005	0,032	0,000	0,005	0,058	0,000	0,005	0,032	0,000	0,005	0,021	0,000	0,005	0,021	
σ	0,000	0,011	0,071	0,000	0,012	0,129	0,000	0,011	0,072	0,000	0,011	0,047	0,000	0,011	0,047	

ниях. Нами была определена степень влияния сточных вод электротехнического завода п. Кадошкино после прохождения ими через очистные сооружения, на процессы перекисного окисления липидов в мышечной ткани золотого карася.

Таблица 2 – Показатели ПОЛ при приготовлении экстракта мышечной ткани золотого карася в зависимости от рН используемого растворителя (0,2 М трис-НСl)

Наименование показателя	рН =7,2	рН =7,87	рН =8	рН =8,5
ДК (Ию)	0,724	0,481	0,288	0,282
m	0,008	0,002	0,003	0,008
σ	0,038	0,009	0,012	0,037
АК, мкат/г ткани	1,1886	0,7392	0,3583	0,2065
m	0,007	0,040	0,029	0,024
σ	0,033	0,179	0,128	0,109

Таблица 4 – Активность каталазы в мышечной ткани белого толстолобика в различные времена года

Время года	Е <sub>к</sub> , 410 нм	Е <sub>оп</sub> , 410 нм	Е, мкат/г
Осень	0,25	0,223	0,174
m	0,000	0,007	0,042
σ	0,000	0,015	0,095
Зима	0,25	0,0457	1,306
m	0,000	0,000	0,003
σ	0,000	0,001	0,007
Весна	0,25	0,0086	1,048
m	0,000	0,004	0,027
σ	0,000	0,010	0,061
Лето	0,25	0,0559	1,240
m	0,000	0,004	0,023
σ	0,000	0,016	0,103

Таблица 5 – Диеновые конъюгаты в мышечной ткани белого толстолобика в разное время года

Время года	ДК, 233 нм	ДК, 215 нм	И <sub>0</sub>
Осень	0,019	0,024	0,801
m	0,000	0,007	0,042
σ	0,000	0,015	0,095
Зима	0,312	0,316	0,982
m	0,000	0,000	0,003
σ	0,000	0,001	0,007
Весна	0,282	0,290	0,970
m	0,000	0,004	0,027
σ	0,000	0,010	0,061
Лето	0,401	0,369	1,085
m	0,013	0,008	0,008
σ	0,057	0,036	0,034

Экспертной комиссией государственной экологической экспертизы ежеквартально производится химический анализ сточной воды, прошедшей очистные сооружения. Результаты такого анализа, проведенного 12.09.2005 г., представлены в табл 6.

Таблица 6 Химический анализ сточной воды электротехнического завода п. Кадошкино.

Наименование определения	Норма для водопользования рыбного хозяйства	Сток после очистных сооружений	Фоновый пруд	Пруд, расположенный от стока на раст. 1 км.
Аммиак и соли аммония	0,5	2,3	0,84	1,27
Нитраты	40,0	н/обн	1,0	1,2
Нитриты	0,08	н/обн	0,08	0,1
Сульфаты	100,0	62,44	52,83	57,63
Хлориды	300,0	103,16	61,84	65,33
Фосфаты	0,2	0,7	0,32	0,38
Окисленность бихроматов	30,0	66,96	37,2	22,32
БПК <sub>5</sub>	2,0	19,2	15,3	12,5
Сухой остаток при 105 °С.	1000,0	660,0	360,0	380,0
Взвешенные в-ва	20,0	18,0	14,0	16,0
Сu	0,001	н/обн	н/обн	н/обн

Как видно из таблицы 6, содержание многих веществ превышает нормы для водопользования рыбного хозяйства. Вода после очистных сооружений поступает в ручей Безымянный, затем через систему биологических прудов поступает в р. Сивинь. Для определения влияния сточных вод на активность каталазы и индекса окисленности диеновых конъюгатов были взяты пробы рыб после очистных сооружений на расстоянии 0,5 км, 4 км, 12 км, 27 км. Результаты исследований представлены в таблице 7. Как видно из таблицы 7, значения активности каталазы изменяются в зависимости от удаленности от очистных сооружений. **АК** в фоновом пруде, куда не попадает сток от очистных сооружений, составляло 0,219 мкат/г, а **АК** на расстоянии 0,5 км от очистных сооружений резко возрастает до 1,205 мкат/г.

Таблица 7. Определение влияния выбросов сточных вод электротехнического завода п. Кадошкино на процессы ПОЛ в мышечной ткани золотого карася

Место забора пробы	Активность каталазы			Ио (ДК)		
	Е <sub>к,410</sub> нм	Е <sub>оп, 410</sub> нм	Е, мкат/г	Λ,223 нм	Λ,215 нм	Ио
Фоновый пруд	0,26	0,223	0,219	0,232	0,913	0,253
Расстояние 0,5 км	0,26	0,067	1,205	0,164	0,270	0,606
Расстояние 4 км	0,26	0,123	0,857	0,204	0,410	0,499
Расстояние 12 км	0,26	0,178	0,513	0,248	0,584	0,425
Расстояние 27 км	0,26	0,215	0,269	0,249	0,832	0,299

С дальнейшим увеличением расстояния от стоков очистных сооружений интенсивность активности каталазы уменьшается, и где-то на 30 км почти достигает

значений в фоновом пруде. Аналогичная ситуация складывается и для индекса окисленности диеновых конъюгатов, где значение Ио в фоновом пруде составило 0,253, на расстоянии 0,5 км – 0,606, а на расстоянии 30 км – 0,299.

Таким образом, можно сказать о наличии постоянно действующего антропогенного фактора на пресноводных гидробионтов. В данном случае сточные воды электротехнического завода, прошедшие очистные сооружения являются недостаточно очищенными (табл. 6) и содержат в себе некоторые вещества. Эти вещества, в свою очередь, оказывают влияние на процессы перекисного окисления липидов в мышечной ткани рыб (табл. 7), вызывая увеличение активности этого процесса.

- 1 Шульман, Г. Е. Влияние стрессовой ситуации на ПОЛ в тканях гидробионтов / Г. Е. Шульман, Г. В. Юнева // Гидробиол. журнал. – 1990. – Т. 26, № 6. – С. 50–53.
- 2 Руднева, И. И. Эколого-физиологические особенности антиоксидантной системы рыб и процессов ПОЛ / И. И. Руднева // Успехи современной биологии. – 2003. – Т. 123, № 9. – С. 390–398.
- 3 Зоров, Д. Б. Друзья или враги активных форм кислорода и азота / Д. Б. Зоров, С. Ю. Банникова, С. Ю. Плотникова // Биохимия. – 2005. – Т. 128, № 2. – С. 265–272.
- 4 Голованов В. К., Вантолин Т. Влияние дополнительного тепла. Рыбы // Экологические проблемы Верхней Волги. – Ярославль: ЯГУ, 2001. – С. 295 – 302
- 5 Кузнецов В. А. Изменение структуры популяции и биологических показателей серебряного карася *Carassius auratus gibelio* в Волжском плесе Куйбышевского водохранилища в условиях усиления антропогенной нагрузки на экосистему // Вопросы ихтиологии, 2004. – №2. – С. 257–264
- 6 Руднева, И. И. Особенности перекисного окисления в организме морских и пресноводных рыб / И. И. Руднева // Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 1998. – Т. 34, № 3. – С. 310–318.

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В ПОПУЛЯЦИИ ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИИ

И.В. Крутова, Н.В. Яшкина

В наше время условия окружающей среды меняются с катастрофической скоростью. При сравнении данных по частоте хромосомных мутаций за длительные периоды мониторинга, как в нашей стране, так и в других странах мира, отмечается рост частоты хромосомных мутаций в среднем в 2 раза за каждые 10 лет [1]. Новые достижения в генетике человека и их применение в медицине создают замечательные возможности для улучшения здоровья всего населения. Программа по генетике человека ВОЗ (HGN) прежде всего, концентрируется на приложении генетических подходов в улучшении здоровья населения. Большой интерес программа проявляет к созданию Центра геномных ресурсов, который должен представлять собой единую базу данных, размещенную в Интернете с целью объединения всей информации по последним достижениям в генетике.

В этой связи становятся актуальными научные исследования, направленные на создание баз данных по хромосомной изменчивости регионов России с повышенной экологической нагрузкой.

Н.П. Бочков отмечает, что генотип популяций не успевает адекватно реагировать на изменение среды [1, 2, 3, 4]. Появляются наследственные болезни нового класса - экогенетические болезни, связанные с тем, что в измененных экологических

условиях у определенных особей популяции, имеющийся аллель при воздействии конкретного фактора среды может проявлять патологическое действие.

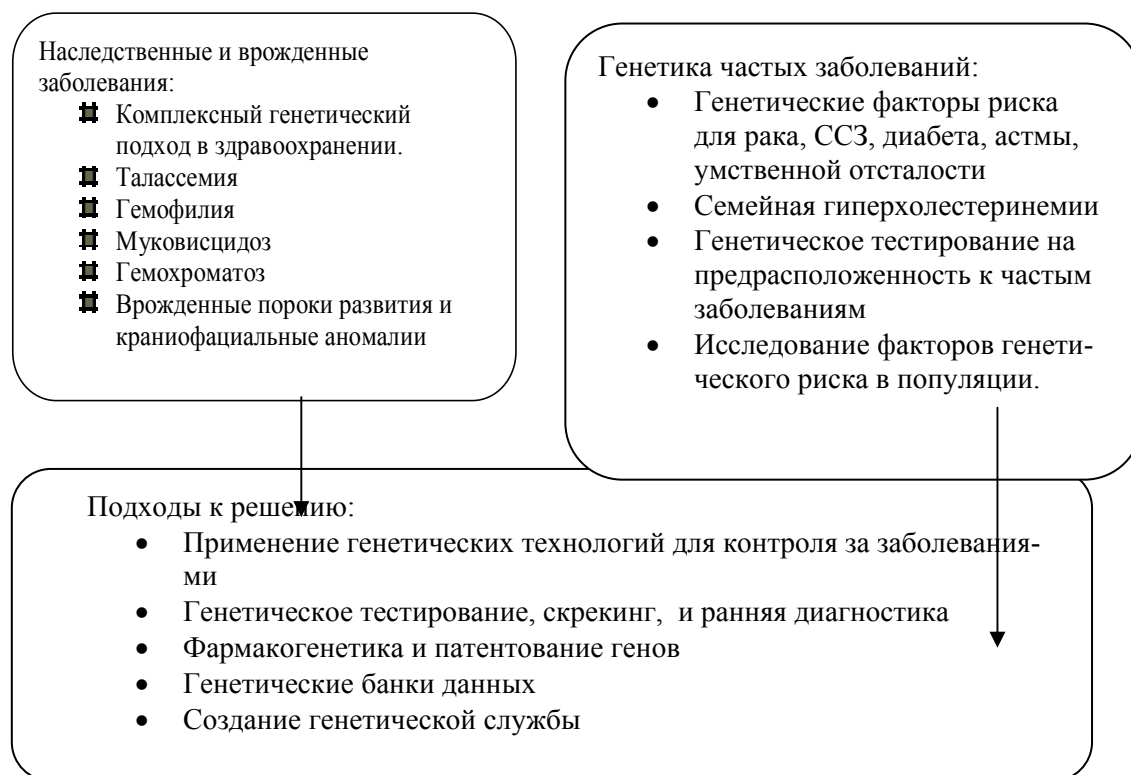


Рисунок 1 - Сфера интересов программы ВОЗ в области генетики человека.

Другой составляющей явления мутагенеза генома человека является механизм возникновения и развития заболеваний, связанных с наследственной предрасположенностью. Уже сейчас ясно, что развитие многих частых заболеваний человека связано с наследственными изменениями генотипа, которое реализуется при наличии соответствующих средовых условий или образа жизни человека [5].

Механизм явления основывается на повреждении генетического материала генотоксикантами. При этом возникают такие изменения как потеря или копирование генов, изменение их информации или экспрессии. В результате возникают новые аллели, определяющие генетический полиморфизм популяции. В данных условиях существования они подвергаются жесткому отбору, что приводит к гибели неподходящего фенотипа или к развитию тяжелых заболеваний.

По данным медицинской статистики, имеется тенденция к росту числа заболеваний среди населения РМ (рис. 2). Если сравнить эти данные с загрязненностью окружающей среды, т.е. основания говорить о том, что РМ входит в категорию регионов с неблагоприятной экологической обстановкой. Таким образом, имеет смысл проведения на территории РМ комплексных цитогенетических исследований.

Территория республики Мордовия не является экологически благополучным регионом. По данным Министерства природных ресурсов Российской Федерации и Комитета природных ресурсов, на территории республики Мордовия находится более 10000 природопользователей. Более чем у трети из них имеются технологические процессы, связанные с загрязнением окружающей среды. Среди основных генотоксикантов, загрязняющих территорию Мордовии, можно выделить оксиды азота, формальдегид, углеводороды, тяжелые металлы. В настоящее время генотоксический

эффект многих загрязняющих веществ не вызывает сомнения [9]. С этой точки зрения, значительную опасность представляют ионы тяжелых металлов, для которых описан генотоксический эффект.

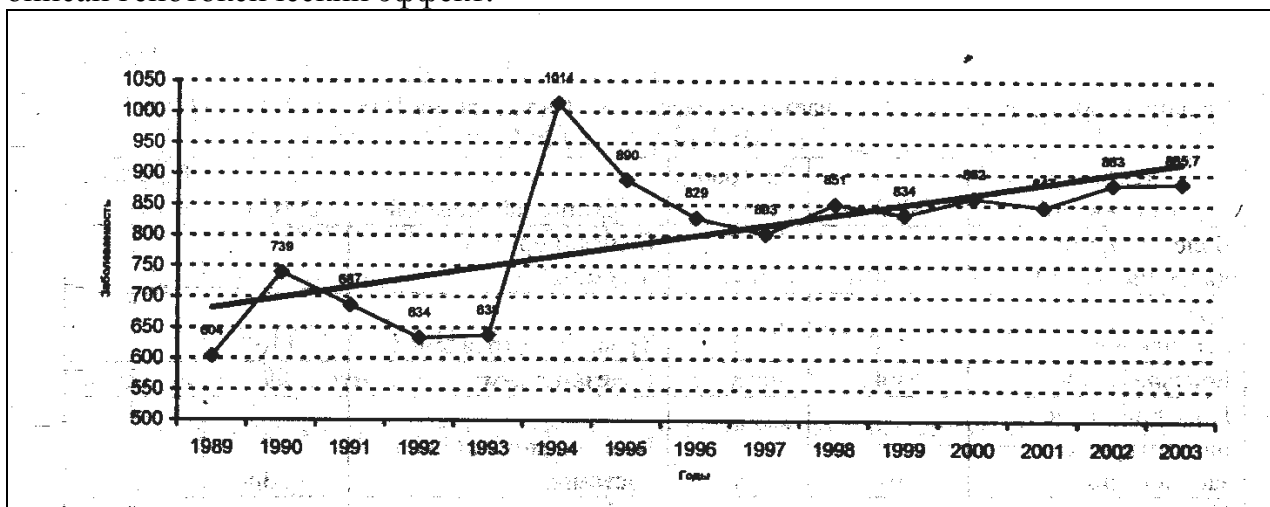


Рисунок 2 - Рост заболеваемости среди населения г. Саранска.

Объектом эксперимента служила культура лимфоцитов периферической крови человека. Повреждения МХ - хромосомные aberrации являются маркером неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды на кариотип человека.

В ходе эксперимента смоделирован генотоксический эффект солей свинца в культуре лимфоцитов. В результате повысился уровень выхода метафазных пластинок с поврежденным кариотипом (рис. 3)

Отмечено, что мутагенный эффект проявлялся на фоне снижения активности каталазы и супероксиддисмутазы, а так же роста концентрации малонового диальдегида. В результате полученных данных в ходе выполнения научной работы мы можем сделать следующие выводы:

1. В популяции населения республики Мордовия наблюдается рост генетического груза и факторообусловленных заболеваний.

2. Рост заболеваемости связан с генотоксичностью среды жизнедеятельности.

3. Генотоксические факторы окружающей среды, например такие, как свинцовая интоксикация, повышают нестабильность кариотипа. В наших исследованиях в 3 раза по сравнению с контролем.

4. Механизм реализации мутагенного эффекта экзогенными генотоксикантами осуществляется через механизмы запуска эндогенных процессов: изменение экспрессии генов, инактивацию ферментативных систем и накопление мутагенных продуктов метаболизма.

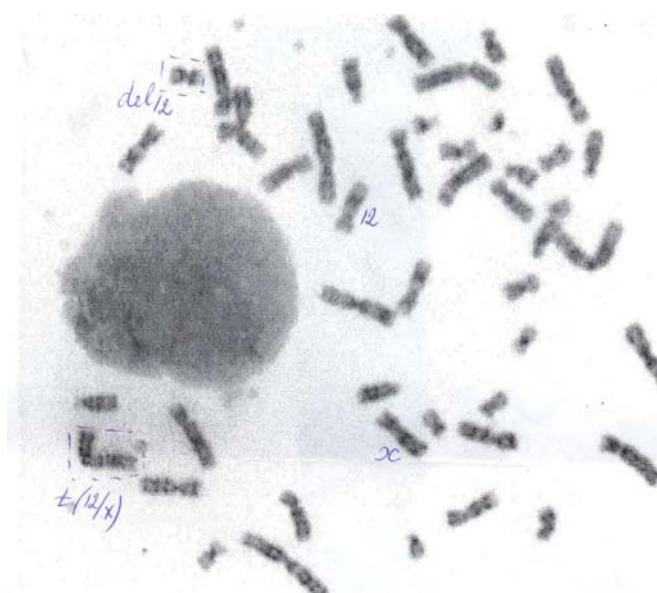


Рисунок 3 - Делеция 12 хромосомы и ее транслокация на X хромосому.

1. Бочков, Н.П. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Н.П. Бочков, А.Н. Чеботарев, Л.Д. Катосова, В.И. Платонова // Генетика. -2001.- т. 37.-№ 4. -С. 549-557.
2. Кожин, А.А. Комплексная оценка токсичности антропогенного загрязнения окружающей среды при экологическом ранжировании территории / А.А. Кожин, В.Е. Закруткин // Медицина труда и промышленная экология.- 1997. - №2, - С. 9-13.
3. Бариляк, И.Р. Генетические последствия загрязнения окружающей среды / И.Р. Бариляк, Т.И. Буржиевская, А.И. Быкорез.- Киев: Наук. Думка, 1989.- 228 с.
4. Химический мутагенез и иммунитет. //Сб. ст. АН СССР / Институт химии и физики; отв. ред. И.А. Рапопорт; - М.: Наука, 1980 - 311 с.
5. Deknudt, G. Chromosomal aberrations in workers professionally exposed to lead / G. Deknudt, Y. Manuel, G.V. Gerber // J. Toxicol Environ. Health.- 1977.-Vol. 3.- P. 885-891.

## РЕДКИЕ РАСТЕНИЯ ОКРЕСТНОСТЕЙ СЕЛА НИКОЛАЕВКА

Г.В. Левина, В.К. Левин

Издание первого тома Красной книги Республики Мордовии, посвященного редким видам растений, лишайников и грибов подвело итог многолетней работы ботаников Мордовии, отразило уровень знаний по данной теме на тот период. Положением о Красной книге предусмотрено ее ведение, что стимулирует дальнейшее изучение флоры республики и проведение комплекса мероприятий по наблюдению за состоянием охраняемых видов в природе (выявление новых местообитаний, исследование популяций, контроль за состоянием сообществ и т.д.) [1, 2].

В данном сообщении мы приводим результаты полевых исследований 2005 г. в окрестностях с. Николаевка Большеберезниковского района и материалов гербария Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева (GMU).

Село Николаевка, единственный населенный пункт РМ на правом берегу Суры, находится в 4 км от райцентра Большие Березники, землевладения села граничат с Инзенским районом Ульяновской области. Местность характеризуется наиболее континентальным климатическим режимом на территории Мордовии. Абсолютные температуры, зарегистрированные в Больших Березниках  $+38^{\circ}$ ,  $-47^{\circ}$ , перепад  $85^{\circ}$  (для сравнения в Торбееве соответственно  $+36^{\circ}$ ,  $-41^{\circ}$ ,  $77^{\circ}$ ) [3].

Рельеф характеризуется большой пересеченностью, высокий правый берег Суры с крутизной  $60-70^{\circ}$ , местами оползневые ступени («лестницы»). Абсолютная высота поймы Суры в этом месте 101-102 м, находящаяся рядом с. Николаевкой гора Белая имеет высоту 256 м, т.е. перепады высот 155 м [4]. Коренные породы в виде мела и более плотных отложений выходят на поверхность склонов, в нижней части склонов продукты выветривания покрыты карбонатными черноземами. Пойма Суры покрыта комплексом пойменных почв. Водные ресурсы представлены рекой Сурой и многочисленными пойменными озерами-старицами. Разнообразие природных условий определяют богатство флоры и многообразие растительных ассоциаций. Здесь распространены нагорные широколиственные леса с преобладанием липы, пойменное чернолесье, осинники, сосново-березовые леса на щебенчатых склонах, искусственные насаждения сосны; низинные пойменные болота, пойменные и суходольные луга со степными элементами. Пашня заброшена и представляет разновозрастную залежь, сохранились небольшие посевы люцерны и эспарцета песчаного.

В окрестностях села Николаевка выявлены популяции 9 видов растений, включенных в Красную книгу РМ с категорией 2 (уязвимый вид).

*Salvinia natans* (L.) All. – Сальвиния плавающая. Водное растение с тонким стеблем длиной 3-10 (15) см и мутовчато расположенными листьями. Однолетник, обитающий в пойменных озерах, заводях рек, заливах водохранилищ. Состояние популяций из-за нерегулярности паводков нестабильно. В РМ вид зарегистрирован в Ардатовском, Большеберезниковском, Дубенском, Zubovo-Полянском, Кочкуровском районах. Известен во всех сопредельных регионах. В 2 км восточнее Николаевки в оз. Осинное сальвиния была собрана в 1996 г. (GMU).

*Stipa pennata* L. – Ковыль перистый. Многолетнее травянистое густодерновинное растение высотой 30-100 см. Зональный вид северной лесостепи, который в результате распашки целинных степей стал редок. Встречается по крутым склонам долин рек, оврагов, балок, опушкам дубрав на черноземах и известняках, реже – на песчаной почве по сухим соснякам и высоким гривам в поймах. Цветет в конце мая – начале июня. Плоды созревают в конце июня – начале июля. Размножается семенами, которые с помощью перистых остей достигают поверхности почвы. В некоторых районах обнаружены крупные популяции. На южных нестравливаемых склонах изредка образует ковыльники. Большинство же популяций немногочисленны. Количество цветущих особей зависит от погодных условий сезона. В результате антропогенных воздействий быстро сокращает численность и исчезает. Плодоносящая (2004, 2005 гг.) дерновинка ковыля обнаружена на возведенной в конце 1990-х гг. дорожной насыпи в пойме Суры между Б. Березниками и Николаевкой.

*Lilium martagon* L. – Лилия саранка. Травянистое многолетнее растение высотой 60-120 см с желтой яйцевидной луковицей до 5 см длиной. Евросибирский лесной неморальный вид. В РМ встречается изредка, небольшими группами. Преимущественно в восточных лесостепных районах. В окрестностях с. Николаевка произрастает в верхней части склона южной экспозиции на опушке лиственного леса. Экземпляр лилии имеет высоту 160 см с 16 коробочками и 6 ложными мутовками. Стебель второго экземпляра с коробочками кем-то был сломан и лежал рядом с первым.

*Iris aphylla* L. – Ирис безлистный. Травянистый многолетник высотой 20-50 см с коротким ползучим корневищем. Цветет в мае-июне, опыляется в основном насекомыми. Размножается семенами и вегетативно при помощи ползучих корневищ. Растет на сохранившихся степных склонах и в светлых лесах, предпочитая влажные черноземы или темно-серые почвы. Численность большей части популяций имеет тенденцию к сокращению, хотя среди них есть и достаточно стабильные. Большая популяция этого вида находится на восточной окраине села на склоне южной экспозиции. Популяция занимает склон крутизной  $35^{\circ}$  верху донизу, ширина полосы 47 м, длина 90 м, т.е. площадь популяции  $4230 \text{ м}^2$ , с плотностью побегов в среднем 16,5 стеблей на  $1 \text{ м}^2$ . Популяция находится в нормальном состоянии, имеются разновозрастные особи, антропогенное воздействие слабое – выпас и сенокосение на склоне не проводится. На склоне из древесных растений встречаются единичные угнетенные кусты жостера слабительного. Доминирующие травянистые виды: подмаренник цепкий, клевер средний, тысячелистник благородный, зопник клубненосный.

*Anemone sylvestris* L. – Ветреница лесная. Многолетнее травянистое растение высотой 15-50 см с вертикальным корневищем. Евроазиатский степной вид. Произрастает на богатых черноземных и темно-серых почвах, в луговых степях, по опушкам остепненных нагорных дубрав, карбонатным обнажениям, суходольным лугам. Цветет в мае-июне, плодоносит в июле-августе. Светолюбивый засухоустойчивый вид, способный выдерживать условия увлажнения, однако крупные популяции формирует преимущественно на суходольных лугах. Подавляющее число популяций насчитывает небольшое количество особей. В некоторых пунктах образует небольшие, но плот-



ные заросли. Вблизи населенных пунктов популяции находятся на грани исчезновения из-за сбора на букеты и пастбищной нагрузки. В окрестностях села Николаевка выявлена небольшая популяция в средней части крутого южного склона г. Белой на каменистой осыпи, зарастающей редкими кустами лещины и разновозрастными сосенками.

*Spiraea crenata L.* – Спирея городчатая. Светолюбивый листопадный кустарник лесостепной полосы. Встречается в зарослях степных кустарников, по опушкам, степным пескам, по полям и на высоких местах в поймах рек. В Мордовии распространена в восточной части республики, на склонах южной экспозиции, в прирусловой части поймы Суры, образуя монодоминантные заросли, или встречается единичными кустами. В окрестностях села Николаевка Б. Березниковского района нами обследовано две популяции спиреи городчатой. Одна находится к западу от села на расстоянии около 2-2,5 км в прирусловой части поймы на краю большой поляны между изреженными кустами клена татарского, черемухи и молодыми дубками. Популяция представлена разновозрастными одиночными кустами, группами и сплошными зарослями. В кустах в среднем 13 (1-35) стволиков высотой 1-2 м. Популяция находится в хорошем состоянии, антропогенное воздействие отсутствует. Вторая популяция спиреи находится на расстоянии около 2 км к востоку от села на краю обширной поляны, представлена единичными кустами и группами. Состояние популяции нормальное, антропогенное воздействие отсутствует. Данный вид находится на границе ареала.

*Cotoneaster melanokarpus Fish. ex Blytt* – Кизильник черноплодный. Имеет обширный ареал, включающий равнины, возвышенности и горы Евразии. В равнинной части ареала встречается в светлых лесах и рощах. На территории Мордовии был собран в Ардатовском и двух пунктах Б.Березниковского районов, а по старым сборам из поймы реки Алатырь в подлеске широколиственных лесов. В окрестностях села Николаевка кизильник обнаружен на опушке искусственного средневозрастного сосняка в центральной части поймы Суры. Старый плодоносящий куст высотой 190 см имеет 35 разновозрастных стеблей диаметром 1-2 см. Листья во второй половине лета повреждаются грибом и раньше времени опадают. Молодые экземпляры вблизи этого куста не обнаружены.

*Linum flavum L.* – Лен желтый. Травянистое растение высотой 20-60 см. Евразийский степной вид. Произрастает на сохранившихся степных склонах на черноземной и карбонатной почве. Цветет в июне-июле. Каждый цветок сохраняется неделю. Размножается преимущественно семенами. Вегетативное размножение малоэффективно. Светолюбив, засухоустойчив. В большинстве мест обитания популяция представлена немногочисленными особями. Лишь в отдельных пунктах образует небольшие, но плотные скопления. У с. Николаевка находится разновозрастная популяция в верхней части щебенчатого крутого склона южной экспозиции. Популяция занимает 2 участка общей площадью около 700 м<sup>2</sup>. Плотность популяции 0,8 шт/м<sup>2</sup>. Высота растений 20-75 см, количество стеблей 1-22. Соотношение стерильных стеблей, стеблей с цветками и стеблей с коробочками – 76%, 6% и 18% соответственно.

*Aster amellus L.* – Астра ромашковая. Многолетнее травянистое короткокорневищное растение высотой 20-50 см. Европейско-малоазиатский лесостепной вид. В РМ находится близ северной границы ареала. Произрастает небольшими группами и единичными особями, рассеянно, по сухим склонам холмов в и оврагов, зарослям кустарников, в степных группировках преимущественно на известняковых обнажениях или в лугово-степных и разреженных лесных сообществах. На перегнойно-карбонатной почве. Цветет в июле-августе и размножается семенами. Общая численность вида в республике, видимо, невелика и сокращается из-за разрушения места обитания. У с. Николаевка 2 популяции, расположенные недалеко друг от друга. Од-

на ценопопуляция в верховьях небольшой балки на склонах разных экспозиций. Популяция многочисленна и во время цветения (август) становится аспектирующим видом. Вторая популяция на склоне южной экспозиции вместе с вишней степной, льном желтым. Популяции находятся в нормальном состоянии – антропогенное воздействие практически отсутствует.

Кроме перечисленных в окрестностях с. Николаевка выявлено 17 видов растений, нуждающихся в постоянном контроле и наблюдении [1].

Таким образом, из 9 видов, включенных в Красную книгу РМ ирис безлистный, спирея городчатая, лен желтый, астра ромашковая в окрестностях с. Николаевка представлены нормальными разновозрастными популяциями, остальные выявленные виды представлены единичными или малочисленными особями и достаточно уязвимы.

Из видов дополнительного списка наиболее многочислен и широко распространен ландыш майский. На наш взгляд в дополнительный или даже в основной список следует включить линнею северную – *Linnea borealis* L., т.к. здесь она находится на границе ареала и, соответственно, включена в Красные книги Пензенской и Ульяновской областей.

1. Красная книга Республики Мордовия. Том 1. Редкие виды растений, лишайников и грибов. Саранск. Морд. кн. изд-во, 2003. - 288с.
2. Редкие растения и грибы, Материалы ведения Красной книги Республики Мордовия за 2004 год. Саранск. Изд. Морд. ун-та, 2004. – 46 с.
3. Агроклиматический справочник по Мордовской АССР. Л.: Гидрометеиздат, 1959. – 16 с.
4. Общегеографический региональный атлас «Республика Мордовия». М.: ЦЭВКФ, 2001. - 40с.

## КОРМОВАЯ БАЗА И ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РЫБОПРОДУКТИВНОСТЬ НА ВЕРХНЕМ И СРЕДНЕМ УЧАСТКАХ УЗИНСКОГО ЗАЛИВА СУРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Л.В. Люгзаева, А.Г. Каменев, А.Н. Вельмьякина

Сурское водохранилище создано в 1979 г. в результате зарегулирования стока р. Суры выше г. Пензы бетонной плотиной. Это крупный искусственный водоем, протяженностью около 32 км, шириной до 4 км и глубинами до 15 м (в русловой зоне). Сурское водохранилище, как и один из его компонентов – Узинский залив, мало изучены в гидробиологическом отношении. Поэтому в сезоне (май-сентябрь) 2004 г. был осуществлен сбор гидробиологического материала (преимущественно макрозообентоса) в верхней и средней частях (п.г.т. Шемышейка – р. Няньга) Узинского залива. Отбор и обработку проб макрозообентоса проводили по общепринятым в гидробиологии методикам [8, 9]. Всего получено 110 проб. Все расчеты выполнены как и в предшествующих наших исследованиях [5, 6].

За период наблюдений в макрозообентосе верхнего и среднего участков Узинского залива (п.г.т. Шемышейка - район р. Няньга) было выявлено 138 видов донных гидробионтов. Наибольшим разнообразием характеризовалась инсектофауна (двукрылые - 40, ручейники - 20, жуки - 10, поденки - 10, стрекозы - 7, клопы - 7, вислокрылые - 1), включавшая 95 видов; моллюсков отмечено - 28, олигохет - 7, пиявок - 7, ракообразных - 1 вид. Превалирующими группами зообентоса на верхнем участке Узинского залива являлись малощетинковые черви (встречаемость 72-90 %), моллюски (100%), хирономиды (77-95 %), поденки (43-67 %), ручейники (39-56 %). Уровень

развития макрозообентоса верхнего участка Узинского залива характеризовался довольно высокими показателями численности и биомассы. Так, средняя численность бентонтов в районе п.г.т. Шемышейка изменялась в пределах 735-1309 экз/м<sup>2</sup>, биомасса - 19,91-33,32 г/м<sup>2</sup>. Эти показатели макрозообентоса в районе впадения р. Няньга колебались в более широком диапазоне: 740-1936 экз/м<sup>2</sup> и 17,56-36,20 г/м<sup>2</sup>.

Динамику развития зообентоса определяли, как правило, немногие группы гидробионтов: малощетинковые черви, мягкотелые, личинки двукрылых. Эти группы в суммарном отношении обуславливали 95,60% общей численности (доля олигохет - 42, моллюсков - 26, двукрылых - 27,60 %) и 66,60% общей биомассы (12,25; 48,35; 6,0%) донных гидробионтов (район п.г.т. Шемышейка); 85,0% (36,30; 25,40; 23,30%) и 74,20 % (13,90; 51,30; 9,0%) соответственно общего количества и биомассы животных макрозообентоса в районе впадения р. Няньга.

Сезонная динамика развития макрозообентоса верхней части Узинского залива, прослеженная с мая по сентябрь характеризовалась нарастанием численности его от весны (май) к середине лета (июль), когда ее среднее значение оказалось самым высоким (за период наблюдения) - 1309 экз/м<sup>2</sup>; в августе произошло снижение среднего количества бентонтов на 1 м<sup>2</sup> (в 1,6 раза), среднесентябрьская численность зообентоса превышала августовскую почти в 1,5 раза (1,48). Таким образом, динамика численности бентофауны характеризовалась двувёршинной кривой - пиками в июле и сентябре. Последнюю обуславливали, главным образом, личинки двукрылых и поденок (вылет имаго и вселение новых генераций) и в меньшей степени малощетинковыми червями. Что касается биомассы макрозообентоса, то динамика последней не следовала тенденции описанной для численности. Наибольшим развитием она отличалась в первую половину сезона, с максимальным значением в июне (33,40 г/м<sup>2</sup>), которое определяли мягкотелые (*Piscinalis*, *Sphaerium*). Динамика развития макрофауны дна залива в районе р. Няньга отличалась двумя пиками численности (июнь-август) и двумя подъемами ее биомассы (июль-сентябрь). При этом, если динамику первого показателя обеспечивали личинки двукрылых, поденок и ручейников (при определяющей роли первых), то второго, как правило, мягкотелые, к которым в этом отношении присоединялись малощетинковые черви, пиявки, личинки стрекоз.

Рассчитанные величины продукции на разных трофических уровнях и некоторые элементы энергетического баланса макрозообентоса, характеризуемого участка залива показали (табл. 1), что донные гидробионты, относящиеся ко второму трофическому уровню, создавали в разных районах его весьма близкие величины продукции (189,814; 191,90 кДж/м<sup>2</sup>). Это обусловлено довольно сходным уровнем развития групп бентоса, составляющих ядро его мирного компонента. При очень близких показателях продукции мирного макрозообентоса в описываемых районах залива за сезон более продуктивным оказался хищный зообентос ( $P_b$ ) в районе впадения р. Няньга (65,13 кДж/м<sup>2</sup>) по сравнению с аналогичным показателем у п.г.т. Шемышейка (40,07 кДж/м<sup>2</sup>). Высокие показатели продукции донных гидробионтов, относящихся к третьему трофическому уровню, за сезон в этом районе обусловлены более выраженным здесь прессом хищных беспозвоночных (пиявки, стрекозы, жуки, клопы).

В то же время величина фактической продукции ( $P_b$ ) макрозообентоса более высокой оказалась в районе п.г.т. Шемышейка (138,72 кДж/м<sup>2</sup>) по сравнению с районом впадения р. Няньга, что указывает на преобладание процесса аккумуляции энергии в сообществах первого района. Здесь же заметно меньшими величинами характеризовались элементы энергетического баланса ( $R_b$ ,  $A_b$  и др.). Напротив, во втором районе (р. Няньга) бентокомплекс животных создавал меньшую по величине фактическую продукцию (109,55 кДж/м<sup>2</sup>), но отличался наиболее высокими тратами

на обмен ( $R_b$ ), величиной ассимилированной энергии ( $A_b$ ), рационами; причем как мирных, так и хищных животных. Таким образом, повышение сложности трофической структуры бентокомплексов второго района верхней части залива способствует более полному использованию создаваемого органического вещества внутри его, повышению энтропии энергии над ее накоплением. Показателем соотношения рассеиваемой и аккумулируемой энергии в сообществах и, следовательно, сложности их структуры и устойчивости может служить отношение  $P_b/R_b$  [1, 2, 5, 6]. На исследованном участке залива отношение  $P_b/R_b$  было, как правило, заметно ниже в районе впадения р. Няньга, что свидетельствует о более высокой структурированности бентических комплексов животных в этом районе по сравнению с таковым у п.г.т. Шемышейка.

Таблица 1 – Динамика продукции и составляющих энергетического баланса макрозообентоса на верхнем и среднем участках Узинского залива Сурского водохранилища

Месяц	$P_f$	$P_p$	$P_b$	$R_b$	$A_b$	$C_f$	$C_p$	$P_b/R_b$	ППР, г/м <sup>2</sup>
<b>Район п. г. т. Шемышейка</b>									
Май	43,91	18,36	24,83	67,93	130,20	167,08	37,44	0,366	0,76
Июнь	35,22	14,74	15,71	83,50	133,46	176,77	34,25	0,188	0,48
Июль	49,83	5,54	40,43	90,13	145,50	222,58	14,94	0,449	1,24
Август	36,69	1,09	34,35	58,55	96,33	155,98	3,43	0,587	1,05
Сентябрь	24,16	0,34	23,40	45,62	62,65	102,95	1,10	0,513	0,72
Всего	189,81	40,07	138,72	375,73	568,14	825,36	91,16	-	4,25
<b>Район впадения р. Няньга</b>									
Май	19,63	2,18	15,98	44,67	66,48	103,03	5,83	0,358	0,49
Июнь	47,44	6,72	39,27	92,37	146,53	224,37	14,89	0,425	1,20
Июль	45,43	11,40	29,88	96,16	152,99	219,05	26,95	0,311	0,92
Август	49,04	12,29	28,72	94,87	156,20	216,85	32,61	0,303	0,88
Сентябрь	30,36	32,54	-4,30	74,89	137,79	140,05	67,20	-	-
Всего	191,90	65,19	109,55	402,96	659,99	903,35	147,48	-	3,49

Для оценки Узинского залива как рыбохозяйственного угодья нами рассчитана потенциальная рыбопродуктивность рыб-бентофагов за счет естественного корма (макрозообентоса), которая на исследованном участке залива оказалась в пределах 3,49–4,25 г/м<sup>2</sup>, или 35–43 кг/га. Естественная рыбопродуктивность на мордовском участке Суры в оценке В.С. Вечканова [3] составляла 10–20 кг/га, рыбопродуктивность Киевского водохранилища (в первые годы его существования) оценивалась в 30–35 кг/га [7]; в условиях Свяжского залива Куйбышевского водохранилища потенциальный прирост ихтиомассы бентосоядных рыб за счет естественной кормовой базы достигал 21,7–37,0 кг/га [4]. Из сопоставления наших данных с приведенными выше следует, что в год наблюдения макрозообентос верхнего участка Узинского залива способен обеспечить довольно высокий прирост ихтиомассы бентосоядных рыб, сопоставимый с аналогичными показателями в водоемах подобного типа.

1. Алимов, А.Ф. Структурно-функциональный подход к изучению сообществ водных животных // Экология. - 1982. - № 3. - С. 45 – 451.
2. Алимов, А.Ф. Введение в продукционную гидробиологию. - Л.: Гидрометеиздат, 1989. - 152 с.
3. Вечканов, В.С. Современное состояние и пути увеличения рыбных ресурсов в естественных водных экосистемах Мордовии // Проблемы формирования и развития регио-

- нальных социально-экономических систем «город – село» в республиках и областях Нечерноземной зоны РСФСР. Саранск, 1981. С. 40–43.
4. Каменев, А.Г. Макрозообентос Свияжского залива Куйбышевского водохранилища и его продукция: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань, 1972. - 19 с.
  5. Каменев, А.Г. Биопродуктивность и биоиндикация водотоков правобережного Средневожжья. Макрозообентос. - Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 1993. - 226 с.
  6. Каменев, А.Г. Биоразнообразие и биопродуктивность сообществ макрозообентоса озер левобережного Присурья. - Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2004. - 116 с.
  7. Константинова, Н.А. Продукция гетеротрофных организмов. Рыбы // Киевское водохранилище. - Киев: Наукова думка, 1972. - С. 406–409.
  8. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. - М.: Наука, 1975. - 240 с.
  9. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах: Зообентос и его продукция. - Л.: ГосНИОРХ. 1984. - 52 с.

## ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ СВИНЦА И КАДМИЯ НА ВЫХОД ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ

Н.А. Маланкина, В.И.Кудряшова

Проблема тяжелых металлов связана с их широким применением в промышленности, стойкостью в окружающей среде. Избыток или нехватка отдельных из них может привести к изменчивости организма на разных уровнях организации. Особую трудность в определении мутагенной активности металлов представляет подбор тест-систем. В отличие от органических соединений мутагенные свойства тяжелых металлов не обнаруживаются в тестах с микроорганизмами. Поэтому среди методов контроля значительное место отводится растительным тест-системам. Целью данной работы являлось изучение закономерностей формирования цитогенетических эффектов у семян *Allium fistulosum* в условиях раздельного действия водных растворов солей тяжелых металлов (ТМ)  $Pb(NO_3)_2$  и  $Cd(NO_3)_2$  при разных концентрациях (0,1 М; 0,05 М; 0,01 М).

В ходе эксперимента были установлены различия между вариантами опыта по такому важному показателю как прорастаемость семян. Они свидетельствуют о жизнеспособности растений в ранний период онтогенеза при обычных условиях и в случаях обработки семян водными растворами соединений  $Pb(NO_3)_2$  и  $Cd(NO_3)_2$ . Так, в контроле через сутки после закладки опыта проросло 5 семян. А в вариантах с действием нитрата свинца в концентрациях 0,1М; 0,05М по 3 семени соответственно. В варианте с нитратом кадмия при концентрации 0,1М проросло всего 2 семени.

Однако на вторые сутки появилась тенденция к более активному прорастанию семян во всех вариантах, где производили обработку нитратом свинца и кадмия. Так в случае с нитратом свинца примерно в 3,5 раза выше, чем в контроле, а в случае с нитратом кадмия примерно в 2 раза выше по сравнению с контролем. Соотношение данных изменилось на третьи и четвертые сутки, в которых отмечено ускорение прорастания семян в контрольном варианте. На пятые сутки наблюдалось выравнивание показателей прорастаемости семян. Исключение составил опыт, в котором применяли водный раствор свинца в концентрации 0,01М. Здесь четко обозначился стимулирующий эффект, превосходящий другие варианты эксперимента примерно в 3,2 раза. В варианте же с водным раствором кадмия стимулирующий эффект наблюдали при

концентрации 0,05М (примерно в 2,7 раз выше чем в контроле). В итоге на шестые сутки проросли все жизнеспособные семена. В последующие дни опыта семена прорастали в меньшем количестве. В целом проростков оказалось больше всего в случаях действия нитрата свинца малой концентрации 0,01М (69%) и наоборот, меньше под влиянием самой высокой концентрации 0,1М (57%). В случае действия нитрата кадмия проростков оказалось больше всего при действии большей концентрации 0,1М (51%).

В зависимости от концентрации водорастворимых солей изменялось соотношение митотического индекса (MI). Наибольшая митотическая активность, превышающая контрольное значение, отмечена при наименьших концентрациях водных растворов нитрата Pb и Cd. Таким образом, в вариантах опыта с раствором нитрата свинца при концентрации 0,01М митотическая активность составила 20,61<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, а в опыте с раствором нитрата кадмия при той же концентрации 21,93<sup>0</sup>/<sub>00</sub>. Здесь мы наблюдаем, как в случаях со всхожестью, проявление стимулирующего эффекта. Средний митотический индекс характерен для варианта в опыте с водорастворимыми солями тяжелых металлов свинца при концентрации 0,1М, а кадмия при концентрации 0,05М. При этом митотический индекс в растворе нитрата свинца составил 16,40<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, а в растворе с нитратом кадмия 17,5<sup>0</sup>/<sub>00</sub>. Наименьший митотический индекс отмечался в растворе нитрата свинца при средней концентрации 0,05М и составил 14,37<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, а в растворе нитрата кадмия с наибольшей концентрацией 0,1М и равен 15,96<sup>0</sup>/<sub>00</sub>.

Таким образом, у водорастворимых солей тяжелых металлов наблюдалось снижение митотической активности в случае с наибольшими концентрациями - 0,05; 0,1М. Эти данные свидетельствуют об угнетении клеточных делений растворами солей тяжелых металлов.

В ходе эксперимента установлена мутагенная активность нитратов Pb и Ca. Если в контроле спонтанным путем образовалось всего 0,43% хромосомных аберраций, то после обработки водными растворами тяжелых металлов (Pb и Ca) их оказалось в несколько раз больше, причем, чаще хромосомные нарушения встречались в вариантах опыта с наибольшей концентрацией химического реагента 0,1М. Здесь доля хромосомных аберраций составляла от всех делящихся клеток 9,00<sup>0</sup>/<sub>00</sub> (нитрата Pb) и 7,06% (нитрата Ca). С уменьшением концентраций водных растворов тяжелых металлов идет уменьшение доли хромосомных нарушений, происходящих в ядре соматических клеток. Однако и последние показатели в достаточной степени высоки, что свидетельствует о митотической активности металлосодержащих соединений.

В той же зависимости оказались данные и по спектру вызываемых нарушений. При различных концентрациях водных растворов металлов основными аберрациями были одиночные и двойные фрагменты, а также мосты и неклассифицированные аномалии.

Частота хромосомных аберраций при различных концентрациях колеблется. Так в растворах нитратов свинца и кадмия число одиночных фрагментов при различных концентрациях составило: в опыте с Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> при концентрациях 0,01М - 1,81%, 0,05М - 3,10%, 0,1М - 3,31%; в опыте с Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> при концентрациях 0,01М - 1,34%, 0,05М - 2,30%, 0,1М - 2,88%. А число двойных фрагментов в опыте с раствором Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> при различных концентрациях составило 0,01М - 0,98%, 0,05М - 1,99%, 0,1М - 2,43%, а в опыте с раствором Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> при концентрациях 0,01М - 1,34%, 0,05М - 2,30%, 0,1М - 2,88% соответственно.

А также в нашем эксперименте встречались мосты и неклассифицированные аномалии. Мосты связаны с обменом участка между двумя хромосомами, что приво-

дит к появлению клеток с неравной информацией. Таким образом, число мостов в нашем эксперименте варьировало в зависимости от концентрации водорастворимых солей тяжелых металлов. Так, в эксперименте с раствором  $Pb(NO_3)_2$  при концентрациях 0,01М - 1,25%, 0,05М - 1,99%, 0,1М - 2,65%, а с раствором  $Cd(NO_3)_2$  при концентрациях 0,01М - 0,45%, 0,05М - 0,96%, 0,1М - 1,58%.

Таким образом, относительно низкая концентрация 0,01М нитратов свинца и кадмия стимулировала всхожесть, и активизировала деление клеток меристематической ткани. Более высокие концентрации действовали угнетающе на всхожесть, снижали интенсивность деления клеток. Наибольший цитогенетический эффект в корневой меристеме лука наблюдался при действии  $Pb(NO_3)_2$  и  $Cd(NO_3)_2$  в концентрации 0,1М. Наименьшее число хромосомных aberrаций выявлено при действии соли  $Cd(NO_3)_2$  в концентрации 0,01М. Преобладающим типом хромосомных aberrаций в различных вариантах опытов были одиночные и двойные фрагменты и мосты. Встречались клетки с неклассифицированными аномалиями.

### **ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЕПРОДУКТАМИ**

И.В. Нуянзина, Н.А. Атыкян, В.В. Ревин, Е.Г. Костина

Нефть и нефтепродукты являются приоритетными загрязнителями окружающей природной среды. Нефтяная промышленность по опасности воздействия на окружающую среду занимает третье место в числе 130 отраслей современного производства [1]. Нефтяное загрязнение, как и любое другое органическое загрязнение, представляет собой дополнительный источник углерода и энергии, попадающий в экосистему. Как известно, интенсивность процесса самоочищения природной среды от нефтепродуктов определяют микроорганизмы [2]. Целью работы являлось изучение физиолого-биохимических характеристик нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных из почвы и сравнение с коллекционным штаммом *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-858 Т.

Объектами исследования служили клетки *Rhodococcus erythropolis* и два штамма нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных из образцов почв, загрязненных нефтевыбросами, взятых с территории ОАО «Резинотехника» (склад горючесмазочных материалов и очистные сооружения), г. Саранск. В экспериментах по исследованию отношения изучаемых культур к температуре были выбраны следующие режимы температур: 20°, 25°, 30° и 36°C. При этом выявляли наилучшие условия для роста микроорганизмов, который отмечали визуально. Для этого выращивали микроорганизмы на среде следующего состава (г/л): глюкоза – 5,0; пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 3;  $K_2HPO_4$  – 0,2; агар – 20. Определяли отношение микроорганизмов к кислороду. Исследовали использование изучаемыми культурами соединений углерода и азота [3]. Исследование трансформации углеводородов нефти исследуемыми культурами проводили на среде следующего состава (г/л): пептон - 5,0; дрожжевой экстракт - 3;  $K_2HPO_4$  – 1, которую стерилизовали (121 °С, 30 мин), предварительно разлив её по 50 мл в колбы объемом 250 мл. рН готовых стерильных сред доводили до 7,0 и добавляли в колбы нефть (ГОСТ 9965-76) в концентрации 1%. В качестве инокулята использовали 2,5 мл культуры, выращенной на жидкой среде с мелассой и

0,05% Твина-80. Культуру выращивали при температуре 26 °С на качалке (235 об/мин, 7 суток). Пробы отбирали на 7-е сутки роста и определяли в них содержание непредельных углеводородов методом ИК-спектрофотометрии.

В ходе проведения экспериментальных работ были выделены два штамма микроорганизмов из образцов почв с территории ОАО «Резинотехника»: штамм №1 – с территории склада горюче-смазочных материалов, штамм №2 – с территории очистных сооружений.

На первом этапе изучали онтошение к кислороду и влияние температуры на рост выделенных штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов в сравнении с коллекционным штаммом *R. erythropolis*. Проведенные исследования показали, что температуры 25° и 30°С являются наиболее оптимальными для роста всех трех штаммов. При 20°С и 36°С рост микроорганизмов был менее интенсивным и составил 1-3 балла. По сравнению со всеми штаммами рост выделенного микроорганизма под номером 1 был наиболее интенсивным – 4-5 баллов.

В результате посева изучаемых микроорганизмов в пробирки с расплавленной и остуженной до 40-45°С агаризованной питательной средой, выяснили, что *Rhodococcus erythropolis* и выделенный из загрязненной нефтепродуктами почвы штамм № 2 растут строго на поверхности среды, а штамм №1 – на поверхности и в толще среды, но не далее как на 0,5-1 см вглубь. Таким образом, все три штамма исследуемых микроорганизмов являются облигатными аэробами.

При изучении способности *Rhodococcus erythropolis* использовать различные соединения углерода выявили, что микроорганизм не использует лактозу и дульцит. Лучше всего родококк усваивал глюкозу, мальтозу, сорбит, сахарозу, крахмал и фруктозу, и в меньшей степени маннозу, инозит и маннит.

По сравнению с родококком, выделенный из нефтезагрязненной почвы штамм № 1 обладал большей способностью к усвоению соединений углерода, а именно полностью использовал глюкозу, мальтозу, маннозу, сорбит, сахарозу, крахмал, маннит и фруктозу в качестве единственного источника углерода. Выделенный микроорганизм не образует кислоты из лактозы и дульцита. Кроме того, исследуемый штамм не полностью расщепляет инозит. Выделенный из почвы штамм № 2 полностью окислял глюкозу, мальтозу, сахарозу и крахмал, в меньшей степени фруктозу и маннозу, и практически не окислял лактозу, дульцит, инозит, сорбит и маннит. Также в работе изучали способность исследуемых микроорганизмов к ассимиляции азота минеральных солей. При этом проводили сравнение роста штаммов на двух вариантах синтетических сред. Первый вариант среды в качестве источника азота содержал соли аммония, а второй – нитраты. Полученные результаты приведены в таблице 1. Как видно из представленных данных для родококка и выделенного из почвы штамма № 1 вариант среды с нитратами является более благоприятным для роста. Причем выделенный штамм использовал нитраты лучше, чем *Rhodococcus erythropolis*. А второй выделенный из загрязненной нефтью почвы штамм, напротив, лучше развивался на среде с солями аммония. Кроме того, из всех исследуемых штаммов рост последнего был более интенсивным на двух вариантах среды. Однако обильного роста микроорганизмов не наблюдалось ни в одном из вариантов.

На следующем этапе изучали возможность использования выделенных штаммов и для эмульсификации и разрушения углеводородов нефти. Нефть для микробиологических исследований (ГОСТ 9965-76) добавляли в стандартную питательную среду в концентрации 1%, что составляло 7,9 г/л. Культуры микроорганизмов выращивали на круговых качалках при 235 об/мин и 26°С (нижний оптимум температуры,



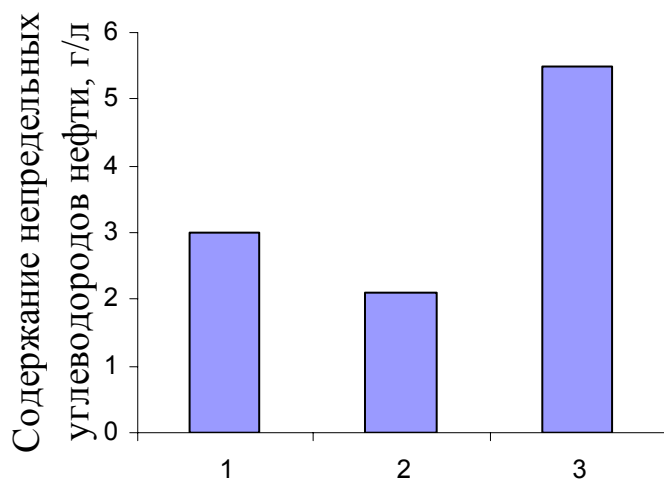
как показали наши исследования). Культивирование проводили в течение 7 суток. В процессе культивирования наблюдали за изменением качественного состояния нефти, а также определяли количество непредельных нефтяных компонентов.

Таблица 1 – Использование соединений азота нефтеокисляющими микроорганизмами

Исследуемый микроорганизм	Вариант синтетической среды			
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
	1 посев	2 посев	1 посев	2 посев
<i>R. erythropolis</i>	2	2	3	3
Штамм №1	1	2	3	4
Штамм №2	4	3	2	3

5 – обильный рост; 4 – хороший рост; 3 – умеренный рост; 2 – скудный рост; 1 – плохой рост.

Наши исследования показали, что уже к 1 суткам культивирования наблюдается перевод нефтяной пленки в эмульсию. В результате среда из относительно прозрачной меняла цвет и напоминала «какао». Исследования показали, что в среде происходило снижение содержания непредельных компонентов нефти. Так, в среде с родококком их содержание к 7 суткам составляло 3 г/л, в среде со штаммом №2 – 5,5 г/л, т.е. в процессе роста родококка около 60% доступных компонентов нефти оказались деградированными или связанными с клетками и поверхностными биосурфактантами. Штамм № 2 обладал меньшей активностью по отношению к нефти. Снижение доли непредельных углеводородов происходило лишь на 10-15% (рис. 1).



- 1 *Rhodococcus erythropolis*
- 2 штамм №1
- 3 штамм №2

Рисунок 1 – Влияние выделенных штаммов микроорганизмов на непредельные компоненты нефти.

их деструкция и перевод в водорастворимое состояние. При этом доступность компонентов нефти для ферментных систем микроорганизма увеличивается, а углеводоро-

Наиболее заметное действие на нефть оказывает штамм № 1. Во-первых, в процессе культивирования на среде с 1% нефти происходил интенсивный синтез полисахарида и загущение среды. Одновременно нефть из пленки переходила в культуральную среду и находилась в ней в виде мелких шариков, эмульгированных полисахаридом. Анализ доли трансформированных углеводородов показал, что к 7 суткам культивирования в среде осталось 2,09 г/л растворенных и эмульгированных веществ. Т.е. около 70% этих соединений было либо деградировано, либо переведено в другие формы.

Таким образом, в процессе культивирования микроорганизмов на средах с добавлением нефти вначале происходит эмульсификация нефтепродуктов, а затем, вероятно,

ды нефти включаются в метаболизм с целью получения энергии и материала для синтеза клеточных компонентов.

1. Сангаджиева О.С. Экологические особенности нефтезагрязненных почв Республики Колмыкия и разработка методов их биоремедиации: Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – 20с.
2. Бердичевская М.В., Козырева Г.М., Благиных А.В. Численность, видовой состав и оксигеназная активность углеводородокисляющего сообщества нефтезагрязненных речных акваторий Урала и Западной Сибири // Микробиология. – Т.60, №6. – С. 122-128.
3. Практическое руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С. Гусевой. – М.: Высшая школа, 1989. – 188с.

## ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ АМИЛАЗ ИЗ *ASPERGILLUS NIGER*

Н.А. Панина, В.В. Шутова

Продуценты амилаз играют значительную роль в биоценозах как редуценты остатков растительного и животного происхождения, являются деструкторами пищевого и промышленного сырья, изделий, конструкций и сооружений, применяются в качестве продуцентов различных БАВ. В настоящее время большое внимание уделяется исследованию амилолитических ферментных препаратов микроскопических грибов и бактерий, получению из них концентрированных ферментных препаратов. Вопросы получения высокоочищенных амилолитических ферментов, разработка способов их выделения и очистки чрезвычайно важны и актуальны. Значение их особенно возросло в настоящее время в связи с большими задачами, поставленными перед микробиологической промышленностью и её ферментативной подотраслью, одним из направлений которой является выпуск препаратов высокоочищенных амилолитических ферментов в качестве биохимических реактивов [1]. Целью нашей работы являлось получение препаратов амилаз из *Aspergillus niger*.

В качестве инокулята использовали вегетативный посевной материал *Aspergillus niger*, выращенный на среде следующего состава, г/л: кукурузная мука – 200, амилосубтилин - 0,1, рН 5,2-5,6. Глубинное культивирование гриба *A. niger* осуществляли в колбах объёмом 500 мл со 100 мл питательной среды того же состава на качалке при 200 об/мин и температуре 25-26<sup>0</sup>С в течение пяти суток. Для засева использовали 10% вегетативного посевного материала гриба. Амилолитическую активность определяли спектрофотометрически с использованием йод-крахмального метода, основанного на гидролизе крахмала ферментами амилолитического комплекса до декстринов различной массы. За единицу амилолитической способности (АС) принимали количество фермента, которое способно катализировать гидролиз 1 г растворимого крахмала до продуктов, не дающих окраски с йодом за 1 ч при температуре 30<sup>0</sup>С [2]. Метод определения глюкоамилазной активности основан на количественном определении глюкозы, образующейся при гидролизе крахмала. За единицу глюкоамилазной способности (ГлС) принимали количество фермента, которое гидролизует растворимый крахмал при 30<sup>0</sup>С и рН 4,7 и в течение 1 мин освобождает 1 ммоль глюкозы. Количество образующейся глюкозы измеряли глюкозооксидазно-пероксидазным методом [3]. Определение белка проводили по методу Бредфорд [4]. Для осаждения ферментов органическими растворителями фильтрат культуральной

жидкости (кж) охлаждали до 2–3 °С. Осадитель (этиловый спирт, ацетон) охлаждали до (-5)–(-10) °С. Для осаждения в центрифужные пробирки вливали определённое количество охлаждённого ферментного раствора и при помешивании палочкой вносили осадитель. Затем центрифугировали 5 мин при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость декантировали, а осадок растворяли в дистиллированной воде и определяли активности ферментов и содержание белка в осадке. Высаливание сульфатом аммония проводили в стеклянных стаканах вместимостью 150 мл, куда вносили по 50 мл культуральной жидкости (кж) при 20 °С. Соль вводили в ферментный раствор очень медленно при постоянном перемешивании. Затем стакан оставляли в покое на 1 ч. Пробы центрифугировали, жидкость декантировали, а осадок растворяли в дистиллированной воде.

После культивирования в течение 5 суток кж гриба *Aspergillus niger* обрабатывали для отделения мицелия гриба центрифугированием и хранили при температуре -4 °С. В таблице 1 показана динамика изменения ферментативных активностей при хранении.

Таблица 1 – Динамика изменения активностей при хранении кж

Время хранения, сут.	АС, Ед/мл	Удельная АС, ед/мл белка	ГлС, ед/мл	Удельная ГлС, ед/мл белка	Количество белка, мг/мл
0	960	417,4	1,500	0,65	2,3
2	950	459,0	1,145	0,55	2,07
4	910	486,6	0,875	0,47	1,87
6	740	425,3	0,842	0,48	1,74
8	400	247,0	0,623	0,38	1,62

Исходная АС кж была довольно высокой, а в процессе хранения она снижалась. В первые двое суток АС практически не изменилась. Видимо, это связано с тем, что компоненты кукурузной муки, входящей в состав питательной среды, оказывали протекторное действие на ферменты, защищая их от инактивации. Уже после 4 суток хранения наблюдалось значительное уменьшение АС, к 8 суткам ее значение составило лишь 42% от исходной.

ГлС при хранении тоже снижалась, но в этом случае наблюдалась несколько другая динамика. Уже в первые двое суток ГлС по сравнению с исходной кж снизилась на 24%. Далее с 4 суток хранения уменьшение было не столь значительным. ГлС со 2 по 8 сутки снизилась на 46%. Таким образом, при хранении потери ГлС гораздо больше, чем АС.

Препараты, получаемые в результате осаждения органическими растворителями, предназначены, главным образом, для применения в разных отраслях пищевой промышленности. Способ выделения ферментов из водных растворов органическими растворителями принято считать более приемлемым по сравнению с высаливанием, так как он менее сложен, а растворители довольно легко регенерируются путём перегонки на ректификационных препаратах периодического или постоянного действия [5]. К охлаждённой кж приливали 96%-ный этиловый спирт в соотношении кж и этилового спирта 1:2; 1:2,5; 1:3,5. Выпавший осадок отделяли центрифугированием, растворяли и определяли АС, ГлС и количество белка. Свойства полученных ферментных препаратов показаны в таблице 2.

Таблица 2 - Свойства ферментных препаратов, полученных при осаждении этиловым спиртом

Соотношение кж и этилового спирта	АС, ед/л	Удельная АС, ед/г белка	ГлС, ед/мл	Удельная ГлС, ед/мг белка	Количество белка, мг/мл
1 : 2	629,3	5244	1,19	9,88	0,12
1 : 2,5	658,3	2310	1,51	5,29	0,29
1 : 3,5	912,6	2147	1,78	4,18	0,43
Исходная кж	970,7	366	1,89	0,71	2,56

При увеличении концентрации этилового спирта увеличивалась АС, осаждалось больше белка. При соотношении кж и этилового спирта 1 : 2 выпало в осадок 65 % ферментов, а при самой высокой концентрации спирта – 94 % ферментов.

Сходным образом происходило осаждение глюкоамилазы. С увеличением концентрации этилового спирта ГлС увеличивалась, при соотношении 1 : 2 – осаждалось 62,8% ферментов, при соотношении 1 : 2,5 – 80%, а при соотношении 1 : 3,5 – почти вся глюкоамилаза была в осадке (94%).

Итак, наиболее полно осаждение амилолитических ферментов этиловым спиртом происходило при соотношении кж и осадителя – 1:3,5.

Для осаждения ацетоном использовали соотношения кж - осадитель 1:1; 1:1,5; 1:2. В таблице 3 проиллюстрированы свойства ферментных препаратов. С увеличением концентрации ацетона АС увеличивалась. В случае, когда соотношение кж и ацетона составляло 1:1, осадилось 43,9% ферментов, а при соотношении 1:2 – 69,3%, остальное количество ферментов осталось в растворе.

Таблица 3 – Свойства осадков **Кж** при осаждении ацетоном

ГлС с увеличением концентрации ацетона тоже увеличивалась, увеличивалось

Соотношение Кж и ацетона	АС, ед/л	Удельная АС, ед/г белка	ГлС, ед/мл	Удельная ГлС, ед/мг белка	Количество белка, мг/мл
1 : 1	425,9	4732	0,88	9,8	0,090
1 : 1,5	498,6	5865	1,02	12,0	0,085
1 : 2	672,9	3205	1,13	5,4	0,210

и количество белка в осадке. При осаждении ацетоном оптимальным являлось соотношение кж и ацетона – 1:2.

Авторы работы [6] использовали осаждение ацетоном в концентрации 2 объёма на 1 объём кж, осаждая всю  $\beta$ -амилазу. По сообщениям одних авторов [7], ацетон в 60%-ной концентрации практически полностью переводит амилазы в осадок, по сообщениям других - он осаждаёт амилолитические ферменты только на 75-77% (при 75%-ной концентрации ацетона в смеси) [8]. Многие исследователи использовали ацетон на последних этапах очистки амилолитических ферментов и при их кристаллизации.

Чаще всего для высаливания амилолитических ферментов применяют  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , так как он хорошо растворим в воде и не оказывает вредного действия на ферменты, а наоборот, стабилизирует их. К отрицательным сторонам метода высаливания следует отнести большой расход сульфата аммония. Осаждение ферментов сульфатом аммония основано на уменьшении растворимости белков в концентриро-

ванных растворах солей. Свойства ферментных препаратов, полученных при высаливании, показаны в таблице 4.

Таблица 4 - Свойства ферментных препаратов, полученных при осаждении сульфатом аммония

АС при 40% насыщении составляла 61% от исходной, при 60% - оставалась

Насыщение кж (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	АС, ед/л	Удельная АС, ед/г белка	ГлС, ед/мл	Удельная. ГлС, ед/мг белка	Количество белка, мг/мл
40%	593,0	118	1,04	0,21	5,02
60%	556,7	1856	0,09	0,28	0,30
80%	796,4	1448	1,14	2,07	0,55
100%	948,9	840	1,50	1,33	1,13

примерно такой же, а при 100% - возрастала до 97%. Итак, наилучшие результаты проявились при концентрации соли 100% - основная часть ферментов переходила в осадок, и лучше происходило высаливание.

Авторы работы [9] проводили осаждение сульфатом аммония. При использовании (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в 50%-ной концентрации в растворе оставалось 90% амилазы, при 100%-ном насыщении осаждалась вся β-амилаза.

Было выяснено влияние рН на аμιлолитическую активность ферментных препаратов. Для этого их получали осаждением этиловым спиртом (соотношение 1:3,5). Осадок растворяли в минимальном количестве воды. Затем определяли активности (АС, ГлС) аμιлолитических ферментных препаратов при различных значениях рН (3, 4, 5, 6, 7, 9).

При осаждении спиртом оказалось, что наилучшие результаты осадков ферментов наблюдались при рН 5. С рН 3 до 5 АС увеличилась с 4186,3 ед./л до 8399,4 ед./л, т.е. она повысилась на 50,2%. ГлС составила 14,14 ед./мл (табл. 5). В работе [10] было показано, что у б-амилазы *Asp. oryzae* оптимум рН 4-5.

Таблица 5 - Влияние рН на свойства ферментного препарата, полученного при осаждении спиртом

рН	АС, ед/л	Удельная АС, ед/г белка	ГлС, ед/мл	Удельная. ГлС, ед/мг белка	Количество белка, мг/мл
кж до осаждения	884,5	931	1,50	1,6	0,95
3	4186,3	6863	10,10	16,6	0,61
4	6510,8	10673	12,12	19,9	
5	8399,4	13770	14,14	23,2	
6	5348,6	8768	11,45	18,8	
7	3314,6	5434	8,25	13,5	
9	5028,9	8244	13,00	21,3	

Таким образом, из всех использованных в работе осадителей (этиловый спирт, ацетон, сульфат аммония) наилучшим по всем параметрам является этиловый спирт. Наиболее эффективно применять для осаждения аμιлолитических ферментов соот-

ношение кж и спирта 1:3,5. Ферментные препараты проявляют максимальные активности (АС и ГлС) при рН 5.

- 1 Квеситадзе, Г.И. Грибные и бактериальные амилазы / Г.И. Квеситадзе.-Тбилиси: Мецниереба, 1984.-154 с.
- 2 Польшагина, Г.В. Определение активности ферментов // Справочник / Г.В. Польшагина, В.С. Чередниченко, П.В. Римарева. – М.: Дели Принт, 2003. – 375 с.
- 3 Лабораторный практикум по биотехнологии / В.В. Ревин Д.А. Кадималиев, А.А. Московкин и др. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2000. – 292 с.
- 4 Досон, Р. Справочник биохимика/ Р. Досон, Д. Элиот, У. Элиот, К. Джонс. Перевод с англ.– М.: Мир, 1991. – 543 с.
- 5 Рыжакова, В.Г. Получение высокоочищенной амилазы *Aspergillus awamori*/ В.П. Рыжакова, Р.В. Фениксова // Биохимия – 1972. – Вып. 5. – С. 1019 – 1022.
- 6 Галич, И. П. Амилазы микроорганизмов / И.П. Галич. – Киев: Наукова думка, 1987. – 189 с.
- 7 Грачёва, И.М. Технология ферментных препаратов / И.М. Грачёва. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 392 с.
- 8 Жеребцов, Н.А. Амилолитические ферменты в пищевой промышленности / Н.А. Жеребцов. – М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1984. - 160 с.
- 9 Алексеев, В.П.; Громов, С.И. и др. Ресурсосберегающая технология в производстве спирта / Под ред. Н.С. Терновского. – М.: Пищевая промышленность, 1994. – 235 с.
- 10 Chang, C.T. Purification and properties of alpha-amylase from *Aspergillus oryzae* ATCC 76080 / C.T. Chang, M.S. Tang, C.F. Lin // Biochem. Mol. Biol. Int. -1995.- Vol. 36, N1. P. 185-193.

## ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ СТРЕССЕ

Е.В. Романова, Е.Ю. Бояркина, Л.В. Кузьмичева

В настоящее время большое внимание исследователей привлечено ко многим естественным низкомолекулярным веществам, находящимся в животных тканях в очень небольшом количестве, в связи с их высокой биологической активностью. К таким веществам относятся биогенные амины, в том числе адреналин, норадреналин, серотонин и гистамин. Биогенные амины выполняют функции нейромедиаторов в некоторых отделах ЦНС, а также являются тканевыми гормонами-модуляторами внутриклеточных процессов. Показано, что они играют ведущую роль в развитии острой и хронической стресс-реакции [1, 2, 3]. Цель работы – определение содержания биогенных аминов в крови животных при стрессе.

Материалом исследования служила кровь поросят двух возрастных групп: I – 30–40 дней и II – 41–60 дней от рождения. Кровь отбиралась из хвостовой вены, в качестве антикоагулянта использовался цитрат натрия. Содержание гистамин и серотонин в цельной крови определялось по Прошиной [4]. Концентрация адреналина и норадреналина в плазме крови определялось по Паю [5].

По данным литературы, нормальная концентрация гистамина в крови свиней 0,854 мкмоль/л [2]. Поросят первой группы можно принять за контроль, так как на них еще не действует такой комплексный стресс-фактор, как отъем. Поросята находятся в одном загоне со свиноматкой. Они уже приучены к поеданию подкормки, но еще питаются и материнским молоком. К этому возрасту у поросенка вполне форми-

руются большинство адаптивных систем, в том числе система терморегуляции, пищеварительная система. Среднее содержание гистамина в крови животных I группы (контроль)  $M=0,481$  мкмоль/л, II группы –  $0,846$  мкмоль/л. Содержание гистамина в крови поросят II группы увеличилось в 1,76 раза (рис. 1). Повышение содержания гистамина можно объяснить развивающейся у поросят стресс реакцией в результате действия отъемного стресса. Отъем производился в возрасте 35-40 дней. Отъем считается одним из наиболее значимых стресс-факторов. Это множественный фактор, который включает отлучение от матери, формирование новых групп, перевод животных в другое помещение, переход от материнского молока на новый сорт пищи и другие стрессоры [2]. У поросят отъем сопровождается повышением беспокойства и агрессивностью, увеличением числа драк, травматических повреждений, снижением скорости роста и устойчивости к заболеваниям, повышением расхода кормов на 1 кг прироста.

По данным литературы нормальное содержание серотонина в цельной крови свиней  $0,3$  мкмоль/л [2]. В I группе среднее значение содержания серотонина  $0,213$  мкмоль/л, во II группе –  $0,306$  мкмоль/л. Уровень содержания серотонина во II группе животных повысился в 1,44 раза (рис. 1).

Можно заметить, что с возрастом концентрация гистамина и серотонина повышается и приближается к значениям, указанным в литературе для взрослых свиней. Возможно, что это явление объясняется возрастными изменениями в организме животных.

Таким образом, при стресс-реакции, спровоцированной отъемом, наблюдается повышение содержания гистамина и серотонина.

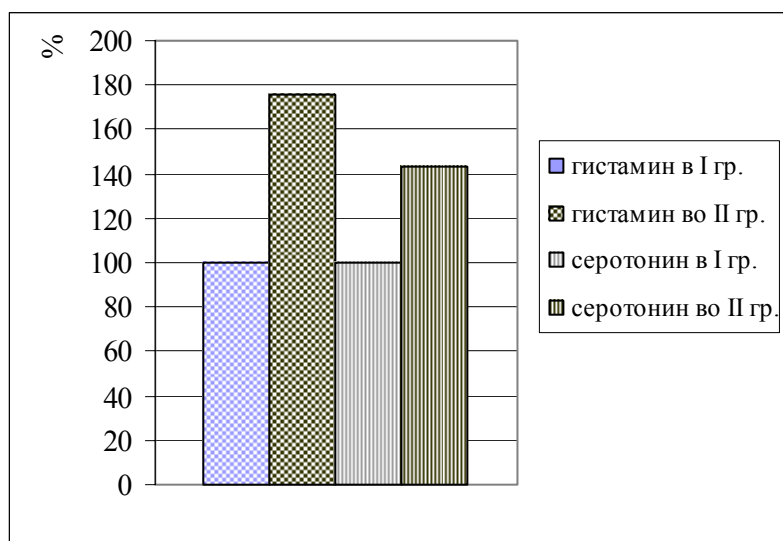


Рисунок 1 - Содержание серотонина и гистамина в крови поросят.

Причем внутри групп наблюдаются различия между отдельными поросятами. Это обусловлено прежде всего индивидуальными особенностями животных, а также у какого соска свиноматки кормился поросенок, от очередности рождения, от массы тела животного. Как правило поросята, родившиеся первыми и имеющие большую массу тела имеют меньшее содержание биогенных аминов в крови.

Содержание адреналина в обеих группах выше норм, представленных в литературе ( $1,89$  нмоль/л). Это может означать, что животные содержатся в условиях, отличных от идеальных, что вызывает развитие хронических стресс-реакций. Велико расхождение данных и внутри группы. Это говорит о том, что стресс-реактивность отдельных животных различна. Реакция на боль во время взятия пробы тоже зависит от стресс-реактивности животных [2]. Чем выше стресс-реактивность, тем больше стресс-гормонов выделяется в кровь.

Среднее значение содержания адреналина в плазме крови I группы (контроль) 15,28 нмоль/л, II группы – 30,12 нмоль/л. Уровень адреналина в крови II группы животных увеличивается в 1,97 раз (рис. 2). Такое повышение обусловлено отъемным стрессом, переходом на другую пищу, незнакомое помещение, новое окружение.

В этом возрасте начинает действовать так называемый ранговый стресс. Визуально он чаще всего проявляется изменением в поведении животных, проявляющимся в форме борьбы, ударов, вытеснений [2]. При комплектовании групп поросят начинается борьба, которая заканчивается установлением своеобразного, так называемого «социального» порядка. При этом более сильные и агрессивные захватывают лидерство в группе, которое сохраняется в течение всего совместного проживания. Иерархические взаимоотношения зависят от условий содержания. В оптимальных условиях они проявляются значительно слабее. В таких условиях раз установившийся ранговый порядок поддерживается прочно и длительно. Ранговый стресс наиболее сильно проявляется у тех животных, которые испытывают его впервые. К таким животным принадлежат и поросята в сформированной группе, только что переданной на доращивание. То есть животные низшие по рангу испытывают стресс более интенсивный, чем поросята - доминанты. Они чаще страдают в драках, которые возникают у поросят в период после отъема.

Содержание норадреналина в плазме крови поросят тоже находится выше нормы, обозначенной в литературе (5,2 нмоль/л). Среднее значение содержания норадреналина в плазме крови контрольной группы 14,45 нмоль/л, II группы – 21,06 нмоль/л. Здесь, также как и в случае адреналина, наблюдается повышение концентрации во II группе в 1,46 раз по отношению к контрольной (рису. 2).

Таким образом, наблюдается повышение содержания биогенных аминов в крови поросят после отъема. Это обусловлено действием на животных комплексного стресс-фактора отъема, а также ряда других стресс-факторов, что свидетельствует о стресс-реакции, развивающейся в организме животного в результате отлучения от матери, создания новых групп животных, повышение беспокойства в загоне, переход на другой вид пищи.

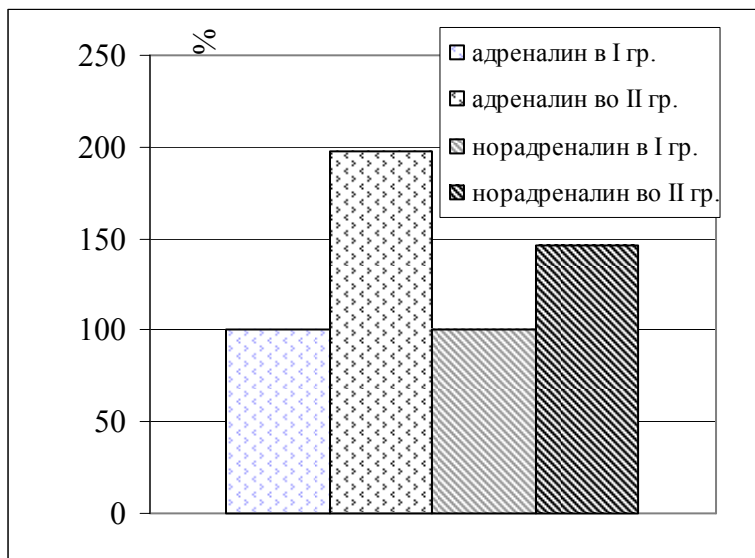


Рисунок 2 - Содержание адреналина и норадреналина в плазме крови поросят.

1 Меньшиков, В.В. Физиология и биохимия биогенных аминов. - М.: Наука, 1974. – 326 с.

2 Плященко, С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С. И. Плященко, В. Т. Сидоров. - М.: Агропромиздат, 1987. – 190 с.

3 Мушканбаров, Н.Н. Молекулярная биология / Н.Н. Мушканбаров, С.Л. Кузнецов. – М.: ООО «Медицинское фармацевтическое агенство», 2003. – 544 с.

4 Прошина, Л.Я. Определение серотонина и гистамина в одной пробе /Л.Я. Прошина // Лаб. Дело. – 1981. - № 2. – С. 90 - 93.



## ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ЭНДОГЛЮКОНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ГРИБА *PYTHIUM OLIGANDRUM*

Н.Н. Сивова, Р.Р. Саямова, С.А. Ибрагимова

В настоящее время проявляется интерес к исследованию микроорганизмов, способных участвовать в биозащите растений от возбудителей болезней. *Pythium oligandrum* возможно использовать для биоконтроля широкого круга почвенных фитопатогенов, вызывающих серьезные заболевания у экономически важных сельскохозяйственных культур из семейств Пасленовые, Маревые и других. Антагонизм, осуществляемый *P. oligandrum*, включает действие гидролитических ферментов на клеточную стенку и/или продукцию антибиотиков и зависит от вида хозяина. Демонстрация *in vitro* того, что целлюлазы, продуцируемые *P. oligandrum*, могут играть определяющую роль в биоконтроле *Phytophthora parasitica*, является побудительным мотивом развития использования этого организма и его ферментов в качестве агента в коммерческих целях [1]. При создании биопрепаратов необходимо знать физиолого-биохимические свойства применяемых культур. Важная роль при этом отводится ферментативной активности, значения которой могут зависеть от ряда факторов: pH, температуры, ингибиторов и индукторов, и т.д. Особое значение приобретают источники углерода и азота в среде в связи с тем, что они не только обеспечивают рост мицелия, но и могут регулировать биосинтез ферментов. Целью настоящей работы явилось изучение эндоглюконазной активности гриба *Pythium oligandrum* в процессе глубинного культивирования.

В качестве объекта исследования использовали культуру гриба, выделенную из ассоциативного биопрепарата и отселекционированную сотрудниками кафедры биотехнологии. В качестве основы опытных сред использовали раствор минеральных солей следующего состава (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,5;  $\text{KCl}$  - 0,02;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,5;  $\text{MgSO}_4$  - 0,5; МКЦ – 0,5. Дополнительно в зависимости от исследуемого варианта к минеральной среде добавляли источники азота и углерода в количестве 2 и 10 г/л соответственно. В качестве источников азота использовали  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ , пептон, кукурузную муку, а углерода - лактозу, глюкозу, фруктозу, крахмал, сахарозу. В каждую колбу вносили по 0,1% Твин-80. Глубинное культивирование осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 250 мл со 100 мл питательной среды на качалке при 150 об/мин и температуре 25-26<sup>0</sup>С в течение 7-8 суток.

В процессе роста культуры эндоглюконазную активность определяли по реакции с динитросалициловым реактивом с использованием Na-КМЦ в качестве субстрата [2]. Среди различных компонентов питательной среды источники углеродного питания оказывают особенно большое влияние на синтез и секрецию целлюлолитических ферментов. В настоящее время большинство исследователей считает, что целлюлолитические ферменты микро- и макромицетов индуцибельные. Они индуцируются в присутствии целлюлозы, ее производных и некоторых низкомолекулярных углеводов. На первом этапе работы была предпринята попытка исследовать влияние углеводов на эндоглюконазную активность *P. oligandrum*. Результаты исследования представлены на рисунке 1.

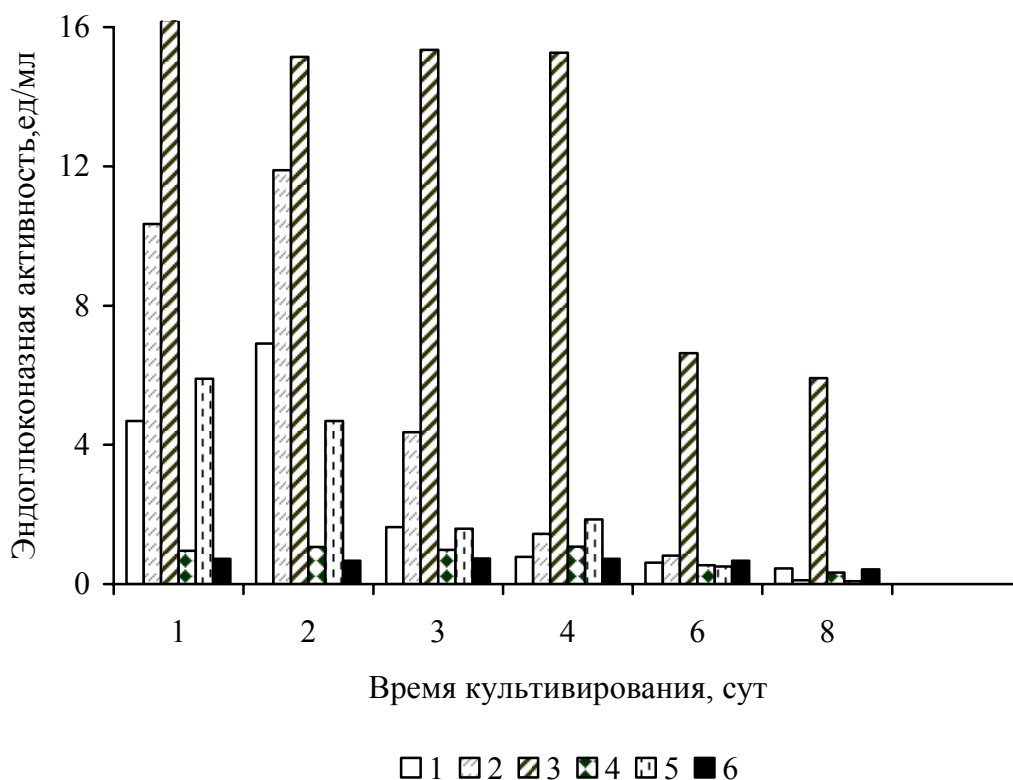


Рисунок 1 – Изменение эндоглюконазной активности *P. oligandrum* на минеральной среде с разными источниками углерода: 1 – глюкоза; 2 – фруктоза; 3 – лактоза; 4 – сахароза; 5 – крахмал; 6 – без углерода.

Максимальные значения активности были получены на среде с лактозой (на 1-е сутки роста ее значение составило 16,2 ед/мл). В течение последующих 3-х суток значение активности находилось на одном уровне, а к 6-ым суткам роста снизилось в 2,5 раза. Уровень активности превысил контроль в 22 раза. Высокий уровень эндоглюконазной активности (ЭГА) в данном варианте опыта объясняется индукцией биосинтеза фермента. На среде с фруктозой на 2-е сутки роста уровень активности составил 11,9 ед/мл, что в 16 раз превысило контрольное значение. В последующие сутки роста отмечено падение активности. На среде с крахмалом значение ЭГА на 2-е сутки роста было несколько ниже по сравнению с двумя предыдущими вариантами (в 2 раза меньше, чем на среде с фруктозой и в 2,8 раза, чем на среде с лактозой). При использовании в качестве источника углерода глюкозы и сахарозы пик активности составил в 2,4 и 15,0 раза меньше, чем на среде с лактозой, что объясняется катабитной репрессией синтеза ферментов.

Следует отметить, что при использовании всех источников углерода максимальный уровень активности зарегистрирован на начальных сроках роста гриба. После достижения максимального значения активность ферментов резко снижалась. Возможно, это связано с тем, что исследуемый гриб проявляет наибольшую ферментативную активность при наличии в среде индуктора целлюлаз, по мере снижения концентрации которого, происходит и снижение их активности. Это подтверждается литературными данными, согласно которым *P. oligandrum* при контакте с субстратом проявляет максимальную целлюлолитическую активность на начальных этапах ферментативного процесса [3].

Источники азота также существенно влияют на биосинтез и секрецию целлюлолитических ферментов. Согласно литературным данным, в качестве источника азо-

та для целлюлолитических грибов чаще всего используются минеральные соли. При этом различные продуценты целлюлаз используют избирательно те или иные минеральные источники азота, но в основном это азотнокислые соли натрия и калия, азотнокислый и фосфорнокислый аммоний [4].

В следующих вариантах опыта было исследовано влияние источников азота на эндогликоназную активность *P. oligandrum*. Наибольшая ЭГА была отмечена при использовании органических источников азота (рис. 2).

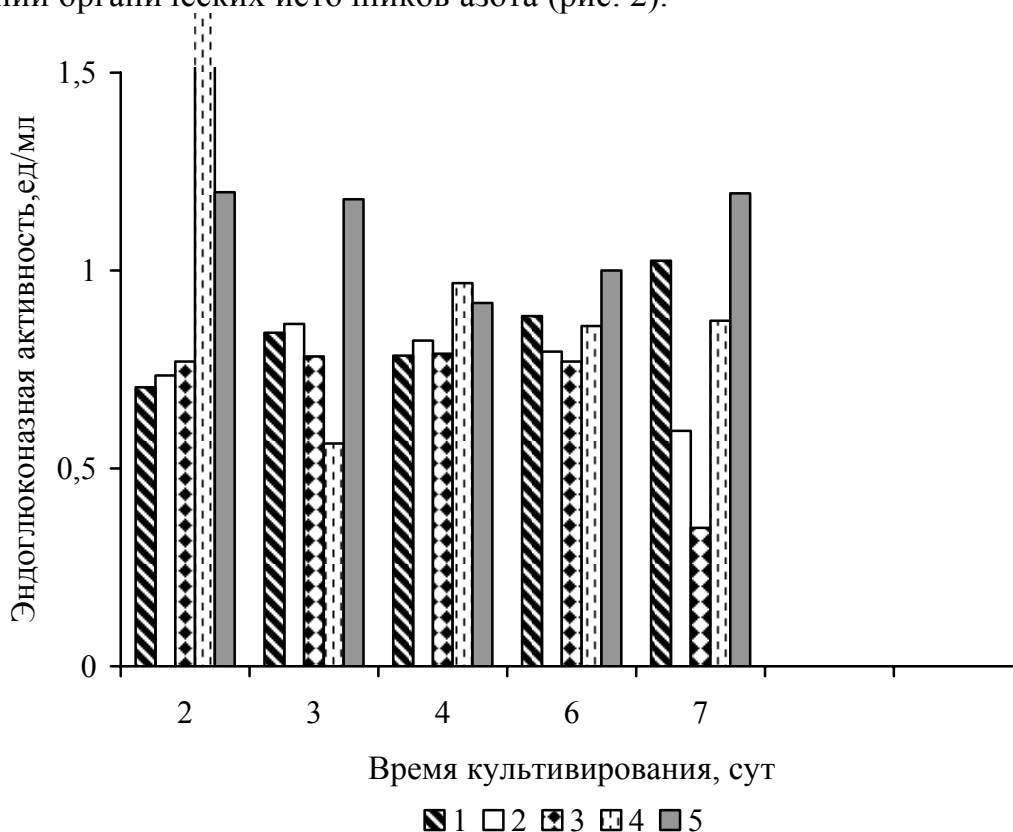


Рисунок 2 – Изменение эндогликоназной активности при культивировании *P. oligandrum* на минеральной среде с разными источниками азота: 1 – NaNO<sub>3</sub>; 2 – NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; 3 – (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 4 – пептон; 5 – кукурузная мука.

При использовании пептона максимальная активность на 2-е сутки роста составила 1,69 ед/мл, а на 3-и сутки ее уровень снизился на 66%. В дальнейшем также отмечено скачкообразное проявление активности. На среде с кукурузной мукой ЭГА на 2-е сутки составила 1,19 ед/мл, что на 29,5% меньше, чем на среде с пептоном. При дальнейшем культивировании наблюдалось падение уровня активности до 1,4 ед/мл, а на 7-е сутки значение равнялось начальному.

В вариантах с неорганическими формами азота лучшие результаты были получены при внесении азотнокислых солей аммония и натрия. Так на 3-е сутки роста ЭГА составила в среднем 0,85 ед/мл. При увеличении сроков культивирования отмечено падение активности при использовании NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, а в случае с NaNO<sub>3</sub> на 7-е сутки роста зарегистрировано ее увеличение до 1,03 ед/мл. Несколько ниже были зафиксированы результаты на среде с (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Здесь также отмечено 2 пика активности на 4-е и 7-е сутки роста (0,79 и 0,84 ед/мл соответственно).

Также была определена удельная активность, которая показывает долю активного фермента в общем количестве белка и выражается в ед/мг белка. Максимальные значения удельной активности были получены на среде с использованием лактозы

(табл. 1). На 1-е сутки роста ее значение составило 3240 ед/мг белка и в течение последующих 3-х суток она практически не изменялась. Следует отметить, что уровень превысил контроль в 20 раз.

Таблица 1 - Изменение удельной активности при культивировании *P. oligandrum* с разными источниками углерода

Время культивирования, сутки	Удельная активность, ед/мг белка					
	Глюкоза	Фруктоза	Лактоза	Сахароза	Крахмал	Контроль
1	851±28	1456±48	3240±108	208±6	1255±41	158±5
3	223±7	558±18	3070±102	194±6	240±8	145±4
5	118±3	189±6	3039±101	226±7	265±8	148±4

Близкие значения активности отмечены на средах с фруктозой и крахмалом, которые в среднем на 88% превысили контроль. На среде с глюкозой значение удельной активности на 1-е сутки роста было в 4 раза меньше, чем на среде с лактозой и в 5 раза больше по сравнению с контролем. Наименьшие значения удельной активности были зарегистрированы на среде с сахарозой (в 1,3 раза больше, чем в контроле и в 15 раза меньше, чем на среде с лактозой). Таким образом, при культивировании гриба на среде с разными источниками углерода максимальная удельная активность наблюдалась в присутствии лактозы.

В вариантах с разными источниками азота, наибольшая удельная активность гриба *P. oligandrum* отмечена на средах с пептоном и кукурузной мукой (248 ед/мг белка на 2-е сутки роста). К 6-м суткам отмечено постепенное снижение активности в 1,4 раза (табл. 2).

Таблица 2 - Изменение удельной активности при культивировании гриба *P. oligandrum* с разными источниками азота

Время культивирования, сутки	Удельная активность, ед/мг белка				
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaNO <sub>3</sub>	Пептон	Кукурузная мука
2	194±6	146±4	147±4	248±8	247±8
4	235±7	197±6	216±7	153±5	183±6
6	184±6	179±5	252±8	143±4	143±4

При исследовании неорганических источников азота на среде с (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> уровень активности составил на 41% меньше, чем с органическими источниками. На 4-е сутки роста наблюдалось небольшое увеличение уровня активности. Аналогичная тенденция наблюдалась на среде с NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Максимальная удельная активность наблюдалась на 4-е сутки роста 235,2 ед/мг белка, что в 1,2 раза больше, чем в предыдущем варианте.

Таким образом, максимальный уровень удельной активности отмечен при наличии в среде органической формы азота. При использовании неорганического азота максимальная удельная активность наблюдалась в присутствии азотнокислых солей.

1. Benhamou, N. Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens / N. Benhamou, Y. Tirilly, K. Picard // *Phytopathology*. - 1999. - № 89. - P. 506-517.

2. Фениксова, Р.В. Методы современной биохимии / Р.В.Фениксова, Н.А.Тиунова, Н.А.Родионова - М.: Наука, 1975. - 23 с.
3. Vesely, D. Cellulolytic activity of some *Pythium* species / D. Vesely, J. Kratka // Zentralbl Bakteriell Naturwiss. - 1979. - V. 134, № 5. - P. 440-443.
4. Опарин, А.И. Ферментативное расщепление целлюлозы / А.И. Опарин, Р.В. Фениксова . - М.: Наука, 1967. - 168с.

## ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И АКТИВНОСТЬ ФИТОГОРМОНОВ *LYCOPERSICUM ESCULENTUM* В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР

Л.В. Сорокина, Т.С. Колмыкова

Для культурных растений средней полосы России лимитирующим фактором являются значительные колебания температур, что в свою очередь приводит не только к изменениям анатомо-морфологических структур, но и к снижению их продуктивности. Поэтому, важное значение приобретает способность растений быстро реагировать на изменения окружающей среды. Роль медиаторов в трансдукции сигналов окружающей среды в значительной степени выполняют фитогормоны [1]. Для обеспечения нормального роста растений необходимо взаимосвязанное функционирование всех систем жизнеобеспечения организма. Поэтому при действии неблагоприятных факторов окружающей среды происходит торможение ростовых процессов. Так, температура действует на скорость биохимических реакций, от которых зависит рост [2] и при повышении ее сокращается длительность онтогенеза [3]. Целью нашей работы стало изучение влияния эпибрассинолида на термоустойчивость томатов.

Объектом исследования служили проростки томата (*Lycopersicum esculentum*) сорта Грунтово-Грибовский. Отбирали ровные средние семена томатов и обрабатывали их раствором эпибрассинолида в концентрации  $10^{-9}$  М в течение 8 часов. После указанной экспозиции семена промывали дистиллированной водой и высаживали в сосуды с почвой. При появлении у растений 3-го настоящего листа опыт проводили в разных температурных условиях. 1-ый вариант – растения, выращенные в оптимальной температуре (22-23° С); 2-ой вариант – растения, выращенные при высокой пороговой температуре (32-33°); 3-ий вариант – растения, выращенные при пониженных положительных температурах (10-12°С); 4-ый вариант – кратковременное действие низких положительных температур (2-3°) на растение в течение 7-8 часов ежедневно. Контролем для каждого варианта служили растения без предпосевной обработки, выращенные в разных температурных режимах. Через 14 дней после начала вегетации определяли ростовые параметры растений: длину надземных и подземных органов, сырую и сухую массу растений, содержание сухого вещества в листьях (рефрактометрическим методом), площадь листовой поверхности, а также чистую продуктивность фотосинтеза. Кроме ростовых параметров методами биотестов количественно определяли содержание свободных форм ауксинов (по приросту отрезков колеоптелей пшеницы), свободных форм цитокининов (по изменению содержания свободных форм хлорофилла в семядолях огурца), свободных форм гиббереллинов (по приросту отрезков колеоптелей кукурузы) [4]. Опыты повторяли три раза.

Анализ результатов показал, что эпибрассинолид (ЭБ) стимулирует прирост высоты надземной части и длины корней по сравнению с контролем во всех температурных вариантах. Более эффективным было использование изучаемого препарата в

условиях повышенной температуры. Увеличение высоты стебля и длины корня в этом варианте было на 58% и 32% соответственно. В условиях пониженных положительных температур, особенно при длительном охлаждении под действием ЭБ повышался рост побегов на 55%, а длина корней на 30%. При кратковременном действии низких положительных температур ЭБ меньше всего стимулировал прирост этих параметров.

При определении сухого вещества в клеточном соке выявили несколько иную картину. ЭБ в условиях оптимальной температуры не оказал стимулирующего действия на содержание сухого вещества в вытяжках из листьев томатов. Однако, при действии пороговых температур наблюдали достоверное увеличение. Особо значительную стимуляцию наблюдали при длительном и кратковременном охлаждении в среднем на 70% по сравнению с контрольными образцами. При использовании ЭБ процентное содержание сухого вещества в корнях во всех температурных экспозициях снижалось. При длительном охлаждении концентрация сухого вещества снижалась более всего – на 80%.

Благодаря сохранению нормального функционирования процессов в растениях томата под действие ЭБ происходило увеличение сырой и сухой массы растений в условиях высоких и низких температур. При оптимальной температуре этот регулятор не оказывал стимулирующего действия на прирост массы растений, а также содержание сухого вещества в листьях и корнях. В высокотемпературных условиях отмечена самая высокая эффективность действия ЭБ на сырую массу. Значения ее возрастали на 25% по сравнению с контролем. В условиях низких положительных температур, особенно при длительном охлаждении ЭБ оказывал стимулирующее действие на прирост сухой массы – 21% по сравнению с контролем. Возможно, ЭБ увеличивает приток воды из внешней среды в условиях высоких пороговых температур, что в прочем и обеспечивает устойчивость к высоким температурам.

При изучении действия ЭБ на площадь ассимиляционной поверхности листьев у проростков томата обнаружили, что ее значения уменьшались относительно контрольных вариантов во всех температурных вариантах (табл. 1). Возможно, это связано с уменьшением содержания воды на единицу площади листа. Это обоснование более приемлемо для высоких температур, так как уменьшение содержания воды в листьях снижает вероятность перегрева и нивелирует повреждающее действие высокотемпературных режимов.

Таблица 1 - Значения площади листовой поверхности и чистой продуктивности фотосинтеза у томатов, обработанных эпином и выращенных при разных температурных режимах

Условия выращивания	Площадь листовой поверхности, см <sup>2</sup>		ЧПФ, г/м <sup>2</sup> в сутки	
	Без обработки	Обработанные эпином 10 <sup>-9</sup> М	Без обработки	Обработанные эпином 10 <sup>-9</sup> М
Оптимальная температура (+22 - +23°C)	17,0±0,20	5,8±0,33	0,5±0,15	0,2±0,00
Повышенная температура (+32 - +33°C)	8,9±0,34	7,1±0,17	0,15±0,03	3,5±0,03
Кратковременное охлаждение (+2 - +3°C)	11,3±0,18	5,1±0,63	0,2±0,06	0,4±0,04
Длительное охлаждение (+10 - +12°C)	8,1±0,06	6,4±0,52	0,1±0,05	0,9±0,09

Несмотря на уменьшение площади листовой поверхности при действии ЭБ отметили прирост сухой биомассы, отнесенной к единице листовой поверхности. При повышенной температуре ЭБ значительно увеличивал чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ) в среднем на 96 %. В диапазоне низких температур также отмечали стимуляцию ЧПФ по сравнению с контролем, но несколько в меньшей степени. В условиях оптимальной температуры ЭБ не оказывал стимулирующего действия на этот показатель (табл. 1).

Таким образом, эпибрассинолид способствует увеличению значений чистой продуктивности фотосинтеза. Естественно, это способствует увеличению биомассы и продуктивности растений. Анализ морфологических показателей, что ЭБ в целом снижает стрессовое воздействие низких положительных и высоких температур. Степень проявления и продолжительности индуцируемых эффектов зависит от температурных режимов.

При анализе гормонального статуса растений мы обнаружили, что эпибрассинолид повышает содержание свободных форм ауксинов по сравнению с контрольными растениями во всех температурных вариантах (табл. 2). Самая высокая концентрация активных ауксинов была при длительном охлаждении, примерно в 10 раз по сравнению с контролем. Увеличение содержания ауксинов в тканях растений после обработки ЭБ предполагает важную физиологическую роль этих гормонов в процессе температурной адаптации растений. Возможно, благодаря увеличению содержания ауксинов происходит увеличение ростовых параметров, сырой и сухой массы.

Таблица 2. Содержание ауксинов в томатах, обработанных эпином и выращенных при разных температурных режимах

Условия выращивания	Концентрация ауксина, %	
	Без обработки	Обработанные эпином $10^{-9}$ М
Оптимальная температура (+22 - +23°C)	$5,0 \cdot 10^{-7}$	$7,5 \cdot 10^{-7}$
Повышенная температура (+32 - +33°C)	$2,5 \cdot 10^{-7}$	$7,5 \cdot 10^{-7}$
Кратковременное охлаждение (+2 - +3°C)	$10^{-7}$	$7,5 \cdot 10^{-7}$
Длительное охлаждение (+10 - +12°C)	$10^{-8}$	$7,5 \cdot 10^{-7}$

Немаловажную роль на ростовые процессы в растениях оказывают цитокинины. Обработка семян ЭБ приводит к уменьшению содержания свободных форм цитокининов при оптимальной и повышенной температурах в 10 и 100 раз соответственно. В условиях низких положительных температур их содержание не значительно отличалось от контрольных вариантов.

Изучение содержания фиторегулятора на содержание активных форм гиббереллина показало, что у растений томата, выращенных в условиях высоких пороговых температур, содержание их снижалось по сравнению с контролем на 10%. Снижение концентрации свободных форм гиббереллинов в этом температурном варианте способствовало уменьшению площади листовой поверхности, содержание сухих веществ в клеточном соке. В то же время при низкотемпературном воздействии обработка растений ЭБ увеличивала содержание гиббереллинов в 6,5 раз при кратковременном охлаждении и в 3,5 раза – при длительном.

Таким образом, при экзогенной обработке растений томата эпибрассинолидом во всех температурных происходило увеличение содержания активных форм ауксинов по сравнению с контролем. Вследствие снижения концентрации цитокининов и гиббереллинов при повышенной температуре происходило увеличение соотношения

ауксин/цитокинин и ауксин/гиббереллин, что, по-видимому, и способствовало увеличению ростовых показателей растений томата.

1. Мусатенко Л.И. Комплекс фитогормонов в проростках различных по устойчивости к повышенным температура гибридов кукурузы / Л.И. Мусатенко, Н.П. Веденичева, В.А. Васюк // Физиология растений, 2003. – Т. 50. - № 4. - С. 499-504.
2. Веселов Д.С. Роль гормонов в быстром ростовом ответе растений пшеницы на осмотический и холодовой шок / Д.С. Веселов, И.И. Сабиржанова, Г.И. Ахиярова. // Физиология растений, 2002. – Т. 49. - № 4. – С. 572-576.
3. Веселов Д.С. Влияние условий выращивания на гормональный статус и урожайность высокорослой и карликовой линий пшеницы / Д.С. Веселов, И.И. Сабиржанова, Г.И. Ахиярова // Физиология растений, 2003. Т. – 50. № 2. – С. 265-270.
4. Полевой В.В. Фитогормоны. – Л.: ЛГУ, 1982. – 248 с.

### ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ МЕМБРАНЫ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МИЦЕЛИЯ ГРИБА *LENTINUS TIGRINUS*

Н.В. Филина, О.С. Надежина, Д.А. Кадималиев

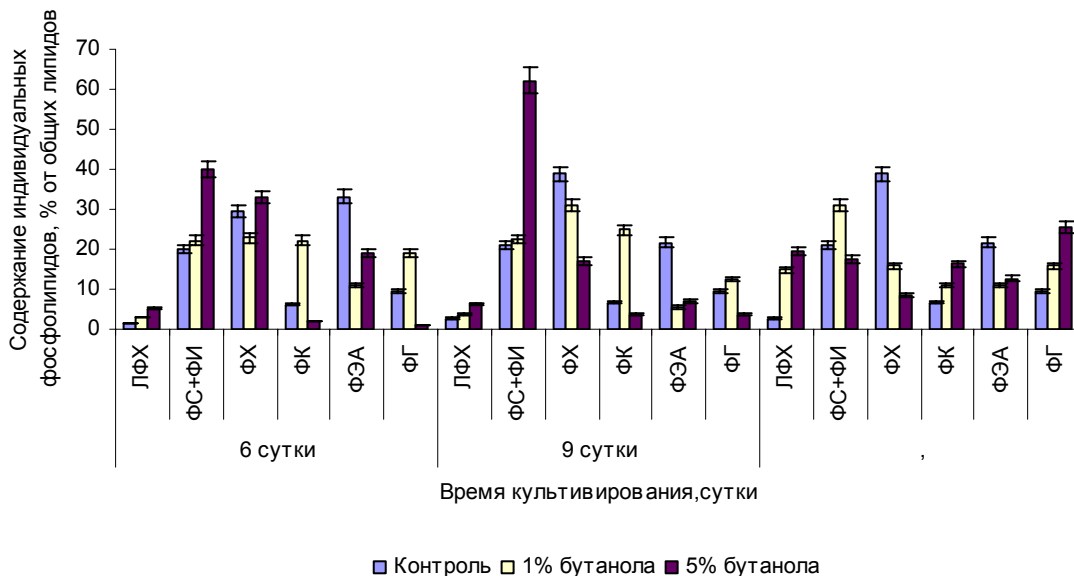
По современным представлениям немаловажную роль в механизме секреции лигнолитических ферментов во внеклеточную среду играют фосфолипиды мембран, которые наряду с жирными кислотами определяют физиологические свойства мембран – проницаемость, микровязкость, что особенно важно для транслокации белка через мембрану. Контролируемое изменение физиологических свойств мембраны путем воздействия на состав фосфолипидов, степени их упорядоченности и упаковки в бислое является одним из методов регуляции процессов биосинтеза, секреции и активности лигнолитических ферментов [1, 2]. Целью работы было исследовать влияние модификаторов мембраны на фосфолипидный состав мицелия гриба *L. tigrinus*.

Объектом исследования служил лигнолитический гриб *L. tigrinus*, пилолистник тигровый, который депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов как штамм ВКМ F-3616 Д [3]. Выращивание культуры гриба проводили на модифицированной среде Кирка с березовыми опилками (20 г/л) в течение 6 и 9 суток с добавлением таких модификаторов клеточной мембраны как: бутанол и толуол в концентрации 1 и 5%, ЭДТА в концентрации 0,2 и 0,8%, DDs-Na 0,2 и 1мМ. Предполагаемые модификаторы добавляли на 3 (логарифмическая фаза роста) и 6 (стационарная фаза) сутки роста грибной культуры. Липиды из мицелия гриба экстрагировали методом Блайя-Дайера [4]. Состав фосфолипидов анализировали методом тонкослойной хроматографии. Разделение на фракции проводили двумерно в системах Брокхьюза. Идентификацию отдельных фосфолипидов, а также определение микроколичеств фосфолипидов проводили по методу Васьковского с соавторами.

В процессе роста гриба *L. tigrinus* как в присутствии модификаторов клеточной мембраны, так и без них происходит изменение количественного соотношения индивидуальных фракций фосфолипидов. Качественный состав практически не изменяется и представлен следующими фракциями: фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидная кислота (ФК), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидинозит (ФИ), фосфатидилсерин (ФС), лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ). Характер воздействия модификаторов мембраны на фосфолипидный состав мицелия зависит как от концентрации модификаторов, так и от времени внесения в

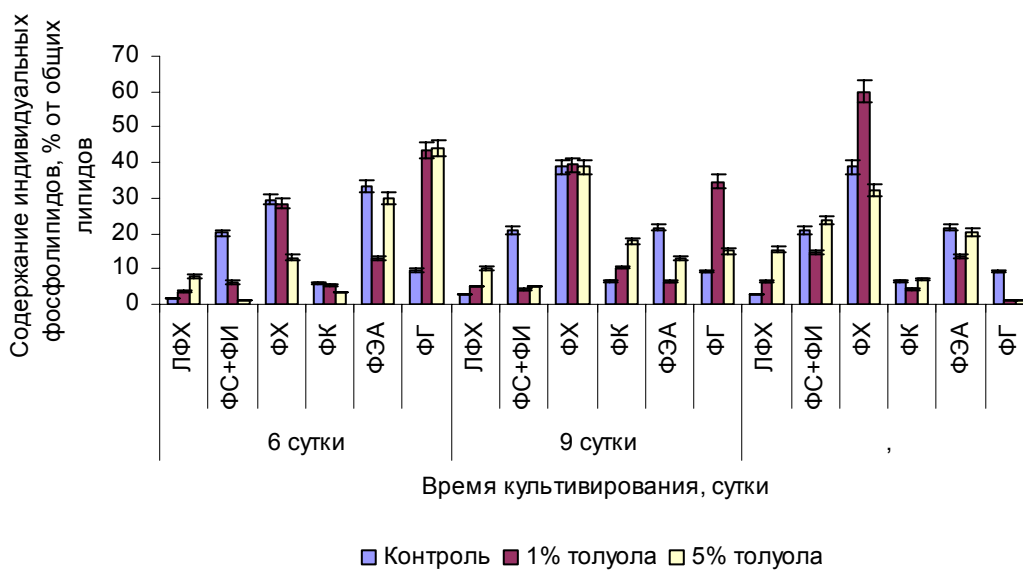


питательную среду. При добавлении бутанола основные изменения происходят с суммарной фракцией **ФС** и **ФИ**, содержание которой к 6 и 9 суткам культивирования резко возрастает при внесении 5% модификатора на 3 сутки (рис. 1). Другой органический растворитель – толуол, в отличие от бутанола независимо от выбранных концентраций в большей степени влияет на содержание **ФГ**, увеличивая его содержание к 6 и 9 суткам роста в случае добавления на 3 сутки и напротив снижая, в случае добавления на 6 сутки культивирования (рис. 2).



А В С

Рисунок 1 – Влияние бутанола на изменение фосфолипидного состава мицелия гриба *L. tigrinus* в процессе роста: А - содержание фосфолипидов на 6 сутки при внесении бутанола на 3 сутки, В - содержание фосфолипидов на 9 сутки при внесении бутанола на 3 сутки, С - содержание фосфолипидов на 9 сутки при внесении бутанола на 6 сутки.



А В С

Рисунок 2 – Влияние толуола на изменение фосфолипидного состава мицелия гриба *L. tigrinus* в процессе роста: А – содержание фосфолипидов на 6 сутки при внесении толуола на 3 сутки; В - содержание фосфолипидов на 9 сутки при внесении толуола на 3 сутки; С - содержание фосфолипидов на 9 сутки при внесении толуола на 6 сутки.



Таким образом, внесение в питательную среду модификаторов клеточной мембраны изменяет физиологические свойства мембраны, что может влиять на секрецию ферментов грибом *L. tigrinus*.

- 1 Капич, А.Н. Фосфолипиды мицелия дереворазрушающих базидиомицетов / А.Н. Капич, Л.Н. Шишкина // Микология и фитопатология. - 1993. - Т.27, № 3. - С.32-37.
- 2 Феофилова, Е.П. Значение реакций свободнорадикального окисления в регуляции роста и липидобразования эукариотных и прокариотных организмов / Е.П. Феофилова, Е.Б. Бурлакова, Л.С. Кузнецова // Прикладная биохимия и микробиология. - 1987.-Т. 23, № 1.- С. 3-13.
- 3 Ревин В.В., Прыткова Т.Н. Лияськина Е.В., Черкасов В.Д., Соломатов В.И. Свидетельство о депонировании микроорганизма *Panus (Lentinus) tigrinus* (Bulliard: Fries) Fries, 317. Регистрационный номер ВКМ F-3616 D присвоен 5 марта 1998.
- 4 Bligh, E., Rapid method of total lipid extraction and purification / E. Bligh, W. Dyer // Can. J. Biochim. Physical. - 1959. - V. 37. - P. 911-917.

## ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО

М.В. Церковнова, Д.И. Башмаков

Характерную особенность городских экосистем составляет загрязнение окружающей среды. Среди загрязняющих веществ широко распространены многие химические элементы, в особенности тяжелые металлы, вредные в больших количествах для биоты. Поэтому актуальны поиски в природных экосистемах устойчивых к избытку металлов видов и экотипов, у которых эволюционно выработаны генотипические механизмы адаптации к экстремальным факторам окружающей среды. Растения как главные накопители токсических соединений биоты городской среды играют важную роль в её оздоровлении. В то же время они сами испытывают неблагоприятное воздействие загрязняющих веществ, угнетающих их жизнедеятельность. Таким образом, исследование накопления металлов в растениях важно как для оценки состояния самого растения (угнетение жизненных, характер адаптации к высоким концентрациям металлов, появление устойчивых к металлам экотипов и популяций), так и для интересов человека (использование растений для индикации состояния среды и для очистки загрязненного воздуха). Наконец, данные по накоплению металлов растениями городских экосистем необходимы при изучении биогеохимического круговорота металлов в городской экосистеме и для оценки фильтрующей роли растений при очистке загрязненного воздуха. Все эти исследования имеют природоохранные значения. Целью данной работы было сравнить ростигибирующее действие разных металлов на корни проростков растений одного вида разных популяций.

Семена одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) разных популяций из разных местообитаний (загородная зона, пригород, городская черта, промышленная зона), промывали слабым раствором  $\text{KMnO}_4$ . Затем семена проращивали в чашках Петри. Для этого на дно чашек помещали два предметных стекла, на них фильтровальную бумагу, смоченную 10 мкМ и 1 мМ растворами  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ . Контролем служила дистиллированная вода. Опыт повторялся в трех аналитических повторностях. Опыт продолжался в течение 14 суток в факторостатной комнате при 14°С. О токсичности тяжелых металлов судили по изменению индекса толерантности (I), который рассчитывали по формуле:

$$I(\%) = \frac{\Delta Lon}{\Delta Lk} * 100\%,$$

где  $\Delta Lon$  - прирост корней опытных растений, мм;  $\Delta Lk$  - прирост корней контрольных растений, мм.

На основе полученных данных были сделаны выводы, что, несмотря на существенные различия в токсичности, все изученные соли ТМ имеют особенности токсического действия на рост корней растений различных местообитаний:

1) диапазон концентраций, при которых рост ингибируется достаточно узок. При инкубации растений на растворах с летальной концентрацией ТМ 1 мМ замедляли свой рост в течении первых суток. При концентрации 10 мкМ наблюдаются достаточно высокие значения длины корня, которые в некоторых случаях превышают значения длины корней контрольных растений.

2) степень ингибирования роста мало изменяется со временем экспозиции. Так при не летальной концентрации солей Cu и Zn прирост корня за 7 суток в среднем составлял 13 и 20 мм от контроля соответственно. Прирост проростков инкубированных в присутствии нитрата Pb составляет 23 мм, в присутствии сульфата Ni 29 мм.

Таблица 1 – Влияние солей различных тяжелых металлов на индекс толерантности растений из различных по загрязнению местообитаний

Место сбора семян	I, %							
	Zn		Cu		Ni		Pb	
	10мкМ	1 мМ	10мкМ	1 мМ	10мкМ	1 мМ	10мкМ	1 мМ
Центр. пром. зона	160±2	47±4	146±6	38±4	170±7	53±3	180±6	64±1
Северная пром. зона	130±5	32±1	83±1	21±2	145±5	40±2	150±5	54±2
Городские очистные сооружения	94±4	21±2	90±2	18±1	123±3	25±1	150±1	51±1
Химмаш (частный сектор)	89±3	26±1	82±4	19±4	110±6	29±3	140±5	43±2
Юго-запад (частный сектор)	95±2	21±4	88±3	13±1	105±4	21±2	123±2	23±4
Пойма реки Инсар	84±5	26±2	81±2	25±2	95±5	31±1	98±4	23±1
Загородный лес	90±1	16±1	87±4	18±1	125±6	21±1	141±3	38±2
Юго-западный лес	55±3	17±1	59±4	15±5	79±2	23±4	68±2	21±3
Северо-западный лес	52±2	20±2	45±5	19±2	80±1	40±5	99±1	55±4
Лес Химмаша	58±6	23±4	58±2	21±2	77±3	35±6	50±2	61±3

3) одни и те же ТМ по разному влияют на ростовые параметры проростков растений разных по степени загрязнения местообитаний. Для сравнения токсического действия различных ТМ была прослежена зависимость между отношением прироста корня опытных и контрольных растений и концентраций металла в растворе. Cu оказывал наибольшее токсическое действие на рост корня, так как индекс толерантности растений растущих на растворах соли Cu низкий; при концентрации 10 мМ индекс толерантности для центральной пром. зоны составляет 146%, а при концентрации 1мМ – 38%, тогда как при концентрации 10мМ растворов солей Ni и Zn индекс толерантности составляет 170 и 160%, а при концентрации растворов 1мМ 47 и 53% соответственно. Pb оказывал наименьшее токсическое действие, так как индекс толерантности для растений из всех местообитаний наиболее высокий. Например, индекс толерантности для растений загородного леса при концентрации Pb 10 мкМ равен

141%, соли Ni 125%, соли Zn – 90%, соли Cu – 87%; а для концентрации 1 мм раствора соли Pb - 38%, соли Ni - 24%, соли Cu - 18%, соли Zn - 16%.

Итак, токсичность изученных ТМ, оцененная при концентрации 1мМ и 10 мкМ, уменьшилась в ряду Cu>Zn>Ni>Pb.

4) растения одного вида из разных по степени загрязнения местообитаний обладают разной устойчивостью к одним и тем же ТМ. Наиболее жизнеспособными являются семена, собранные на территории промышленной зоны. Наиболее жизнеспособными являются семена, собранные на территории промышленной зоны. Наибольшей устойчивостью обладают семена центральной промышленной зоны, далее - семена северной промышленной зоны (район завода «Лисма»); городские очистительные сооружения наименее приспособленными к экстремальным условиям минерального питания являются семена пригородной зоны: юго-западный лес, северо-западный лес и леса на территории Химмаша.

Четки разделения в устойчивости популяций растений к изучаемым нами металлам. Исследованные нами популяции обладают более высокой устойчивостью к Pb и наименьшей к Cu, устойчивость к Zn ниже, чем к Ni. Данные утверждения соответствуют ряду токсичности металлов: Cu>Zn>Ni>Pb.

## **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА P53 В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ**

В. Шубин, А. Никулин, О. Сазанова, А.А. Дудко, В.А. Трофимов

Одним из актуальных направлений молекулярно-генетических исследований является изучение влияния структурной организации хроматина на экспрессию генов. Ведущим фактором в регуляции экспрессии генов выступает изменение сродства к определенным последовательностям ДНК гистоновых и негистоновых белков [1]. Известно, что в норме активация генной экспрессии затрагивает, как правило, не более 5-10 % всего ядерного хроматина. Поэтому актуальным остается вопрос, каким образом изменяется экспрессия генов при изменении структуры хроматина. В первую очередь, приведенные рассуждения касаются механизмов регуляции экспрессии генов раннего ответа [2]. Поскольку онкогены одними из первых активируются при действии на клетку повреждающих факторов [3]. Именно продуктам их экспрессии, соответствующим белкам, отводится решающая роль в изменении пролиферативной активности клеток. Целью настоящей работы стало изучение активности гена *p53* в регенерирующей печени белых мышей в фазы транскрипции и репликации.

В качестве объекта исследования использовали белых мышей. Гепатэктомию проводили с соблюдением правил асептики и антисептики под поверхностным эфирным наркозом в среднем 15 мин. Точность удаления печени контролировалась путем сравнения веса извлеченной во время операции части органа и остаточной части печени, получаемой после забоя животных. Мышей забивали декапитацией. Хроматин выделяли из печени декапетированных животных, охлажденной в ледяном растворе 0,24 М сахарозы [4]. Гомогенизированную ткань обрабатывали буфером, содержащим 0,05 М трис-НСl (рН 9,0) с 0,25 М сахарозой и 0,005 М CaCl<sub>2</sub>. Лизосомальные протеазы ингибировали добавлением в буфер 20 мМ NH<sub>4</sub>Cl. Выделение РНК проводили с помощью набора реагентов GenePak™ RNA PCR test. В работе мы использовали набор для обратной транскрипции совмещенный с полимеразной цепной

реакцией (ОТ ПЦР). В пробирке для проведения ПЦР смешать следующие компоненты:

- а) x10-кратный Tag буфер – 2,5 мкл
- б) 1,5 мМ смесь dNTP – 2 мкл
- в) ColoredTag полимеразы – 0,5 мкл
- г) кДНК матрица – 2 мкл
- д) праймер 1 (50 пмоль) – 1 мкл
- е) праймер 2 (50 пмоль) – 1 мкл
- ж) вода, свободная от РНКаз – до 25 мкл.

Амплификацию запускали горячим стартом, на амплификаторе запускали специальную программу (таблица 1). В работе мы использовали компьютерную программу «Primer», позволяющую рассчитать температуру отжига праймеров.

Таблица 1 – Программа для амплификации ДНК

Этап	Время	Температура	Количество циклов
Горячий старт	5 мин	95,0 °С	42
Денатурация ДНК	45 сек	95,0 °С	
Гибридизация (отжиг) денатурированной ДНК с праймерами	60 сек	58,5 °С	
Достройка цепей ДНК с помощью Tag – полимеразы	45 сек	72,0 °С	
Хранение		10,0 °С	

Полученные в ходе амплификации продукты сразу наносили на гель для анализа. Для электрофоретического анализа фрагментов ДНК, использовали 1,2% агарозный гель, приготовленный в TBE буфере (89 мМ триса, 89 мМ  $H_3BO_3$ , 2,5 мМ ЭДТА, рН 8,0). Пробы вносили в лунки геля с помощью микрошприца. Электрофорез проводили при 150 В до тех пор, пока краситель не продвигался на 3 см. Регистрацию полученного электрофореза проводили в проходящем УФ-свете с использованием системы видеосканирования DNA-Analiz фирмы BIOcom. Для анализа полученных результатов мы использовали пакет программ Gel Explorer.

Нами показано, что в регенерирующей печени мышей, после частичной гепатэктомии, процессы матричных синтезов разделены во времени. Четко выявляются периоды транскрипционной и трансляционной активностей, а также фаза репликации. Фаза  $G_1$  включает в себя временной промежуток с максимумом к 4 часу, тогда как фаза S протекает в период с 12 до 24 часов. Подчеркнем, что динамика изменения содержания ДНК характеризует репликативную активность хромосом, а динамика изменения содержания РНК и белка транскрипционную активность хроматина. Очевидно, что генетические процессы в данной экспериментальной модели регенерирующей печени характеризуются определенной периодичностью.

Нами определялась экспрессивная активность гена p53 в разные фазы клеточного цикла в регенерирующей печени мышей. Молекулярно-генетический анализ осуществляли методом ПЦР с обратной транскрипцией. Были использованы следующие праймеры, информация о которых приведена в таблице 2.

Динамика экспрессии гена p53 была исследована в условиях разобщенного матричного синтеза в печени мышей после частичной гепатэктомии (рис. 1, табл. 3).

Показано, что ПЦР продукт мРНК онкогена p53 имеет специфические различия, выявляющиеся к 3 часу регенерации печени, когда происходит его интенсивная экспрессия. Однако к 14 часу регенерации ПЦР продукты мРНК p-53 обнаруживаются в меньших количествах, по сравнению с 3 часом регенерации. Затем к 21 часу уровень экспрессии данного гена продолжал понижаться, но он не возвращался к уровню контролю.

Таблица 2 - Характеристика праймеров, используемых для амплификации гена p53

Название	5'-3' последовательности
locusTrp53Forward	CTTCCCG CCATAAA AAAACA
locusTrp53Reverse	AGCCCTG AAGTCAT AAGACAGC

Таблица 3 - Уровень экспрессии клеточных онкогенов в печени мышей после частичной гепатэктомии в зависимости от времени регенерации

Онкоген	Контроль	Время, ч			
		1 час	3 час	14 час	21 час
p53	-	-	+++	++	+

«+»- экспрессия онкогенов; «-»-отсутствие экспрессии

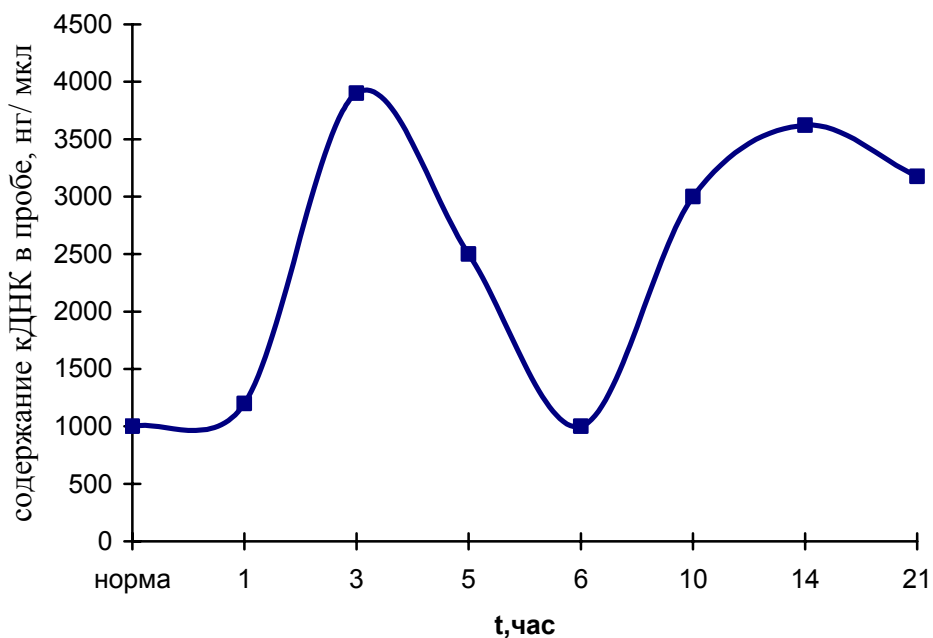


Рисунок 1 - Изменение экспрессии гена p53

Онкоген p53, включается в клетках различными пролиферативными стимулами. Он также активировался и в наших экспериментах. При этом его активность максимальна в период высокой транскрипционной активностью. Очевидно, что именно в это время осуществляется контроль за состоянием генетического аппарата, его со-

хранностью. При обнаружении повреждений в геноме клеток регенерирующей печени последние будут элиминироваться путем апоптоза. Собственно в этом и заключается основная функция белка p53.

Таким образом, нами показано, что экспрессия гена p53 в регенерирующей печени мышей после частичной гепатэктомии имеет ряд отличий. Экспрессия генов имеет два максимума, приходящиеся на 3 и 14 часы. Очевидно, что данная динамика характеризует роль белка p53 в регуляции клеточного цикла.

1. Георгиев, Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия / Г.П. Георгиев / М.: Наука. -1989. – 252 с.
2. Копнин, Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б.П. Копнин // Биохимии. - 2000. - Т. 65, вып. 1. - С. 5-33.
3. Чумаков, П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью / П.М. Чумаков // Биохимия. - 2000. - Т. 65, вып. 1. - С. 34-47.
4. Терентьев, А.А. Изменение структурной организации нуклеосомной нити в процессе активации протоонкогенов / А.А.Терентьев, Г.В. Костюк, П.Я.Бойков // Биохимия. - 1998. - Т. 63, вып. 2. - С. 183-189.

## **ВЛИЯНИЕ РТУТИ НА ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШИ**

О.М. Якушкина, М.В. Мурикова, В.И. Кудряшова

Большинство усилий, предпринимаемых в области экологической генетики, в настоящее время направлено на выявление мутагенов и оценку их потенциальной генетической опасности. Однако исключить все мутагенные вещества из среды обитания человека не представляется возможным. В последнее время наблюдается увеличение удельного веса соединений тяжелых металлов среди загрязнителей окружающей среды. Проблема тяжелых металлов связана с их широким применением в промышленности, частым воздействием их смесей, стойкостью в окружающей среде. Мутагенная активность ионов тяжелых металлов доказана на уровне клетки с использованием тест-систем. На хромосомном уровне генетические эффекты могут проявляться в виде различных частот хромосомных повреждений как соматических, так и половых клеток у лиц, проживающих в экономически неблагоприятных районах. Накопленный к настоящему времени фактический материал показывает, что результаты определения мутагенной активности химических соединений в опытах на лабораторных животных с наибольшим основанием могут быть экстраполированы на человека. Выявление частоты и типов хромосомных aberrаций в клетках костного мозга лабораторных животных позволяет более широко исследовать мутагенную активность ртути и дает возможность сделать приблизительную оценку степени их генетической опасности для живых организмов. Цель работы: изучить частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мыши при действии ртути.

При исследовании 420 метафазных пластин контрольного варианта было выявлено наличие спонтанных хромосомных нарушений в клетках костного мозга лабораторной белой мыши. Данные по цитогенетическим показателям приведены в табл. 1.

Результаты цитогенетического анализа показали, что в костном мозге мышей есть определенный процент клеток с определенными повреждениями. Структурные



абберрации представлены одиночными и парными фрагментами. Кроме того, анализ метафазных хромосом выявил анеуплоидные клетки. Хромосомных нарушений других типов у контрольных животных не обнаружено.

Таблица 1 – Частота спонтанных хромосомных нарушений в клетках костного мозга лабораторных мышей

Вариант опыта	Число проанализированных метафаз	Анеуплоидия	Абберрации на 100 клеток		Процент клеток с абберрациями, %
			Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	
Контроль	420	0,33±0,01	6,6±0,02	0,6±0,01	7,2±0,02

Частота клеток со структурными абберрациями составляет 7,2%. Наличие анеуплоидии в клетках костного мозга мышей контрольной группы может быть связано с анафазным отставанием хромосом при митотическом делении, приводящим к их илиминации.

Таким образом, анализ метафаз в клетках костного мозга мышей показал, что спонтанный уровень хромосомных повреждений невелик и полученные данные согласуются с данными литературы [1, 2]. Для исследования цитогенетического эффекта нитрата ртути в метафазах костного мозга животным внутрибрюшинно однократно вводили водорастворимую соль ртути в дозе 1,44 мг/кг. Анализировали по 100 клеток от каждого животного. Препараты готовили через каждые 24 часа после введения мутагена. Методы введения и доза мутагена взяты согласно литературным данным [3]. Результаты цитогенетического анализа клеток костного мозга мышей после воздействия нитрата ртути представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Частота и типы абберраций хромосом в клетках костного мозга мышей при взаимодействии нитрата ртути

Варианты эксперимента	Число проанализированных метафаз	Анеуплоидия	Абберрации на 100 клеток		Процент клеток с абберрациями, %
			Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	
Контроль	420	1±0,01	6,6±0,02	0,6±0,01	7,2±0,02
Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 1,44 мг/кг	740	5±0,4	18,3±0,2	3,2±0,5	21,5±1,8

Из таблицы 2 видно, что взаимодействие нитрата ртути в дозе 1,44 мг/кг, вызвало достоверное увеличение клеток с абберрациями хромосом колебалось от 16 до 28,4%. Средняя частота клеток с абберрациями при всех вариантах опыта составило 21,5%. Таким образом, цитогенетический анализ хромосомных повреждений показал, что формирование хромосомных абберраций происходило за счет увеличения числа одиночных и парных фрагментов. Основными типами абберраций были одиночные и парные фрагменты. Они найдены во всех вариантах эксперимента. Относительно высокая частота встречаемости этих типов хромосомных абберраций считается характерной именно для химических повреждений, так как фрагменты возникают при резком разрыве хромосомы. Сравнивая частоту хромосомных абберраций в контрольных и опытных образцах можно сделать вывод, что частота хромосомных абберраций в

опытных образцах возрастает в три раза по сравнению с контролем. Также произошло и увеличение анеуплоидных клеток. Из вышеизложенного следует, что соли ртути способны оказывать мутагенный эффект, что согласуется с литературными данными [4, 5]. Изучение количественных и качественных характеристик процесса становления мутаций при действии ртути и ее соединений, на наш взгляд, является актуальной в плане выявления мутагенных факторов окружающей среды. Ведущую роль в регуляции процессов перекисного окисления липидов в организме играют антиоксидантные ферменты, к которым относятся: супероксиддисмутаза (СОД), катализирующая реакцию дисмутации двух супероксидных радикалов с образованием перекиси водорода и молекулярного кислорода; каталаза, разлагающая перекись водорода. СОД и каталаза характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определенных активных форм кислорода, специфичностью клеточной и органной локализации, а также использование в качестве катализаторов переходных металлов. Уровень внутриклеточных ферментативных антиоксидантов находятся под генетическим контролем.

В таблице 3 – показано изменение активности СОД при воздействии нитрата ртути. Нами обнаружено, что наиболее активна СОД в контроле. Это объясняется отсутствием повреждающих факторов. Нитрат ртути, выступающий в качестве активатора процесса образования свободных радикалов, снижает активность СОД. Таким образом, причиной изменения концентрации СОД является развитие окислительного стресса вследствие недостаточной защиты от активных форм кислорода при воздействии нитрата ртути.

Таблица 3 – Изменение активности СОД при действии ртути

Воздействующее вещество	Активность СОД ус. Ед.
Контроль	3,28±0,1
Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,375±0,02

В защите клеток от окислительного стресса, ключевая роль принадлежит каталазе. Изменение активности каталазы при действии нитрата ртути показано в таблице 4. Из таблицы видно, что активность каталазы ниже значений контроля. Так, активность каталазы в контрольной группе составила 0,094 мг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в мин/мл, а при ртутной интоксикации животных она снизилась в 2,3 раза и составила 0,041 мг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в мин/мл. Проведенный нами анализ показал, что ртуть, являясь токсичным элементом в концентрации 1,44 мг/кг, приводит к подавлению активности каталазы и СОД. С одной стороны, снижение функции СОД приводит к снижению скорости превращения супероксидного анион-радикала (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) в H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а снижение активности каталазы – к накоплению H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Накопление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии O<sub>2</sub><sup>·-</sup> обеспечивает условия для появления наиболее реакционно-способного гидроксильного радикала.

Таблица 4 – Изменение активности каталазы при действии ртути

Воздействующее вещество	Активность каталазы, мг H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> в мин./мл
Контроль	0,094±0,03
Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,041±0,03

Таким образом, можно сделать выводы:

1. Были выделены метафазные пластинки из клеток костного мозга лабораторной мыши: кариотип представлен 40 хромосомами.
2. Средняя частота спонтанных хромосомных aberrаций составила 7,2 %.
3. При действии нитрата ртути в концентрации 1,44 мг/кг частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга увеличилась до 21,5 % и выражается в виде одиночных (18,3 %) и парных (3,2 %) фрагментов, а также в наличии анеуплоидных клеток.
4. Активность антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы) в ткани печени лабораторных мышей при действии ртути снижена.

1. Суркова Н.И. Мутагенный эффект тиоТЭФ у лабораторных мышей / Н.И. Суркова, А.М. Малашенко // Генетика. – Т. 11. - № 1. – 1975. – С. 66-71.
2. Журков В.С. Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей при действии циклофосамида // Гигиена и санитария. – 1978. - № 1. – С. 12-13.
3. Трахтенберг И.М. Новые данные о токсичности неорганических соединений ртути и определяющих ее факторах // Гигиена труда и профзаболеваний. – 1981. - № 7. – С. 27-30.
4. Бердина Л.М. Исследование цитогенетической нестабильности хромосом при действии неблагоприятных внешне-средовых факторов / Л.М. Бердина, Т.В. Викторова, З.Ф. Аскарова, Э.К. Хуснутдинова // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. - № 3. – С. 40-42.
5. Ворошилин С.И. Цитогенетическое действие неорганических соединений вольфрама, цинка, кадмия и ртути на соматические клетки человека и животных / С.И. Ворошилин, Э.Г. Плотко, Т.В. Финк // Цитология и генетика. – 1988. – Т. 12. - № 3. – С. 241-243.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Аникина Л.В., Альба Н.В.</b> ВЛИЯНИЕ ПЕКТИНА НА УРОВЕНЬ ХОЛЕСТЕРИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ	3
<b>Асаинова А.Ю., Аксёнова О.Н.</b> ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МАКРОФАГОВ	7
<b>Варгот Е.В., Силаева Т.Б.</b> РАСТИТЕЛЬНЫЙ ПОКРОВ ПОЙМЕННЫХ ОЗЕР МОРДОВСКОГО ПРИСУРЬЯ	9
<b>Ворожко И.А., Степанов М.Е., Ревина Э.С.</b> ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ФОСФОЛИПИДОВ СПИННОГО МОЗГА КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ, КАК МОДЕЛИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА	13
<b>Грачева О.Г., Орешин А.М., Гудошникова Т.Н.</b> ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРОВАННОГО ВОЗДУХА НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	16
<b>Дарькина Ю.А., Новожилова О.С., Киселева Р.Е.</b> ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НАД-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В НЕЙТРОФИЛАХ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	19
<b>Ешкина С.В., Кистенева Т.Е., Лукаткин А.С.</b> ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОЯВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛИСТЬЯХ ОГУРЦА	23
<b>Кавайкина И.В., Кузнецов В.А.</b> ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОЙ И ПЕРЕМЕННОЙ СОЛЕННОСТИ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ <i>DANIO RERIO</i>	26
<b>Козлова Е.А., Барнашова Г.С.</b> ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ	31
<b>Крутова И.В., Яшкина Н.В.</b> РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В ПОПУЛЯЦИИ ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИИ	36
<b>Левина Г.В., Левин В.К.</b> РЕДКИЕ РАСТЕНИЯ ОКРЕСТНОСТЕЙ СЕЛА НИКОЛАЕВКА	39
<b>Люгзаева Л.В., Каменев А.Г., Вельмяйкина А.Н.</b> КОРМОВАЯ БАЗА И ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РЫБОПРОДУКТИВНОСТЬ НА ВЕРХНЕМ И СРЕДНЕМ УЧАСТКАХ УЗИНСКОГО ЗАЛИВА СУРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	42
<b>Маланкина Н.А., Кудряшова В.И.</b> ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ СВИНЦА И КАДМИЯ НА ВЫХОД ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ	45

<b>Нуязина И.В., Атыкян Н.А., Ревин В.В., Костина Е.Г.</b> ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЕПРОДУКТАМИ	47
<b>Панина Н.А., Шутова В.В.</b> ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ АМИЛАЗ ИЗ <i>ASPERGILLUS NIGER</i>	50
<b>Романова Е.В., Бояркина Е.Ю., Кузьмичева Л.В.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ СТРЕССЕ	54
<b>Сивова Н.Н., Саямова Р.Р., Ибрагимова С.А.</b> ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА НА ЭНДОГЛЮКОНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ГРИБА <i>RYTHIUM OLIGANDRUM</i>	57
<b>Сорокина Л.В., Колмыкова Т.С.</b> ВЛИЯНИЕ ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И АКТИВНОСТЬ ФИТОГОРМОНОВ <i>LYCOPERSICUM ESCULENTUM</i> В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУР	61
<b>Филина Н.В., Надежина О.С., Кадималиев Д.А.</b> ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ МЕМБРАНЫ НА ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МИЦЕЛИЯ ГРИБА <i>LENTINUS TIGRINUS</i>	64
<b>Церковнова М.В., Башмаков Д.И.</b> ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО	67
<b>Шубин В., Никулин А., Сазанова О., Дудко А.А., Трофимов В.А.</b> ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА P53 В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ	69
<b>Якушкина О.М., Мурикова М.В., Кудряшова В.И.</b> ВЛИЯНИЕ РТУТИ НА ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШИ	72

Научное издание

**СТУДЕНТЫ – НАУКЕ XXI ВЕКА**  
**СБОРНИК НАУЧНЫХ РАБОТ СТУДЕНТОВ**  
**БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

*Печатается без редакторской обработки  
в соответствии с представленным оригинал-макетом*

Подписано в печать ...12.2005. Формат 60 x 84 1 / 16. Бумага офсетная.  
Печать офсетная. Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. ....  
Уч.-изд. л. .... Тираж 100 экз. Заказ № ....

Издательство Мордовского университета  
Типография Издательства Мордовского университета  
430000, г. Саранск, ул. Советская, 24