



Материалы Всероссийской молодёжной
конференции

**АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ
ЖИВЫХ СИСТЕМ
НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Киров
2012

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Вятский государственный гуманитарный университет»
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии наук

**АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ
ЖИВЫХ СИСТЕМ
НА СТРЕССОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Материалы
Всероссийской молодёжной конференции
23–26 апреля 2012 г.

Киров 2012

ББК 28.081я431

А 28

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
профессионального образования
«Вятский государственный гуманитарный университет»

Материалы конференции подготовлены при финансовой поддержке
Министерства образования и науки Российской Федерации
(Госконтракт № 12.741.11.0032) в рамках Федеральной целевой программы «Научные и
научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы

Редакционная коллегия:

Т. Я. Ашихмина, профессор, д. т. н.; Л. И. Домрачева, профессор, д. б. н.;
А. И. Видякин, в. н. с., д. б. н.; Н. П. Савиных, профессор, д. б. н.;
И. Г. Широких, профессор, д. б. н.; Н. М. Алалыкина, доцент, к. б. н.;
Е. В. Дабах, доцент, к. б. н.; Е. А. Домнина, доцент, к. б. н.; Г. Я. Кантор, с. н. с.,
к. т. н.; Л. В. Кондакова, доцент, к. б. н.; С. Ю. Огородникова, доцент, к. б. н.;
С. Г. Скугорева, н. с., к. б. н.

А 28 Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия:
Материалы Всероссийской молодёжной конференции (г. Киров, 23–26 апреля
2012 г.). Киров: ООО «Лобань», 2012. 146 с.

ISBN 978-5-4338-0048-9

В сборник Всероссийской молодёжной конференции «Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия» вошли статьи студентов, аспирантов, учёных, педагогов регионов Российской Федерации и зарубежья. В них отражено современное состояние и перспективы развития представлений об адаптационных реакциях живых систем на действие стресс-факторов различной природы. Показаны механизмы адаптации биоты к среде обитания, динамика популяций растений и животных в изменяющихся условиях, в т. ч. техногенных и урбанизированных территорий. Большое внимание уделено результатам исследований с применением современных и ставших классическими методами биоиндикации и биотестирования в оценке состояния окружающей среды.

Учитывая актуальность и значимость исследований, представленных в большинстве материалов, сборник будет полезен студентам, магистрантам, аспирантам, ученым как методическое пособие для проведения занятий и научной деятельности.

ISBN 978-5-4338-0048-9

ББК 28.081я431

© Министерство образования и науки Российской Федерации, 2012

© Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Вятский государственный гуманитарный университет», 2012

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии наук, 2012

СОДЕРЖАНИЕ

Залькалнс О. А. Оценка динамики ответных реакций еловых древостоев на воздействие загрязненности атмосферы Курляндии	6
Vipule L. The regional differences of young pine stand height growth in southwestern part of Latvia	8
Скугорева С. Г. Особенности биоаккумуляции ртути растениями вблизи Кирово-Чепецкого химического комбината	11
Сунцова Е. С., Дабах Е. В., Зубарев А. О., Кантор Г. Я., Ашихмина Т. Я. Изучение миграционной способности радионуклидов в системе «почва – растение»	14
Лебедева В. П., Сорокина Г. А. Динамика состояния покоя древесных растений как реакция на стрессовое воздействие	17
Татарина Т. Д., Ксенофонтова Т. И. Адаптивные изменения дегидринов <i>Betula platyphylla</i> при формировании устойчивости в условиях криолитозоны	20
Плюснин С. Н. Окислительный стресс у лишайников: причины, механизмы, адаптивный ответ и использование в целях индикации состояния атмосферного воздуха	23
Абдрахманова Л. Р., Григориади А. С., Киреева Н. А. Стресс-протекторное действие биопрепарата при загрязнении почвы под посевами сельскохозяйственных растений	25
Татарина Т. Д., Иванова С. Ф. Участие дегидринов в формировании устойчивости некоторых древесных растений к условиям криолитозоны	27
Елькина Т. С., Михалицин А. А., Домрачева Л. И., Хитрин С. В., Фукс С. Л., Деятерикова С. В. Влияние маточного раствора фторопласта СКФ-26 на биометрические показатели и накопление фтора в проростках ячменя	30
Некрасова Ю. Н., Дабах Е. В. Источники поступления фтора в организм человека	34
Плодник Д. П., Кириленко Т. К., Юркевич Л. Н., Потопальский А. И., Мартыненко Е. И. Особенности изменений процесса нуклеинового метаболизма в клетках листьев пшеницы под действием Изатизона	37
Максимовских С. Ю., Плотникова О. М., Федькова И. С. Влияние метилфосфоновой кислоты на фотосинтетический аппарат проростков кукурузы	40
Розина С. А., Гончарук А. С., Макурина О. Н. Исследование влияния ионов свинца на пероксидазную активность в тканях водного растения <i>Ceratophyllum demersum</i>	42
Бакулина А. В., Широких И. Г. Биотическая и химическая индукция морфогенеза каллусной ткани ячменя (гистологическая оценка процессов регенерации)	45
Клокова Е. В., Колмыкова Т. С. Реакция сортов томата на предпосевную обработку 6-БАП в условиях температурного стресса	47

Свинолупова Л. С., Чиванова С. В., Огородникова С. Ю. Влияние фторидного загрязнения на биохимические показатели растений на примере ячменя с. Новичок	50
Кудяшева А. Г. Перекисное окисление липидов и энергетический обмен в тканях животных при стрессах различной природы	53
Гилева Т. А., Костицына Н. В., Зиновьев Е. А. Изучение содержания тяжелых металлов и показателей общего физиологического состояния организма рыб.....	55
Юшкова Е. А. Чувствительность генетических систем <i>Drosophila melanogaster</i> к действию хронического облучения в малых дозах.....	58
Евдокимов А. Н., Григорович М. А., Кудрин Б. И., Плотникова О. М. Оценка воздействия моноэтаноламина на некоторые печеночные ферменты крови лабораторных мышей.....	60
Стрекаловская А. В., Иванкова Ж. Е., Кудяшева А. Г. Сочетанное действие факторов разной природы на поведенческие реакции и показатели красной крови лабораторных мышей.....	62
Раскоша О. В., Ермакова О. В., Старобор Н. Н. Частота встречаемости микроядер в клетках щитовидной железы полевок, обитающих в условиях повышенного уровня радиоактивности и их потомков.....	65
Пыстина А. В., Репина Е. Н., Кудяшева А. Г. Раздельное действие факторов разной природы на поведенческие реакции и показатели белой крови лабораторных мышей.....	67
Овчинникова Е. С., Жигальский О. А. Перераспределение энергии в организме животного в ответ на стрессирующие воздействия	69
Голубева Е. А., Иванкова Ж. Е., Людинина А. Ю. Кислотная резистентность эритроцитов человека в условиях острой нормобарической гипоксии	71
Стенина Е. А., Мищенко А. А. Кислотная резистентность эритроцитов человека при действии DIDS <i>in vitro</i>	74
Новаковская И. В., Патова Е. Н., Сивков М. Д. Устойчивость водорослей к стрессовым факторам горно-тундровых почв на примере Приполярного Урала.....	77
Елькина Т. С., Домрачева Л. И. Динамика микробных комплексов в почве в ходе пирогенной сукцессии.....	79
Дёмин Д. В., Севостьянов С. М. Изучение отклика и процессов адаптации микробного сообщества чернозема обыкновенного к внесению осадка сточных вод	82
Злобин С. С., Домрачева Л. И. Сезонная динамика численности почвенных водорослей и микромицетов в районе Кирово-Чепецкого химического комбината.....	87
Уразбахтина А. Б. Альгологическая оценка нефтяного загрязнения в экотонных экосистемах	90
Березин Г. И., Елькина Т. С., Гайфутдинова А. Р., Старкова Д. Л., Домрачева Л. И. Влияние гербицидов на развитие альго-микологических комплексов под культурой лядвенца рогатого.....	92

Соловьёва Е. С., Ашихмина Т. Я., Широких И. Г. Сравнительная характеристика комплексов почвенных актиномицетов в селитебных и промышленных районах г. Кирова.....	95
Назаренко Н. Н. Факторы стресса и адаптивные реакции микробного сообщества почвы в урбоэкосистеме	98
Товстик Е. В., Широких И. Г. Реакция почвенных актиномицетов на загрязнение среды мышьяком.....	100
Новопашина Ю. А., Широких И. Г. Изучение фиторегуляторных свойств метилотрофных бактерий	104
Фокина А. И., Жмак М. С., Гребёнкина О. Н., Горностаева Е. А., Огородникова С. Ю. Опыт многостороннего исследования функциональных возможностей почвенных цианобактерий	106
Сластникова Е. М., Горностаева Е. А., Фокина А. И., Кокоулина К. А., Огородникова С. Ю., Кондакова Л. В. Выявление функциональных возможностей природных биоплёнок <i>Nostoc commune</i>	111
Горностаева Е. А., Фокина А. И., Лаптев Д. С., Огородникова С. Ю., Жаворонков В. И. Влияние ионов меди (II) на биохемиллюминесценцию почвенных цианобактерий	114
Горностаева Е. А., Фокина А. И., Лаптев Д. С., Огородникова С. Ю., Жаворонков В. И., Зворыгина В. М. Биохемиллюминесценция почвенных цианобактерий рода <i>Phormidium</i> в условиях загрязнения среды медью (II) и никелем (II)	120
Коваль Е. В., Огородникова С. Ю. Оценка токсичности метилфосфонатов по биохимическим реакциям цианобактерий.....	123
Черезова К. О., Кузнецова Е. О., Фокина А. И. Частные реакции на ионы в исследовании цианобактерий.....	127
Гайфутдинова А. Р., Елькина Т. С., Березин Г. И., Домрачева Л. И. Оценка воздействия пестицидов старого и нового поколений на развитие почвенных микробных комплексов.....	128
Конон А. Д., Софилканич А. П., Парфенюк С. А., Филюк И. В., Шевчук Т. А., Пирог Т. П. Влияние Cu^{2+} на синтез поверхностно-активных веществ <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ИМВ В-7241 и <i>Rhodococcus erythropolis</i> ИМВ Ас-5017 при культивировании на неуглеводных субстратах.....	131
Шулякова М. А., Хомяк Д. И., Мащенко О. Ю., Шевчук Т. А., Пирог Т. П. Синтез поверхностно-активных веществ штаммами <i>Rhodococcus erythropolis</i> ИМВ Ас-5017, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ИМВ В-7241 и <i>Nocardia vaccinii</i> К-8 в процессе биоконверсии отходов производства биодизеля	134
Рябова О. В., Широких И. Г. Изучение влияния кислотности среды на рост и антагонистическую активность <i>Streptomyces hygrosopicus</i> А-4.....	137
Громик Ю. П., Тугай Т. И. Исследования влияния ионизирующего облучения на синтез каротиноидов у <i>Aspergillus versicolor</i> , выделенных из объекта «Укрытие».....	140
Ханжин А. А., Охалкина В. Ю. Оценка влияния тяжелых металлов на ростовые свойства природного изолята <i>Fusarium culmorum</i> при культивировании на плотных питательных средах	143

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ ЕЛОВЫХ ДРЕВОСТОЕВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ АТМОСФЕРЫ КУРЛЯНДИИ

О. А. Залькалнс

*Латвийский сельскохозяйственный университет,
oskars.zalkalns @ dienvidkurzeme.vmd.gov.lv*

Еловые леса Курляндии находятся в западной части Латвии. Эти леса находятся под длительным воздействием атмосферного загрязнения. Данная проблема актуальна для ряда индустриально развитых западных и балтийских стран [1, 2, 4, 6]. Основными источниками загрязнения региона являются индустриальные комплексы городов: Лиепая и Броцены, а также Можекайский нефтеперерабатывающий комбинат на территории Литвы.

К числу наиболее опасных химических загрязнителей относятся тяжёлые металлы и их оксиды, газовые выбросы соединений серы и азота, а также пылевидные аэрозоли [5, 8].

Существенным методическим затруднением изучения техногенного загрязнения является его латентный характер – ухудшение физиологического состояния деревьев в явном виде не проявляются. Наиболее информативным критерием, реально отражающим характер и интенсивность эффекта воздействия загрязнения, является дополнительный прирост по запасу (ДПЗ). Под ДПЗ понимается часть общего прироста, обусловленная влиянием изучаемого воздействия [7].

Материал и методика. Место, где находятся пробные площади, расположено в западной части Латвии. Участки находятся в пределах прибрежной низменности и холмистых районов Восточной Курляндии.

Для определения изменения ДПЗ на территории исследования были оценены 30 пробных площадей, заложенных в древостоях ели (*Picea abies* (L.) Karst.) различного состава, бонитета, возраста и полноты. На каждой пробной площадке измерялись высота и диаметр деревьев. Кроме того, проводили бурение деревьев для получения образцов прироста древесины, которые использовали для измерения ширины годичных слоёв за последние 40 лет. Размер каждой пробной площади (ПП) составил 400 м², точное местоположение определяли по приемнику GPS. В каждой из 30 ПП было исследовано 20 пробных деревьев. Территориальное распределение пробных площадей и основных объектов загрязнения представлены на рис.

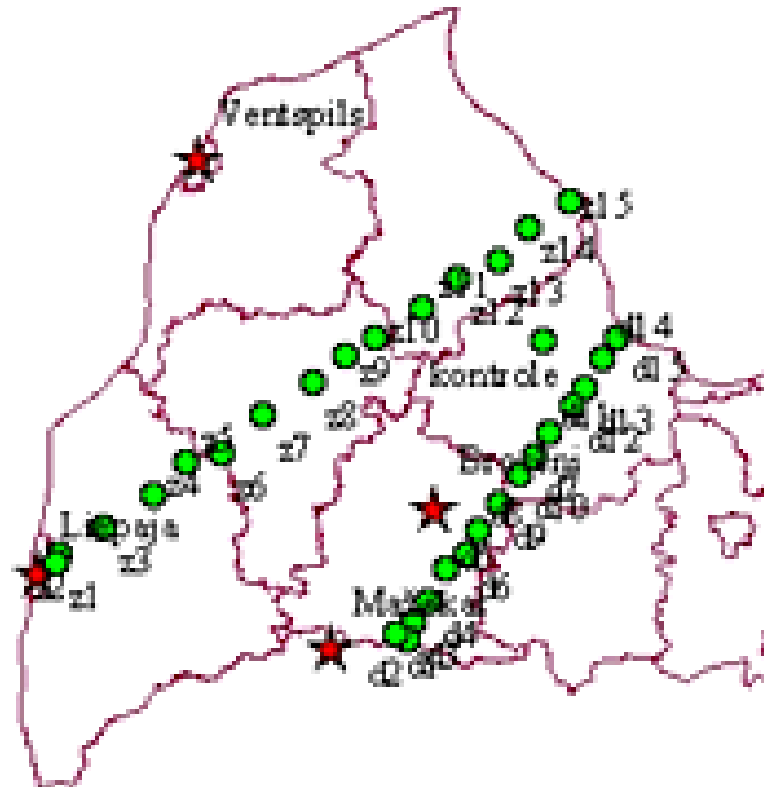
В качестве контроля использованы древостои ели вне зоны воздушного загрязнения (вблизи г. Тукумс).

Ширина годичных слоев деревьев каждого образца (в общей сложности 655 образцов) были измерены с точностью до 0,01 мм. Данные измерений были зарегистрированы с помощью измерительной системы «Lintab 4» (RINNTECH Frank Rinn engineering distribution Hardtstrasse 20–22 D-69124 Heidelberg, Germany). Данные измерений были зарегистрированы с помощью программы «T-Tools Pro» (Mechanik Labor GmbH).

Для вычисления ДПЗ была использована формула И. Лиепы [3]:

$$Z_M^{kp} = 12732.4\Psi \left(GH^\alpha D^\beta l g H + \varphi - 2 - G_t H_t^\alpha D_t^\beta l g H + \varphi - 2 \right),$$

где Z_M^{kp} – кумулятивный дополнительный прирост по запасу, $\text{м}^3 \cdot \text{га}^{-1}$;
 G, G_t – базальная площадь на высоте груди, $\text{м}^2 \cdot \text{га}^{-1}$;
 D, D_t – диаметр на высоте груди, см;
 H, H_t – средняя высота древостоя, м;
 $\Psi, \alpha, \beta, \varphi$ – коэффициенты.



★ Рис. Территориальное распределение пробных площадей
 ★ – источники загрязнения; ● – еловые пробные площади

В ходе исследования выявлено, что воздействие загрязнения на деревья зависит от расстояния до объекта, а также от состава и концентрации выбросов. Дополнительный прирост пробных площадей группы «D» варьирует в диапазоне от $7,9 \text{ м}^3 \cdot \text{га}^{-1}$ до $-15,6 \text{ м}^3 \cdot \text{га}^{-1}$, площадей группы «Z» варьируют – от $2,8 \text{ м}^3 \cdot \text{га}^{-1}$ до $-21,4 \text{ м}^3 \cdot \text{га}^{-1}$. Ответная реакция древостоя зависит от расстояния к источникам загрязнения, а также от возраста и типа леса. В дополнение к этим показателям следует рассматривать пространственное расположение древостоя, чтобы иметь возможность оценить влияние других факторов, которые влияют на рост древостоя.

Литература

1. Augustaitis Algirdas, Augustaitiene Ingrida and Deltuvus Romualdas Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Crown Defoliation in Relation to the Acid Deposition and Meteorology in Lithuania // *Journal Water Air Soil Pollut.*, 2007. 182. P. 335–348.
2. Kandler O and Innes J. L. Air pollution and forest decline in Central Europe // *Environmental Pollution*. Vol. 90. 1995. P. 171–180.

3. Liepa Imants Pieauguma mēcība [Grāmata]. Jelgava : LLU, 1996. 123 p.
4. Nikodemus O. et al. Monitoring of Air Pollution in Latvia Between 1990 and 2000 Using Moss // Journal of Atmospheric Chemistry. Vol. 49. 2004. P. 521–531.
5. Pārn Henn Radial growth of conifers in regions of different cement dust load. Tallin : Proc Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol., 2006. Vol. 55. P. 108–122.
6. Plāte Armands et al. Eiropas savienības politika gaisa kvalitātes jomā un tās ieviešana latvijā [Report]: Ziņojums. Rīga : Baltijas Vides forums, 2006. 32 p.
7. Лиєпа И. Я. Динамика древесных запасов. Прогнозирование и экология. Рига: Зинатне, 1980. 170 с.
8. Собчак Р. О. Диагностика состояния видов хвойных в зонах техногенного загрязнения республики Алтай // Биология. 2009. С. 185–190.

THE REGIONAL DIFFERENCES OF YOUNG PINE STAND HEIGHT GROWTH IN SOUTH-WESTERN PART OF LATVIA

L. Vipule

*Latvia University of Agriculture Forest Faculty,
l.vipule@lvm.lv*

Latvia is a country of forests. The forest cover makes 50,2%. Since Latvia regained its independence, forestry has been the most perspective branch of the national economy. By skilful forest management it is possible to enhance this treasure, because the increase in timber is provided by active, effective and sustainable forest management. Sustainable forest management can be defined as the stewardship and use of forests and forest lands in a way, and at a rate, that maintains their biodiversity, productivity, regeneration capacity, vitality and their potential to fulfil, now and in the future, relevant ecological, economic and social functions at local, national, and global levels, and that does not cause damage to other ecosystems (Resolution H1, 1993).

According to the statistics, forest stands dominated by conifers take up 46% of the forest area in Latvia. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) is the most widespread and economically important tree specie. Its superior quality has been recognized for a long time across the whole Europe. Maintenance and improvement of productivity and quality of this specie is of a high priority in Latvia.

In Latvia, there is a lack of extensive research concerning productivity regional differences of the main tree species, including both edaphic and orographic factors at the time. These both factors belong to the group of abiotic factors. Abiotic factors are all of the non-living things that are components of a habitat, such as sunlight, temperature, rainfall and soil conditions. Abiotic factors play an important role in ecosystems because they determine the conditions in which they grow, and to which they must adapt.

The regional differences of Latvian pine forest growth have been investigated by distributing hypothetical western, eastern and southern growing regions. The study results showed that there is a difference in productivity between regions, thus indicating that forest productivity differences can be explained by growing conditions, and forest productivity is also influenced by regional location. The forest ecosystem is highly complex, and influenced by numerous external factors. It is also predicted that climate change will have an impact on the environment and ecosystem

stability, structure and function, including forest growth and productivity (Lībiete, 2009).

Annual growth in height, which depends on growth intensity and the duration of the growing season, is one of the major parameters describing the competitive ability and productivity of forest crops. Ongoing climatic changes are predicted to increase the mean temperatures, duration of the growing season and the frequency of meteorological conditions unfavourable for tree growth (Jansons, Krišāns, 2011). Also other abiotic and biotic factors play an important role in tree growth and in other forest ecosystem processes.

Materials and Methods. Regional differences in south-western part of Latvia are associated with the distance from the sea coast and altitude. Data have been collected in 8 research sites. The experimental sites are situated in different parts of south-western Latvia. Sampling plots cover four relief forms in two different forest site types. The relief forms are two regional highlands and two regional lowlands. Forest site types are *Myrtillosa* and *Hylocomiosa*. Height growth in young pine stands (6 – 8 years old) was measured from late April till early July in year 2011. Measurements were made for three year height growth period. Data statistical analysis was made using SPSS features. The young forest stand (1-10 years) tree species distribution in the south-western part of Latvia is showed in Figure 1. It's clearly seen that Scots pine dominates, followed by Norway spruce and Silver birch. In the last 10 years the proportion of using pine in forest reforestation has grown greatly. Few years ago it was usual to plant more spruce than pine.

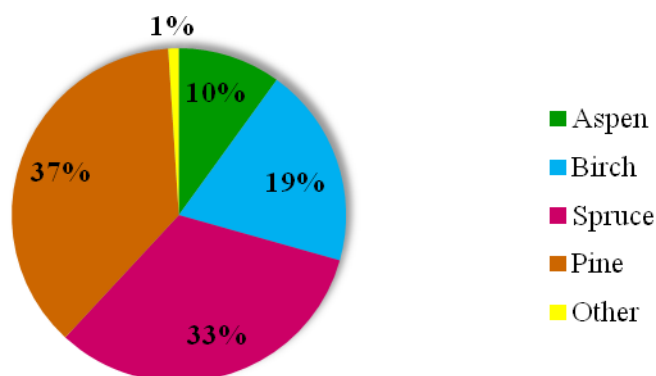


Fig. 1. 1 – 10 years old forest stand distribution depending on the dominant tree specie in the south-western part of Latvia

Results and Discussion. The purpose of this study was to investigate the effects of site conditions and altitude on the height growth in young Scots pine stands. Notable difference in height growth dynamics was found between site types with different fertility in all relief forms. It means that soil conditions are of a great importance in young pine stand for height growth. The average length of the annual shoot in both site types *Myrtillosa* and *Hylocomiosa* is showed in Figure 2.

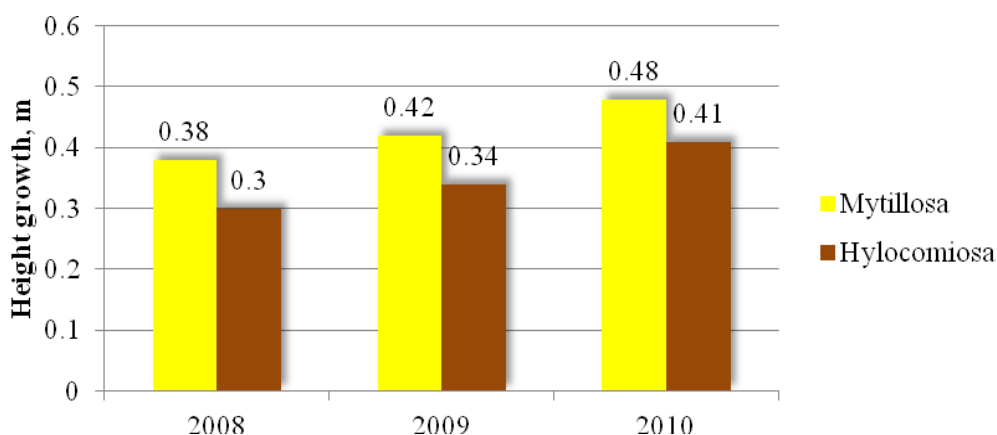


Fig. 2. The annual height growth in sampling plots located in *Myrttilosa* and *Hylocomiosa* in the south-western part of Latvia

As it is seen in Figure 2 the average height growth is larger in *Myrttilosa* than in *Hylocomiosa* – the site type with the lowest fertility. Probably young pine is growing there better in the first years because of the lack of other competitive plants and shrubs that are more in *Hylocomiosa* than in *Myrttilosa*. The differences are significant in all cases. Figure 3 displays the differences in height growth between diverse relief forms. These differences are also significant and it is seen that the average annual shoot length is larger in lowlands than in highlands.

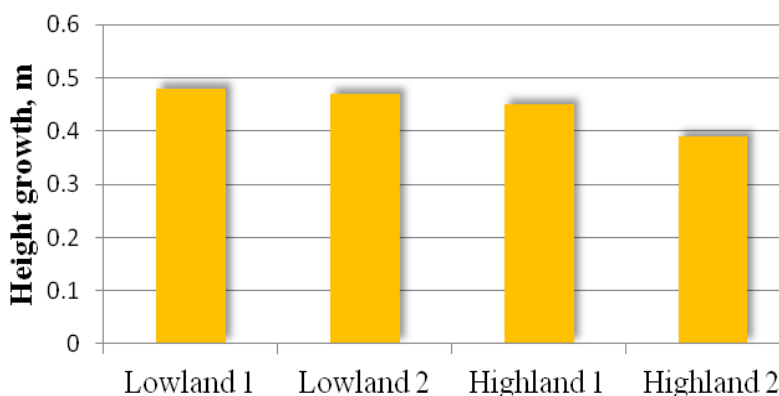


Fig. 3. The annual height growth in sampling plots located in highlands and lowlands in the south-western part of Latvia

References

- Jansons, Ā., Krišāns, O., Jansons, J. (2011). Parastās priedes (*Pinus sylvestris* L.) augstuma pieauguma veidošanās sezonālā dinamika. *Mežzinātne* 23(56): 15-24.
- Lībiete, Z., Jansons, J., Zālītis, T. (2009). Latvijas skujkoku audžu vecumstruktūra un ražība. *Mežzinātne* 19(52): 28-48.
- Resolution H1. General Guidelines for the Sustainable Management of Forests in Europe. Second Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe 16-17 June 1993, Helsinki/Finland.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ ГОДОВОГО ПРИРОСТА СОСНОВЫХ МОЛОДНЯКОВ В ЮГО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЛАТВИИ

Л. Винуле

Факультет лесного хозяйства

Латвийского сельскохозяйственного университета

В работе выполнено сравнение продуктивности молодых сосновых лесов Латвии, находящихся в различных лесотипических и орографических условиях. Выявлено различие величины годового прироста деревьев в зависимости от типа лесного фитоценоза и его положения в рельефе. Показано, что величина прироста в сосняках-черничниках значительно превышает величину прироста в сосняках-зеленомошниках. В лесах, произрастающих в низинах, годовой прирост выше по сравнению с лесами на возвышенностях.

ОСОБЕННОСТИ БИОАККУМУЛЯЦИИ РТУТИ РАСТЕНИЯМИ ВБЛИЗИ КИРОВО-ЧЕПЕЦКОГО ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА

С. Г. Скугорева

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

Вятский государственный гуманитарный университет

Тяжелые металлы (ТМ) обладают высокой токсичностью и степенью биоаккумуляции. Ртуть является одним из самых токсичных ТМ. В настоящее время опасность представляет высокий уровень поступления ртути в среду от природных и промышленных источников, с бытовыми отходами, при сжигании горючих ископаемых [3].

Одним из основных источников загрязнения окружающей природной среды в Кировской области является ОАО «Кирово-Чепецкий химический комбинат (КЧХК) им. Б. П. Константинова», который в настоящее время входит в ОАО «Объединенная химическая компания УРАЛХИМ».

На заводе «ГалоПолимер Кирово-Чепецк», который действует в составе комбината, с 1955 г. производят каустическую соду и хлор электролитическим способом с использованием ртутного электрода. Загрязнение водных объектов соединениями ртути происходило при сбросе сточных вод до внедрения технологии их глубокой очистки на КЧХК. Источник загрязнения почв и растений – загрязненные воды, выходящие из берегов во время половодья.

Целью работы было изучить особенности биоаккумуляции ртути дикорастущими растениями из почв в зоне влияния Кирово-Чепецкого химического комбината.

В 2011 г. пробы почв и растений были отобраны на 15 участках (рис. 1). Участок № 2 располагался вблизи места выхода грунтовых вод у завода «ГалоПолимер», № 4 – рядом с дренажной канавой у хранилища РАО № 205, № 6 – на берегу болота у третьей секции хранилища отходов, № 18 – у болота на южном углу 4-ой секции. Участок № 7 находится вблизи р. Елховки в среднем ее течении, № 10, 11 и 12 представляют заболоченный рукав, современное

русло и старое русло р. Елховка. Участок № 17 представляет собой заболоченную пойму р. Елховка со стороны Глухого бора, № 16 – берег р. Елховка ниже по течению от № 10, № 15 – межгрядное понижение в пойме р. Елховка. Кроме того, образцы почв и растений отбирали на берегу оз. Бобровое (№ 9), оз. Просное (№ 14) и рядом с измерительным лотком (№ 13).

Образцы почвы отбирали в корнеобитаемом слое на глубине 0–15(20) см. У травянистых растений отбирали надземную часть, у вяза, шиповника и смородины – листья. Содержание ртути в почве и растениях определяли методом беспламенной атомной абсорбции на анализаторе ртути РА-915+ [2].

В ходе химического анализа установлено, что в почвах на большинстве исследуемых участков валовое содержание ртути было выше ПДК (2,1 мг/кг) [1] (рис. 2). Исключение составили почвы на берегу оз. Бобровое (№ 9), рядом с болотом у 4-ой секции шламонакопителя (№ 18) и на берегу р. Елховка в нижнем течении (№ 16).

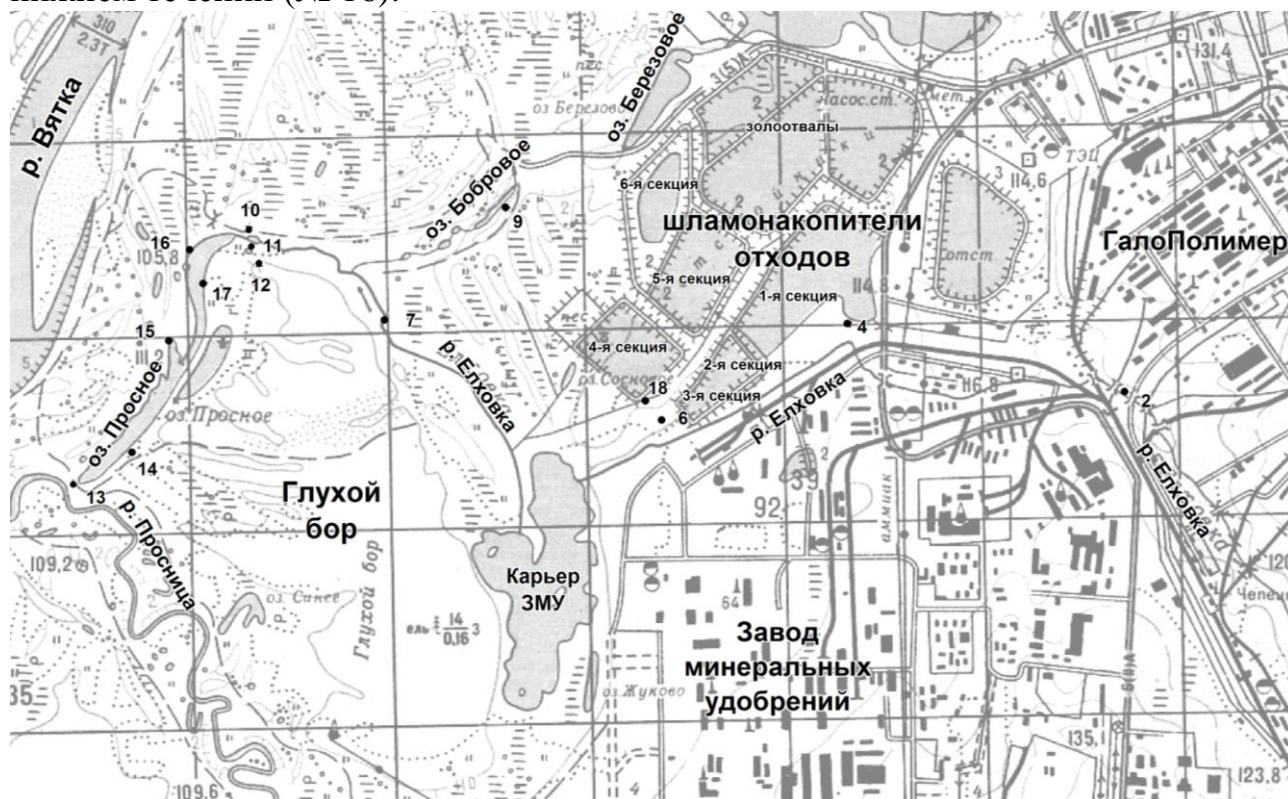


Рис. 1. Карта-схема расположения участков отбора проб почв и растений в районе КЧХК

Наибольшая концентрация ртути определена в образце почвы, отобранном на берегу дренажной канавы у 3-ей секции отходов КЧХК (№ 6) под растениями смородины (64 мг/кг). Во много раз ниже содержание ртути было на этом же участке в почве под растениями крапивы двудомной и бодяка полевого (0,37 мг/кг). Большие различия в концентрации элемента свидетельствуют о крайней неравномерности его распределения в почвенном покрове. Возможно, что почва на данном участке является насыпной.

Высоким было содержание ртути на участке рядом с выходом грунтовых вод у завода «ГалоПолимер» (№ 2). Под растениями тмина и бодяка полевого

концентрация элемента составила 45 мг/кг и 23 мг/кг, что выше ПДК в 21 и 11 раз соответственно.

В ходе химического анализа растений, установлено, что содержание ртути было максимальным в листьях полыни обыкновенной на участке № 4 (4700 мкг/кг). Большое количество элемента (3300 мкг/кг) содержалось в листьях бодяка полевого на участке № 2. Таким образом, наиболее загрязненными соединениями ртути являются растения, произрастающие на почвах с высоким содержанием элемента.

Несколько ниже была концентрация ртути в листьях крапивы двудомной на участках № 14, № 9 и № 12. Повышенное содержание ртути в листьях крапивы двудомной на участках с относительно невысоким содержанием ртути в почве, вероятно, связано с тем, что крапива двудомная обладает хорошей аккумулирующей способностью по отношению к данному элементу.

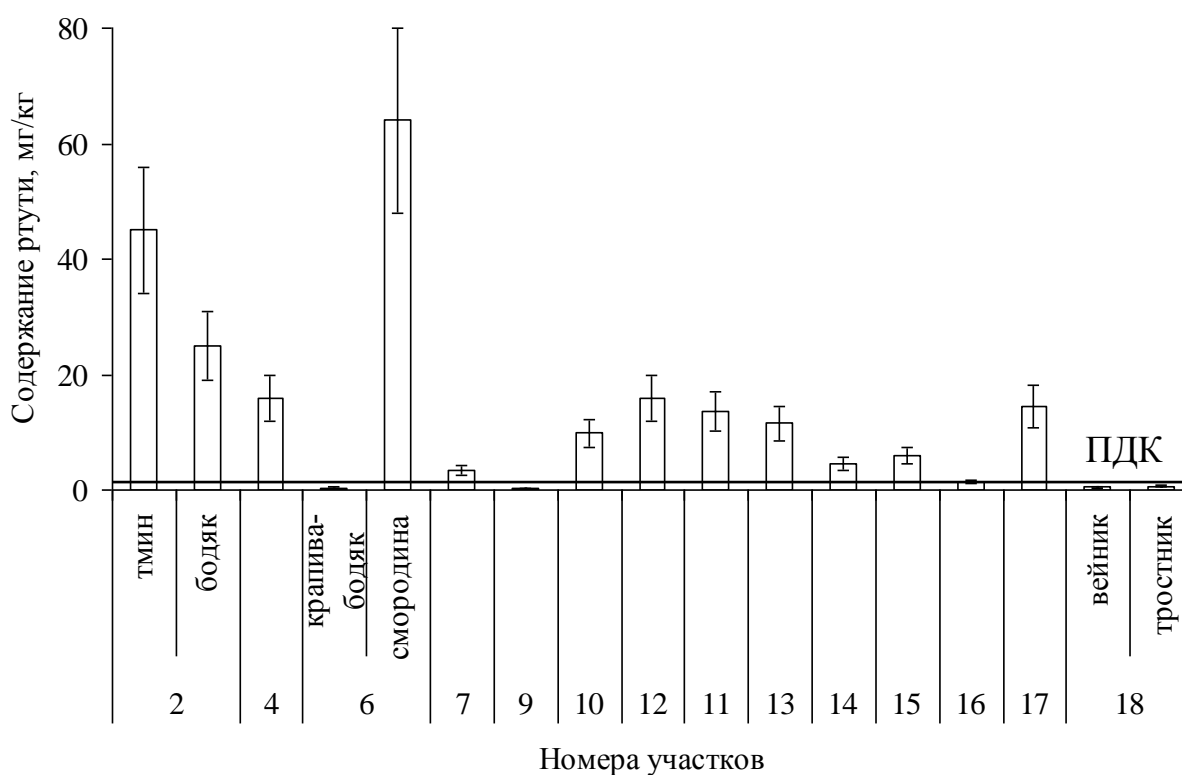


Рис. 2. Содержание ртути в корнеобитаемом слое почвы (0–15(20) см)

Для сравнения аккумулирующей способности растений были рассчитаны коэффициенты накопления (КН). Установлено, что КН невысокие у растений на участках с высоким содержанием элемента в почве. При низком содержании ртути в почве накопительная способность растений увеличивается. Самые высокие значения КН рассчитаны для растений, произрастающих на почвах с минимальным содержанием ртути в почве.

В ходе анализа абсолютных значений содержания ртути в растениях и коэффициентов накопления выявлены видовые особенности растений по способности аккумулировать элемент. Установлено, что полынь обыкновенная обладает высокой способностью к накоплению ртути, несколько ниже эта способность у растений крапивы двудомной и бодяка полевого.

Таким образом, наиболее загрязненными соединениями ртути являются растения, произрастающие на почве с высоким содержанием элемента. Способность к биоаккумуляции зависит от содержания элемента в почве. С увеличением содержания элемента в почве аккумуляция надземными органами растений снижается. Высокой способностью к накоплению ртути обладает полынь обыкновенная, крапива двудомная и бодяк полевой, в связи с этим их можно рекомендовать для фитоиндикации и фиторемедиации загрязненных почв.

Литература

1. ГН 2.1.7.2041-06 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.
2. Методика выполнения измерений массовой доли общей ртути в пробах почв и грунтов на анализаторе РА-915+ с приставкой РП-91С. М., 2000. 12 с.
3. Черных Н. А., Милащенко Н. З., Ладонин В. Ф. Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. Пушкино, 2001. 148 с.

ИЗУЧЕНИЕ МИГРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ РАДИОНУКЛИДОВ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА-РАСТЕНИЕ»

*Е. С. Сунцова¹, Е. В. Дабах², А. О. Зубарев¹,
Г. Я. Кантор^{1,2}, Т. Я. Ашихмина^{1,2}*

¹ *Вятский государственный гуманитарный университет,*
² *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ecolab@vshu.kirov.ru*

Развитие жизни на планете всегда происходило в присутствии радиационного фона окружающей среды. Радионуклиды активно вовлекаются в круговорот веществ и накапливаются в живых организмах. Они становятся неотъемлемым звеном пищевых цепей и играют существенную роль в функционировании экосистем. В связи с этим изучение поведения радионуклидов в природных условиях приобретает все большее значение. Главным источником естественных радионуклидов (калий-40, торий-232, уран-238, радий-228 и др.) являются горные породы, происхождение которых неразрывно связано с включением в их состав всех радиоактивных элементов, возникших в период формирования и развития планеты. Кроме естественных радиоактивных изотопов известно много искусственных, полученных в результате различных ядерных реакций или же образующихся в результате ядерных взрывов [1].

Поступление радионуклидов из почв происходит через корневую систему. Эффективность такого поступления зависит от формы нахождения радионуклида в почве, характера его распределения по глубинам почвенного профиля и биологических факторов (свойств корневой системы, наличия или отсутствия на них микроорганизмов и др.). Очевидно, что удержание радионуклида в самом растении зависит и от физиологических параметров растения.

Целью нашей работы было изучение накопления радионуклидов в растениях в зависимости от содержания их в почвах, а также закономерностей распределения радионуклидов в органах растений.

Сотрудниками лаборатории биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ в рамках проведения комплексного мониторинга территории Кирово-Чепецкого химического комбината в летний период 2011 г. были отобраны пробы почв и растений разных систематических групп для определения радионуклидов. Радиоактивное загрязнение окружающей среды в районе комбината связано с существовавшим до 1992 г. производством на заводе полимеров соединений урана.

Пробы анализировали на спектрометрическом комплексе для измерения активности бета-гамма – излучающих нуклидов «Прогресс», определяя удельную активность (Бк/кг) естественных и техногенных радионуклидов: Cs-137, Sr-90, K-40, Ra-226, Th-232, суммарную β -активность во всех отобранных пробах [2, 3].

Удельные активности радионуклидов в почвах на площадках мониторинга представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Удельная активность радионуклидов в почвах
на площадках мониторинга, Бк/кг**

Площадка отбора	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	²³² Th	²²⁶ Ra
901	20,2±4,2	73,0±34,5	25,5±5,8	17,3±4,9
902	193,7±23,1	33,0±37,0	12,4±4,0	33,5±6,5
906	5420±557	115,6±43,5	32,8±6,7	73,0±12,7
907	6134±630	187,3±42,8	41,9±7,7	31,4±8,8
918	4777±493	57,1±35,9	37,6±7,2	30,7±8,3
920	1004±108	78,2±34,2	28,7±6,0	21,3±6,1
921	2291±241	143,1±49,9	39,5±8,0	24,8±8,1
927	35,5±5,5	83,6±35,1	13,6±3,8	15,5±4,0
1005/1	104,1±13,4	52,3±37,7	30,6±6,2	20,7±5,3
П-13	1832±193	104,4±33,2	24,4±5,6	15,2±6,0

Максимальное радиационное загрязнение характерно для участков, расположенных на заболоченных берегах р. Елховки в нижнем ее течении (906, 907, 918). Несколько ниже уровень накопления радионуклидов в почвах центральной поймы р. Вятки, примыкающей к руслу р. Елховки (920, 921), и на берегах оз. Просного (П 13). Загрязнение обусловлено в большей степени радионуклидом ¹³⁷Cs.

На основании результатов определения активности радионуклидов в растительных образцах и расчета коэффициентов их накопления отмечено, что наибольшей аккумулярующей способностью из всех представленных на площадках растений обладают бодяк полевой *Cirsium arvense* (L.) Scop. и крапива двудомная *Urtica dioica* L. Поскольку крапива является доминирующим видом на площадках мониторинга, в ней были определены удельные активности радионуклидов в стеблях и листьях растений и рассчитаны коэффициенты накопления (табл. 2).

**Значения коэффициента накопления радионуклидов в
вегетативных частях *Urtica dioica* L.**

Площадка отбора	¹³⁷ Cs		⁹⁰ Sr		²³² Th		²²⁶ Ra	
	Листья	Стебли	Листья	Стебли	Листья	Стебли	Листья	Стебли
901	6,61	2,97	0,07	0	1,27	0,03	1,49	5,97
902	0,20	0,09	0,13	1,40	0	0	2,30	2,08
906	0,02	0,01	0,03	0	0,13	0	0,86	0,33
907	0,05	0,01	0,34	0,09	0	0	2,68	1,40
918	0,04	0,03	0,66	0,19	0,48	0,07	0	0,77
920	0,05	0,02	0,16	0	0,19	0	2,56	0,32
921	0,02	0,01	0,07	0,39	0,07	0	0,50	0,42
927	0	0	0,39	0,03	0	0,30	0,49	3,41
1005/1	1,85	0,88	7,63	2,05	0,54	0,27	1,32	4,98
П-13	0,09	0,03	0,24	0,42	0	0,78	1,77	11,42

Максимальные значения коэффициента накопления Cs-137 и Sr-90 в растениях отмечены на участке № 1005/1, в то время как активности этих радионуклидов в почвах невысокие. На участке № 901 обнаружены максимальные уровни накопления Cs-137, однако, в почвах активность этого радионуклида самая низкая. Из литературы известно, что при следовых количествах цезия-137 в почве и возрастающих концентрациях в растворе конкурирующих ионов калия и аммония, сорбция цезия твердой фазой уменьшается [4]. Соответственно, активность иона в растворе и доступность его растениям возрастают. На участке 901, расположенном на берегу Бобрового озера, в течение многих лет отмечаются повышенные концентрации иона аммония, обусловленные загрязнением соединениями азота вод пойменных озер.

Накопление стронция-90 в листьях и стеблях крапивы на участке 1005/1, где активность этого радионуклида в почвах относительно невысокая, по-видимому, также связано с конкурирующими катионами и условиями подвижности радионуклидов.

Максимальный коэффициент накопления тория-232 в крапиве отмечен на участке 901, где активность радионуклида в почве средняя. В целом, накопление тория в растениях происходит менее интенсивно по сравнению с другими радионуклидами. Согласно литературным данным [5] соединения тория в почве закреплены наиболее прочно, биологическая доступность его растениям низкая.

Коэффициенты накопления ²²⁶Ra крапивой по сравнению с другими изотопами выше. Кроме того, на четырех участках (901, 927, 1005 и П 13) максимальные значения их отмечены в стеблях растений, а не в листьях. На этих участках удельные активности радия-226 в почвах наиболее низкие – от 15 до 20 Бк/кг.

Таким образом, нами подтверждено, что основными аккумулярующими радионуклиды растениями на участках мониторинга являются крапива двудомная и бодяк полевой. Не обнаружено отчетливой зависимости коэффициентов накопления радионуклидов в растениях от активности их в почвах.

Отмечается тенденция преимущественного накопления радионуклидов цезия-137, стронция-90 и тория-232 в листьях крапивы двудомной. Эта тенденция не проявляется в отношении радия-226, коэффициенты накопления которого довольно часто в стеблях выше, чем в листьях.

Литература

1. Молчанова И. В., Караваева Е. Н. Эколого-геохимические аспекты миграции радионуклидов в почвенно-растительном покрове. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН. 2001. 161 с.
2. Методика измерения активности радионуклидов с использованием сцинтилляционного гамма-спектрометра с программным обеспечением «Прогресс». Менделеево. 2003. 32 с.
3. Методика измерения активности радионуклидов с использованием сцинтилляционного бета-спектрометра с программным обеспечением «Прогресс». Менделеево. 2004. 24 с.
4. Степина И. А., Попов В. Е. Влияние концентрации калия и аммония на селективную сорбцию ^{137}Cs почвами и природными сорбентами. / Сб. матер. третьей международной науч. конф. «Современные проблемы загрязнения почв». Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2010. С. 290–293.
5. Рачкова Н. Г., Шуктомова И. И. Роль сорбентов в процессах трансформации соединений урана, радия и тория в подзолистой почве. СПб.: Наука, 2006. 146 с.

ДИНАМИКА СОСТОЯНИЯ ПОКОЯ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ КАК РЕАКЦИЯ НА СТРЕССОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

В. П. Лебедева, Г. А. Сорокина

Сибирский федеральный университет, nika_lebedeva@mail.ru

Растительный организм в течение жизненного цикла подвергается постоянному действию сезонных и суточных колебаний условий окружающей среды. Стрессовое воздействие вызывает различные перестройки метаболических и физиологических процессов, цель которых заключается либо в адаптации организма к новым условиям окружающей среды, либо в переживании неблагоприятного момента [1].

Оказываясь в резко измененной человеком среде произрастания и не располагая специальными защитными приспособлениями к разрушительным факторам этой среды, растения неизбежно встают на преадаптивный путь обеспечения устойчивости и более или менее успешного произрастания [2].

Природные и техногенные экологические факторы нецелесообразно противопоставлять друг другу. В процессе эволюции у растений не сформировались системы приспособления к вредным газам, поэтому способность противостоять их повреждающему действию основывается на механизмах устойчивости к другим неблагоприятным воздействиям [3]. В зависимости от вида растения по-разному реагируют на различные воздействия изменениями в темпах роста, накопления биомассы, продолжительности жизни, особенностями размножения, плотностью популяций.

Целью данной работы является оценка сезонных изменений древесных растений: покрытосеменных – тополя, березы, и клена и хвойных – ели и лиственницы, из двух районов г. Красноярска с различным уровнем техноген-

ного воздействия с использованием метода регистрации термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ).

В качестве показателя состояния растений и глубины покоя, в соответствии с работой [4], использовали отношение интенсивностей флуоресценции, соответствующих низкотемпературному и высокотемпературному максимумам кривой ТИНУФ (R_2), а также наглядный вид кривых ТИНУФ.

$R_2 = \Phi_{Л_{HT}}/\Phi_{Л_{BT}}$, где $\Phi_{Л_{BT}}$ – интенсивность флуоресценции при высокотемпературном максимуме; $\Phi_{Л_{HT}}$ – интенсивность флуоресценции при низкотемпературном максимуме.

Для оценки сезонных изменений растений проводилась регистрация термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ) феллодермы древесных растений (рис. 1).

В течение всего изучаемого периода, за исключением июня, на обеих пробных площадках были отмечены более высокие значения флуоресцентного параметра R_2 , для хвойных растений – ели и лиственницы, по сравнению с покрытосеменными – тополем, кленом и березой.

Величина R_2 для хвойных (больше 0,7) свидетельствует о том, что ель и лиственница не переходят в состояние покоя в течение всего периода исследований, несмотря на экстремально суровые зимние условия.

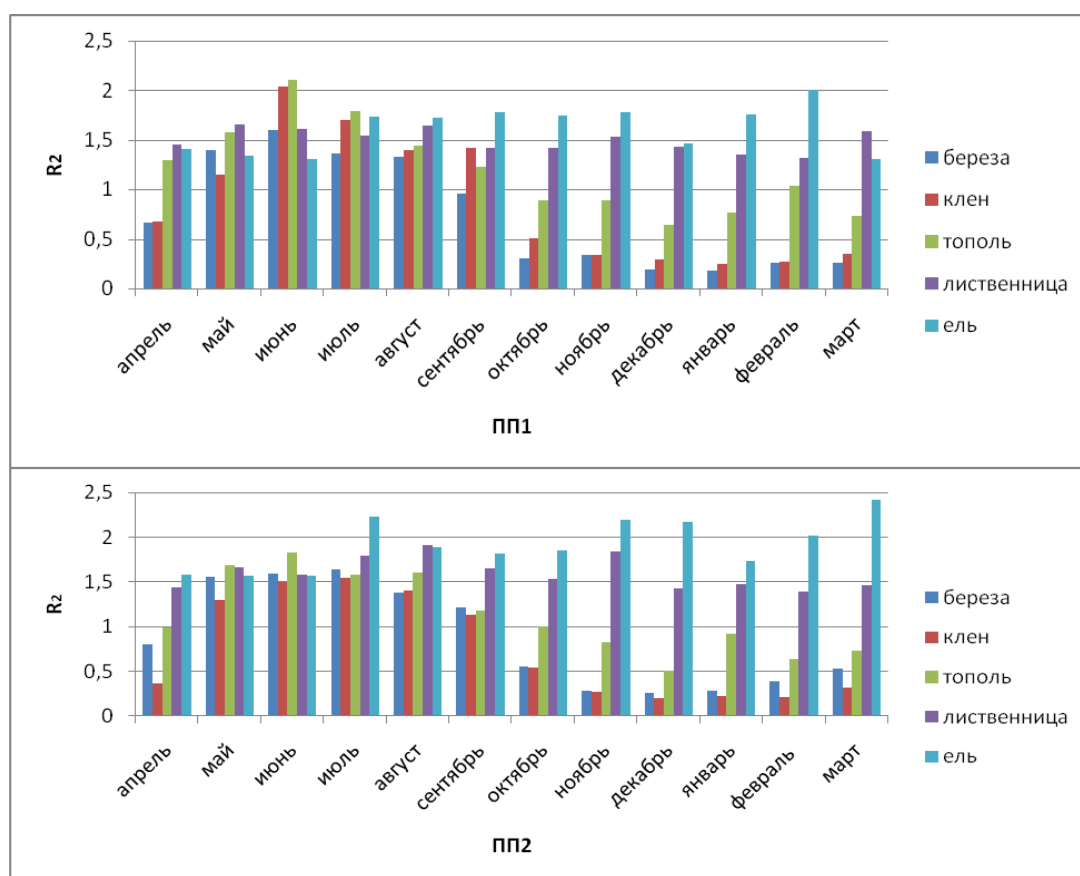


Рис. 1. Динамика изменения величины соотношения низко- и высокотемпературных максимумов (R_2) для феллодермы древесных растений из районов г. Красноярска с различным уровнем загрязнения в период с апреля по март 2010–2011 гг.: а) ПП1 («условно чистый район») б) ПП2 («с повышенной интенсивностью движения автотранспорта»)

Полученные данные свидетельствуют, что у деревьев, произрастающих в загрязненных районах, нарушена сезонная динамика. Наиболее выраженные различия наблюдаются в периоды перехода растений в состояние зимнего покоя и выхода из него. При этом глубина покоя у них меньше на протяжении всего зимнего периода.

Для сравнения чувствительности разных видов растений к атмосферному загрязнению, авторами предложен параметр А (рис. 2):

$A=R_0/R_k$, где R_0 – среднее значение отношения низкотемпературного к высокотемпературному максимуму в исследуемых районах (R_2); R_k – среднее значение отношения низкотемпературного к высокотемпературному максимуму (R_2) в контрольном районе.

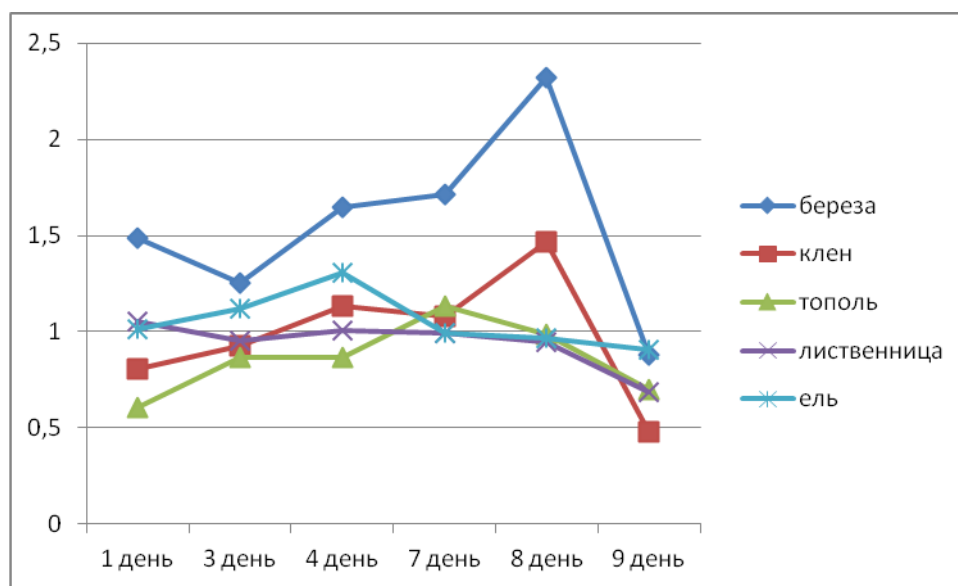


Рис. 2. Динамика изменения величины параметра А для феллодермы древесных растений из районов г. Красноярска с различным уровнем загрязнения при выведении из покоя в лабораторных условиях (февраль 2011 г.)

В ходе проведенных исследований было показана видовая специфика чувствительности растений к техногенному воздействию. В целом, для изученных видов более высокая чувствительность наблюдается у хвойных, при этом у ели более высокие значения параметра А, чем у лиственницы. Возможно, это объясняется более высокой нагрузкой на растения в связи с большим количеством загрязнений, аккумулированных хвоей, что совпадает с данными проведенного физико-химического анализа смывов. Среди покрытосеменных более высокая чувствительность отмечена для березы.

В заключение можно отметить, что техногенное загрязнение природной среды изменяет многие эволюционно сложившиеся комплексы приспособительных реакций живых организмов к условиям существования. Нарушение динамики состояния покоя у растений может приводить к усыханию деревьев из районов с высоким уровнем загрязнения воздуха и особенно сильное поражение чувствительных видов в зимний период.

Литература

1. Войников В. К. и др. Стрессовые белки растений. Иркутск: Издательство института географии СО РАН, 2004. 141 с.
2. Усманов И. Ю. Рахманкулова З.Ф., Кулагин А. Ю. Экологическая физиология растений. М.: Логос, 2001. 224 с.
3. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: СПбГУ, 2002. 244 с.
4. Гаевский Н. А., Сорокина Г. А., Гехман А. В., Фомин С. А., Гольд В. А.С. 1358843 Российская федерация. Способ определения степени глубины покоя древесных растений. М., 15.08.87.

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕГИДРИНОВ *BETULA PLATYPHYLLA* ПРИ ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ В УСЛОВИЯХ КРИОЛИТОЗОНЫ

Т. Д. Татарина¹, Т. И. Ксенофонтова²

¹ Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН,
² Северо-Восточный Федеральный университет им. М. К. Аммосова

В пределах криолитозоны для Центральной Якутии свойственны короткое жаркое лето, продолжительная зима с очень низкими температурами (средняя температура января -43°C) и малое годовое количество осадков, приводящие к дефициту влаги в воздухе и почве.

Степень морозоустойчивости многолетних растений определяется процессами сезонной холодовой акклимации и деакклимации, зависящими от ритмов фотопериода и температуры мест обитания. Различные органы и ткани растений обладают разной степенью устойчивости к действию холодового стресса. Например, корковые клетки паренхимы адаптируются к субзамораживающим температурам путем внеклеточного замораживания, а паренхимные клетки ксилемы – в результате глубокого переохлаждения (Takata et al., 2007).

Морозоустойчивость растений основывается на способности клеток противостоять дегидратации во время покоя. Одной из групп защитных белков, связанных с этими процессами, являются стрессовые белки-дегидрины, индуцируемые обезвоживанием. Дегидрины задействованы в стабилизации макромолекул и клеточных мембран (Аллагулова, Шакирова, 2003).

Целью работы явилось изучение состава и сезонных изменений дегидринов центрально- якутской популяции березы плосколистной *Betula platyphylla* Sukacz при формировании устойчивости в условиях криолитозоны.

Объектом исследования служили однолетние побеги и ткани (кора, ксилема) березы плосколистной, одной из лесообразующих лиственных пород Сибири. Сбор материала проводили ежемесячно на территории Ботанического сада, г. Якутск. Для выделения белков березы применяли метод Сарнигхаузена и др. (Sarnighausen et al., 2002). Электрофорез в 12,5% ПААГ проводили по Лэммли (Laemmli, 1970). Белки из ПААГ переносили на ПВДФ-мембрану («Bio-Rad», США). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента («Agriser», Швеция). Дегидрины визуализировали при помощи кроличьих антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Sigma», США).

В зависимости от сезонного поведения в спектре суммарных белков побегов *Betula platyphylla* выявлено более 65 полос (рис. 1). К мажорным белкам, вероятно, ассоциированных с перезимовкой, накопление которых наблюдается при подготовке растений к покою (август, сентябрь) относятся полипептиды с молекулярными массами 14, 17, 26, 27, 39, 42, 49, 51 кДа. Их уровень остается стабильно высоким во время покоя растений в течение длительной зимы. В период возобновления роста побегов весной содержание этих полипептидов резко снижается. Одновременно при сравнении спектров белков между отдельными экземплярами берез установлено наличие переменных участков, расположенных в двух областях: 23–27 и 16–18 кДа (рис. 1). Выявленные полиморфные участки могут служить в качестве индивидуальных маркеров изученных берез.

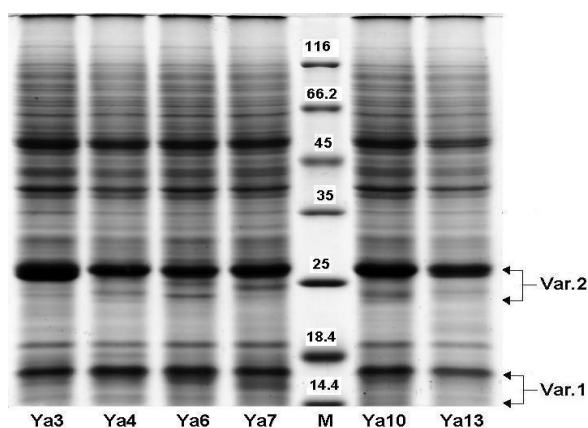


Рис. 1. Электрофорез суммарных белков побегов растений *B. platyphylla*. М – молекулярные массы полипептидов, внизу – код индивидуальных растений, справа – Var. 1, 2 – переменные участки

Впервые в однолетних побегах *Betula platyphylla* Центральной Якутии выявлены две группы мажорных низкомолекулярных (17, 18 и 21 кДа) и средномолекулярных (66 и 69 кДа) дегидринов, стабильно высокое содержание которых в период покоя совпадает с наибольшей морозоустойчивостью деревьев. Сходным образом, в спектрах коры и ксилемы березы плосколистной уровень дегидринов является самым высоким в период покоя, когда морозоустойчивость достигает максимума (рис. 2, 3). У всех изученных берез проявляются общие черты в сезонных изменениях дегидринов. Низкомолекулярные дегидрины имеют более выраженную сезонную динамику, чем средномолекулярные. В ходе сезонных изменений наблюдается исчезновение низкомолекулярных дегидринов в период роста и развития растений (июнь, июль) и постепенное их нарастание в августе. В начале августа в тканях коры, в отличие от ксилемы, практически не выявляются дегидрины 17, 18, 21 кДа. Дегидрины 66 и 69 кДа в побегах, в тканях коры и ксилемы выявляются круглогодично со стабильно высоким содержанием во время покоя и с некоторым уменьшением содержания летом. В целом в предзимний период и во время покоя количество всех дегидринов в ксилеме *B. platyphylla* несколько превышает их содержание в коре, что, вероятно, связано с разными стратегиями формирования морозоустойчивости в этих тканях.

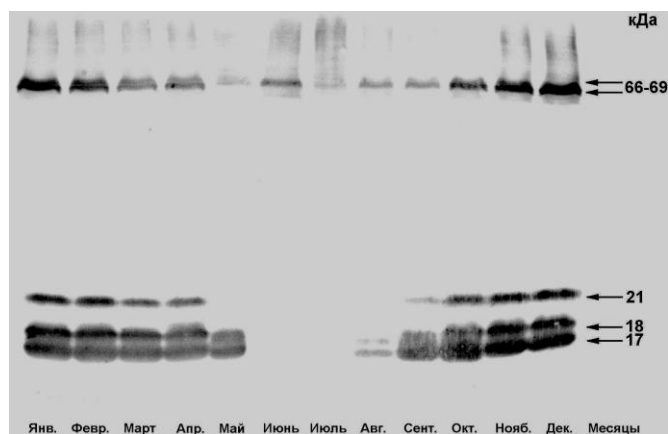


Рис. 2. Результаты иммуноблоттинга белков ксилемы побегов *B. platyphylla* с антителами на дегидрины. Справа – молекулярные массы дегидринов

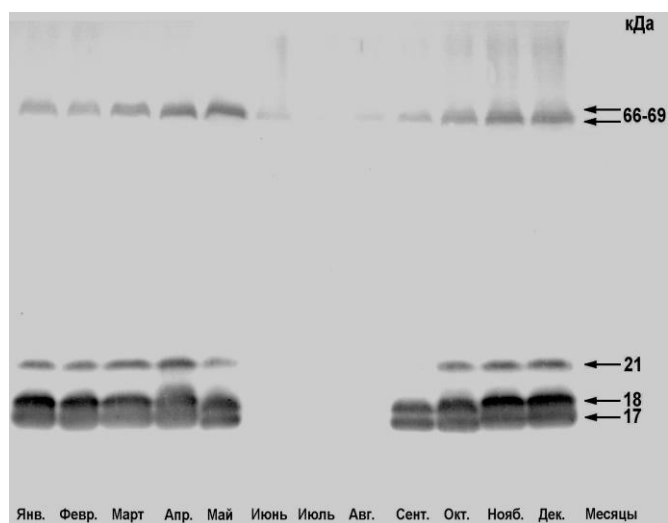


Рис. 3. Результаты иммуноблоттинга белков коры побегов *B. platyphylla* с антителами на дегидрины. Справа – молекулярные массы дегидринов

Таким образом, выявленные особенности адаптивных изменений дегидринов центрально-якутской популяции *B. platyphylla* указывают на их важную роль в формировании устойчивости к экстремальным условиям криолитозоны.

Литература

- Аллагулова Ч. Р., Шакирова Ф. М. Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции // Биохимия. 2003. Т. 68. С. 1157–1166.
- Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4 // Nature. 1970. V. 227. P. 680–685.
- Sarnighausen E., Karlson D., Ashworth E. Seasonal regulation of a 24-kDa protein from red-osier dogwood (*Cornus sericea*) xylem // Tree Physiol. 2002. V. 22. P. 423–430.
- Takata N., Kasuga J., Takezawa D., Arakawa K., Fujikawa S. Gene expression associated with increased supercooling capability in xylem parenchyma cells of Larch // J.Exp. Bot. 2007. V. 58. P. 3731–3742.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЛИШАЙНИКОВ: ПРИЧИНЫ, МЕХАНИЗМЫ, АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЦЕЛЯХ ИНДИКАЦИИ СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

С. Н. Плюснин

Сыктывкарский государственный университет, sergeplusnin@gmail.com

Лишайники известны своей особой чувствительностью к загрязнению атмосферного воздуха. Эти организмы поглощают аэрозоли и газы из атмосферы всей поверхностью талломов, что является одной из причин их чувствительности, а периодически происходящее обезвоживание талломов, позволяющее переживать лишайникам периоды засухи, приводит к росту концентрации загрязняющих веществ в талломах до высоких уровней. Под воздействием токсичных веществ (диоксид серы, оксиды азота, тяжелые металлы, озон, органические оксиданты) происходят изменения биохимического состава, физиологических процессов, анатомических и морфологических признаков. Одной из важнейших причин исчезновения многих видов лишайников из структуры эпифитных синузид является окислительный стресс, который связан с появлением в загрязненном воздухе высокоактивных веществ вследствие фотохимических реакций с участием поллютантов.

Пероксиацетилнитрат – продукт фотохимической реакции между оксидами азота и углеводородами, является очень сильным фитотоксичным веществом и представляет собой угрозу в зонах, загрязненных отходящими газами от сжигания жидкого топлива. Другим сильным окислителем выступает озон. Большая часть тропосферного озона образуется, когда оксиды азота, окись углерода и летучие органические соединения вступают в химические реакции в присутствии солнечного света. Транспорт, промышленные выбросы, а также некоторые химические растворители являются основными источниками этих веществ в атмосфере. Метан, атмосферная концентрация которого значительно возросла в течение последнего столетия, также способствует образованию озона.

Под воздействием токсических агентов происходят биохимические изменения в талломах лишайников. Характерной биохимической реакцией лишайников, происходящей под воздействием поллютантов, является деградация хлорофилла и повышение концентрации феофитина. Интенсивность синтеза хлорофилла в водорослевых клетках снижается. Индикатором крайней степени повреждения таллома поллютантами служит появление желтых и коричневых некротических пятен в местах локализации фотобионта. Другими биохимическими реакциями лишайников в ответ на воздействие загрязнителей являются снижение концентрации АТФ в талломе, увеличение рН и электропроводимости внутренней среды таллома, высвобождение из клеток K^+ и Mg^{2+} , которые вызываются повреждением мембран клеток. Окислительный стресс вызывает у лишайников угнетение синтеза лишайниковых кислот, белков и липидов, изменение активности многих ферментов. Так, рибулозофосфат-карбоксилаза, фосфоенолпируват-карбоксилаза, нитратредуктаза, фосфатаза, ферменты фотофосфорилирования, а также

каталаза снижают свою активность, тогда как пероксидаза и супероксиддисмутаза увеличивают ее. Активация пероксидазы и супероксиддисмутазы представляют собой характерную адаптивную реакцию в ответ на окислительный стресс.

Толерантность лишайников к загрязнению атмосферы определяется в значительной мере активностью супероксиддисмутазы. Супероксиддисмутаза (SOD) представлена семейством ферментов, осуществляющих детоксикацию свободных радикалов кислорода, которые могут образовываться в результате работы электронтранспортной цепи в митохондриях, некоторых флавиносодержащих оксидо-редуктаз, локализованных в цитозоле, а также в процессах автоокисления некоторых белков и низкомолекулярных метаболитов, таких, как гидрохиноны. Организмы различной степени сложности, утилизирующие кислород в процессе обмена, содержат ферменты, обладающие SOD-активностью. Ферменты различаются по первичной структуре и по природе металлов, входящих в активный центр. В цитозоле клеток микобионта присутствует Cu/Zn-SOD, в митохондриях – Mn-SOD, а в клетках фотобионта – Fe-SOD и Mn-SOD. Антиоксидантные ферменты являются важнейшим компонентом защитных механизмов клетки, поскольку в условиях экологического стресса увеличивается образование высокоактивных форм кислорода. Состав фракций этого фермента реагирует на изменение условий среды, а его варибельность играет важную роль в адаптации лишайников к изменившимся условиям.

Несмотря на наличие антиоксидантной системы в условиях химического загрязнения окружающей среды изменения в талломах лишайников носят глубокий характер. Ингибирование активности ферментов и деградация важнейших для метаболизма молекул под воздействием поллютантов приводит к угнетению основных физиологических процессов у лишайников: фотосинтеза, дыхания и азотфиксации. Наиболее чувствительны к воздействию токсичных агентов процессы азотфиксации и фотосинтеза. Дыхание же при низких концентрациях поллютантов усиливается, но при дальнейшем повышении концентрации агента угнетается. Под воздействием поллютантов уменьшается скорость роста таллома и снижается образование апотециев. Загрязнение среды приводит к уменьшению содержания в талломе клеток фотобионта, особенно в молодых частях таллома. Число мертвых клеток фотобионта увеличивается, происходит снижение частоты деления клеток водорослей, уменьшение их размеров и числа контактов с грибным партнером.

СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОПРЕПАРАТА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ ПОД ПОСЕВАМИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Л. Р. Абдрахманова, А. С. Гризориади, Н. А. Киреева
Башкирский государственный университет, nysha111@yandex.ru

Применение микробных препаратов в настоящее время является приоритетным направлением экологизации сельского хозяйства. Обработка растений биопрепаратами на основе штаммов симбиотических микроорганизмов, обладающих ростстимулирующими свойствами, антистрессовой и иммуномодулирующей активностью, приводит к повышению урожайности сельскохозяйственных культур, а также к увеличению их устойчивости к действию стрессов, обусловленных постоянным действием техногенных факторов (Гельцер, 1990; Тихонович, Круглов, 2005; Мелентьев, 2007). Некоторыми авторами показана способность эктомикоризные и бактериальные ассоциации ускорять деградацию в почве некоторых ксенобиотиков (Meharg, Cairney, 2000).

Целью данной работы явилось изучение стресс-протекторного и детоксицирующего эффекта биопрепарата «Метаболит» для растений сахарной свеклы и яровой пшеницы в условиях возможного нефтяного загрязнения.

В качестве объектов исследования использовали семена и растения сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L., var. *saccharifera.*, сорт Милан) и яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Жница), произрастающие на выщелоченном черноземе (гумус – 8,7%; рН_{Н2О} – 6,1; N_{общ} – 2510 мг/кг). Семена перед посевом обрабатывали 0,001% раствором биопрепарата «Метаболит», который представляет собой природный экстракт биологически активных веществ, микромицета-ассоцианта, *Scopulariopsis acremonium* (Delacr.) Vuill., выделенного из корней трехлетней культуры облепихи (*Hippophae rhamnoides*). В контрольных вариантах опыта семена замачивали в дистиллированной воде. Через 60 суток после всходов растений сахарной свеклы и 45 суток яровой пшеницы часть опытных делянок (модельные опыты) искусственно загрязняли нефтью в концентрации 6,1/100г и затем проводили дополнительное опрыскивание биопрепаратом. В качестве показателей антистрессового и протекторного действия биопрепарата использовали содержание фотосинтезирующих пигментов и аскорбиновой кислоты.

В почве, загрязненной нефтью, урожайность сельскохозяйственных растений была ниже, в сравнении с фоновым вариантом опыта. При этом отмечалось снижение содержания сахара в корнеплодах. Обработка «Метаболитом» растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве, способствовала росту листьев, увеличению количества проводящих пучков и, в конечном счете, восстановлению сахаристости и урожайности растений. В этом проявилось стресспротекторное действие биопрепарата, полученного на основе экзометаболитов ассоциативного микромицета. Однако снижение урожайности яровой пшеницы при загрязнении чернозема нефтью было настолько велико,

что его полного восстановления под действием биопрепарата «Метаболит» не происходило.

Известно, что фотосинтетический аппарат высших растений обладает широким диапазоном приспособительных реакций к тем условиям среды, в которых они формируются (Васильева и др., 2003). Внесение нефти в чернозем вызывало угнетение процессов фотосинтеза в листьях свеклы, в первую очередь хлорофилла а. Не исключено, что основной причиной снижения содержания хлорофилла в листьях являлось токсическое действие серы и ухудшение воздушного режима почвы.

Критерием эффективности детоксицирующей активности биопрепарата служило повышение содержания хлорофилла в листьях растений, поскольку их рост и биологическая продуктивность – результат фотосинтетической деятельности листьев.

Обработка семян и растений сахарной свеклы биопрепаратом вызывало активизацию процесса фотосинтеза в листьях в условиях нефтяного загрязнения. Однако в экстрактах растений яровой пшеницы, выращенных на загрязненном черноземе, значимых положительных изменений в оптических характеристиках пигментов при использовании биопрепарата не отмечалось.

При загрязнении почвы нефтью отмечен достоверный рост содержания аскорбиновой кислоты, что свидетельствует об участии аскорбиновой кислоты в механизмах адаптации растений к условиям техногенеза.

При обработке семян растений пшеницы биопрепаратом Метаболит содержание аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы, выращенной на фоновых почвах, увеличилось независимо от фазы развития растений (рис). Увеличение концентрации аскорбиновой кислоты в листьях растений (а у сахарной свеклы – и в корнеплодах), что свидетельствует об интенсификации окислительно-восстановительных процессов и нейтрализации растениями поллютантов. При обработке биопрепаратом эта тенденция поддержки растения свеклы и пшеницы в неблагоприятных экологических условиях сохранилась.

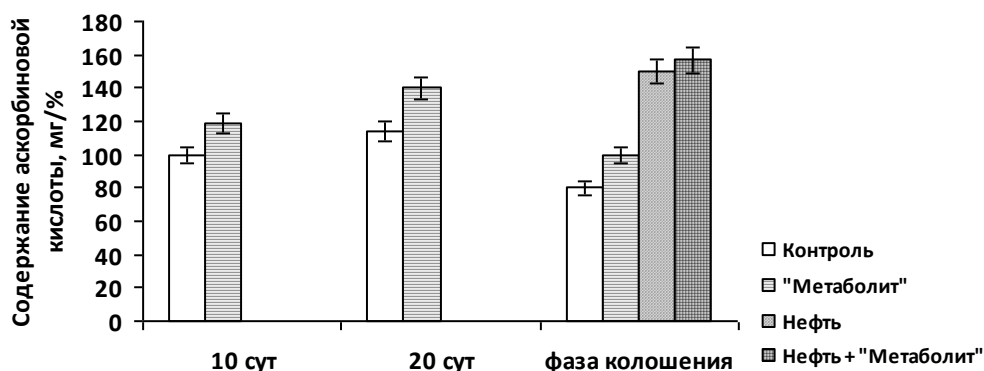


Рис. Содержание аскорбиновой кислоты в листьях растений яровой пшеницы

Дополнительно в листьях растений пшеницы в фазе колошения определяли содержание окисленной формы рибофлавина, которое было меньше и при загрязнении почвы нефтью значения этого показателя увеличивались в 1,5–2 раза. При обработке семян и растений пшеницы биопрепаратом

«Метаболит» рост и развитие растений пшеницы происходили более интенсивно, чем в нефтезагрязненных почвах. В листьях растений пшеницы, выращенной на незагрязненных почвах, обработанных биопрепаратом, содержание обеих форм рибофлавина превышало таковой показатель у растений, выращенных на незагрязненном черноземе, без обработки семян и растений.

Под растениями пшеницы и свеклы происходило ускорение снижения содержания остаточных углеводов в черноземе. Детоксицирующий эффект проявился в том, что при обработке семян и растений биопрепаратом «Метаболит» этот процесс ускорялся почти в 2 раза. Также применение биопрепарата способствовало снижению фитотоксичности загрязненного чернозема за счет уменьшения видового разнообразия микромицетов-фитопатогенов в ризосфере, что, в конечном счете, повышает устойчивость растений к условиям нефтяного стресса.

Таким образом, нами показано, что биопрепарат «Метаболит» обладает антистрессовым эффектом для сахарной свеклы и яровой пшеницы. Обработка семян активизирует защитные механизмы, увеличивая содержание фотосинтезирующих пигментов и аскорбиновой кислоты. Протекторное действие биопрепарата в условиях нефтяного загрязнения способствует увеличению продуктивности сахарной свеклы на 10–11,5%, а яровой пшеницы – на 16,5–17%.

Литература

Васильева И. С., Ванюшкин С. А., Зиновьева С. В., Удалова Ж. В. Фотосинтетические пигменты растений томатов в условиях биотического стресса и действие на них фураностаноловых гликозидов // Прикл. биох. и микроб. 2003. Т. 39. № 6. С. 686–698.

Гельцер Ф. Ю. Симбиоз с микроорганизмами – основа жизни растений. М.: МСХА, 1990. 134 с.

Мелентьев А. И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn* в агроэкосистемах. М.: Наука, 2007. 150 с.

Тихонович И. А., Круголов Ю. В. Биопрепараты в сельском хозяйстве // Методология и практика использования микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве. М.: РАСХН, 2005. 154 с.

Meharg A. A., Cairney J. W. G. Ectomycorrhizas – extending the capabilities of rhizosphere remediation // Soil Biology and Biochemistry. 2000. V. 32. P. 1472–1484.

УЧАСТИЕ ДЕГИДРИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ КРИОЛИТОЗОНЫ

*Т. Д. Татарина*¹, *С. Ф. Иванова*²

¹ *Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН,*

² *Северо-Восточный Федеральный университет имени М. К. Аммосова*

Жизнедеятельность растений в условиях криолитозоны лимитируется очень низкими температурами зимнего периода (до –50 °С и ниже).

При формировании морозоустойчивости растений во время осеннего закаливания происходит синтез различных белков, проявляющих защитные

свойства. Одним из компонентов морозоустойчивости растений является способность клеток противостоять дегидратации во время покоя. К белкам, связанным с этими процессами, относятся дегидрины. Они составляют группу II белков позднего эмбриогенеза. Предполагаемые функции дегидринов – стабилизация мембран и защита белков от вызванной потерей влаги денатурации [1].

Целью работы явилось изучение сезонных изменений суммарных белков и дегидринов березы плосколистной (*Betula pendula*, var. *platyphylla* Sukacz) и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при формировании морозоустойчивого состояния в условиях экстремального климата Якутии. Объектами исследования явились однолетние побеги березы плосколистной (*Betula pendula*, var. *platyphylla* Sukacz), хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), собранные в Ботаническом саду, г. Якутск. Суммарные белки выделяли по методике [2]. Электрофорез проводили в 12,5% ПААГ с ДДС – Na с использованием маркеров молекулярной массы («Fermentas», Литва) и последующим окрашиванием белков кумасси R-250 [3]. Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного K-сегмента («Agrisera», Швеция). Дегидрины визуализировали при помощи кроличьих антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Sigma», Швеция).

При проведении электрофореза в 12,5% ПААГ суммарных белков побегов центрально-якутской популяции березы было выявлено около 65 полос (рис. 1, А). В летний период установлено (июнь, июль) значительное преобладание средне- и высокомолекулярных полипептидов с мол. м. 31, 36, 51, 68, 73, 82 кДа, которые, вероятно, связаны с ростом и развитием растений во время вегетации. В отличие от этого, наибольшим сезонным изменениям подвержены низко- и среднемолекулярные полипептиды. Они появляются в конце лета, достигают максимума в ходе осенней адаптации растений (к концу сентября) и остаются на относительно постоянном уровне в течение зимних месяцев (сентябрь по апрель) с устойчивой отрицательной температурой. К этой группе белков относятся мажорные белки с молекулярными массами 17, 27, 38, 50 кДа и также минорные – 13, 42, 64 кДа. В целом при сравнении спектров «зимних» и «летних» белков по количественному составу, большая часть этих изменений (75%) связана с уменьшением пула белков в области 25,0–27,0 кДа. Также происходит уменьшение количества ряда других белков, но в меньшей степени. В целом большая часть белков, наблюдаемая во все сезоны, характеризуется слабой изменчивостью своего состояния.

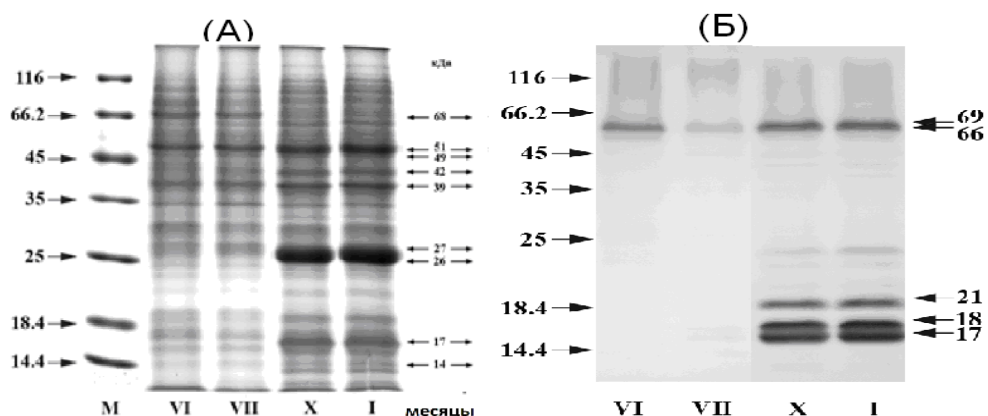


Рис. 1. Спектр суммарных белков (А) и дегидринов побегов (Б) *B. pendula*, var. *platyphylla* (июнь 2009 г. – январь 2010 г.)

Слева указаны молекулярные массы М-маркеров

Справа – молекулярные массы: рис. А – полипептидов, рис. Б – дегидринов.

При иммунодетекции с использованием поликлональных антител среди суммарных белков побегов *B. platyphylla* выявлены белки, иммунохимически родственные стрессовым белкам дегидринам. Мажорные дегидрины группируются в низко- и среднемoleкулярных областях – (17–21 кДа и 66–69 кДа) (рис. 1, Б). Изменения в динамике дегидринов имеют сезонный характер. Так, дегидрины с мол. м. 66 и 69 кДа наблюдались круглогодично. Их количество заметно падало в летний период. Наибольшим сезонным изменениям подвержены низкомолекулярные дегидрины (17–21 кДа). Эти белки исчезали в июне и вновь появлялись в конце августа – начале октября и обнаруживались на стабильно высоком уровне во время покоя деревьев в зимний период.

Результаты электрофоретического разделения суммарных белков и иммунодетекции дегидринов хвои сосны *P. sylvestris* приведен на рис. 2. Электрофоретический анализ показывает, что к наиболее заметным белкам хвои сосны, обнаруживаемым во все сезоны, следует отнести полипептиды с мол. м. 14, 26, 27, 49, 51 кДа (рис. 2, А).

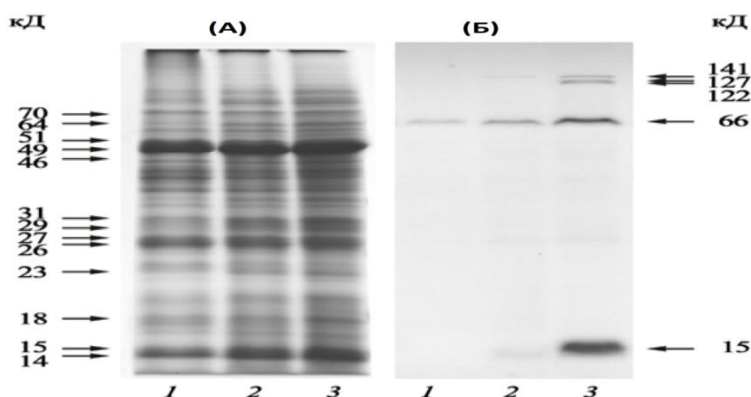


Рис. 2. Спектр суммарных белков (А) и дегидринов (Б) хвои *P. sylvestris*

Дата отбора проб (минимальная температура воздуха, °С) в 2010 г.: 1 – 15.07 (13 °С), 2 – 21.09 (–1 °С), 3 – 04.11 (–16 °С). Слева указаны молекулярные массы некоторых полипептидов хвои. Справа – молекулярные массы дегидринов.

Ряд мажорных белков с мол. м. 15, 18, 23, 29, 31, 46, 64, 70 кДа имел выраженную годовую динамику с повышением количества во время покоя. Летом, в июле в хвое сосны обнаруживался один мажорный дегидрин 66 кДа, его содержание возрастало к зиме (рис. 2, Б). Осенью, в сентябре идентифицировались еще два дегидрина с мол. м. 15 и 141 кДа. При отрицательных температурах в зимние месяцы (на рис. 2 приведен ноябрь месяц) количество дегидрина с мол. м. 15 кДа заметно увеличивалось, и одновременно появлялись также два дегидрина с мол. м. 122 и 127 кДа. Характер сезонных изменений дегидринов побегов березы *B. pendula*, var. *platyphylla* и хвои сосны *P. sylvestris* L. может свидетельствовать о том, что дегидрины, вероятно, выполняют сходные функции, участвуя в общих механизмах защиты клеток древесных растений от обезвоживания при экстремально низких температурах Якутии.

Таким образом, в побегах березы *B. pendula*, var. *platyphylla* и хвои сосны *P. sylvestris* выявлены сезонные изменения дегидринов, выраженная динамика которых коррелирует с наибольшей морозоустойчивостью в зимний период. Особенности сезонных изменений дегидринов предполагают их непосредственное участие в формировании устойчивости древесных растений к условиям криолитозоны.

Литература

1. Колесниченко А. В., Войников В. К. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск, 2003. 196 с.
2. Korotaeva N. E., Oskorbina M. V., Kopytova L. D., Suvorova G. G., Borovskii G. B., Voinikov V. K. Variations in the Content of Stress Proteins in the Needles of Common Pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual Cycles. *J. For. Res.* 2011. DOI: 0.1007/s10310-011-0260-y.
3. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. 4. *Nature.* 1970. Vol. 227. P. 680–685.

ВЛИЯНИЕ МАТОЧНОГО РАСТВОРА ФТОРОПЛАСТА СКФ-26 НА БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И НАКОПЛЕНИЕ ФТОРА В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ

*Т. С. Елькина*¹, *А. А. Михалицин*², *Л. И. Домрачева*^{1,3}, *С. В. Хитрин*²,
*С. Л. Фукс*², *С. В. Деятерикова*²

¹ *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
nm-flora@rambler.ru*

² *Вятский государственный университет,*

³ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН*

В жизнь современного человека широко вошли изделия, произведённые из фторопластов. Они используются в машиностроении (подшипники, поршневые кольца), в электронике и радиотехнике, для хранения и транспортирования химически активных веществ. Так, например, фторопласт СКФ-26 используют для изготовления резинотехнических, кабельных и других изделий, работающих в среде воздуха, окислителей и других агрессивных сред, масел, бензина и растворителей (ГОСТ 18376). Одним из отходов производства фторопласта СКФ-26 являются маточные растворы, попадающие в окружающую среду вместе со сточными водами. В них содержится от 0,02 до

0,05% целевого продукта. До настоящего времени для данного соединения ПДК не установлена, так как его считают практически безопасными. Однако абсолютно инертных соединений для биоты, вероятно, не существует.

Поэтому, цель данной работы заключалась в изучении влияния маточного раствора СКФ-26 и его убывающих концентраций на биометрические показатели и накопление фтора в проростках ячменя.

Опыт проводили в лабораторных условиях. Для этого были использованы семена ярового ячменя сорта Эльф, имеющие лабораторную всхожесть 100%. Семена ячменя проращивали в стерильном песке. Готовили навески песка по 50 г, которые помещали в стерильные чашки Петри и увлажняли до 60% от п.в. испытуемыми концентрациями СКФ-26 – маточный раствор и его разведения 1:1, 1:50 и 1:100. В контрольном варианте использовали артезианскую воду. После увлажнения песок перемешивали стерильным шпателем, выравнивали и раскладывали по 50 откалиброванных семян ячменя концентрическими окружностями. У ячменя определяли следующие показатели: энергию прорастания (на 3-и сутки), всхожесть (на 7-е сутки), длину корней и надземной части, их сырую и сухую биомассу, содержание сухого вещества, гигроскопическую влажность.

Определение энергии прорастания и всхожести семян ячменя показало, что сохраняется 100% всхожесть семян во всех вариантах, кроме варианта с обработкой маточным раствором, в котором эти показатели снижены примерно на 10% (рис. 1).

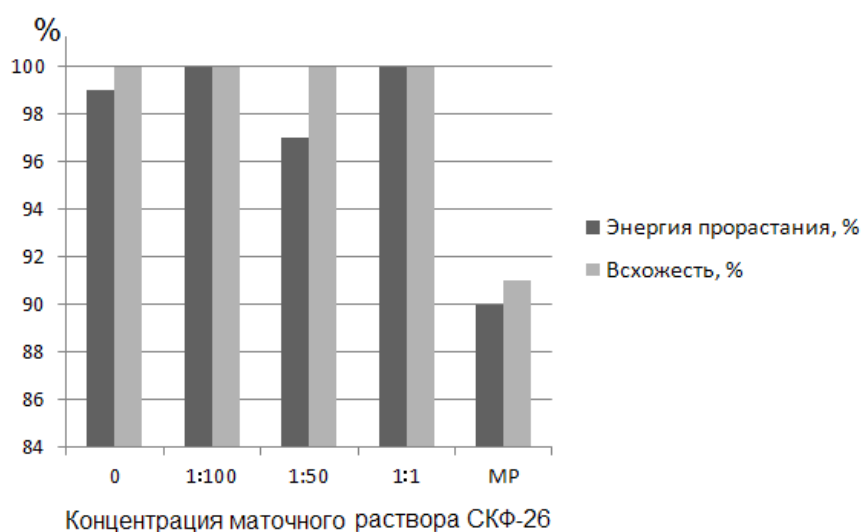


Рис. 1. Влияние возрастающих концентраций раствора СКФ-26 на энергию прорастания и всхожесть семян ячменя сорта Эльф, %.

MP – маточный раствор

Стимулирующее действие растворов СКФ-26 отмечено и на линейный рост листьев ячменя во всех вариантах, кроме обработки маточным раствором. Однако, в отличие от надземной части, корневая система растений была более чувствительна к действию СКФ-26. При увеличении концентрации СКФ-26 происходит угнетение роста корневой системы (рис. 2).

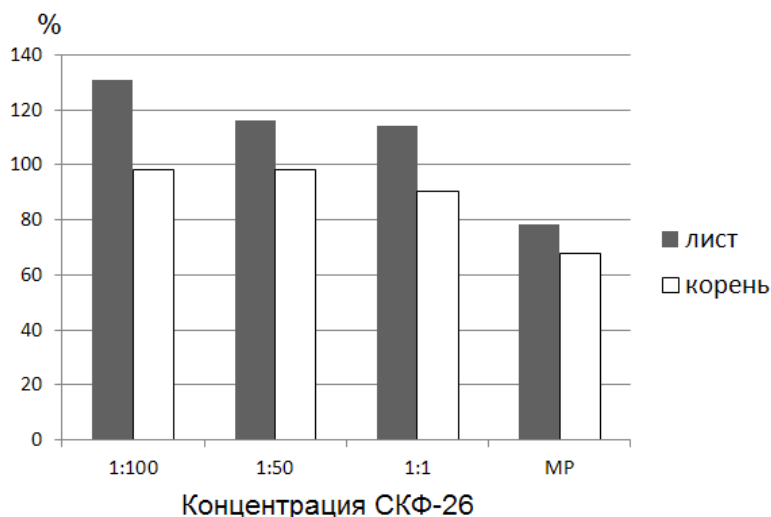


Рис. 2. Действие возрастающих концентраций раствора СКФ-26 на линейный рост листьев и корней ячменя сорта Эльф (в % к контролю).
MP – маточный раствор

В ходе эксперимента также выявлено, что все концентрации СКФ-26, кроме маточного раствора, вызывают усиленное накопление биомассы проростков, в частности в 2 раза при концентрации 1:100 (табл. 1). Маточный раствор, наоборот, снижает накопление биомассы почти в 3 раза.

Таблица 1

Накопление биомассы проростками ячменя при действии различных концентраций СКФ-26

Вариант	Биомасса сырая, г		Биомасса сухая, г	
	листья	корни	листья	корни
0	1,80	1,12	0,67	0,95
1:100	3,75	2,10	0,87	1,63
1:50	3,10	1,68	0,69	1,30
1:1	3,19	1,07	0,69	0,82
MP	0,63	0,38	0,16	0,32

Применение испытуемого соединения при проращивании зерновок ячменя сказалось положительно на накоплении сухого вещества и, соответственно, на снижении процента гигроскопической влаги в проростках (табл. 2).

**Содержание сухого вещества и процент гигроскопической влаги
в проростках ячменя**

Вариант (концентрация СКФ-26)	Содержание сухого вещества, %		Процент гигроскопической влаги, %	
	листья	корни	листья	корни
0	62,8	15,2	37,2	84,8
Разведение -1:100	76,8	22,4	23,2	77,6
Разведение-1:50	77,7	22,6	22,3	77,4
Разведение -1:1	78,4	23,4	21,6	76,6
Маточный раствор	74,6	15,8	25,4	84,2

Проведённый химический анализ показал, что проростки ячменя способны поглощать данное соединение, и при этом с увеличением концентрации СКФ-26 в надземной части, корнях и в проростках в целом повышается содержание фтора (рис. 3, рис. 4, табл. 3).

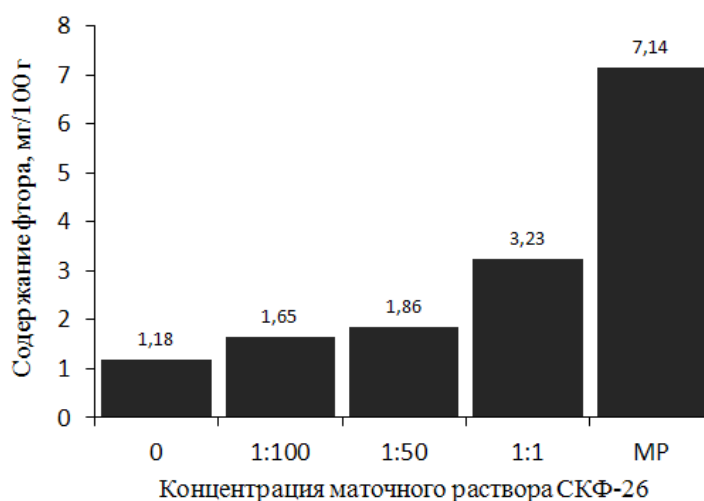


Рис. 3. Содержание фтора в надземной части проростков, мг/100 г

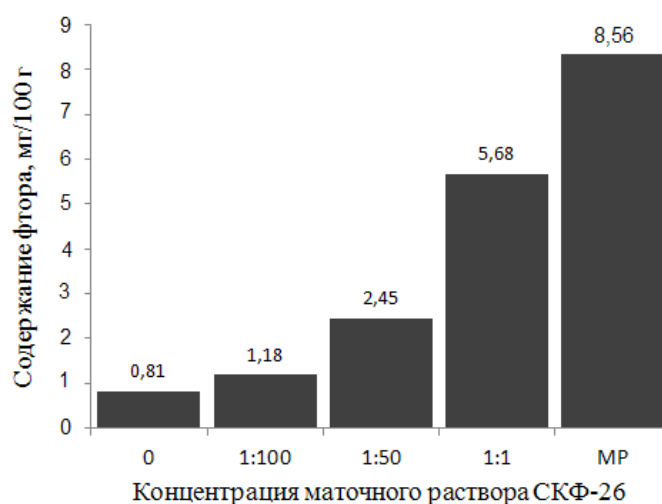


Рис. 4. Содержание фтора в корнях проростков, мг/100 г

Таблица 3

Содержание фтора в сухой массе проростков ячменя

Вариант	Сухая масса проростков, г	Содержание фтора, мг/ 100г
0	1,62	1,99
1:100	2,50	2,83
1:50	1,99	4,31
1:1	1,51	8,91
MP	0,48	15,5

Вычисление коэффициентов корреляции между накоплением в растениях фтора и накоплением сухой биомассы имеет ярко-выраженную отрицательную зависимость (табл. 4).

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между содержанием фтора и сухой биомассой растений ячменя

Часть растения	Коэффициент корреляции
Листья	-0,92
Корни	-0,83
Проростки	-0,87

Таким образом, нами установлено, что при выращивании ячменя в среде с внесением маточного раствора СКФ-26 и его разведений 1:1, 1:50 и 1:100, все пониженные концентрации данного соединения не вызывают снижения энергии прорастания и всхожести семян. Более того, подавление накопления биомассы надземной части проростков наблюдается только при действии маточного раствора, в то время как его пониженные концентрации оказывают стимулирующее действие на ранних этапах развития проростков. Наблюдается отрицательная корреляция между концентрацией растворов СКФ-26 и уровнем накопления фтора в проростках.

Литература

ГОСТ 18376-79 Фторкаучуки СКФ-26 и СКФ-32. Технические условия.

ИСТОЧНИКИ ПОСТУПЛЕНИЯ ФТОРА В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Ю. Н. Некрасова¹, Е. В. Дабах^{1,2}

¹ *Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ,*

² *Вятская государственная сельскохозяйственная академия*

Фтор относится к числу наиболее распространенных элементов в природе и в умеренных концентрациях является биологически важным элементом для организма человека, животных и растений (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). Физиологическая активность фтора очень высока. Наиболее богаты фтором зубы и кости. Основным источником поступления фтора в организм человека является питьевая вода, из которой фтор усваивается на 90–97% (Горбатковский, Рыбальский, 1995).

На распространение фтора в грунтовых водах влияют содержание и формы нахождения фтора в водовмещающих породах, минерализация и химический состав вод (Крайнов и др., 2004).

Оптимальное содержание фтора в организме поддерживать очень трудно, так как разница между полезной и вредной дозой его минимальна.

На территории Кировской области содержание фтора в питьевой воде различно. Даже на небольшой по площади территории варьирование концентрации фторид-иона в подземных водах значительное (Некрасова, Дабах, 2010). В целом, область можно отнести к региону с недостаточным содержанием фтора в питьевой воде – менее 1 мг/дм^3 , за исключением Даровского и Арбажского районов, где концентрации фтора превышают предельно допустимые (Государственный доклад ..., 2011). Для климатического района, к которому относится Кировская область, норматив содержания фторид-ионов в питьевой воде составляет $1,5 \text{ мг/дм}^3$.

Суточная норма фтора как микроэлемента составляет 2–3 мг. Кроме воды фтор содержится в продуктах питания, особенно богаты им грецкие орехи, морепродукты, черный и зеленый чай (Горбатковский, Рыбальский, 1995). Для жителей Кировской области из перечисленных продуктов наиболее употребляемым является чай.

Целью работы было определение количества фтора, поступающего в организм человека при употреблении разных сортов чая.

Для эксперимента были выбраны 11 сортов чая наиболее популярных марок (листового, пакетированного, черного, зеленого) разных производителей. Чай заваривали в соответствии с инструкциями на упаковках. Для заваривания чая использовали воду из двух питьевых источников с разными концентрациями фторид-ионов, но с близким содержанием ионов кальция (3 мг/дм^3), способных образовывать с фторидом нерастворимые соединения. Содержание фторид-ионов в пробах воды и растворах чая определялось потенциометрическим методом с использованием ионселективного электрода по общепринятой методике (ГОСТ 4386-89). Для увеличения точности определения применяли метод стандартной добавки (Шишкина, 2009).

Известно, что чай является концентратом фтора (Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989). Содержание фтора в чайных листьях зависит от условий произрастания чайного куста. Согласно литературным данным, в странах-импортерах чая содержание фтора в почвах и грунтовых водах повышенное, иногда применяются фторсодержащие пестициды (Wuyi Wang et al., 2002; Mishra et al., 2009).

Содержание фторид-ионов в воде, используемой для заваривания чая в первом эксперименте, составляло $0,10 \text{ мг/дм}^3$. Результаты определений приведены в табл. 1.

Таблица 1

**Содержание фторид-ионов в различных сортах чая
при концентрации F⁻ в воде 0,10 мг/дм³**

Сорт чая		Страна-изготовитель	Навеска, мг	Содержание F ⁻ в чае, мг/кг сухого в-ва	Содержание в растворе, мг/дм ³	Содержание мг F ⁻ в 150 мл раствора	
Черный	№1	Пакетированный	Смесь чаев	2,000	236,2	3,15	0,472
	№2	Пакетированный	Китайский	2,005	225,9	1,51	0,227
	№3	Пакетированный	Китайский	2,005	211,3	0,71	0,212
	№4	Пакетированный	Цейлонский	2,000	56,0	0,70	0,105
				2,005	59,2	0,74	0,111
	№5	Листовой	Цейлонский	3,31	31,7	0,42	0,063
№6	Листовой	Цейлонский	3,25	81,6	1,02	0,153	
Зеленый	№7	Пакетированный	Цейлонский	2,008	100,1	0,67	0,100
	№8	Листовой	Цейлонский	3,005	71,9	1,44	0,216
	№9	Пакетированный	Китайский	2,001	136,8	1,71	0,257
	№10	Листовой	Китайский	2,51	124,3	1,04	0,156
	№11	Пакетированный	Китайский	2,009	176,2	1,18	0,177

Некоторые сорта чая характеризуются повышенным содержанием фторид-ионов, превышающим ПДК. Значительно отличаются по содержанию фтора чаи различных стран-изготовителей: цейлонский чай содержит от 31,7 до 100,1 мг фтора на кг сухой массы, тогда как китайский – от 124,3 до 312 мг/кг.

Содержание фтора в 150 мл чайного напитка (стандартная чашка) в пакетированном чае выше, чем в листовом. Различия между черным и зеленым чаем незначительны и незначительны.

Во втором эксперименте для заваривания чая использовали воду с повышенным содержанием фтора (2,7 мг/дм³). Результаты анализа приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Содержание фторид-ионов в различных сортах чая
при концентрации фтора в воде 2,70 мг/дм³**

Сорт чая		Страна-изготовитель	Содержание в растворе, мг/дм ³	Содержание мг F ⁻ в 150 мл раствора	
Черный	№2	Пакетированный	Китайский	3,8	0,57
	№5	Листовой	Цейлонский	3,0	0,45
Зеленый	№7	Пакетированный	Цейлонский	3,1	0,465
	№10	Листовой	Китайский	3,5	0,525

Содержание фторид-ионов в растворах во всех случаях возрастает по сравнению с водой и значительно превышает допустимую норму.

Ежедневная норма жидкости для взрослого человека составляет 2–2,5 л. В среднем один стакан чая содержит 0,2 мг фтора. Необходимо иметь в виду, что

фтор может накапливаться в скелете до потенциально опасного уровня даже при относительно небольших, но ежедневных поступлениях.

Таким образом, употребление чая населением регионов с недостаточным содержанием фтора в питьевой воде компенсирует дефицит элемента в организме человека. Однако, поскольку диапазон между недостаточным и избыточным количеством фтора небольшой, следует учитывать качество воды, используемой для заваривания чая, и знать концентрации фтора в сырье. Концентрации фторид-ионов в различных сортах чая могут различаться в 8 раз. В целом китайский чай богаче фтором, чем цейлонский

Литература

Горбатковский В. В., Рыбальский Н. Г. Здоровье человека и окружающая среда. Информационно-справочный бюллетень // Экологический вестник России. 1995.

ГОСТ 4386-89. «Вода питьевая. Методы определения массовой концентрации фторидов (п. 3 Потенциометрическое определение фторидов)».

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Кировской области в 2010 году». Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Кировской области, 2011.

Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях: Пер. с англ. М.: Мир, 1989. 439 с., ил.

Крайнов С. Р. и др. Геохимия подземных вод. Теоретические, прикладные и экологические аспекты / С. Р. Крайнов, Б. Н. Рыженко, В. М. Швец; Отв. ред. академик Н. П. Лаверов. М.: Наука, 2004. 677 с.

Некрасова Ю. Н., Дабах Е. В. Содержание фторид-ионов в подземных водах в районе расположения объекта уничтожения химического оружия; Инновации в геоэкологии: теория, практика, образование // Матер. Всерос. науч. конф. М., 2010. С. 92–95.

Шишкина Ю.Н. Применение метода стандартной добавки при ионометрическом определении фторидов в экологическом анализе // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития: Сб. материалов VII Всерос. науч.-практ. конф. в 2 частях. Ч. 2. Киров: ООО «Лобань», 2009. С. 147–149.

Mishra P.C., Kumarmani Meher, Dullav Bhossagar, Pradhan K. Fluoride distribution in different environmental segments at Hirakud Orissa (India) // African Journal of Environmental Science and Technology Vol. 3. № 9. 2009. P. 260–264.

Wuyi Wang, Ribang Li, Jian'an Tan, Kunli Luo, Lisheng Yang, Hairong Li, Yonghua Li . Adsorption and leaching of fluoride in soils of China // Fluoride Vol. 35. № 2. 2002. P. 122–129.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОЦЕССА НУКЛЕИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИЗАТИЗОНА

*Д. П. Плодник¹, Т. К. Кириленко², Л. Н. Юркевич²,
А. И. Потопальский², Е. И. Мартыненко^{1,2}*

¹ *Национальный университет пищевых технологий,*

² *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины*

Изучение ответа растительного организма на воздействия внешних факторов является одной из наиболее актуальных фундаментальных и экологически важных задач современной фитобиологии. Решение этой непростой проблемы тесно связано с необходимостью разработки новых технологий выращивания растений с использованием различных экзофакторов.

Среди агропрепаратов, которые начинают применять в растениеводстве, особый интерес представляет Изатизон (Из) (метисазон+ДМСО+ПЕГ-400), известный своим противовирусным, противоопухолевым и антибактериальным действием (Zaika et al., 2010). Однако его влияние на развитие растений изучено недостаточно, что сделало целесообразным изучение биологических эффектов Из. Отсутствие информации относительно реакции генома на действие Из обусловило цель нашей работы – исследовать влияние Из на характер активности процесса метаболизма нуклеиновых кислот (МНК) в клетках листьев пшеницы, как одного из основных клеточных процессов, ассоциированного с функционированием генома.

Исследования проводили на проростках пшеницы сортов «Ассоциативная» и «Пашница» (гибрид), выращенных в лабораторных условиях на твердом субстрате (песок). Посевной материал перед посадкой предварительно увлажняли и однократно обрабатывали в течение 1 часа концентрированным препаратом Из. Скорость роста проростков пшеницы оценивали ежесуточным приростом надземной части растений, начиная с 3-х суток эксперимента. Количественное содержание нуклеиновых кислот (НК) в листьях пшеницы определяли методом последовательного химического гидролиза растительного образца с последующим спектрофотометрическим анализом щелочных (РНК) и кислотных (ДНК) фракций полученных гидролизатов. Оценку содержания НК в листьях проростков проводили ежедневно, начиная с 4 суток развития в течение 15 суток для пшеницы «Ассоциативная» и в течение 6 суток для пшеницы «Пашница». Уровни МНК в клетках листьев исследуемых проростков оценивали с помощью соотношения РНК/ДНК (Reef et al., 2010). Исследование ультраструктуры ядер меристемных клеток апекса побега пшеницы «Ассоциативная» на 6 и 17 сутки роста осуществляли с помощью трансмиссионной электронной микроскопии.

Показано, что Из способен синхронизировать процесс прорастания посевного материала двух сортов пшеницы, а в случае «Ассоциативной» под влиянием Из прослеживалась тенденция и к его стимулированию (на 37% по результатам на 3-и сутки роста растений). Кроме того, установлены характерные для каждого сорта онтогенетические изменения в интенсивности роста надземной части проростков пшеницы в контрольных и опытных образцах.

Известно, что ключевую роль в клеточных восстановительных процессах, индуцированных действием экзофактора, играют РНК и ДНК. В связи с этим изучили влияние Из на динамику изменений содержания НК в клетках листьев проростков пшеницы в процессе их роста. Полученные результаты выявили типичные для каждого сорта вариации в уровнях накопления НК в контрольных и опытных растениях. Для формирования интегрального представления о реакции геномов разных сортов пшеницы на действие Из с помощью РНК/ДНК-анализа провели оценку особенностей протекания процесса МНК в клетках листьев исследуемых проростков в ходе их развития (ранние фазы). В настоящее время величина соотношения РНК/ДНК рассматривается как индикатор функционально активной части генома (Переверзев. 2010). Сравнительный анализ графиков (рис.), описывающих уровни активности МНК

в клетках контрольных вариантов пшеницы «Ассоциативной» и «Пашницы» в динамике их роста, выявил между ними значительные отличия, что, по-видимому, вызвано различными генетическими программами развития этих растений. Кроме того, установлены отличия в показателях величины соотношения РНК/ДНК и для опытных образцов каждого сорта. Так, под действием Из по сравнению с контролем наблюдалось снижение уровней МНК в клетках пшеницы «Ассоциативная» на 8–10%, а в «Пашнице» – на 17–60% в зависимости от суток роста. Одним из объяснений обнаруженной тенденции может быть увеличение количества пролиферирующих клеток в листьях опытных проростков, которым характерно снижение биосинтетической активности и повышенное содержание ДНК (Максимович, 2003). Кроме того, в случае пшеницы «Ассоциативная» под влиянием Из наблюдалась задержка активации процесса МНК, что и приводило к изменению его ритмики на противоположную по сравнению с контролем почти на всех исследованных промежутках времени. Эти данные могут свидетельствовать о существовании в клетках исследуемых растений сортоспецифических Из – чувствительных регуляторных механизмов, направленных на активацию адаптационно-компенсаторных систем. Согласно данным литературы (Umrzawa et al., 2006) эктопическая экспрессия компонентов, вовлеченных в формирование ответа растений на абиотические стрессы, приводит к повышению стресс-толерантности растительных организмов.

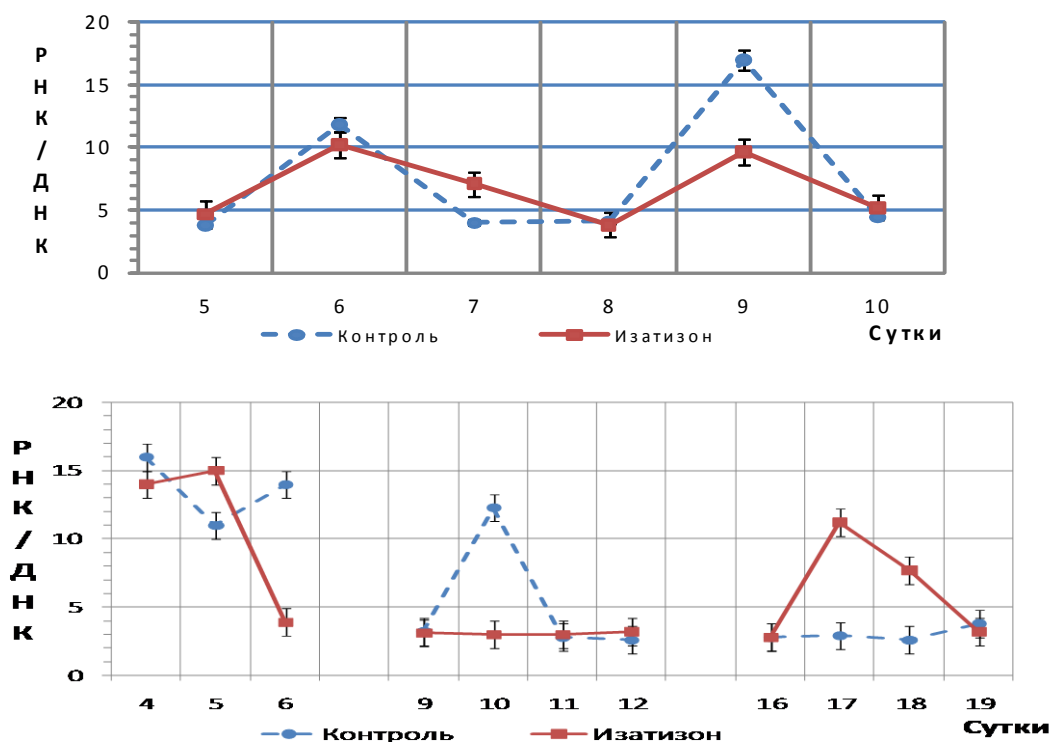


Рис. Влияние препарата Изатизон на метаболизм НК в клетках листьев проростков пшеницы «Пашница» (А) и «Ассоциативная» (Б) в динамике их развития. * Разница значений между контролем и опытом достоверна при $P < 0,05$

С помощью электронной микроскопии показано, что колебания активности процесса МНК, определенного по величине РНК/ДНК-индекса,

сопровождаются соответствующими изменениями ультраструктурной организации меристемных клеток и их ядер (по показателям состояния нуклеоплазмы, удельной плотности рибосом, размеров ядрышек, их вакуолизации и т. д.).

Таким образом, результаты исследования биологических эффектов Из, полученных на разных уровнях организации растений, полностью согласуются между собой и свидетельствуют о физиологической активности препарата Из. Показано существование в клетках пшеницы Из-чувствительных механизмов регуляции МНК, сортоспецифичность которых выявляется с помощью РНК/ДНК-анализа.

Литература

Заїка Л. А., Болсунова О. І., Потопальський А. І. Противірусні, протипухлинні та імунomodельючі властивості препарату Ізатізон: Монографія. К.: Колобіг, 2010. 212 с.

Максимович Р. М. Аналіз росту і розвитку нетреби (*Xantium*). / За ред. проф. О. Демківа. Львів: Наукове товариство ім. Шевченка, 2003. 203 с.

Переверзев Б. Л. Подход к экспериментальному изучению функции генома клетки // Рос. хим. журнал. 2001. № 1. С. 88–91.

Reef R., Ball M.C., Feller I.C., Lovelock C.E. Relationships among RNA:DNA ratio and elemental stoichiometry in mangrove trees // Functional Ecology. 2010. Vol. 24. P. 1064–1072.

Umezawa T., Fujita M., Fujita Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future // Curr. Opin. Biotechnol. 2006. Vol. 17. P. 113–122.

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ

С. Ю. Максимовских¹, О. М. Плотникова², И. С. Федькова²

¹ РЦ СГЭКиМ по Курганской области,

² Курганский государственный университет

Серьезной экологической проблемой является химическое загрязнение биосферы. Наибольшую опасность для живых организмов и природных комплексов представляют ксенобиотики, используемые в различных отраслях промышленности. Наиболее токсические соединения данного класса составляют основу фосфорсодержащих отравляющих веществ (зарин, зоман, ви-икс). При функционировании объекта по уничтожению химического оружия возможно появление в окружающей среде продуктов деструкции отравляющих веществ.

Целью данной работы было изучение реакции проростков кукурузы на действие разных концентраций метилфосфоновой кислоты (МФК). Объектом нашего исследования была *Zea mays* (сорт КХВ 1401). Лабораторные опыты проведены в трехкратной повторности. Опытные растения проращивали в растворах с разной концентрацией, контроль – дистиллированная вода. Функциональное состояние растений оценивали содержанием хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов десятидневных проростков.

Действие МФК приводило к активации окислительных процессов в тканях растений. В листьях опытных групп растений отмечены изменения в содержании изучаемых пигментов (рис.).

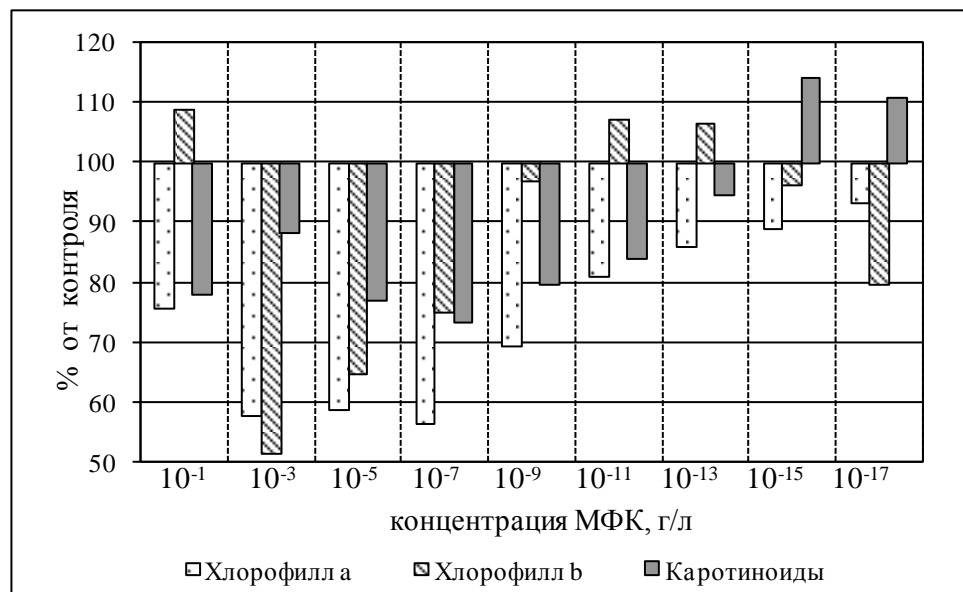


Рис. Влияние МФК на содержание пигментов в листьях кукурузы

Установлено, что содержание хлорофилла *a* в листьях кукурузы максимально снижалось (до 57% от контроля) при действии МФК в концентрации 10^{-7} г/л. Накопление хлорофилла *b* в среднем на 5–10% отмечено при проращивании семян в растворах МФК с концентрацией 10^{-1} и 10^{-10} – 10^{-13} г/л, а снижение на 48% – под влиянием МФК в концентрации 10^{-3} г/л. Накопление каротиноидов в листьях кукурузы под действием МФК происходило в растворах от 10^{-14} до 10^{-18} г/л. Известно, что каротиноиды выполняют фотопротекторную функцию и являются антиоксидантами, способствуя подавлению окислительных процессов в растительных тканях.

Нами выявлено негативное влияние МФК, даже в низких концентрациях, на пигментный комплекс листьев кукурузы. Накопление в листьях опытных растений каротиноидов свидетельствует о развитии окислительного стресса, способствует детоксикации активных форм кислорода.

Литература

1. Готовский Ю. В., Перов Ю. Ф. Особенности биологического действия физических факторов малых и сверхмалых интенсивностей и доз. М.: Имедис, 2000. 192 с.
2. Огородникова С. Ю., Головки Т. К., Ашихмина Т. Я. Реакция растений на действие метилфосфоновой кислоты // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 78–93.
3. Розенгарт В. И. Пути метаболических превращений фосфорорганических пестицидов // Химия в сельском хозяйстве. 1978. Т. 16. № 1. С. 54–64.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ СВИНЦА НА ПЕРОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ ВОДНОГО РАСТЕНИЯ *CERATOPHYLLUM DEMERSUM*

С. А. Розина, А. С. Гончарук, О. Н. Макурина
Самарский государственный университет

В связи с увеличивающимся антропогенным воздействием загрязнение природной среды тяжелыми металлами (ТМ), в число которых входят ртуть, свинец, кадмий, медь, цинк и некоторые другие, становится одной из острых экологических проблем современности. Попадая различными путями в окружающую среду, ТМ поступают сначала в растения, а затем – в организмы животных и человека. Среди неорганических загрязнителей ТМ являются наиболее токсичными и представляют серьезную угрозу для многих форм жизни [1].

К настоящему времени достаточно широко исследованы токсические эффекты ТМ на различные виды организмов, однако ответные реакции высших водных растений на воздействие ксенобиотиков остаются малоизученными. Кроме того, практически отсутствуют сведения о возможности выведения поллютантов из организмов высших водных растений.

В связи с этим, целью нашей работы явилось исследование динамики пероксидазной активности в тканях водного растения *Ceratophyllum demersum* L. при воздействии ионов свинца (водный раствор ацетата свинца (II) – 100 мкМ/л), а также в постстрессовый период, после удаления поллютанта из воды.

Объект и методика исследования. *Объектом исследования* был выбран пресноводный макрофит роголистник погруженный (*Ceratophyllum demersum* L.) [2]. Роголистник часто используется в опытах из-за высоких показателей роста и хорошей приспособленности к искусственным условиям выращивания.

Эксперимент проводился в лабораторных условиях при одинаковой интенсивности и регулярности светового потока, а также при постоянной температуре (20°C). Для этого в опыте была использована комбинация люминесцентных ламп и установлен постоянный период освещения, равный 18 ч.

В ходе эксперимента растения были разделены на 2 группы, различающиеся средой выращивания. Контрольная группа растений находилась в среде отфильтрованной водопроводной воды, опытная инкубировалась в присутствии $Pb(CH_3COO)_2$ в концентрации 100 мкМ/л. Непосредственно перед началом исследований фрагменты растений длиной до 50 мм, считая от точки роста, помещали в стеклянные емкости объемом 1 дм³.

Продолжительность воздействия выбранного нами поллютанта составила 3 суток. По истечении указанного периода экспозиции часть растений из каждой группы отбирали на исследования, а часть переносили в чистую отфильтрованную воду для реабилитации (длительностью 5 суток). После реабилитации также проводили измерения пероксидазной активности.

Методы исследования. Исследования уровня пероксидазной активности осуществляли общепринятым методом по А. М. Бояркину (метод основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования синего

продукта окисления определенной концентрации) [3]. Определяли содержание водорастворимых белков по методу М. Брэдфорд [4] и выражали пероксидазную активность в удельных единицах на 1 г белка.

Статистическую обработку данных (среднее значение, стандартное отклонение) проводили с использованием стандартных статистических методов (достоверности Стьюдента) при доверительном интервале $P \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Исследования влияния ионов свинца на растения *C. demersum* показали достоверно значимые отличия в уровне пероксидазной (ПО) активности между опытными и контрольными вариантами.

В результате анализа данных, представленных на рис., нами было установлено достоверное снижение ПО активности в опытной группе растений в 2,6 раза, по сравнению с контрольными значениями, через 3 суток воздействия ионов свинца в концентрации 100 мкМ.

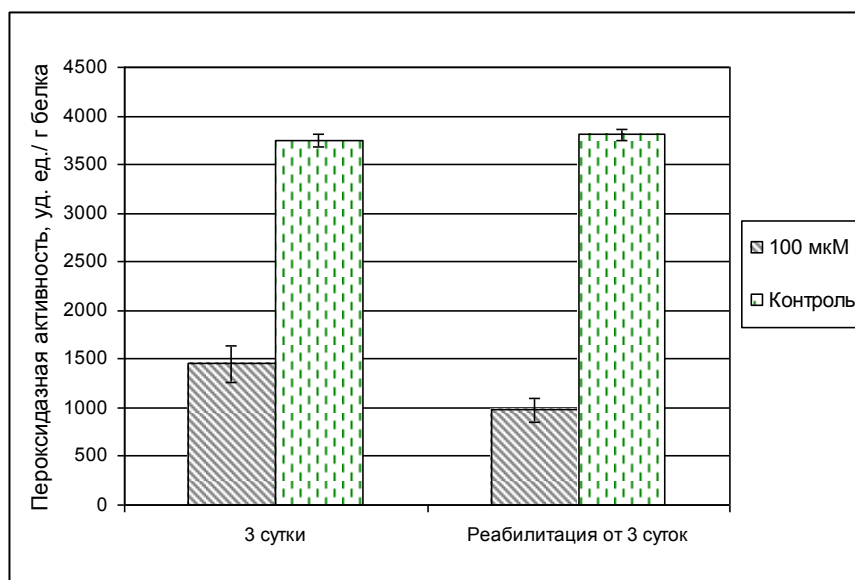


Рис. Влияние ионов свинца на динамику пероксидазной активности в тканях *C. demersum* в период инкубации с добавлением соли свинца и во время реабилитации

Согласно литературным данным [5, 6], двухвалентные катионы в высоких концентрациях способны частично или полностью вытеснить металлы из активного центра ферментов, в результате чего теряется их активность. На наш взгляд, в случае ПО, по-видимому, происходило вытеснение кальция из молекул фермента ионами свинца, что и приводило к значительному ингибированию ПО активности в тканях *C. demersum* в нашем эксперименте (таким образом, проявлялось прямое воздействие поллютанта на молекулы фермента). С другой стороны, снижение уровня ПО активности в опытной группе растений, выращенных в среде высоких концентраций ионов свинца (100 мкМ), могло быть обусловлено, что также подтверждается данными литературных источников [7, 8], повреждением молекул ПО высокими концентрациями свободных радикалов, образующихся при поступлении ТМ в клетку (в этом случае имело место косвенное влияние ксенобиотика на фермент).

После реабилитации растений роголистника в чистой воде ПО активность в опытной группе еще более значительно снизилась относительно контроля, а также по сравнению с пробами, исследованными на 3 сутки эксперимента, – в 3,9 и 1,5 раза соответственно. Мы предположительно связываем такой эффект с накоплением ионов свинца в митохондриях и пластидах, где сконцентрирован большой пул фермента ПО. Поскольку выведение металла из органелл, окруженных двумя мембранами, было затруднено, то высокие концентрации свинца (100 мкМ), находящиеся внутри данных органелл, по-видимому, не позволяли растению восстанавливать ПО активность через 5 суток после перенесения в чистую воду.

Заключение. В условиях инкубации растений *C. demersum* в среде ионов Рb было показано снижение уровня ПО активности вследствие инактивации фермента высокими концентрациями поллютанта (100 мкМ). Дальнейшее снижение уровня ПО активности в опытной группе растений во время реабилитации (когда действие ТМ прекращалось), по-видимому, было обусловлено продолжающимся ингибированием фермента ПО в этот период либо ионами Рb²⁺ непосредственно, либо высокими концентрациями свободных радикалов и предположительно свидетельствовало о несовершенстве механизмов защиты данного растения-концентратора.

Литература

1. Antosiewicz D. M. Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals // Act. Soc. Bot. Pol. 1992. Vol. 61. P. 281–299.
2. Жизнь растений. В 6-ти т. Т. 5. Ч. 1. Цветковые растения / Под ред. А. Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1980. С. 188–190.
3. Бояркин А. Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. 1951. Т. 16. Вып. 4. С. 352–355.
4. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
5. Прохорова Н. В., Матвеев Н. М., Павловский В. А. Аккумуляция тяжелых металлов дикорастущими и культурными растениями в лесостепном и степном Поволжье. Самара: Изд-во Самар. ун-та, 1998. 131 с.
6. Schützendübel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: Heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // J. Exp. Bot. 2002. Vol. 53. No. 372. P. 1351–1365.
7. Rio L. A., Puppo A. Reactive oxygen species in plant signaling. Berlin: Springer, 2009. 245 p.
8. Shah F. R., Ahmad N., Masood K. R. et al. Heavy metal toxicity in plants / Ed. by M. Ashraf, M. Ozturk, M.S.A. Ahmad. Plant adaptation and phytoremediation. Springer, 2010. P. 71–97.

БИОТИЧЕСКАЯ И ХИМИЧЕСКАЯ ИНДУКЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ ЯЧМЕНЯ (ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ)

А. В. Бакулина¹, И. Г. Широких^{1,2}

¹ ГНУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого РАСХН,

² Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми научного центра УрО РАН и ВятГГУ,
drugaeann1@rambler.ru

В культуре *in vitro* каллусная ткань, образовавшаяся в результате дедифференцировки растительных клеток, при повышении концентрации цитокининов в питательной среде способна переходить к морфогенезу в результате вторичной дифференциации. Для некоторых видов растений (морковь, сахарная свекла) данная способность сохраняется при выращивании в культуре в течение нескольких месяцев или даже лет; у других видов морфогенетический потенциал реализуется лишь в течение нескольких недель (Бутенко, 1975). Потеря способности к морфогенезу в длительно пассируемых каллусных тканях ячменя лимитирует манипуляции *in vitro* для данной культуры и снижает выход растений-регенерантов, вследствие чего актуальным является поиск факторов индукции морфогенеза.

Перфторорганические соединения (ПФОС), и в частности, перфторметилдекалин (ПФМД), способны модифицировать мембраны клеток, облегчать транспорт веществ и приводить к ускорению роста, увеличению биомассы, интенсификации процессов биосинтеза (Бакулин, 2010). Ранее было также показано стимулирование морфогенеза в каллусной ткани ячменя природными изолятами *Methylobacterium mesophylicum* за счет синтеза ауксинов (Широких, 2010).

В данной работе исследовали морфогенетические процессы в длительно культивируемой каллусной ткани ячменя при бактеризации *M. radoitolerans* JCM 2831 и *M. extorquens* AM1 ВКМ В-2064, полученных из Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН в присутствии перфторметилдекалина (ПФМД) и отдельно.

Целью исследования явилось изучение биотической (*M. radoitolerans*, *M. extorquens*) и химической (ПФМД) индукции морфогенеза длительно культивируемой каллусной ткани ячменя различных генотипов.

Объектом исследования служила длительно культивируемая (более 100 суток) каллусная ткань ячменя сортов: Купец, Новичок, Белгородский 100 и гибридов: 752-92 × Меркурий и Новичок × 999-93.

Каллусную ткань, не давшую регенерантов при стандартной схеме культивирования, инокулировали метиловыми бактериями и/или пересаживали на среды с ПФМД. Для инокуляции использовали суточные культуры *M. radoitolerans* (2×10^9 кл/мл) и *M. extorquens* (1×10^8 кл/мл), выращенные на среде Канада с добавлением 1% (об./об.) метанола. Каллус погружали в бактериальную суспензию и помещали на свежую МС среду, содержащую 0,1

мг/л гибберелловой кислоты, 0,5 мг/л α -НУК и 1 мг/л кинетина. ПФМД наслаивали на поверхность питательной среды (2 мл на чашку Петри). В качестве контроля использовали каллусные линии без инокуляции на среде, не содержащей ПФМД.

Для гистологического исследования по окончании культивирования готовили давленные препараты каллуса (всего 260 препаратов), которые микроскопировали с помощью микроскопа Leica DM 2500 (Германия). Отмечали наличие мелких делящихся (меристемоподобных) клеток, крупных сильно вакуолизированных клеток паренхимного типа, элементов проводящей системы (трахеид, флоэмных элементов), эпидермиса листьев (с замыкающими клетками устьиц) и тканей корня (ризогенез).

Далее рассчитывали частоты встречаемости всех гистологических структур в зависимости от действия исследуемых факторов (ПФМД и бактериации) и генотипов ячменя.

Наибольшая (98%) выживаемость каллуса наблюдалась в контроле и на среде с ПФМД, минимальная выживаемость – 76% – в варианте при инокуляции *M. radiotolerans*, что указывает на возможность ингибирования каллусной ткани высокой (более 10^6 – 10^7) концентрацией метилобактерий.

Гистологическое исследование позволило обнаружить в длительно культивируемой ткани ячменя наличие клеток различных типов (табл. 1).

Таблица 1

Частоты встречаемости (%) различных гистологических структур в каллусной ткани ячменя в зависимости от исследуемого фактора (среднее для 5 генотипов)

Гистологические структуры, некрозы	Контроль	Индукторы морфогенеза			
		ПФМД	ПФМД + инокуляция метилобактериями	<i>M. radiotolerans</i>	<i>M. extorquens</i>
Меристемо-подобные клетки	26,0	32,0	28,8	6,0	6,7
Клетки паренхимного типа	62,0	64,0	40,0	70,0	83,3
Элементы проводящей системы	10,0	2,0	16,3	0	3,3
Эпидермис листьев	0	0	1,3	0	0
Ризогенез	0	0	1,3	0	6,7
Некрозы	2,0	2,0	12,5	24,0	0

Во всех вариантах опыта преобладали клетки паренхимного типа. Добавление в среду для регенерации ПФМД способствовало увеличению количества меристемоподобных клеток на 8%, по сравнению с контролем, и на 25,3–26,0% по сравнению с инокуляцией метилобактериями.

Инокуляция каллуса *M. radiotolerans* не имела положительного влияния. Инокуляция же *M. extorquens*, напротив, способствовала снижению количества некрозов и стимулировала ризогенез. В целом ПФМД в большей степени, чем бактериация каллуса высоким титром метилотрофов, способствовал увеличению количества меристемоподобных клеток и снижению количества клеток паренхимного типа.

При сочетании биотической и химической индукции морфогенеза было гистологически установлено значительное повышение частоты встречаемости элементов проводящей системы и эпидермиса листовой ткани (наличие устьиц). В данном варианте процессы дифференцировки протекали в равном соотношении гемма- и ризогенеза, при относительно небольшом количестве паренхимоподобных (40,0%) и некротизированных (12,5%) клеток.

Направленность морфогенеза ячменя в каллусных культурах была в значительной степени обусловлена исходным генотипом (табл. 2).

Таблица 2

Частоты встречаемости (%) различных гистологических структур в каллусной ткани ячменя в зависимости от генотипа

Гистологические структуры, некрозы	Генотипы				
	Купец	Новичок	Белгородский 100	752-92 × Меркурий	Новичок × 999-93
Меристемоподобные клетки	25,0	11,7	48,3	17,5	13,3
Клетки паренхимного типа	72,5	71,7	30,0	70,0	41,7
Элементы проводящей системы	0	13,3	5,0	10,0	8,3
Эпидермис листьев	0	0	0	0	1,7
Ризогенез	0	3,3	1,7	0	0
Некрозы	2,5	0	15,0	2,5	35,0

Наиболее значительно генотипические различия проявились в реакции каллусной ткани на химическую индукцию морфогенеза. Из исследуемых генотипов более высокой способностью к регенерации отличались сорта Белгородский 100, Новичок и гибрид Новичок × 999-93.

Литература

- Бутенко Р. Г. Дифференцировка и морфогенез в культуре тканей, клеток и протопластов // Биология развития растений. М.: Наука, 1975. С. 48–65.
- Широких И. Г., Шуплецова О. Н., Огородникова С. Ю., Широких А. А. Реакция каллусной культуры и регенерантных растений ячменя на бактеризацию *Methylobacterium mesophylicum* // Теоретическая и прикладная экология, 2010. № 4. С. 54–62.
- Бакулин М. К., Дармова С.В., Овсянников Ю. С., Бакулин В. М., Гордеева Е. М. Изменение продуктивности микромицетов рода *Fusarium* под действием перфторуглеродов // Ветеринарная медицина, 2010. № 3–4. С. 12–16.

РЕАКЦИЯ СОРТОВ ТОМАТА НА ПРЕДПОСЕВНУЮ ОБРАБОТКУ 6-БАП В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Е. В. Клокова, Т. С. Колмыкова

Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва

Воздействие на растения неблагоприятных температур является одним из наиболее распространенных абиотических стрессоров. Их действие на организм сопровождается усилением образования активированных форм кислорода (АФК), которые запускают цепь реакций перекисного окисления липидов [1].

Одним из наиболее опасных для растительной клетки является супероксидный анион-радикал (O_2^-), образование которого при различных стрессовых воздействиях резко возрастает. Он представляет большую опасность, так как является источником образования более активных АФК [2]. Повреждающему эффекту АФК противостоит система противоокислительной защиты (или система антиоксидантной защиты), главными действующими звеньями, которой являются антиоксиданты, в первую очередь супероксиддисмутаза (СОД), снижающая концентрацию O_2^- [3].

В данной работе изучали действие 6-бензиламинопурина (6-БАП) на скорость генерации O_2^- и на активность СОД в условиях пониженных температур. В качестве объекта исследования использовали растения томата (*Solanum lycopersicum*) сортов «Подарочный», «Патрис» и «Волгоградский». Материалом исследования служил синтетический препарат цитокининового ряда 6-БАП. Семена предварительно замачивали в течение 24 ч в растворе 6-БАП (1 мг/л). Растения разделяли на несколько групп и помещали в климатическую камеру («Sanyo») в разные температурные условия. Скорости генерации O_2^- и активность СОД определяли на 24-ый день вегетации растений по окончании действия стресса. Для определения скорости генерации O_2^- был использован метод, в основе которого лежит способность супероксидного анион-радикала окислять адреналин в адренохром. Для расчета активности СОД использовали методику С. N. Kumar, N. Knowles с модификациями [4]. Контролем служили растения, выращенные из необработанных регулятором роста семян при тех же температурных условиях.

Присутствие в клетке больших количеств супероксидного анион-радикала очень токсично для нее. Скорость его генерации показывает, насколько быстро происходит окисление компонентов клетки и как следствие – ее деградация. Скорость генерации у контрольных (неохлажденных) растений была различной: самую высокую наблюдала у растений сорта «Патрис», несколько ниже – у сорта «Подарочный», а самую низкую – у сорта «Волгоградский». Охлаждение до 10 °С усиливало скорость генерации у сорта «Подарочный» на 65%, у сорта «Патрис» – на 26% и у сорта «Волгоградский» – на 23%. При действии еще более низкой температуры (3 °С) генерация продолжала усиливаться в 5, 4 и 2,5 раза соответственно, по сравнению с контролем.

У растений томата, выращенных из обработанных регулятором роста семян, при температуре 25 °С наблюдали снижение данного показателя на 6% у сорта «Патрис» и на 5% у сорта «Волгоградский», а у растений томата сорта «Подарочный» отмечено увеличение скорости генерации O_2^- на 3%. Охлаждение до 10 °С увеличивало скорость генерации в 3 раза у сорта Подарочный, в 2,5 раза у сорта «Патрис» и в 2 раза у сорта «Волгоградский». При действии еще более низкой температуры (3 °С) генерация продолжала усиливаться в 9; 7,5 и 5 раза соответственно по сравнению с контролем (табл. 1).

**Генерация супероксидного анион-радикала в листьях томата
при действии разных температур и 6-БАП, ммоль/г·ч**

Температурный вариант		Подарочный	Патрис	Волгоградский
25 °С	контроль	0,089±0,001	0,096±0,002	0,064±0,002
	6-БАП	0,092±0,001	0,090±0,002	0,061±0,001
10 °С	контроль	0,147±0,001	0,121±0,001	0,079±0,001
	6-БАП	0,289±0,002	0,231±0,001	0,121±0,001
3 °С	контроль	0,588±0,002	0,423±0,001	0,231±0,002
	6-БАП	0,834±0,001	0,730±0,001	0,348±0,001

Пониженные положительные температуры индуцируют повышение генерации O_2^- в клетках томата, но с разной интенсивностью. При этом для всех изученных сортов скорость генерации O_2^- повышалась по мере уменьшения температуры, причем более значительная разница отмечена у растений сорта «Подарочный». Мы предполагаем, что растения выше описанного сорта обладают слабой системой защиты от окислительного стресса, вызванного охлаждением. Предпосевная обработка семян 6-БАП значительно увеличивает скорость генерации супероксидного анион-радикала во всех температурных вариантах. Самое высокое значение скорости генерации было зафиксировано также у растений томата сорта «Подарочный». Высокий уровень O_2^- в клетках растений, обработанных 6-БАП, возможно указывает на активизацию процессов развития оксидантного стресса и в дальнейшем может обуславливать сигнальную реакцию клетки к действию пониженных температур.

Измерения, проведенные сразу по окончании холодового воздействия на растения, показали различия в активности СОД в листьях томата различных сортов. При температуре 25 °С величина активности СОД у растений всех изучаемых сортов была примерно одинакова.

Снижение температуры до 10 °С уменьшала активность СОД на 17% у сорта «Волгоградский», на 25% у растений сорта «Патрис» и почти в 1,7 раза у сорта «Подарочный». После воздействия температуры 3 °С активность СОД была ниже контрольных значений в 3 раза у сорта «Подарочный», почти в 2,5 раза у сорта «Патрис» и на 55% у сорта «Волгоградский».

В оптимальных условиях выращивания (25 °С) растения томата, обработанные 6-БАП, имели большую активностью СОД по сравнению с контрольными растениями, активность фермента увеличилась на 9% у сорта «Подарочный», на 17% у сорта «Патрис» и на 16% у сорта «Волгоградский». При температуре 10 °С активность СОД снижалась на 13% у сорта Подарочный, у растений сорта Волгоградский она была на уровне контроля, а у сорта «Патрис» ферментативная активность возросла на 10% по сравнению с контролем. При температуре 3°С наблюдали инактивацию данного фермента: при этом активность СОД снижалась на 38% у сорта «Подарочный», на 16% у сорта «Патрис» и на 20% у сорта Волгоградский по сравнению с контрольными растениями (табл. 2).

**Активность супероксиддисмутазы в листьях томата при действии
разных температур и 6-БАП, ед. активности / г ткани**

Температурный вариант		Подарочный	Патрис	Волгоградский
25 °С	контроль	66,0±1,7	69,3±1,5	74,4±2,1
	6-БАП	71,8±1,8	81,4±1,3	86,4±2,2
10 °С	контроль	39,0±0,6	52,3±1,6	61,8±1,5
	6-БАП	57,2±0,5	76,3±1,6	75,8±0,9
3 °С	контроль	22,5±1,1	25,9±1,0	33,8±0,8
	6-БАП	44,8±0,6	58,2±0,3	59,1±0,3

Анализируя полученные данные в целом, обнаружили, что действие пониженных температур на растения томата приводило к снижению активности СОД. У растений сортов «Подарочный» и «Патрис» при холодовом стрессе активность фермента уменьшалась значительно по сравнению с оптимальными условиями выращивания. Это может свидетельствовать о подавлении антиоксидантной системы томата действием пониженных температур. Активность СОД у растений томата, обработанных 6-БАП, на фоне стрессовых температур превышала аналогичные параметры у растений без предпосевной обработки в 1,2–2 раза. Предпосевная обработка 6-БАП увеличивала активность супероксиддисмутазы как при действии, так и после действия температурного стресса, особенно сильно у растений томата сорта «Патрис» и «Волгоградский».

Литература

- 1 Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культурных растений. 2009. Т. 41, № 2. С. 95–108.
- 2 Кулинский В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Соровский образовательный журнал. 1999. № 1. С. 2–7.
- 3 Прадедова Е. В., Имеева О. Д., Салеев Р. К. Классификация систем антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 2. С. 177–185.
- 4 Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

ВЛИЯНИЕ ФТОРИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ЯЧМЕНЯ С. НОВИЧОК

Л. С. Свинолупова¹, С. В. Чиванова¹, С. Ю. Огородникова^{1,2}

¹ *Вятский государственный гуманитарный университет,*

² *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,*

svetao_05@mail.ru

В настоящее время актуальной является проблема локального фторидного загрязнения природных сред, непосредственно прилегающим к предприятиям – источникам поступления фтористых соединений. К числу таких производств относятся: алюминиевые заводы, предприятия по производству фосфорных удобрений, тепловые электростанции, работающие на угле с высоким содер-

жанием фтора. Загрязнение почв фторидами может происходить в ходе работы объектов по уничтожению химического оружия (Ашихмина, 2002).

Поступая в окружающую среду фториды частично закрепляются в почве, а часть их переходит в растения. Поглощение фторидов растениями происходит через корни из почвы и через листья из воздуха. В больших количествах фтор накапливается в зеленой массе многолетних трав и зерне овса. Фториды могут вызывать изменения метаболизма, замедление роста и снижение урожая, хлороз или некроз листьев, а в крайних случаях – гибель растения (Косицина, 2009).

Целью нашей работы было изучить влияние фторида натрия на биохимические показатели растений ячменя с. Новичок, в зависимости от длительности действия.

Действие водных растворов фторида натрия изучали на растениях ячменя сорта «Новичок». Растения ячменя выращивали в сосудах с почвой в условиях вегетационного опыта. Перед посадкой семена ячменя в течение суток замачивали в воде, затем высаживали в сосуды с почвой, которую однократно увлажняли раствором фторида натрия (0,04 моль/л) до 60% от полной влагоемкости. Контрольные растения выращивали на незагрязненной почве. Оценивали изменение биохимических показателей растений на 14 сутки после посадки (фаза 2-х листьев) и на 19 сутки (фаза кущения). Изучали показатели, характеризующие состояние антиоксидантной системы растений – активность пероксидаз, интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержание пластидных пигментов.

Активность пероксидаз оценивали по накоплению продуктов окисления гваякола (Методы биохимического ..., 1987). Интенсивность процессов перекисного окисления липидов определяли по накоплению в растительных тканях малонового диальдегида (МДА) (Лукаткин, 2002). Содержание хлорофилла а, б и каротиноидов определяли в ацетоновой вытяжке спектрофотометрически (Шлык, 1971).

Установлено, что фторид натрия вызывал изменение активности антиоксидантного фермента пероксидазы, однако четкой закономерности между фазой развития растений и активностью пероксидазы в клетках не выявлено (табл.). Отмечали разнонаправленные изменения активности пероксидаз в листьях и корнях ячменя. В листьях 14-дневных растений активность пероксидаз достоверно увеличивалась на 15%, а в фазу кущения этот показатель в листьях достоверно снижался на 19% от контроля. Активность пероксидаз в корнях растений также изменяется достоверно: в фазу 2-х листьев снижалась на 38%, а в фазу кущения повышалась на 37% от уровня контрольных растений. Изменения активности пероксидаз в клетках опытных растений, по сравнению с контролем, свидетельствуют о развитии окислительных повреждений, инициированных фторидом натрия.

Следствием окислительных процессов, протекающих в клетках, является изменение интенсивности перекисного окисления липидов. Отмечали достоверное увеличение количества продукта перекисного окисления липидов – МДА в листьях растений, выращенных в условиях фторидного загрязнения (табл.). Причем существенное накопление МДА в 1,9 раза выявлено в листьях 14-дневных растений. Далее происходило снижение интенсивности процессов

ПОЛ, накопление МДА в листьях растений в фазу кущения составляло 145% от контроля. Достоверных изменений интенсивности процессов ПОЛ в корнях опытных растений не выявлено.

Таблица

Влияние фторида натрия на биохимические показатели растений

Фаза развития	14-дневные растения (фаза 2-х листьев)	19-дневные растения (фаза кущения)
Активность пероксидаз, % к контролю		
Лист	115*	81*
Корень	62*	137*
Интенсивность ПОЛ, % к контролю		
Лист	196*	145*
Корень	99	126

* Разница между контролем и опытом достоверна при $P \leq 0,05$.

Пигментный комплекс растений играет важную роль в обеспечении продуктивности. Поэтому было изучено состояние пластидных пигментов в условиях фторидного загрязнения (рис.). Установлено, что опытные растения, которые выращивали на загрязненном субстрате в течение 14 дней, по содержанию пигментов были близки к контрольным, происходило лишь незначительное снижение уровня каротиноидов. В листьях опытных растений в фазу кущения выявлено достоверное снижение концентрации хлорофилла б на 19%, уровень каротиноидов был ниже контроля на 11%. Изменение уровня каротиноидов в условиях фторидного загрязнения может быть связано с выполняемой ими протекторной функцией. Известно, что каротиноиды антиоксидантами, которые в условиях окислительного стресса «гасят» активные формы кислорода.

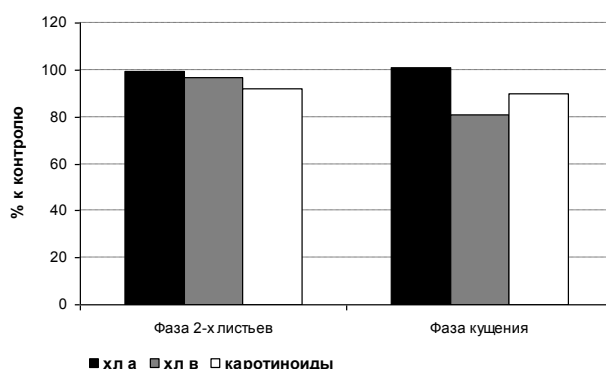


Рис. Влияние фторида натрия (0,04 моль/л) на состояние пигментного комплекса растений ячменя

Таким образом, было изучено влияние фторида натрия на биохимические показатели растений в зависимости от длительности выращивания на загрязненном субстрате. Установлено, что фторид натрия вызывает изменение активности пероксидаз в растительных тканях и инициирует процессы перекисного окисления липидов в листьях. Листья опытных растений, по сравнению с корнями, были более чувствительны к действию фторида натрия, что может быть обусловлено накоплением фторида в надземной части. Измене-

ние биохимических показателей в листьях при внесении фторида в почву свидетельствует о системном действии поллютанта. Интенсивность биохимических изменений в растениях в фазу 2-х листьев была выше, по сравнению с растениями в фазу кущения, что может быть связано с адаптационными перестройками метаболизма в условиях фторидного загрязнения.

Литература

Ашихмина Т. Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с

Косицина А. А. Влияние водорастворимого фтора на загрязнение почв и растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2009. 19 с.

Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.

Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–171.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ПРИ СТРЕССАХ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

А. Г. Кудяшева

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН

Организм человека и животных постоянно подвергается действию факторов внешней среды, которые имеют стрессовый характер. Широко известно, что стресс-реакции являются адаптивным механизмом, направленным на поддержание стабильности функционирования организма в ответ на воздействие стрессора. В условиях техногенного загрязнения окружающей среды, изменения качества среды, нарушения экологической безопасности жизни человека адаптивные механизмы организма могут быть менее устойчивы к действию определенных природных и техногенных факторов. Воздействие стресса происходит по всем направлениям структурной организации организма – на клеточном уровне оно часто приводит к нарушению процессов окислительного фосфорилирования и ухудшению энергетического обмена, вызывающего развитие тканевой гипоксии (Косенко и др., 1983). Срыв адаптации лежит в основе развития многих патологических состояний, причиной которых являются биохимические нарушения функционирования регуляторных и защитных систем организма (Барабой, Сутковой, 1997). Стресс можно рассматривать как состояние нарушенного гомеостаза в результате действия различных факторов, и эта реакция организма, развивающаяся при воздействии физического стрессора, направлена на поддержание метаболического гомеостаза. Все более актуальным становится и так называемый медико-биологический мониторинг в качестве адаптивных возможностей организма при хроническом воздействии техногенных и других стрессовых факторов, где важная роль отводится оценке состояния клеточных мембран органов, объективным отражением которого является интенсивность процессов

перекисного окисления липидов (ПОЛ) и энергетического обмена. Обобщены результаты многолетних исследований состояния ПОЛ и энергетического обмена в функционально различных тканях мелких млекопитающих (популяции мышевидных грызунов рода *Microtus* и лабораторных животных – белые беспородные мыши, мыши линии СВА) при воздействии стрессовых факторов в среде обитания и в лабораторных экспериментах (техногенный повышенный уровень естественной радиоактивности в среде обитания в 10–100 раз, хроническое внешнее гамма-облучение малыми дозами, отдельное и сочетанное хроническое действие нитратов натрия и свинца в разных дозах, однократное действие холода). Совокупность полученных экспериментальных данных и анализ литературы позволяет сделать вывод об активации свободнорадикальных процессов при воздействии ионизирующего излучения в малых дозах у животных природных популяций, обитающих на радиоактивно загрязненных территориях и в экспериментах при действии одного хронического низкоинтенсивного излучения, холодового фактора, а также при совместном действии химических токсикантов в разных дозах на фоне гамма-облучения. Установлено, что при действии стрессов разной природы существуют общие закономерности активации ПОЛ, укладывающиеся в картину общего синдрома адаптации – стресса. Активация ПОЛ является неспецифическим синдромом и основным механизмом, запускающим перестройку энергетического обмена и способствующие развитию адаптивных реакций на клеточном уровне (Кудяшева, 2011). В тканях животных при действии стрессовых факторов разной природы, как правило, наблюдали уменьшение обеспеченности липидов тканей антиоксидантами и содержания фосфолипидов (ФЛ) в составе общих липидов, рост доли лизоформ ФЛ, снижение количества основных фракций ФЛ, активацию каталазы, увеличение вторичных продуктов ПОЛ, искажение взаимосвязи между структурой мембраны и ее способностью к окислению, дискоординацию процессов дегидрирования. Отмечали стадийные изменения всех параметров системы регуляции ПОЛ и энергетического обмена после радиационного воздействия при всех дозах излучения (Кудяшева и др., 2004). Животные, обитающие в условиях повышенного уровня радиоактивного загрязнения и химических токсикантов, формируют неспецифический физиолого-биохимический адаптационный потенциал, который включает новый исходный уровень антиоксидантного статуса и энергетического обмена в тканях и органах. Этот адаптационный потенциал у животных, сформированный в условиях стрессовых факторов различной природы, определяет их чувствительность к дополнительному повреждающему воздействию. Показано, что при сочетанном воздействии стрессовых факторов (облучение + нитраты свинца, облучение + холод) формируются неспецифические биохимические реакции в тканях животных, которые как правило, могут приводить к значительным нарушениям структуры мембран клеток и усилению липопероксидации и дисбалансу биоэнергетических процессов.

Работа поддержана грантом по Программе Президиума РАН «Молекулярно-клеточная биология» – Молекулярно-клеточные механизмы

ответных реакций организмов на хроническое воздействие факторов физической и химической природы низкой интенсивности (12-П-4-1021).

Литература

Косенко Е. Н., Коминский Ю. Г., Кондрашова М. Н. Адаптация энергетического обмена в печени и мышцах у кролика к высотной гипоксии // Биохимия, 1983. Т. 48. Вып. 1. С. 17–22.

Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Киев: Наук. Думка. 1997. 420 с.

Кудяшева А. Г., Шишкина Л. Н., Шевченко О. Г., Башлыкова Л. А., Загорская Н. Г. Биологические эффекты радиоактивного загрязнения в популяциях мышевидных грызунов. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 214 с.

Кудяшева А. Г., Таскаев А. И. Адаптивные реакции процессов дегидрирования у полевки-экономки при дополнительных воздействиях физической природы // Радиационная биология. Радиоэкология, 2011. Т. 51. № 5. С. 549–558.

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБЩЕГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА РЫБ

Т. А. Гилева, Н. В. Костицына, Е. А. Зиновьев

Пермский государственный национальный исследовательский университет

В настоящее время природная среда под воздействием хозяйственной деятельности человека испытывает значительную нагрузку. Самым чувствительным компонентом природной среды являются водные экосистемы. Сбрасываемые сточные воды и воздушные выбросы многопрофильных промышленных, сельскохозяйственных и коммунальных объектов способствуют изменениям гидрохимического и гидробиологического режимов водоемов. Установлено, что со сточными водами в реки, озера и водохранилища поступает около 40 тыс. поллютантов (Тепляков и др., 2002). Среди множества органических и неорганических веществ, загрязняющих окружающую среду, тяжелые металлы занимают особое место, т. к. не разлагаются, токсичны, способны включаться в пищевые цепи и обладают потенциальной способностью аккумулироваться во многих живых организмах (Sorensen, 1992).

В 2011 г. в период с 23 июня по 9 июля были взяты пробы воды и грунта на 6 разнотипных водоемах Пермского края. Содержание тяжелых металлов в воде было в пределах нормы для никеля, кобальта (обнаружен только в Камском водохранилище и средней части Воткинского водохранилища), ванадия, цинка (не обнаружен) и свинца. Во всех водоемах содержание марганца и меди превышает ПДК. Наибольшая концентрация марганца отмечена в Нытвинском пруду, где его содержание в 63,5 раза превышает уровень ПДК. Для стронция констатируется превышение ПДК в р. Сылве, Мотовилихинском и Нытвинском прудах (табл. 1).

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в воде исследованных водоемов (мг/л)

Химический элемент	ПДК	Р. Сылва	Мотовилихинский пруд	Нытвинский пруд	Камское водохранилище	Верхняя часть Воткинского водохранилища	Средняя часть Воткинского водохранилища
Ni	0,01	0,001	0,002	0,002	0,005	0,003	0,003
Co	0,01	н/о	н/о	н/о	0,001	н/о	0,001
Cr	0,001	н/о	н/о	0,003	0,003	0,007	0,002
Mn	0,01	0,062	0,029	0,635	0,275	0,126	0,087
V	0,1	0,002	0,004	0,022	0,005	0,002	0,003
Ti	0,06	0,007	0,029	0,01	0,193	0,084	0,145
Cu	0,001	0,002	0,003	0,002	0,006	0,004	0,006
Zn	0,01	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о
Pb	0,01	н/о	н/о	0,001	0,003	0,001	0,001
Sr	0,4	1,721	1,263	0,9653	0,413	0,279	0,218

Примечание: н/о – не обнаружено

Несколько иная картина распределения загрязнителей в грунтах исследованных водоемах. В верхней части Воткинского водохранилища отмечено превышение ПДК 6 элементов: Cr, Mn, V, Ti, Zn, Cu; в средней части Воткинского водохранилища – Cr, Mn, V, Zn, Cu; в Камском водохранилище – Mn, Zn; Нытвинском пруду – Cr, Pb и Мотовилихинском пруду – V, Cu (табл. 2).

Таблица 2

Содержание тяжелых металлов в грунте исследованных водоемов (мг/кг сухой массы)

Химический элемент	ПДК	Р. Сылва	Мотовилихинский пруд	Нытвинский пруд	Камское водохранилище	Верхняя часть Воткинского водохранилища	Средняя часть Воткинского водохранилища
Ni	85	45,4	83,3	33,1	48,1	83,6	84,9
Co	50	16,3	18,5	5,5	14,4	13,9	28,3
Cr	100	90,8	92,6	110,2	57,7	167,2	169,9
Mn	1500	908,2	925,7	551,1	2885,4	2787,0	1698,8
V	150	90,8	166,6	110,2	96,2	278,7	283,1
Ti	5000	3632,8	3702,8	1469,6	2885,4	5574,0	4719,0
Cu	55	45,4	55,5	18,4	48,1	55,7	56,6
Zn	70	63,6	64,8	66,1	86,6	167,2	94,4
Pb	30	13,6	16,7	36,7	19,2	27,9	28,3
Sr	350	272,5	185,1	55,1	288,5	92,9	94,4

Реку Сылву в пределах заказника «Предуралье» можно признать условно чистым водоемом, однако количество стронция в воде здесь больше, чем в других исследованных водоемах.

Рыбы чувствительнее к тяжелым металлам, чем высшие позвоночные, а повышенная концентрация в воде ионов цинка, ртути, кадмия, меди, помимо

прочих эффектов, приводит к уменьшению титра антител в крови, концентрации лимфоцитов, подавлению фагоцитарной активности клеток (Dethloff, Bailey, Maier, 2001). В связи с указанным и попытками найти корреляции накопления тяжелых металлов и физиологическим состоянием рыб, были исследованы гематологические показатели окуня, обитающего в данных водоемах. Мы исследовали периферическую кровь, в связи с тем, что ей принадлежит важнейшая роль в поддержании гомеостаза. Эритроциты рыб переносят кислород, диоксид углерода, поддерживают кислотно-щелочное равновесие, транспортируют низкомолекулярные вещества, участвуют в механизме дезинтоксикации организма. Лейкоциты отвечают за иммунные реакции и восстановительные процессы в организме (Иванов, 2003).

Всего для гематологического анализа использовано 180 экземпляров рыб в возрасте 1+,2+,3+. Подсчет эритроцитов и лейкоцитов проводился с помощью счетной камеры Горяева.

Река Сылва выбрана нами в качестве объекта для сравнения, в связи с тем, что данный водоем менее загрязнен (Холстов, Вертгейм, 2008). Выявлены достоверные различия в абсолютном количестве эритроцитов и лейкоцитов. Так во всех исследованных водоемах, за исключением Камского водохранилища, где нами не были выявлены достоверные различия, количество эритроцитов в периферической крови окуня достоверно выше, а количество лейкоцитов достоверно ниже в сравнении с окунем, обитающим в р. Сылве (табл. 3). Необходимо отметить, что в р. Сылве и Камском водохранилище наблюдается наиболее благоприятная экологическая ситуация.

Таблица 3

**Гематологические показатели периферической крови
окуня *Perca fluviatilis* (L.) 2011 г.**

Показатель		Р. Сылва	Мотови- ли- хинский пруд	Ныт- винский пруд	Камс- кое водо- хра- нилище	Верхняя часть Воткинско- го водохрани- лища	Средняя часть Воткин- ского водохрани- лища
Количе- ст-во клеток в 1 мкл	Эритроци- тов, млн / 1 мкл	2,1± 0,071	1,74± 0,082*	1,54± 0,091*	1,92± 0,075	1,85± 0,051*	1,77± 0,06*
	Лейкоцитов, тыс / 1 мкл	100,9± 1,38	141,4± 1,74*	146,5± 1,35*	98,4± 1,82	135,15± 1,47*	132± 1,15*

* – достоверные отличия ($p < 0,05$) по t -критерию Стьюдента в сравнении с гематологическими показателями окуня из р. Сылвы

С 2006–2008 гг. мы проводили подобные исследования на обыкновенном пескаре, обитающем в Мотовилихинском пруду и р. Сылве. За период исследований наблюдалось устойчивое достоверное различие количества эритроцитов и лейкоцитов в сходном соотношении с тем, что было получено у окуня.

Таким образом, у рыб из водоемов, имеющих значительную антропогенную нагрузку, ниже количество клеток красной крови и заметно выражен лейкоцитоз. Эти данные свидетельствуют об усилении клеточного

иммунитета у рыб, обитающих в загрязненных водоемах, что может являться следствием начальных стадий токсикоза у рыб, сопровождающихся мобилизацией резервных функций организма.

Литература

Иванов А. А. Физиология рыб. М.: Мир, 2003. 284 с.

Тепляков А. В., Кубашев И. Г. Токсикологическая загрязненность и паразитофауна водоемов интенсивного рыбного промысла Удмуртской Республики. Ижевск: Изд-во ИжГТУ, 2002. 60 с.

Холстов С. Б., Вертгейм А. Г. Ранжирование муниципальных образований края по уровню антропогенной нагрузки // Состояние окружающей среды Пермского края в 2007 году. Пермь, 2008. 112 с.

Dethloff G. M., Bailey H. C., Maier K. J. Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2001. P. 371–380.

Sorensen E. M. Metal poisoning in fish. U.S.A. Texas: CRC Press., 1992. 362 p.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ *DROSOPHILA MELANOGASTER* К ДЕЙСТВИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Е. А. Юшкова

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ushkova@ib.komisc.ru

На сегодняшний день известны и хорошо изучены геномные системы (I-R, P-M, H-E системы гибридного дисгенеза) дрозофилы, возникающие в результате специфической индукции массовых перемещений определенных мобильных генетических элементов (*I, P, hobo*). Данные мобильные элементы, обладая структурной и функциональной гетерогенностью, способны контролировать собственную активность в системах гибридного дисгенеза (ГД). Предполагают (Гвоздев, Кайданов, 1986), что, активируя генетические системы, мобильные элементы играют ключевую роль в установлении уровня приспособленности (адаптивной ценности) особей, обитающих в неблагоприятных условиях окружающей среды. Важно также отметить, что транспозиционные системы дрозофилы могут служить прототипом тех событий, которые возможны у других организмов, в том числе млекопитающих и человека (Hammer et al., 2005).

В этой связи большое значение приобретают исследования, посвященные изучению чувствительности генетических систем дрозофилы к хроническому воздействию низкоинтенсивного облучения.

Материал исследования. В работе использовали следующие линии дикого типа дрозофилы: 1. *Canton-S* – линия, в генотипе которой обнаружен I-ретроэлемент. Использовали в качестве индукторной линии в I-R системе и как M-линию в P-M гибридном дисгенезе. 2. *Charolles* – R-линия, характеризующаяся как реактивная линия в I-R дисгенных скрещиваниях. 3. *Oregon-R* – H-линия, содержащая в генотипе полноразмерные копии элемента *hobo*. Классифицируется как «индуктор» в H-E системе ГД. 4. *Hikone-R* – лабораторная E-линия, используемая в скрещиваниях по схеме H-E

гибридного дисгенеза. 5. *Harwich* – Р-линия, имеющая в генотипе функциональные копии Р-элемента и отличающаяся свойствами индукторной линии в Р-М системе ГД.

Условия облучения. Опытные варианты содержали в условиях хронического облучения при мощности экспозиционной дозы 0,42 мГр/ч. Накопленная доза за поколение (12 дней) составила 121 мГр. Источником γ -излучения служил ^{226}Ra (56 мГр/ч).

Радиочувствительность генетических систем дрозофилы оценивали по тесту атрофии гонад (стерильности) у гибридных самок F1, полученных в результате дисгенных скрещиваний. Анализировали морфологию гонад, выделенных из гибридных особей, и дифференцировали их на одностороннюю (A1) и двустороннюю (A0) атрофию гонад. Частоту стерильности вычисляли по формуле: $\text{АГ (\%)} = \text{А0 (\%)} + \frac{1}{2} \text{А1 (\%)}$. Различия между выборками оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Дисгенная стерильность является морфологическим проявлением активности мобильных элементов и отражает степень их вклада в процессы генетической изменчивости при воздействии радиации. Полученные результаты свидетельствуют, что хроническое облучение в малых дозах усиливает транспозиционную активность мобильных элементов (МЭ) в системах ГД. При этом уровень радиочувствительности систем ГД зависит от того какая из родительских форм была подвержена радиационному воздействию. Наибольшая частота атрофии гонад выявлена у особей, полученных от скрещиваний по схеме Р-М системы ГД с применением облученных самок, и составила $93,3 \pm 8,9\%$ относительно контроля $57,0 \pm 5,7\%$ и вариантов с использованием только импактной отцовской линии ($62,2 \pm 4,9\%$) и обоих облученных родителей ($68,9 \pm 4,4\%$). Для других транспозиционных систем значимое увеличение стерильности гибридов наблюдается после облучения обоих родителей и достигает $54,8 \pm 4,1\%$ – в I-R и $83,7 \pm 3,1\%$ – в H-E дисгенных скрещиваниях. В то время как контрольный их уровень составляет $21,3 \pm 2,8\%$ и $49,8 \pm 3,5\%$, соответственно. Повышенная частота атрофии гонад зарегистрирована и в случае, когда облучению подвергаются только материнские линии.

Изменение радиочувствительности генетических систем обусловлено некоторыми особенностями контроля перемещений мобильных элементов. Важную роль в этом, как показали наши результаты, играет цитоплазматический тип регуляции, особенно для Р-М и I-R систем. В отличие от хромосомного типа цитоплазматический механизм наследуется исключительно по материнской линии и связан с накоплением в цитоплазме яйцеклетки белков, контролирующих транспозиции МЭ. Данный факт свидетельствует о том, что в условиях гибридного дисгенеза облучение может влиять на транспозиционную активность Р-, *hobo*-, I-элементов через индукцию процессов в облученных клетках зародышевой линии самок, увеличивая тем самым, уровень мутаций и стерильность. Сниженная, по сравнению с Р-М и H-E системами, чувствительность I-R-дисгенных особей к действию облучения является следствием взаимосвязи клеточных белков репарации с процессами транспозиции МЭ. По-видимому, механизмы восстановления повреждений

ДНК, вызванные радиационно-индуцированной активацией транспозонов и ретроэлементов, различаются.

Таким образом, генетические системы и определяющие их МЭ рассматриваются не только как возможный механизм изоляции популяций, но и как механизм, способный модифицировать реакцию дрозофил в ответ на низкоинтенсивные воздействия радиации.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Уральского отделения РАН (№ 12-И-4-2006) и гранта Сибирского отделения РАН (№ 12-С-4-1008).

Литература

Гвоздев В. А., Кайданов Л. З. Геномная изменчивость, обусловленная транспозициями мобильных элементов, и приспособленность особей *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биол. 1986. Т. 47. № 1. С. 51–56.

Hammer S. E., Strehl S., Hagemann S. Homologs of drosophila *P* transposons were mobile in zebrafish but have been domesticated in a common ancestor of chicken and human // Mol. Biol. Evol. 2005. V. 22. P. 833–844.

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ МОНОЭТАНОЛАМИНА НА НЕКОТОРЫЕ ПЕЧЕНОЧНЫЕ ФЕРМЕНТЫ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

А. Н. Евдокимов, М. А. Григорович, Б. И. Кудрин, О. М. Плотникова
Региональный Центр по обеспечению государственного экологического
контроля и мониторинга объекта по уничтожению химического оружия
по Курганской области, kurgan@yandex.ru

В современном мире все большую актуальность и значимость приобретают экотоксикологические исследования. Одним из направлений этих исследований является изучение и оценка влияния различных химических веществ, широко используемых в промышленности на физиологическое состояние биологической составляющей окружающей среды.

Моноэтаноламин (МЭА) используют в отраслях химической промышленности. Он применяется в качестве абсорбентов "кислых" газов (H_2S , CO_2 , SO_2) на предприятиях нефтеперерабатывающей, газодобывающей и химической отраслей промышленности. На объекте уничтожения химического оружия с фосфорорганическими отравляющими веществами в Щучанском районе МЭА используют в качестве основного реагента при гидролизе зарина и зомана. Ввиду широкого применения он может появляться в компонентах природной среды и вовлекаться в обмен веществ в живых организмах и, как следствие, влиять на их метаболизм.

Известно, что ферментативная активность некоторых печеночных ферментов в плазме крови отражает ее функциональное состояние, одними из таких ферментов являются аминотрансферазы – аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ) и гидролаза – холинэстераза (ХЭ).

Цель работы: определить время максимального отклонения ферментативной активности некоторых печеночных ферментов и оценить

воздействие МЭА после его введения белым лабораторным мышам в дозе 1 мг/кг массы тела.

В работе было использовано 120 особей белых лабораторных мышей мужского пола линии СВА, стандартизированных по массе, возрасту и условиям содержания. Они были разделены на группы по 20 животных в каждой: одна контрольная и пять опытных групп (животным контрольной группы вводили внутримышечно физиологический раствор, а животным опытных групп – нейтрализованный раствор МЭА). Эвтаназию исследуемых мышей проводили методом декапитации, после чего в цельную кровь добавляли две капли гепарина и центрифугировали для получения плазмы.

Все работы с лабораторными мышами проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации».

Активность исследуемых ферментов определяли с помощью наборных методов фирмы «Вектор-Бэст» (г. Новосибирск).

Статистическую обработку данных проводили с использованием критериев непараметрической статистики.

Изменения активности АЛТ, АСТ и ХЭ через различные сроки после введения МЭА в дозе 1 мг/кг массы тела животных представлены на рис.

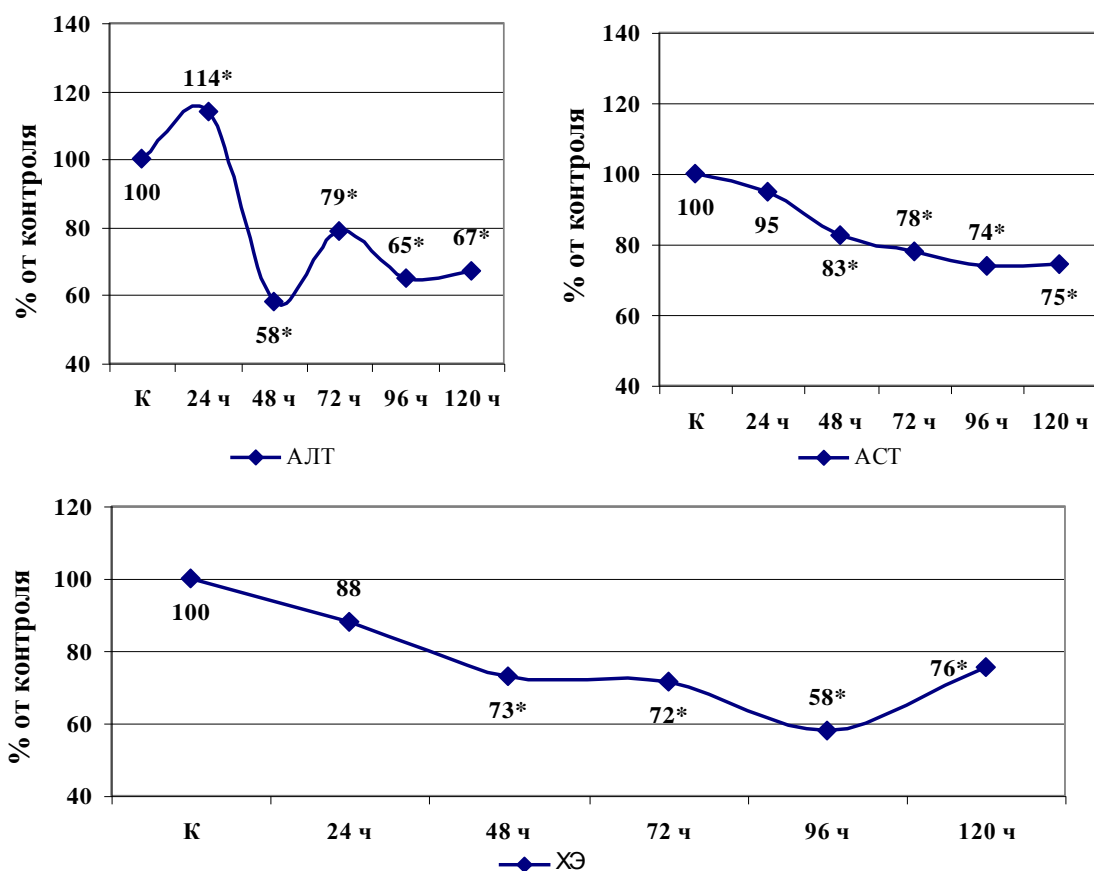


Рис. Изменение активности АЛТ, АСТ и ХЭ в плазме крови в зависимости от времени после введения МЭА. Обозначения: К-контрольная группа, * – статистическая значимость различий при $p < 0,05$

Максимальные снижения (на 42 и 35%) активности АЛТ в плазме крови самцов опытных групп относительно значений контрольной группы наблюдались соответственно спустя 48 и 96 часов после введения раствора МЭА. Максимальное уменьшение активности АСТ (на 26%) и активности ХЭ (на 42%) проявилось по истечении 96 часов после введения МЭА.

Таким образом, внутримышечное введение МЭА снижало активность печеночных ферментов, характеризующих функциональное состояние печени, максимально по истечении 96 часов после введения токсиканта.

СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ КРАСНОЙ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

А. В. Стрекаловская¹, Ж. Е. Иванкова¹, А. Г. Кудяшева²

¹ Сыктывкарский государственный университет,

² Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

Широко известно, что стресс-реакция является адаптивным механизмом, направленным на поддержание стабильности физического и психического функционирования организма в ответ на воздействие стрессора. Однако стресс не всегда является адаптивной реакцией. Характер стресс-реакции и ее последствия определяются несколькими факторами. В первую очередь это тип стрессора и условия, в которых он проявляется. Нередко они сочетаются и могут приводить к разным эффектам по своей направленности (синергизм, аддитивность, антагонизм) (Петин, Сынзыныс, 1998). В условиях среды обитания организм подвергается, как правило, многофакторному (сочетанному) воздействию, эффект которого может оказаться более значительным, чем при их изолированном действии.

Цель данной работы – изучение поведенческих реакций организма и показателей красной крови лабораторных мышей в условиях сочетанного действия факторов разной природы (облучение малыми дозами, холод, гипокинезия, фитостероиды). В опыте использовали самцов белых беспородных мышей и линии СВА/Лас в возрасте от 3 до 7 месяцев. В первом эксперименте были использованы следующие варианты: 1) стресс (холод 2 час + гипокинезия); 2) Серпистен 5 мг/кг + стресс (холод 2 час + гипокинезия) – 5С2 (профилактическое действие); 3) Серпистен 15 мг/кг + стресс (холод 2 час + гипокинезия) – 15С2 (профилактическое действие). Во втором эксперименте: 1) контроль; 2) гамма-облучение в течение 10 дней, суммарная доза – 7,5 сГр; 3) гамма-облучение в течение 10 дней, суммарная доза -7,5 сГр + Серпистен 15 мг/кг в течение 7 дней; 4) Серпистен 15 мг/кг в течение 7 дней + гамма-облучение, 7,5 сГр. Для выявления поведенческих реакций животных были использованы методы: Т-образный лабиринт, тест «Открытое поле», тест Порсолта (Шабанов и др., 2002). Показатели красной крови (концентрация эритроцитов – Эр, ретикулоцитов – Rt, гемоглобина – Нб, показатель гематокрита – Гт) определяли по общепринятым в клинике и лабораторной

практике методам. Полученные результаты обрабатывали статистическими методами.

Результаты эксперимента по действию стресса (иммобилизация+холод) и Серпистена в дозах 5 мг/кг и 15 мг/кг на поведенческие реакции мышей показали, что в тесте «Открытое поле» при сочетанном действии стресса и Серпистена в дозе 15 мг/кг существенно увеличилась (в 1,5 раза) горизонтальная исследовательская активность, то есть количество пересеченных квадратов. При дозе 5 мг/кг Серпистена со стрессом количество стоек (вертикальная исследовательская активность) в группе животных увеличилось в пять раз, а в группе мышей при совместном действии стресса и Серпистена в дозе 15 мг/кг уменьшилось в два раза. Количество заглядываний в норки в группе, принимавшей Серпистен в дозе 5 мг/кг + стресс, уменьшилось в пять раз. Акты грумминга и болюсы дефекаций после курсового принятия Серпистена и после воздействия стресса во всех группах практически исчезли, что указывает на более спокойное поведение животных, снижение их эмоциональности и тревожности. При анализе результатов Т-образного лабиринта статистически значимые изменения во времени выхода из него после действия стресса и Серпистена наблюдали только в группе животных, принимавших Серпистен в дозе 5 мг/кг (время сократилось в 1,5 раза). Следовательно, можно говорить о более эффективной исследовательской способности подопытных животных. Таким образом, действие Серпистена на поведенческие реакции мышей зависит от дозы препарата, а также от характера, силы стрессового воздействия и эффекта сочетанного действия Серпистена и стресса.

Анализ результатов второго эксперимента по сочетанному действию Серпистена и облучения в малых дозах показал наиболее значимые изменения в поведенческих реакциях лишь по таким показателям, как вертикальная исследовательская активность в тесте «Открытое поле» и время пассивного плавания (ВПП) в тесте Порсолта. В третьей группе опыта (облучение+Серпистен) и в четвертой группе (Серпистен+облучение) уменьшилась вертикальная исследовательская активность соответственно в 6 и в 2 раза и у этих же вариантов опыта увеличилось ВПП за первую минуту соответственно в 5 и 3 раза.

Результаты анализов красной крови лабораторных мышей не показали достоверных изменений между контрольной и четвертой группой животных (Серпистена+облучение). Однако при сравнении с группой животных, подвергшихся облучению, отмечено уменьшение концентрации гемоглобина на 17% и эритроцитов на 11% (табл.). Следовательно, профилактическое введение Серпистена ослабило действие не продолжительного низкоинтенсивного гамма-облучения. Сравнительный анализ группы животных с сочетанным действием облучения и последующим введением Серпистена показал, что по сравнению с контрольной группой происходит уменьшение концентрации гемоглобина на 13%, эритроцитов – на 14%. По сравнению с группой облученных мышей уменьшается концентрации гемоглобина на 30% и эритроцитов на 21%, показатели (гематокрит, среднее содержание гемоглобина в эритроците и среднечелочная концентрация гемоглобина) уменьшились

соответственно на 12%, 8% и 20%, среднечеточный объем клеток увеличился на 26% (табл.). Таким образом, терапевтическое действие Серпистена также ослабило эффекты радиации, но не привело к нормализации показателей до уровня у контрольных животных.

Используемые кратковременные малые дозы облучения (7,5 сГр, 10 суток) и курсовое введение Серпистена (15 мг/кг, 7 суток) оказывали мягкое воздействие как на поведенческие реакции, так и на клеточные изменения показателей красной крови лабораторных мышей. Направленность исследуемых показателей зависела от используемой схемы сочетанного действия исследуемых факторов (облучения, действия фитоэксдистероида).

Таблица

Показатели красной крови мышей линии СВА/Лас при сочетанном действии гамма-облучения (7.5 сГр) и Серпистена (15 мг/кг)

Показатели	Контроль (n=8)	Облучение (n=8)	Облучение +Серпистен (n=8)	Серпистен + облучение (n=8)
Нб, г/л	106,6±12,5	133,8±47,6 ^{*c}	92,9±6,0 ^{**ab}	108,8±20,7 ^{*b}
Гт, %	42,0±4,5	42,7±6,6	37,7±1,1 ^{*b}	39,8±5,5
Эр, 10 ¹² /л	5,25±0,59	5,72±0,45	4,50±0,43 ^{**ab}	5,07±0,47 ^{**b}
СрОЭ, мкм ³	81,0±13,8	74,4±9,9	84,5±8,7 ^{*b}	79,4±8,6
ССЭ, пг	20,7±4,7	23,5±1,7	20,8±2,2 ^{*b}	21,4±3,5
СКГ, %	25,4±1,8	32,2±6,1	24,6±1,2 ^{**b}	27,0±2,9 ^{*b}
Rt, ‰	13,9±7,3	9,2±3,8 ^{*c}	9,1±1,8	12,3±3,8
Rt, 10 ¹² /л	0,10±0,04	0,05±0,02	0,04±0,01	0,06±0,02

Примечание: *– разница достоверна при $p < 0,05$; **– $p < 0,01$. Достоверность разницы оценивали: ^a – по сравнению с группой контроль; ^b – по сравнению с группой облучение. Эр – концентрация эритроцитов, Гт – гематокрит, Нб – концентрация гемоглобина, СрОЭ – среднечеточный объем эритроцитов, ССЭ – среднее содержание гемоглобина в эритроците, СКГ – среднечеточная концентрация гемоглобина, Rt – концентрация ретикулоцитов; n- количество проанализированных животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ Президиума УрО РАН «Научные основы создания новых адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения (12-П-4-1023) и Президиума РАН «Молекулярно-клеточные механизмы ответных реакций организмов на хроническое воздействие факторов физической и химической природы низкой интенсивности» (12-П-4-1021).

Литература

Петин В. Г., Сынзыныс Б. И. Комбинированное воздействие факторов окружающей среды на биологические системы. Учебное пособие для студентов специальности 013100 «Экология» Обнинск: ИАТЭ, 1998. 74 с.

Шабанов П. Д., Лебедев А. А., Мещеров Ш. К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. СПб., 2002. 208 с.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ МИКРОЯДЕР В КЛЕТКАХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОЛЕВОК, ОБИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ РАДИОАКТИВНОСТИ И ИХ ПОТОМКОВ

*О. В. Раскоша, О. В. Ермакова, Н. Н. Старобор
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН*

Изучение эффектов воздействия хронического низкоинтенсивного излучения на биологические объекты в условиях естественной среды их обитания является одной из наиболее актуальных проблем современной радиэкологии. Особое значение данная проблема имеет для Республики Коми, характеризующейся наличием участков с повышенным радиационным фоном естественного и техногенного происхождения.

Одним из информативных и быстрых способов индикации цитогенетических повреждений является микроядерный тест, основанный на подсчете количества интерфазных клеток с добавочными ядерными тельцами (микроядрами), которые образуются из изолированных фрагментов или целых хромосом во время предшествующего митоза [1, 2]. В последнее время показано, что микроядерный тест при использовании в качестве тест-системы фолликулярных тироцитов по чувствительности сопоставим с таковым на эритроидных клетках костного мозга, однако, по сравнению с последним, позволяет регистрировать действие вещества в более широком диапазоне доз [3].

В литературе имеются единичные описания усиленного образования микроядер в культуре тироцитов крыс под влиянием радиационных воздействий (диапазон доз 2–14 Гр) [4]. В экспериментах на крысах, облученных в дозе 5 и 50 сГр в течение 80 и 55 сут соответственно, отмечено трехкратное увеличение частоты микроядер в тироцитах [5]. Целью наших исследований было выявить частоту встречаемости микроядер в клетках щитовидной железы полевок-экономок, обитающих в условиях повышенного уровня естественной радиоактивности, а также определить уровень цитогенетических повреждений у их потомков (F_1 , F_2 и F_3), которые содержались в виварии в условиях нормального уровня радиоактивности.

Полевок отлавливали на территории, расположенной в зоне средней тайги Республики Коми; на контрольном участке уровень экспозиционной дозы составлял 10–15 мкР/ч, на опытном участке гамма-фон был в 10–100 раз выше, содержание ^{226}Ra в почвах на 3 порядка превышало кларковые величины. Отловленные полевки были доставлены в питомник для анализа и разведения последующих поколений. Все животные содержались в виварии в одинаковых стандартных условиях со свободным доступом к корму и воде. Декапитировали половозрелых особей, у которых извлекали щитовидные железы для приготовления мазков. Мазки окрашивали акридиновым оранжевым и на 1000 клеток подсчитывали число микронуклеированных тироцитов [5, 6].

В результате проведенного исследования выявлен генотоксический эффект хронического воздействия низкоинтенсивного γ -излучения на фолликулярный эпителий ЩЖ полевок, обитающих на радиоактивном участке, проявляющийся в усиленном формировании клеток с микроядрами (в 2.6 раза по сравнению с

контролем) (рис.). Между потомками от этих животных (F_1 , F_2 и F_3), находящихся в виварии в одинаковых стандартных условиях с нормальным уровнем радиоактивности (10-15 мкР/ч), статистически значимых различий не обнаружено. Полученные результаты свидетельствуют о высокой информативности микроядерного теста для выявления лучевых поражений генетического аппарата фолликулярного эпителия щитовидной железы у животных из природных популяций.

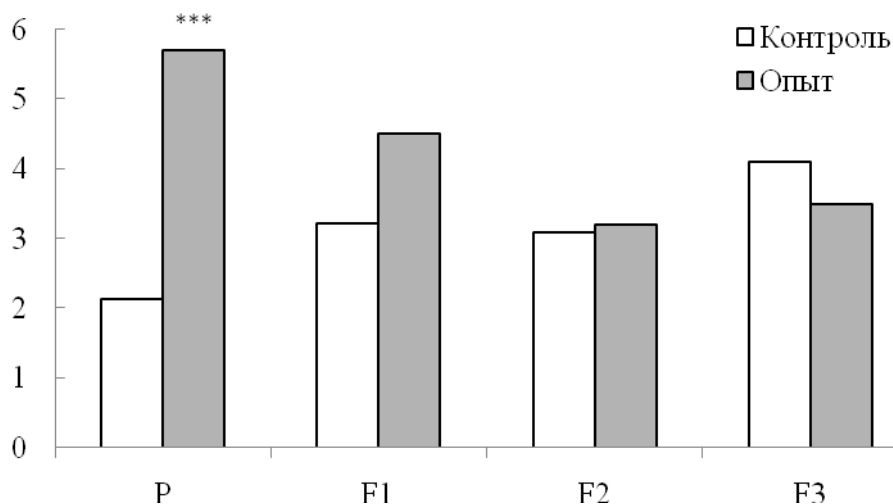


Рис. Количество микроядер в клетках щитовидной железы (‰) у полевок-экономок, обитавших в различных радиоэкологических условиях (P) и их потомков (F_1 , F_2 и F_3).

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-04-90354-РБУ_а и инициативным проектом № 12-У-4-1015.

Литература

1. Schmid W. // *Mutat. Res.* 1975. V. 31. № 1. P. 9–15.
2. Heddle J. A., Cimino M. C., Hayashi M. et al. // *Environ. Mol. Mutagen.* 1991. V. 18. P. 277–291.
3. Гансбургский М. А. Анализ клеток с микроядрами в оценке пролиферации эпителия щитовидной железы. Автореф. на соиск. уч. степени канд. мед. наук, Ярославль, 2005. 28 с.
4. Schneider B. M., Wurgler F. E., Romagna F. // *Mutat. Res.* 1995. V. 334. № 1. P. 81–89.
5. Ермакова О. В и др. Цитогенетические эффекты в фолликулярном эпителии щитовидной железы крыс при длительном воздействии γ -излучения в малых дозах // *Радиационная биология. Радиоэкол.*, Т. 48, № 2. 2008. С. 160–166.
6. Ермакова О. В. и др. // Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды: Матер. Междунар. конф. (Сыктывкар 28 сентября – 1 октября 2009). Сыктывкар, 2009. С. 47–50.

РАЗДЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛОЙ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

А. В. Пыстина¹, Е. Н. Репина², А. Г. Кудяшева³
¹ Сыктывкарский государственный университет,
² Коми государственный педагогический институт,
³ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

В природных и производственных условиях нашего времени организм нередко испытывает влияние необычных, чрезмерных и жестких факторов среды. Адаптация к ним может носить самый различный характер и затрагивать все стороны организации и жизнедеятельности человека и животных. Неспецифическую сопротивляемость организма можно повысить с помощью физиологически активных соединений природного происхождения – адаптогенов. В качестве наиболее перспективных из них в настоящее время являются фитостероиды, одним из которых является Серпистен, выделенный из листьев и побегов растения серпухи венценосной (*Serratula coronata*) и интродуцированный в Республике Коми. Целью данной работы является определение эффективности раздельного действия Серпистена и хронического γ -облучения в малой дозе на поведенческие реакции и показатели белой крови лабораторных мышей. В экспериментах использовали самцов белых беспородных мышей и линии СВА/Лас в возрасте от 3 до 7 месяцев. В первом эксперименте мыши были разделены на три группы по 10 особей в каждой: 1) контроль – К1; 2) Серпистен 5 мг/кг (5С1) – курсовое употребление в течение 10 суток; 3) Серпистен 15 мг/кг (15С1) – курсовое употребление в течение 10 суток. Все группы животных прошли сначала поведенческие тесты, затем двум группам мышей питьевую воду заменили раствором Серпистена (5 мг/кг, 15 мг/кг), которую они пили в течение 10 суток. Контрольная группа мышей пила обычную питьевую воду. После окончания курса приема Серпистена вновь были проведены поведенческие тесты у всех групп животных. Во втором эксперименте использовали три группы животных: 1 группа – контроль (интактные мыши без действия облучения и употребления Серпистена), 2 группа – мыши пили вместо питьевой воды раствор Серпистена (per os, 15 мг/кг, 7 дней), 3 группа – хроническое гамма-облучение радиевыми источниками мышей в течение 10 дней (суммарная доза 7.5 сГр). До начала воздействия исследуемых факторов и после окончания воздействий проводили тесты, характеризующие поведение мышей (тест «Открытое поле», Т-образный лабиринт) и после этого анализировали отдельные показатели белой крови. Общее количество лейкоцитов крови подсчитывали общепринятым методом в камере Горяева (Меньшиков и др., 1987), количественное соотношение различных видов лейкоцитов проводили дифференцированным подсчетом клеток в мазках крови (Тодоров, 1963) и розеткообразующие клетки определяли по методу Д. И. Бельченко (1992). Обработку полученных данных проводили общепринятыми статистическими методами.

Результаты первого эксперимента по действию Серпистена в дозах 5 мг/кг и 15 мг/кг на поведенческие реакции мышей показали, что количество пересеченных квадратов и количество стоек в группе мышей, принимавших Серпистен в дозе 15 мг/кг, уменьшилось, что означает уменьшение горизонтальной двигательной активности и вертикальной исследовательской активности животных. Количество актов груминга, которые отражают тревожность животных, во всех группах мышей снизилось, особенно у мышей, принимавших Серпистен в дозе 15 мг/кг. Количество болюсов дефекаций во всех группах увеличилось, что свидетельствует о повышении эмоциональности животных. Таким образом, применение Серпистена в дозе 15 мг/кг оказывает положительное действие на поведение мышей. При анализе данных в тесте «Т-образный лабиринт» установлено, что существенные изменения времени выхода из лабиринта наблюдали только в группе мышей, принимавших Серпистен в дозе 15 мг/кг. Эти результаты свидетельствуют о повышении тонуса и активности центральной нервной системы, стимулировании ориентировочно-исследовательской реакции и памяти, что выражается в активизации поиска, быстром запоминании маршрута и ускорении нахождения выхода из лабиринта мышей. Следовательно, наиболее эффективной дозой Серпистена в Т-образном лабиринте является доза 15 мг/кг.

Во втором эксперименте результаты анализа поведенческих реакций в тесте «Открытое поле» не показали достоверных изменений при действии гамма-облучения в низкой дозе, тогда как при курсовом введении Серпистена *per os* мышам наблюдали повышение горизонтальной и исследовательской активности в 2,5 раза, что свидетельствует о воздействии гамма-облучения по сравнению с группой мышей, потреблявших один Серпистен. В тесте Т-образный лабиринт воздействие сравниваемых факторов было противоположным: при γ -облучении уменьшается время пребывания мышей в лабиринте, а при применении раствора Серпистена в течение 7 дней, наоборот, увеличивается время нахождения мышей в лабиринте.

Анализ показателей белой крови у мышей показал, что при хроническом низкоинтенсивном воздействии отмечали снижение общего количества лейкоцитов крови на 49% по сравнению с группой контрольных животных. В лейкоформуле доля гранулоцитов повышается на 28% за счет нейтрофилов (32%), в основном сегментоядерных клеток (47%), а количество палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов и лимфоцитов снижается по сравнению с исходным уровнем (табл.). В крови облученных мышей, по сравнению с интактными животными выявлено существенное увеличение ауторозеток (в 2,2 раза) как за счет сегментоядерных нейтрофилов (в 2,4 раза), так и моноцитов (85%). При курсовом введении Серпистена у мышей картина белой крови в целом претерпевает незначительные изменения; количество ауторозеток в крови значительно ниже по сравнению со всеми опытными группами животных.

**Гематологические показатели белой крови мышей
при раздельном действии γ -облучения (7.5 сГр) и Серпистена
(15 мг/кг) ($X \pm m_x$)**

Показатель	Контроль n=18	Облучение (n=8)	Серпистен (n=10)
Лейкоциты, тыс/мкл	4,52±0,36	0,31±0,36****	2,58±0,18****
Гранулоциты, %	26,39±1,14	33,81±1,74***	22,5±1,28**
Нейтрофилы, %	24,53±1,12	32,44±1,55****	22,0±1,34 P<0,2"
Палочкоядерные, %	5,33±0,49	4,31±0,55 P<0,2	4,35±0,46 P<0,2
Сегментоядерные, %	19,19±0,91	28,13±1,14****	17,65±1,12 P<0,3"
Эозинофилы, %	14,44±0,16	1,31±0,25	0,4±0,15 **** "
Базофилы, %	0,42±0,15	0,06**	0,1*' "
Агранулоциты, %	73,61±0,15	66,19±1,74***	77,5±1,28***"
Моноциты, %	7,72±1,25	9,38±0,93 P<0,3	9,85±0,93, P<0,2
Лимфоциты, %	65,89±1,74	56,81±1,78***	67,65±1,14, P<0,5

Примечание: разница с контролем достоверна при P<0,18*, <0,05**, <0,01***, <0,001****; разница с облучением достоверна при P < 0,01', <0,001", n – количество проанализированных животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ Президиума УрО РАН «Научные основы создания новых адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения (12-П-4-1023) и Президиума РАН «Молекулярно-клеточные механизмы ответных реакций организмов на хроническое воздействие факторов физической и химической природы низкой интенсивности» (12-П-4-1021).

Литература

Бельченко Д. И. Внутрисосудистое ауторозеткообразование при гемолитических анемиях // Гематология и трансфузиология. 1992. № 4. С. 23–25.

Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 368 с.

Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: Физкультура и медицина, 1963. 608 с.

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНЕРГИИ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНОГО В ОТВЕТ НА СТРЕССИРУЮЩИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Е. С. Овчинникова¹, О. А. Жигальский²

¹ *Уральский Федеральный университет
им. первого президента России Б. Н. Ельцина,*

² *Институт экологии растений и животных УрО РАН*

Жизнедеятельность организма связана с энергозатратами на основной обмен, локомоцию, поиск пищи, терморегуляцию, фазу быстрого роста, поиск полового партнёра, размножение, рост тканей, а так же на экстренные стрессовые воздействия разной природы (Жигальский, Жокушева, 2009).

Согласно представлениям Селье (1960), реакция организма на любые внешние воздействия, помимо специфических механизмов, включает в себя

неспецифический ответ, который не зависит от характера и природы воздействия. Эволюционная обоснованность возникновения такого ответа диктуется, прежде всего, необходимостью мобилизации энергетических и пластических ресурсов организма для компенсации внешних воздействий (Селье, 1960).

Под воздействием энергомобилизирующего эффекта в кровь поступают дополнительные энергетические субстраты – глюкокортикоиды. Функция глюкокортикоидов, как одного из основных компонентов стресс-реакции, помимо энергетического обеспечения нормального суточного ритма локомоторной, пищевой, исследовательской и других форм активности состоит в обеспечении организма легко доступной энергией для компенсации отклонений гомеостаза, вызванных стрессором (Селезнев и др., 1981).

На уровне организма эффект глюкокортикоидов выражается в повышении доступности энергосубстратов, повышении потребления кислорода, перераспределении потока кровообращения (отток крови от органов, не вовлеченных в локомоцию), подавлении процесса пищеварения, подавлении роста, понижении болевой чувствительности и подавлении репродуктивной функции (Панин, 1983).

В естественной природной среде имеются некоторые запасы энергии и вещества, которые в значительной степени определяются сезоном и погодными условиями. Исходя из материалов О. А. Жигальского и З. Г. Жокушевой (2009), общую энергию, поступающую в организм с пищей можно разделить на несколько составляющих – это энергия расходуемая на общий обмен, в который входят затраты на основной обмен, поиск пищи и фазу быстрого роста. Нехватка энергии на любую из этих составляющих может привести к гибели животного. К общей энергии также относится энергия, расходуемая на обеспечение таких функций как активность (поиск партнёра и исследовательская деятельность), размножение и рост мышечных и жировых тканей (Жигальский, Жокушева, 2009).

Так как животное обитает в определённой среде, оно подвергается воздействию сезонных, климатических, антропогенных, стрессирующих и др. факторов. Необходимым условием для полноценного жизнеобеспечения является перераспределение и мобилизация энергии на необходимые в данный момент физиологические потребности животного.

С нашей точки зрения, если поступающей энергии больше, чем необходимо на общий обмен, включая затраты на основной обмен, поиск пищи и фазу быстрого роста, то животное может истратить излишек поступившей энергии на активность, включая затраты на охрану индивидуального участка, исследовательскую деятельность и поиски полового партнёра. Если энергии более чем достаточно на обеспечение всех вышеперечисленных функций, то её излишки могут быть потрачены на размножение и воспитание потомства. Если же энергия ещё остаётся, то она может быть использована на рост мышечных и жировых тканей.

При возникновении стрессовой ситуации часть поступающей в организм энергии должна тратиться на компенсацию стрессовых воздействий. В таком случае можно наблюдать обратное перераспределение энергии, при котором в

первую очередь прекращается рост тканей, размножение и половое созревание, затем снижаются затраты на любую форму активности, и если энергии будет недостаточно, то прекращается фаза быстрого роста. Всё это ведёт к гибели животного (Жигальский, Жокушева, 2009).

Таким образом, стресс-реакция является механизмом, мобилизующим ресурсы организма и перераспределяющим их в пользу систем, активирующихся при неблагоприятных воздействиях, нарушающих гомеостаз. Такая система позволяет оптимально (быстро и точно) реагировать на внешние воздействия, обеспечивая организм ресурсами для восстановления и поддержания гомеостаза (Панин, 1983).

Однако при достаточно продолжительных по времени воздействиях (хронических стрессах) свободные ресурсы организма могут оказаться исчерпанными, и дальнейшая их мобилизация будет осуществляться за счет систем, не участвующих напрямую в развитии стресс-реакции. Следствием этого является угнетение отдельных систем организма (иммунной, репродуктивной) либо его общее истощение (Панин, 1978).

Стресс-индуцированное перераспределение энергии, затрачиваемой на реализацию тех или иных функций организма, может оптимизировать энергетические затраты как отдельного животного, так и популяции в целом и, кроме того, воздействовать на биоценоз через изъятие пищевых ресурсов. Все это составляет сущность адаптационной стратегии.

Литература

Жигальский О. А., Жокушева З. Г. Продуктивность мелких млекопитающих и их связь с растительным покровом // Аграрный вестник Урала. 2009. № 11(65). С. 95–97.

Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука, 1983. 232 с.

Панин Л. Е. Энергетические аспекты адаптации. Л.: Наука, 1978. 172 с.

Селезнев Ю. М. Глюкокортикоиды в гормональной регуляции метаболизма сердца / Ю. М. Селезнев, С. М. Данилов, Н. Г. Волкова, Г. В. Колпакова, А. В. Мартынов // Метаболизм миокарда. Матер. IV Советско-Американского симпозиума. Ташкент, 1979. М.: Медицина, 1981. С. 211–225.

Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М., 1960. 254 с.

КИСЛОТНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Е. А. Голубева¹, Ж. Е. Иванкова¹, А. Ю. Людина²

¹ *Сыктывкарский государственный университет,*

² *Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН*

Гипоксия – патологическое состояние, наступающее в организме при неадекватном снабжении тканей и органов кислородом или при нарушении утилизации в них кислорода. Возникает абсолютная или относительная недостаточность биологического окисления, приводящая к энергетической необеспеченности жизненных процессов и закономерным метаболическим, функциональным и морфологическим нарушениям вплоть до гибели и распада живой структуры (Воложин, Порядина, 2006). Гипоксия встречается часто и служит патогенетической основой или важным компонентом множества

различных заболеваний (Бизенкова и др., 2006). Оценка кислотной резистентности эритроцитов (КРЭ) используется для анализа состояния эритроцитарной мембраны и происходящих в ней процессов (Борисов и др., 2007), кроме того она может иметь разностороннее клиническое значение (Sharma et al., 2010).

Целью данной работы было изучить влияние острой нормобарической гипоксии на КРЭ. Исследовали 13 проб крови мужчин-добровольцев (21–26 лет). Гипоксическое воздействие моделировали путем подачи через кислородную маску кислородно-азотной газовой смеси с 9%-ным содержанием O_2 . Парциальное давление O_2 в смеси приблизительно соответствовало таковому на высоте 7000 м. Запланированное время гипоксического воздействия составляло 50 мин. Забор крови проводили в покое (фон), на 5, 10 и 35-й минутах гипоксического воздействия. Достоверность разницы определяли с помощью критерия Вилкоксона (Гланц, 1999).

В данной работе каждый доброволец предварительно был ознакомлен с полным протоколом исследования. На момент исследования испытуемым была одета кислородная маска, через которую позже поступала кислородно-азотная газовая смесь с 9%-ным содержанием кислорода. Одновременно с маской был введен венозный катетер. Данные факторы могли способствовать формированию эмоционального стресса у испытуемых. Исследована КРЭ 5-ти проб крови в момент введения катетера (фон 1) и через 15 мин после введения (фон 2). Отмечалось небольшое смещение кислотной эритрограммы испытуемых (фон 2) в сторону меньших временных значений. После воздействия стресс-фактора максимум эритрограммы наступает на 0,2 мин раньше, ширина интервала гемолиза увеличивается на 0,2 мин, происходит небольшое растяжение правой ветви эритрограммы, что может свидетельствовать о выходе в сосудистое русло высокостойких эритроцитов (Эр.). Так как изменения эритрограммы незначительные и недостоверны, можно предположить, что данный вид стресса существенно не влияет на КРЭ.

Исследование КРЭ на 5, 10 и 35 мин гипоксии показало увеличение суммарной КРЭ у 4-х испытуемых, кривая кислотной эритрограммы сдвигается в сторону больших временных значений, вершина кривой эритрограммы смещается вправо (рис.). У 5-ти испытуемых отмечается уменьшение КРЭ. У 4-х испытуемых существенных сдвигов эритрограмм при воздействии острой гипоксии не наблюдается. Наиболее сильные различия в эритрограммах отмечены в пробах крови, взятых на 5-ой минуте гипоксии, к 10-й и 35-й минутам отмечается тенденция к уменьшению разницы между показателями КРЭ, что возможно связано с кратковременным влиянием острой гипоксии на резистентность Эр.

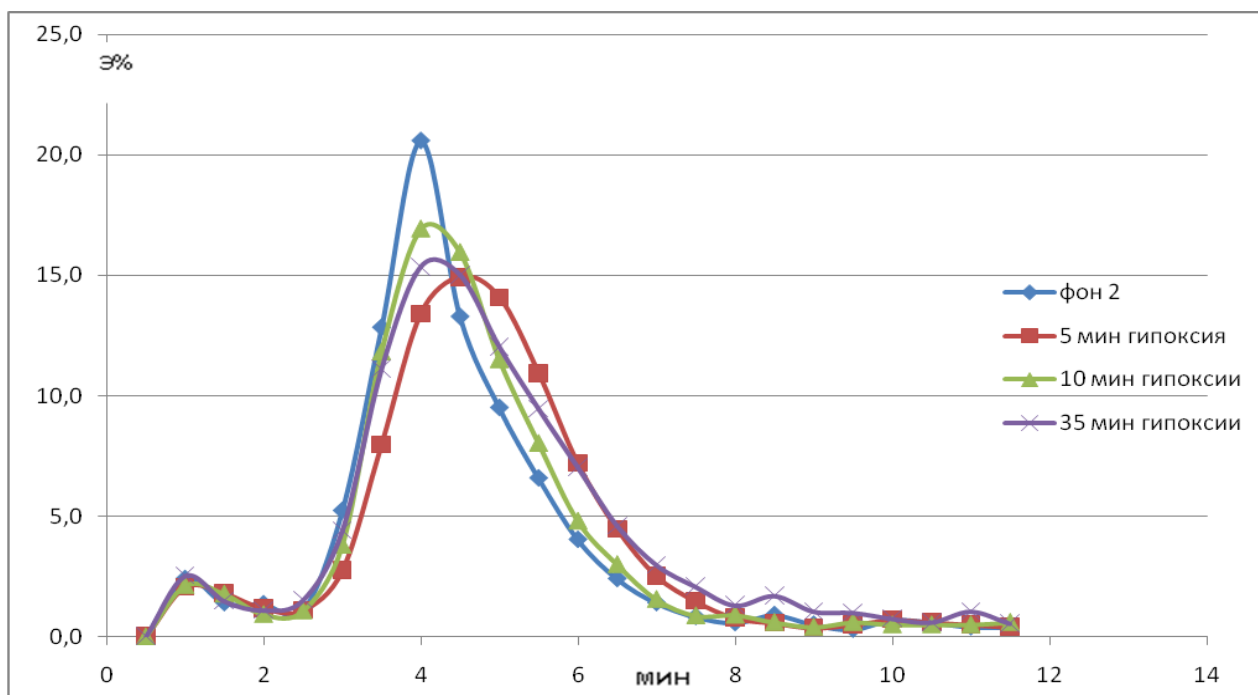


Рис. КРЭ человека при воздействии острой гипоксии

Анализ показателей КРЭ показал достоверное уменьшение средней высоты максимума эритрограммы на 1,2% (табл.) и увеличение ассиметричности на 0,3 ед при воздействии гипоксии на 5 мин по сравнению с исходными (до гипоксии) данными ($p \leq 0,05$). Данные изменения могут быть связаны с уменьшением пула среднестойких эритроцитов.

Таблица

Показатели КРЭ человека при воздействии острой гипоксии (M±SD)

Показатель	Фон 2	5 мин	10 мин	35 мин
t_n , мин	2,6±0,2	2,7±0,3	2,6±0,3	2,6±0,2
t_0 , мин	7,6±0,7	7,7±0,9	7,6±1,2	7,7±1,3
R , мин	5,0±0,6	5,0±0,8	5,0±1	5,1±1,2
t_A , мин	4,1±0,5	4,0±0,5	4,0±0,5	4,0±0,3
A%	20,5±5,9	9,3±3,2*	19,0±3,9	19,9±3,2
A_s	2,7±0,9	3,0±1,1*	3,0±1,5	2,7±1
$t_{1/2}$, мин	5,1±0,4	5,2±0,6	5,1±0,7	5,1±0,7

Примечания: * – разница достоверна при $p < 0,05$ по сравнению с фоном.

Гипоксическое воздействие вызывает повышение активности физиологических механизмов, направленное на компенсацию гипоксии (Бойко и др., 2010). Известно, что одним из механизмов компенсации гипоксии является повышенное содержание эритроцитов, а также их предшественников – ретикулоцитов. А. Г. Кочетов (2009) показал, что дыхание гипоксической газовой смесью по сравнению с дыханием атмосферным воздухом во время первых сеансов не приводит к выраженным сдвигам показателей (число эритроцитов, гемоглобин, гематокрит), за исключением роста числа ретикулоцитов. Увеличение концентрации в крови молодых клеток крови может отразиться на КРЭ. С другой стороны, гипоксия реализует свое патогенное действие посредством изменения структуры и функции клеточных мембран в результате активации перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Активация ПОЛ и накопление продуктов перекисидации может привести к дестабилизации клеточных мембран и нарушению в целом функции клеток (Ткаченко, 2001). Свободные радикалы в большом количестве оказывают влияние на активность ферментов, изменяющих химический состав, физические свойства, проницаемость и структуру эритроцитарных мембран. Это в свою очередь отражается на процессах клеточного метаболизма и нарушает нормальную жизнедеятельность клетки, вследствие чего в крови появляется в большом количестве поврежденные фрагменты Эр (Алекперова, Джавадов, 2004).

Таким образом, КРЭ в условиях острой гипоксии изменяется неоднозначно, может зависеть от индивидуальных приспособительных реакций человека.

Литература

- Алекперова Г. А., Джавадов С. А. Оценка мембранных белков эритроцитов при острых лейкозах // Гематология и трансфузиология. 2004. Т. 49. № 4.
- Бизенкова М. Н., Романцов М. Г., Чеснокова Н. П. Метаболические эффекты антиоксидантов в условиях острой гипоксической гипоксии // Фундаментальные исследования. 2006. № 1. С. 17–21
- Бойко Е. Р., Людина А. Ю., Бурых Э. А. и др. Изменение пула жирных кислот в плазме крови у человека при воздействии острой нормобарической гипоксии // Российский Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2010. № 5. С. 441–454.
- Борисов Ю. А., Спиридонов В. Н., Суглобова Е. Д. Резистентность эритроцитарных мембран: механизмы, тесты, оценка (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. № 12. 2007. С. 36–39.
- Воложин А. И., Порядина Г. В. Патифизиология. М.: Academia, 2006. Т. 2. 256 с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
- Кочетов А. Г. Гематологические эффекты нормобарической гипокситерапии у больных конгестивным хроническим простатитом. М., 2005.
- Ткаченко Б. И. Физиологические основы здоровья человека (учебник для вузов). СПб.; Архангельск, 2001. 728 с.
- Sharma B., Rai D.K., Rai P.K., Rizvi S.I., Watal G. Determination of erythrocyte fragility as a marker of pesticide-induced membrane oxidative damage // Methods Mol. Biol. 2010. V. 594. P. 123–128.

КИСЛОТНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ DIDS *IN VITRO*

Е. А. Стенина, А. А. Мищенко
Сыктывкарский государственный университет

Кислотный гемолиз широко используется для оценки состояния эритроцитов и, в частности, их мембраны (Никищенко, 2010; Стусь, 1994). Выделяют несколько стадий этого процесса. Предполагается, что на начальных стадиях происходит поступление H^+ внутрь эритроцита, значит на гемолиз оказывают влияние как внеклеточные, так и внутриклеточные протоны.

С целью определить, насколько процесс кислотного гемолиза зависит от внутриклеточных протонов, проведены исследования действия стильбенового производного диизоцианостильбендисульфоновая кислота (DIDS) – специ-

фического ингибитора транспорта H^+ в эритроцит (Grinstein et al., 1979) – на кинетику гемолиза.

Для исследования использовали кровь мужчин-доноров, взятая на Республиканской станции переливания крови (г. Сыктывкар). Гемолиз проводили стандартным способом (Стусь, 1994; Трикуленко и др., 1996), но в качестве гемолитика вместо кислоты использовали буфер по Макилвейну pH 2.6.

DIDS («Sigma») в разных концентрациях добавляли к пробам крови за 20 минут до регистрации кислотных эритрограмм. Результаты обрабатывали методами парных и непарных сравнений, достоверность различий оценивали по критерию Вилкоксона.

Данные по действию DIDS представлены на рис. 1, 2.

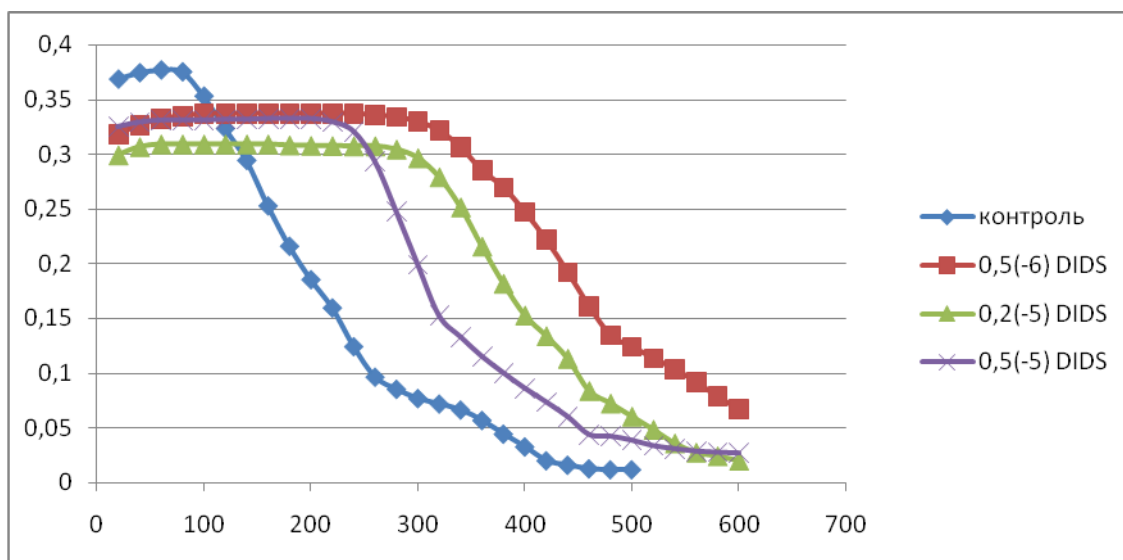


Рис. 1. Кислотный гемолиз эритроцитов при концентрациях DIDS 10^{-6} – 10^{-5} М. Ось абсцисс – время, с; ось ординат – оптическая плотность D, измеренная при длине волны 540 нм

В отсутствие вещества (контроль) гемолиз начинается на 100 секунде, заканчивается к 500 с. Средняя скорость гемолиза, вычисленная как изменение оптической плотности D после инициации разрушения эритроцитов (в контроле на 2-й минуте) составила 0,19 ед. D/мин. DIDS в концентрации $0,5 \cdot 10^{-6}$ М приводит к увеличению времени начала и окончания гемолиза примерно в 3,5 раза. Средняя скорость разрушения эритроцитов при действии DIDS не изменяется. Известно (Grinstein et al., 1979), что начиная с концентрации 125 мкМ, DIDS вызывает практически полное подавление анионообменника эритроцитарной мембраны, от которого зависит поступление протонов в эритроциты (Gasbjerg, Brahm, 1991; Lambert, Lowe, 1980). Дальнейшее повышение концентрации DIDS до $0,5 \cdot 10^{-5}$ М не приводит к более полному ингибированию гемолиза эритроцитов. Напротив, начиная с концентрации $0,2 \cdot 10^{-5}$ М, процесс гемолиза не замедляется, а увеличивается. При концентрации $0,2 \cdot 10^{-5}$ время начала увеличено по сравнению с контролем в 3,2 раза, а при концентрации $0,5 \cdot 10^{-5}$ М – лишь в 1,5 раза. Мы объясняем такое ускорение процесса гемолиза дестабилизирующим влиянием DIDS в высоких концентрациях на эритроцитарную мембрану.

При концентрациях DIDS меньших $0,5 \cdot 10^{-6}$ М скорость гемолиза уменьшается по сравнению с контролем в зависимости от концентрации вещества (рис. 2).

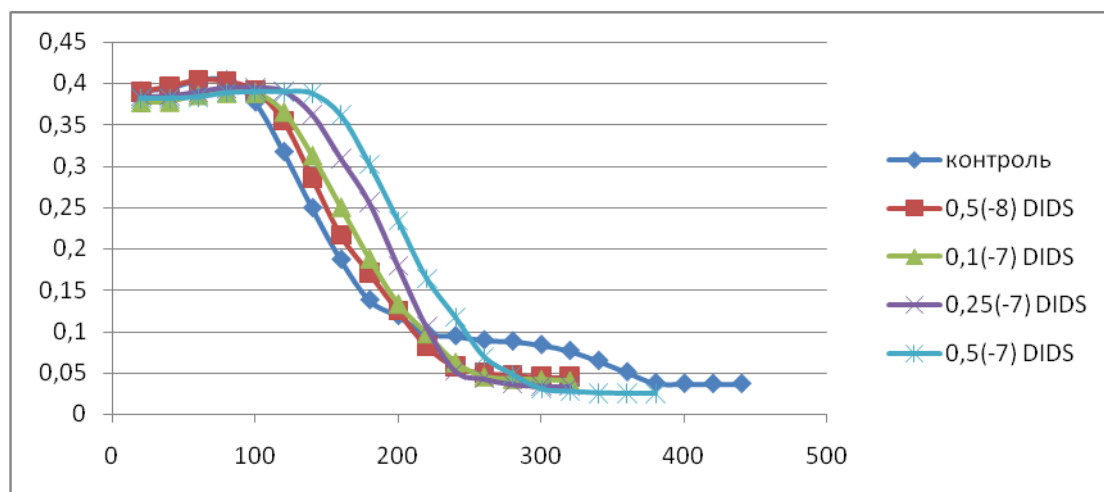


Рис. 2. Кислотный гемолиз эритроцитов при концентрациях DIDS 10^{-8} – 10^{-7} М. Ось абсцисс – время, с; ось ординат – оптическая плотность D, измеренная при длине волны 540 нм

В частности, при концентрациях DIDS $0,5 \cdot 10^{-8}$ и $0,1 \cdot 10^{-7}$ М, время начала гемолиза увеличивается в среднем на 20 %; при концентрации $0,25 \cdot 10^{-7}$ М – на 40%, при концентрации $0,5 \cdot 10^{-7}$ М – на 60%. Начавшись, процесс разрушения эритроцитов не зависит от присутствия ингибитора, так как идет примерно с одинаковой скоростью при исследованных концентрациях DIDS.

Таким образом, блокирование переноса H^+ в эритроцит приводит к значительному удлинению времени наступления гемолиза. Данный факт указывает на непосредственное участие внутриклеточных протонов в начальных стадиях, запускающих это процесс.

Литература

Никишенко С. А. Кислотная резистентность эритроцитов как способ оценки гемолитического риска при кардиохирургических операциях // Сб. статей по материалам Международной 69-й научной конференции, посвященной 200-летию со дня рождения Н. И. Пирогова. Томск. 2010.

Стусь Л. К. Кислотный гемолиз эритроцитов в зависимости от температуры и сроков хранения // Биофизика. 1994. Вып. 2. С. 362–364.

Трикуленко А. В., Пинишко У. В., Панкевич Г. Л. Кинетика кислотного лизиса эритроцитов в присутствии лигандов некоторых интегральных белков плазматической мембраны // Биофизика. 1996. Вып. 6. С. 1275–1277.

Gasbjerg P. K., Brahm J. Kinetics of bicarbonate and chloride transport in human red cell membranes // J. Gen. Physiol. 1991. V. 97. P. 321–349.

Grinstein S., McCulloch L., Rothstein A. Transmembrane effects of irreversible inhibitors of anion transport in red blood cells // J. Gen. Physiol. 1979. V. 73. № 4. P. 493–514.

Lambert A., Lowe A.G. Chloride – bicarbonate exchange in human red cells measured using a stopped flow apparatus // J. Physiol. 1980. V. 306. P. 431–443.

УСТОЙЧИВОСТЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ ГОРНО-ТУНДРОВЫХ ПОЧВ НА ПРИМЕРЕ ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА

И. В. Новаковская, Е. Н. Патова, М. Д. Сивков
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
novakovskaya@ib.komisc.ru, patova@ib.komisc.ru

В горных экосистемах с экстремальными условиями среды почвенные водоросли являются основными автотрофными организмами. Наряду с другими споровыми организмами они выступают в роли ведущей группы в фитоценозах и формируют на поверхности субстратов криптогамные корки. Экологические факторы оказывают влияние на формирование видового состава водорослей в альгоценозах, основными из которых являются температура, влажность, содержание общего азота, углерода в почве, а также микро- и макроэлементов и др. (Голлербах, Штина, 1969; Hoffmann, 1989).

Цель работы – выявить особенности формирования видового разнообразия водорослей горно-тундровых почв Приполярного Урала под влиянием разных экологических факторов.

Исследования проведены в конце июля 2010 г. на Приполярном Урале. Было обработано 11 смешанных проб из разных вариантов горно-тундровых сообществ. Сборы выполнены общепринятыми в почвенной альгологии методами, пробы отбирали на глубине 0–2 см. Для выявления видового разнообразия использовали прямое микроскопирование почвы и накопительные культуры, с последующим выделением из них монокультур. Выращивание водорослей проводили с применением жидких и агаризованных сред 1N-BBM и Bg 11. Для идентификации видов использовали отечественные и зарубежные определители. Химический анализ почвенных образцов был проведен в аккредитованной экоаналитической лаборатории «Экоаналит» Института биологии Коми НЦ УрО РАН. В момент отбора почвенно-альгологических образцов на всех исследованных участках были проведены измерения влажности с помощью почвенного влагомера TDR-100, а также температуры на поверхности и 10 см слое почвы термометром контактный ТК-5 с 50 см металлическим щупом и инфракрасным термометром безконтактным Optris MiniSight.

Всего было выявлено 50 видов водорослей из пяти отделов, 8 классов, 16 порядков, 27 семейств, 31 рода. Большинство выявленных видов относится к отделам Chlorophyta – 37 и Cyanoprokaryota – 9, а также обнаружены Bacillariophyta – 2, Xanthophyta – 1 и Eustigmatophyta – 1.

Ведущими семействами в горно-тундровых почвах Приполярного Урала являются Chlamydomonadaceae (6 видов), Bracteacoccaceae и Myrmeciacae (по 4). Наибольшее число видов выявлено из родов *Chlamydomonas*, *Chlorococcum*, *Bracteacoccus*. Наиболее часто в пробах отмечены виды *Phormidium (Lyngbya) ambiguum* Gom. и виды рода *Pseudococcomyxa*.

Район исследования характеризуется суровыми экологическими условиями. В горно-тундровом и гольцовом поясах наблюдаются резкие колебания температуры и влажности, сильная солнечная инсоляция, низкое

содержание в почвах основных биогенных элементов. Экстремальность условий подчеркивает присутствие видов, встречающихся преимущественно только в почвах холодных регионов (Антарктика и субантарктические острова) *Chlamydocapsa lobata* Broady, *Fottea pyrenoidosa* Broady, cf. *Coenochloris signiensis* (Broady) Hind.

На высотном градиенте наблюдается изменение разнообразия водорослей: наименьшее видовое разнообразие (4–6 видов) отмечается в пробах, отобранных из гольцового пояса (1300 м над ур. м.), наибольшее – в сообществах горно-тундрового пояса на высотах 600–900 м над ур. м. На больших высотах доминируют мелкие одноклеточные неподвижные зеленые водоросли из родов *Elliptochloris* и *Pseudococcomyxa*, а также нитчатые Cyanoprokaryota из родов *Phormidium* и *Leptolyngbya*. Эти почвы отличаются низкой влажностью (2,2–6,7%) и резкими колебаниями температуры на поверхности и в 10 см слое почвы. В горно-тундровых почвах состав доминантов более разнообразен, появляются крупноклеточные и нитчатые формы из родов *Chlorococcum*, *Ulothrix*, *Klebsormidium* и *Stigonema*.

Относительно высокую влажность почвы 42,6 и 42,3% (злаково-осоковые луга на участках, расположенных в горных долинах вблизи оз. М. Балбанты) индицируют диатомовые водоросли, а также гидрофильные виды из рода *Scenedesmus*. Здесь отмечено относительно высокое видовое разнообразие зеленых водорослей и цианопрокариот, а также массовые разрастания нитрофильного вида – *Phormidium autumnale* (Ag.) Gom., что связано с высоким содержанием азота и углерода в результате выпаса оленей.

Важное влияние на развитие почвенных водорослей оказывает кислотность среды в исследованных почвах диапазон показателей Ph вод. был в пределах 4,46–6,26. В кислых почвах было выявлено невысокое видовое разнообразие водорослей из отдела Chlorophyta. Присутствие видов из родов *Myrmecia*, *Stichococcus*, *Pseudococcomyxa* в кислых почвах соответствует данным литературы (Штина и др., 1998). В почвах, близких к нейтральным, наблюдается увеличение числа таксонов, помимо зеленых водорослей появляются представители из отделов Cyanoprokaryota, Eustigmatophyta и Bacillariophyta.

Таким образом, в горно-тундровых почвах Приполярного Урала отмечается достаточно высокое видовое разнообразие водорослей. В альгогруппировках преобладают виды из отделов Chlorophyta, Bacillariophyta и Cyanoprokaryota. В высотном градиенте наблюдается увеличение видового разнообразия от гольцового пояса к горно-тундровому. В альгофлоре выявлены криофильные виды, которые подчеркивают экстремальность условий этого района. Экологические факторы оказывают непосредственное влияние на видовое разнообразие почвенных водорослей горно-тундровых районов Приполярного Урала.

Исследования проведены при поддержке гранта УрО РАН для молодых ученых 2011 г, РФФИ 10-04-01446-а, программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» по теме: «Биологическое разнообразие наземных и водных экосистем Приполярного Урала» и целевой программы

поддержки междисциплинарных проектов «Разработка концепции создания Атласа природного наследия Урала» (№ 09-М-45-2002).

Литература

- Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. Л.: Наука, 1969. 228 с.
Штина Э. А., Зенова Г. М., Манучарова Н. А. Альгологический мониторинг почв // Почвоведение, 1998. № 12. С. 1449–1461.
Hoffmann L. Algae of terrestrial habitats // Bot. Rev., 1989. Vol. 55, № 2. P. 77–105.

ДИНАМИКА МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПОЧВЕ В ХОДЕ ПИРОГЕННОЙ СУКЦЕССИИ

Т. С. Елькина¹, Л. И. Домрачева^{1,2}

¹ *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
nm-flora@rambler.ru*

² *Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ*

Вещи, которыми пользуется в быту человек, в конечном счёте становятся отходами. Большой проблемой для всех стран, в том числе и для России, является обезвреживание и переработка миллионов кубометров городских отходов.

Ещё в 60-х годах 20-го столетия основную массу городских отходов во всём мире вывозили в пригород и сваливали на случайно отведённые участки, где отходы разлагались, из них вымывались в грунтовые воды и реки опасные для природы загрязняющие вещества. Также подобные места являются пристанищем синантропных организмов, которые поселяются на скоплениях отходов, разнося по окрестностям болезнетворные микробы.

Во всем мире проблема обращения с твёрдыми бытовыми отходами (ТБО) является одной из приоритетных. В мировой практике известно около 20 методов обезвреживания и утилизации отходов (размещение на полигоне, сжигание, компостирование, прессование с последующим захоронением и т. д.). Большинство этих методов не нашло значительного распространения в нашей стране в связи с их технологической сложностью и высокой себестоимостью. Наиболее применяемым методом уничтожения ТБО в Даровском районе Кировской области, где выполнялась эта работа, является сжигание.

Сжигание, которое практикуют для уничтожения отходов, оказывает на все компоненты окружающей среды действие, сопоставимое с произвольными природными пожарами. Почва, как неотъемлемая составная часть экосистемы, также подвергается сложному и разнообразному пирогенному воздействию (Попова, 1997). Одним из основных почвенных компонентов, реагирующих на пирогенное воздействие, являются микробоценозы (Сорокин, 1983). В частности, на уровне альгоценозов отмечено резкое снижение видового разнообразия водорослей всех отделов на начальных этапах пирогенной сукцессии (Чумачева, 2010). Пик активности наблюдается на 6–12 месяц после пожара. При пожарах высокой интенсивности наблюдается снижение микробиологической деятельности и других групп микроорганизмов

(Гуляженко, 1970). Кроме того, после обжига отмечается смещение зоны действия микроорганизмов в нижележащие слои почвы (Сорокин, 1983).

Цель данной работы заключалась в изучении послепожарной динамики микробных комплексов почв под свалкой ТБО.

Объекты и методы. Исследования были проведены в Даровском районе Кировской области. Образцы исследуемой почвы отбирались со свалки ТБО, где в июле 2011 г. было проведено полное сжигание всех отходов. Почвенные образцы были отобраны с глубины 0–5 см по стандартным микробиологическим методикам. Сроки отбора проб – непосредственно в месяц сжигания и далее раз в месяц после пожара в течение трёх месяцев.

Исследуемая почва подзолистая, рН_{KCl} не превышает 4,4. Содержание гумуса не превышает 2%.

Численность водорослей определяли методом прямой микроскопии, с одновременным определением длины грибного мицелия с помощью окуляр-микрометра и определением численности грибных спор (фрагментов мицелия). В процессе счёта дифференцировали фрагменты мицелия на окрашенные и бесцветные.

Результаты и обсуждение. Во все месяцы исследования при определении группового состава фототрофов было отмечено, что в почвах содержатся эукариоты (зеленые и диатомовые водоросли). В конце вегетационного периода появились фотосинтезирующие прокариоты (цианобактерии (ЦБ) = синезеленые водоросли) (табл.). Ход количественной динамики водорослей в разные месяцы отличается. Так, с июля по сентябрь происходит существенное увеличение численности водорослевых клеток, затем происходит снижение данного показателя. Ранее в этих почвах уже проводился количественный учёт комплексов почвенных микрфототрофов, в ходе которого было отмечено наличие аналогичных группировок. После пожара полной гибели водорослей не зафиксировано, однако отмечено существенное уменьшение их количественного обилия.

Таблица

Сезонные изменения численности альгофлоры (тыс. клеток/г почвы)

Срок отбора	Водоросли		Цианобактерии	Суммарная численность
	зелёные	диатомовые		
До пожара	770	970	930	2670
Июль	30	27	0	57
Август	64,5	34,5	0	99
Сентябрь	105,3	75	0	180,3
Октябрь	75	60	465	600

Наряду с фототрофными микроорганизмами, в почве развиваются и микромицеты. Динамика их развития характеризуется неуклонным увеличением длины мицелия в ходе пирогенной сукцессии с июля по октябрь примерно в 2 раза: от 33 до 75 м/г почвы у окрашенных форм и от 15 до 30 м/г почвы у бесцветных (рис. 1). И сохраняется тот же тренд сильного развития окрашенных микромицетов над бесцветными. Однако, полного восстановления

популяций микромицетов не произошло, так как до пожара длина бесцветного мицелия составляла 51 м/г почвы, окрашенного – 156,4 м/г почвы.

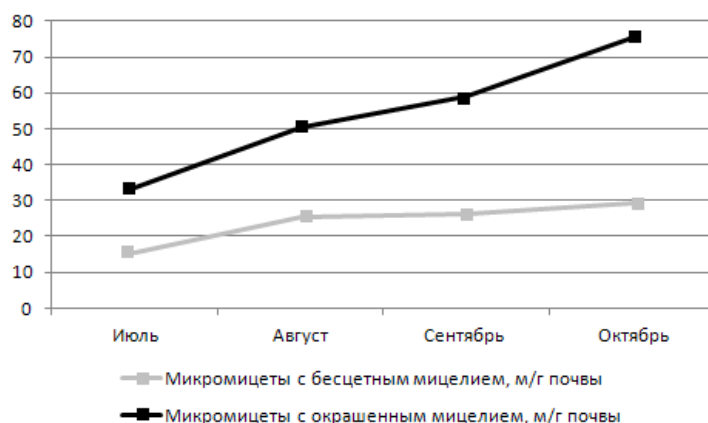


Рис. 1. Динамика развития микромицетов в почве в ходе пирогенной сукцессии

После пожара сократилась и численность грибных пропагул (фрагментов мицелия). Но также, как и длина мицелия, этот показатель с каждым месяцем увеличивается (рис. 2).

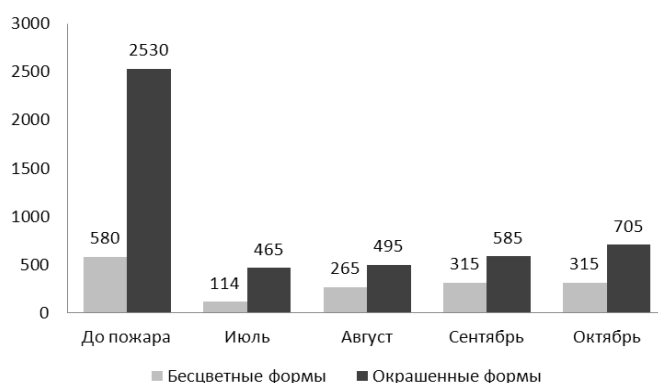


Рис. 2. Численность грибных пропагул, фрагментов/см²

Изучение характера развития микромицетов в почве показало, что во все периоды исследования микромицеты с окрашенным мицелием в структуре популяций составляют более 50% (рис. 3). В предшествующих исследованиях микофлоры этих почв отмечалось аналогичное соотношение грибного мицелия, что свидетельствовало о наличии техногенного загрязнения почвы (Елькина, Домрачева, 2010).

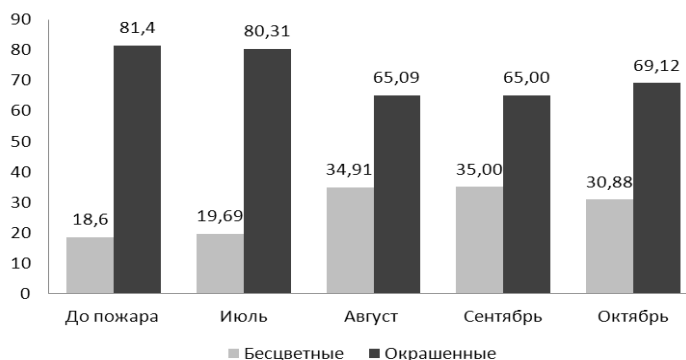


Рис. 3. Структура популяций микромицетов по численности пропагул, %

Таким образом, изучение состояния микробоценозов почв после пожаров показывает, что в почве сохраняется пул клеток водорослей, цианобактерий и микромицетов. Их размножение происходит достаточно быстро, и в течение нескольких месяцев существенно увеличивается в почвенных микробоценозах численность фототрофных микроорганизмов, фрагментов и длины грибного мицелия. Однако, эти показатели значительно меньше количественных характеристик альго-микологических комплексов допожарного состояния. Кроме того, сохраняется структурная специфика почв ТБО, которая заключается в доминировании окрашенных форм микромицетов.

Литература

Гуляженко И. В. Изменение микрофлоры лесных почв в результате действия огня разной интенсивности / Лесоведение и лесное хозяйство. Вып. 3. Минск: Высшая школа, 1970. С. 34–39.

Елькина Т. С., Домрачева Л. И. Относительное обилие водорослей и микроскопических грибов в почвах различных экосистем // Экология родного края – проблемы и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодежи. Киров, 2010. С. 75–78.

Сорокин Н.Д. Влияние лесных пожаров на биологическую активность почв / Лесоведение, 1983. № 4. С. 24–28.

Попова Э. П. Пирогенная трансформация свойств лесных почв Среднего Приангарья // Сиб. экол. журн., 1997. № 4. С. 413–418.

Чумачева Н. М. Почвенные водоросли как индикаторы состояния пирогенно нарушенных почв // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Мат. Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Эмили Адриановны Штиной (11–15 октября 2010 г.) 2010. С. 318–322.

ИЗУЧЕНИЕ ОТКЛИКА И ПРОЦЕССОВ АДАПТАЦИИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО К ВНЕСЕНИЮ ОСАДКА СТОЧНЫХ ВОД

Д. В. Дёмин, С. М. Севостьянов

Институт фундаментальных проблем биологии РАН

К настоящему времени накоплено большое количество информации о воздействии тяжелых металлов на биомассу и активность почвенных микроорганизмов. Во многих работах отмечено, что не общее содержание их в почве, а наличием доступных для живых организмов форм вызывают токсическое воздействие (Благодатская, Ананьева, 1996; Звягинцев и др., 1997). Биологически доступными, прежде всего, являются металлы, растворенные в жидкой фазе почвы, а также адсорбированные в обменной форме поверхностью почвенных частиц. Токсическое воздействие на микроорганизмы было обнаружено при содержании от несколько микрограммов в литре ионов цинка, меди и кадмия до 5–10 мг/л ионов никеля (Звягинцев и др., 1997).

Загрязнение почвы осадками сточных вод (ОСВ), состоящими из смеси промышленных и бытовых отходов и содержащими значительные количества тяжелых металлов, представляет серьезную экологическую проблему. Одним из способов утилизации ОСВ является их компостирование и применение в

сельском хозяйстве в качестве органических удобрений. Вместе с тем, процессы микробной минерализации ОСВ в почвах остаются малоизученными. До сих пор не выяснено, как изменяется скорость минерализации собственно почвенного органического вещества под действием ОСВ в почвах разных типов. Не исследовано влияние процесса минерализации ОСВ в почве на содержание и подвижность тяжелых металлов в почвенном растворе.

Цель нашей работы было изучение в условиях инкубационного эксперимента отклика и процессов адаптации микробного сообщества чернозема обыкновенного к внесению ОСВ, а также изучение зависимости между показателями микробиологической активности и содержание подвижных форм металлов в почве.

Для проведения инкубационных экспериментов были выбраны следующие объекты исследования: чернозем обыкновенный на территории НИИСХ ЦЧП им. В. В. Докучаева (Воронежская обл.). Осадок сточных вод с очистных сооружений г. Серпухова. Концентрацию CO_2 , накопившегося в результате инкубации образцов почв, измеряли на газовом хроматографе Chrom-5. Величину ИДП, используемую затем как V_{basal} или V_{sir} (субстрат-индуцированное дыхание - СИД - в случае обогащения почвы глюкозой) выражали в $\text{мкг С г}^{-1} \text{ час}^{-1}$. Концентрацию ТМ в экстракте определяли методом индуктивно-связанной плазменной масс-спектрометрии (ICP-MS). Для определения подвижных форм ТМ использовали метод экстракции почвенного раствора.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведена динамика скорости выделения CO_2 в ходе инкубации двух вариантов чернозема и чернозема +ОСВ. Данные приведены в расчете на 1 г сухого веса почвы. Резких изменений скорости выделения CO_2 из контрольных почв, не обогащенных ОСВ, на протяжении всего эксперимента не происходило.

Внесение ОСВ в чернозем привело к резкому увеличению ИД (интенсивности дыхания) в 7 раз. В течение первой недели инкубации в варианте с чернозем + ОСВ происходило резкое, а затем постепенное уменьшение ИД. Необходимо отметить, что в конце эксперимента через 45 дней, ИД контроля был ниже в 1,4 раза, чем вариант с ОСВ. На рис. 2 приведена динамика скорости выделения CO_2 в ходе инкубации контрольного варианта ОСВ. В начале инкубации ИД осадка была высокая. Однако уже на вторые сутки инкубации ИД в варианте ОСВ уменьшилась в 1,6 раза.

В дальнейшем происходило постепенное и равномерное падение ИД. Но на 16 сутки эксперимента интенсивность дыхания резко увеличилась примерно в 2 раза. Характерно, что это увеличение сохранялось в течение последующих 4–5 суток. Можно полагать, что на 17-е сутки опыта происходили сукцессионные изменения в микробных сообществах, связанные с разложением более труднодоступных фракций органического вещества осадка. После внесения ОСВ в почву изменялась интенсивность дыхания как почвы, так и осадка. Т. е. осадок служил своеобразной «затравкой», вызывающей изменение минерализационной активности в системе «почва-осадок». Это изменение принято называть затравочным эффектом (ЗЭ). В случаях, когда внесение затравки приводит к усилению минерализационной активности и к образо-

ванию дополнительного количества углекислого газа, так называемого «экстра- CO_2 », наблюдается положительный затравочный эффект.

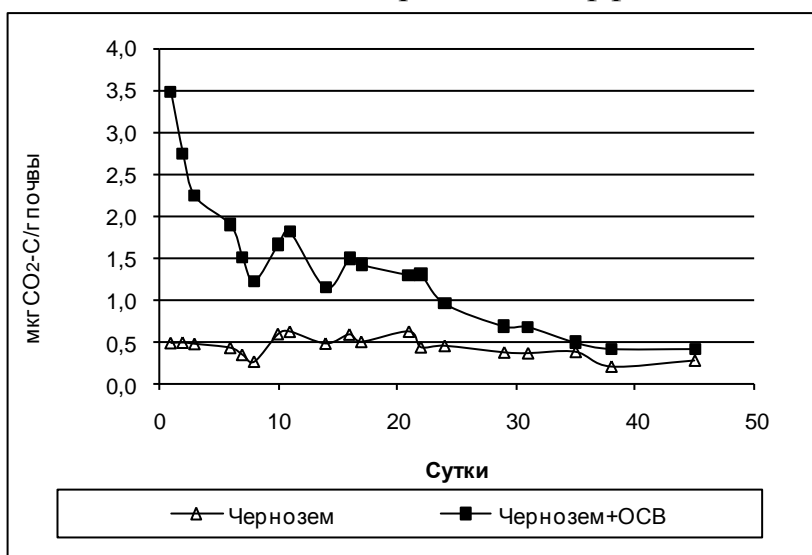


Рис. 1. Динамика скорости выделения CO_2 в черноземе и чернозем +ОСВ

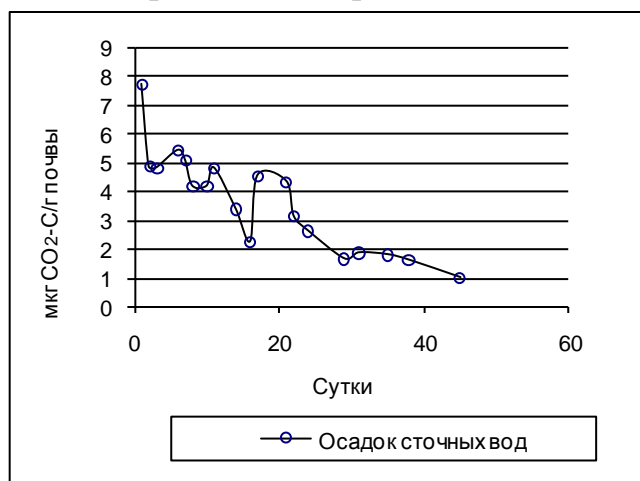


Рис. 2. Динамика скорости выделения CO_2 в осадке сточных вод

Иногда внесение затравки приводит к снижению общей минерализационной активности. Такой затравочный эффект называется отрицательным. Если внесение затравки не вызывает изменений минерализационной активности, говорят об отсутствии или нулевом затравочном эффекте. В период максимальной активности (7 суток) количество экстра- CO_2 составило примерно 100% от контроля в черноземе (рис. 3).

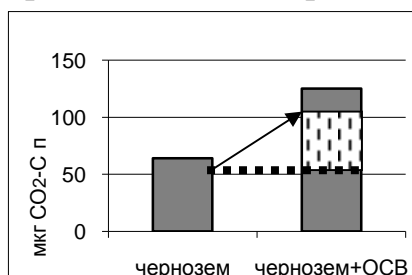


Рис. 3. Затравочный эффект вызванный внесением ОСВ в чернозем за 7 суток инкубации

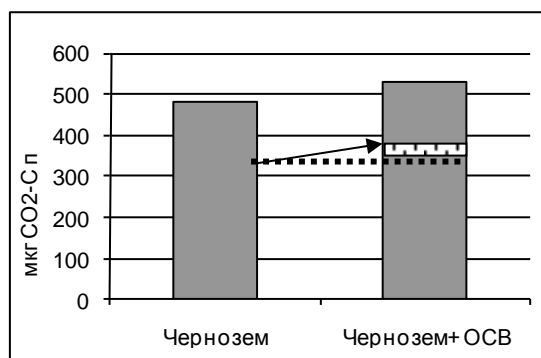


Рис. 4. Затравочный эффект вызванный внесением ОСВ в чернозем за 45 суток инкубации

В первые 20 суток эксперимента затравочный эффект был положительным. В последующие три недели эксперимента в варианте чернозем+осадок выделение экстра-СО₂ не отличалось от контроля (нулевой затравочный эффект). Такой эффект может быть связан с токсическим действием тяжелых металлов, содержащихся в осадке на почвенные микроорганизмы. В результате за весь срок инкубации затравочный эффект в черноземе составил лишь 10% от контроля (рис. 4). Уменьшение микробной биомассы в черноземе под влиянием осадка оказалось более существенным, и составило 21%. Максимальная удельная скорость роста микроорганизмов уменьшилась в черноземе под действием ОСВ на 33%.

Анализ содержания тяжелых металлов в почвенном растворе чернозема показал увеличение только свинца, кобальта и меди соответственно в 9, 6, и 1,5 раза по сравнению с контролем.

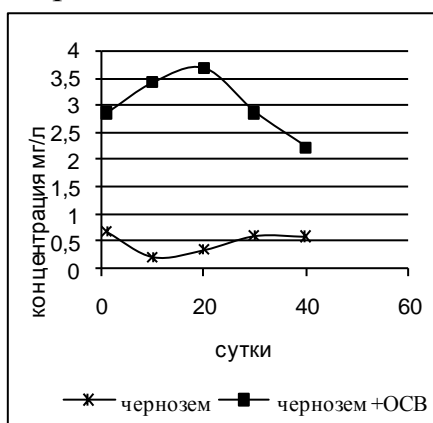


Рис. 5. Динамика содержания Pb в почвенном растворе

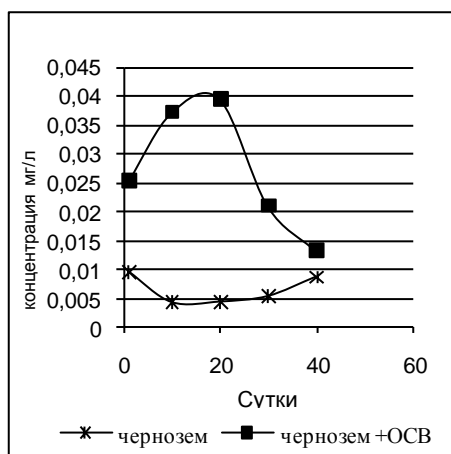


Рис. 6. Динамика содержания Со в почвенном растворе

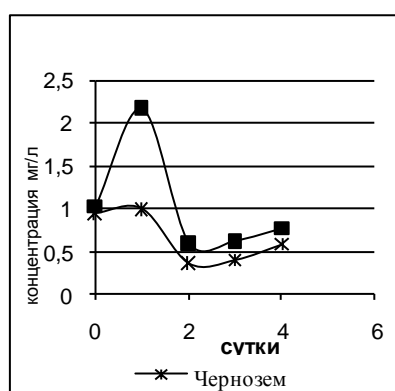


Рис. 7. Динамика содержания Си в почвенном растворе

Выводы. Внесение осадка сточных вод в почву изменяло ее минерализационную активность и вызывало разные виды затравочного эффекта. В первые 20 суток эксперимента затравочный эффект был положительным. В последующие три недели эксперимента в варианте чернозем+осадок наблюдали нулевой затравочный эффект. Величина затравочного эффекта зависела от продолжительности инкубации почвы с ОСВ. В период максимальной активности (7 суток инкубации) количество экстра-СО₂, обусловленное внесением осадка, составило 100% от контроля в черноземе. За 45 суток инкубации затравочный эффект оказался существенно ниже и составил 10% от контроля в черноземе. Анализ содержания тяжелых металлов в почвенном растворе чернозема показал увеличение только свинца, кобальта и меди, а тесная корреляционная зависимость проявилась только у свинца и кобальта.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 06-04-48756-а.

Литература

Благодатская Е. В., Ананьева Н. Д. Оценка устойчивости микробных сообществ в процессе разложения поллютантов в почве // Почвоведение 1996. № 11 С. 1341–1346.

Звягинцев Д. Г., Кураков А. В., Умаров М. М., Филип З. Микробиологические и биохимические показатели загрязнения свинцом дерново-подзолистой почвы // Почвоведение 1997. № 9. С. 1124–1131.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ПОЧВЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И МИКРОМИЦЕТОВ В РАЙОНЕ КИРОВО-ЧЕПЕЦКОГО ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА

С. С. Злобин¹, Л. И. Домрачева^{2,3}

¹ *Вятский государственный гуманитарный университет,*

² *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,*

³ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН*

Промышленные предприятия всегда являются источником повышенной экологической напряженности благодаря обилию и разнообразию выбросов и сбросов, которые при взаимодействии с окружающими средами способны кардинальным образом влиять на них, изменяя не только физико-химические параметры, но и преобразуя их биологическую составляющую. Такие воздействия способны вносить существенные коррективы в сезонную динамику почвенных водорослей и микромицетов, меняя не только численность, но и соотношение их группировок. Состояние микробиоты является значимым критерием при оценке степени загрязнения и нарушения почвенного покрова (Домрачева, 2005)

Одним из таких экологически-опасных объектов на территории Кировской области является Кирово-Чепецкий химический комбинат (КЧХК), производящий большой перечень продукции химической переработки и образующий в технологическом процессе разнообразный спектр отходов.

Цель исследования: проследить сезонную динамику численности почвенных водорослей и микромицетов в районе КЧХК.

Объекты и методы. Исследования проводились в зоне влияния КЧХК. Почвенные образцы верхнего горизонта (0–5 см) с 8-ми пробных площадок отбирались и готовились согласно принятым методикам микробиологического анализа. Точки отбора расположены вдоль русла р. Елховка (приток II порядка р. Вятка) – 904, 906, 907, 918, пойменного оз. Просное – П-13, вблизи шламонакопителя – 913 и на гривистой пойме р. Вятка – 920, 921. Все почвы гидроморфные, относятся к аллювиальному типу и характеризуются различной степенью нарушенности. Отбор образцов производился в мае, июле и октябре 2011 года. Определение численности почвенных водорослей и микромицетов осуществлялось методом прямого микроскопирования с использованием «стекла обрастания». Для этого 40 г. подготовленного почвенного образца помещалось в чашку Петри и увлажнялось на 60% от полной влагоемкости, затем на почву раскладывались покровные стекла в количестве 5 шт. Стекла выдерживались на почве в течение 1 месяца при постоянной температуре, освещении и увлажнении, после этого производился подсчет численности клеток водорослей и микромицетов прямым микроскопированием. (Домрачева, 2005; Мелехова, 2007)

Результаты исследований. Водоросли и микромицеты являются постоянным компонентом педосферы, а их численность и соотношение различных группировок отражают в определенной мере экологическую напряженность конкретной области. Исследуемые почвы характеризуются

различной степенью нарушенности (строительство дорог, шламонакопителей, перемещение грунтов), что неизменно влечет нарушение развития почвенных микробных группировок. Так, в изученных образцах наблюдаются значительные сезонные изменения состава почвенных водорослей и микромицетов. Образцы, отобранные в мае, характеризуются доминированием представителей отдела *Chlorophyta*. В точках 906, 918, 921 наблюдается развитие цианобактерий (ЦБ), которые по численности достигают 35% от общего количества клеток. При этом среди ЦБ обнаружены только их безгетероцистные формы (*Phormidium autumnale*). Отсутствие гетероцистных форм ЦБ говорит о хорошей обеспеченности почв этой территории доступными формами соединений азота. Анализ структуры комплексов микромицетов почвенных образцов, отобранных в мае, показывает, что только в двух точках (904 и 906) доминируют представители грибов с бесцветным мицелием, во всех остальных почвенных образцах преобладают темноокрашенные микромицеты (рис. 1), что свидетельствует о различном уровне техногенной нагрузке на почву. (Домрачева, Дабах, 2004)

Пробы, отобранные в июле, характеризуются незначительным ростом в числовом эквиваленте представителей отделов *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*. В точках 904, 906, 907, 913 наблюдается возрастание численности микромицетов как с бесцветным, так и с окрашенным мицелием. Практически полностью выпадают из почвенных группировок представители ЦБ (обнаружены единичные экземпляры), что наряду с ростом микологической группы свидетельствует о значительном нарушении сезонного развития почвенной микробиоты (Терехова, 2007, Кондакова, Домрачева, Дабах, 2008).

Анализ проб, отобранных в октябре, показывает угнетение как в количественном, так и в процентном отношении представителей отдела *Chlorophyta*. Полностью отсутствуют ЦБ. Значительно возрастает доля диатомовых водорослей и микромицетов с доминированием темноокрашенных форм (рис. 1). Причиной развития *Bacillariophyta* может служить значительное увлажнение почвы и относительно высокие температуры в осенний период. Развитие окрашенных форм микромицетов предположительно можно объяснить увеличением уровня общего загрязнения, привносимого в почву с древесным и травяным опадом, а так же с дождевыми стоками.

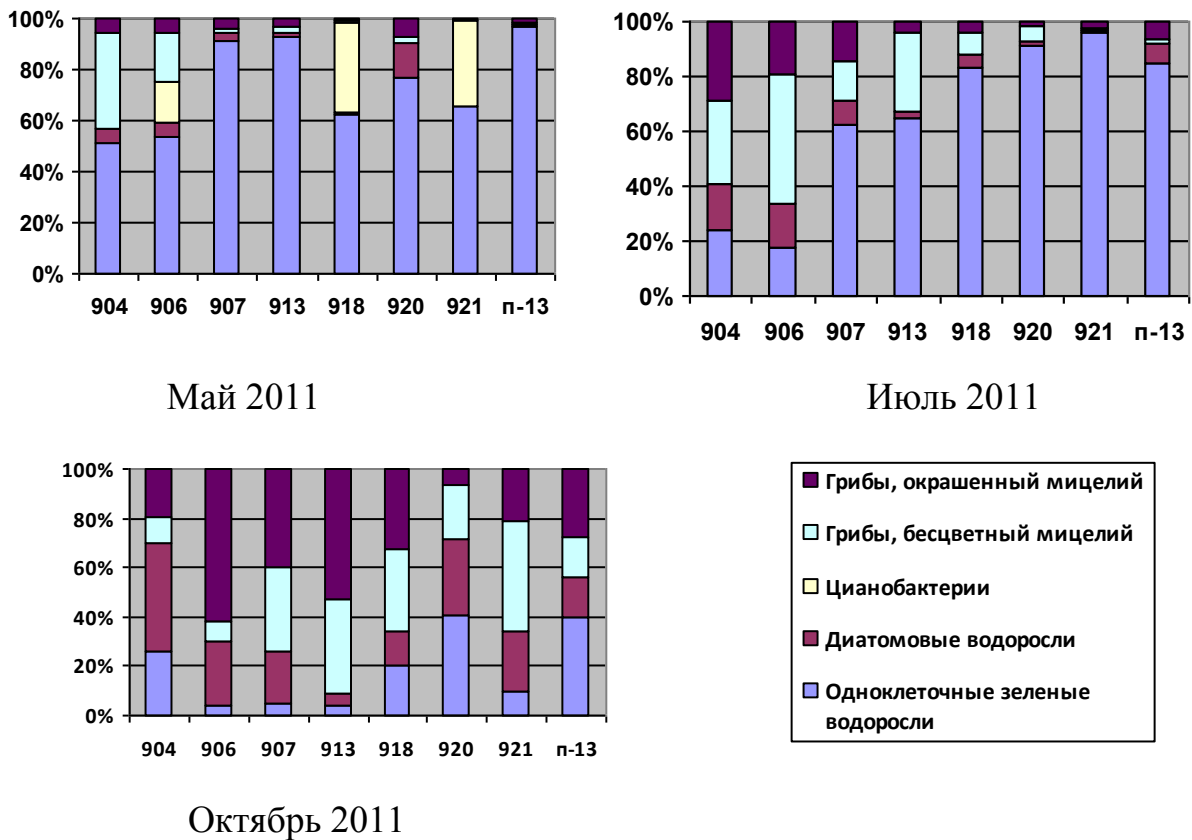


Рис. 1. Сезонная динамика почвенных водорослей и микромицетов в 2011 г.

Изучение состава и численности групп почвенных микромицетов показывает увеличение их численности, а так же роста темноокрашенных форм на протяжении всего сезона. Особенно он заметен в точках 906, 907, 913, где число микромицетов доходит до 70–90% от общего количества микроорганизмов и возрастает к концу сезона в 4–40 раз по сравнению с маем (рис. 2).

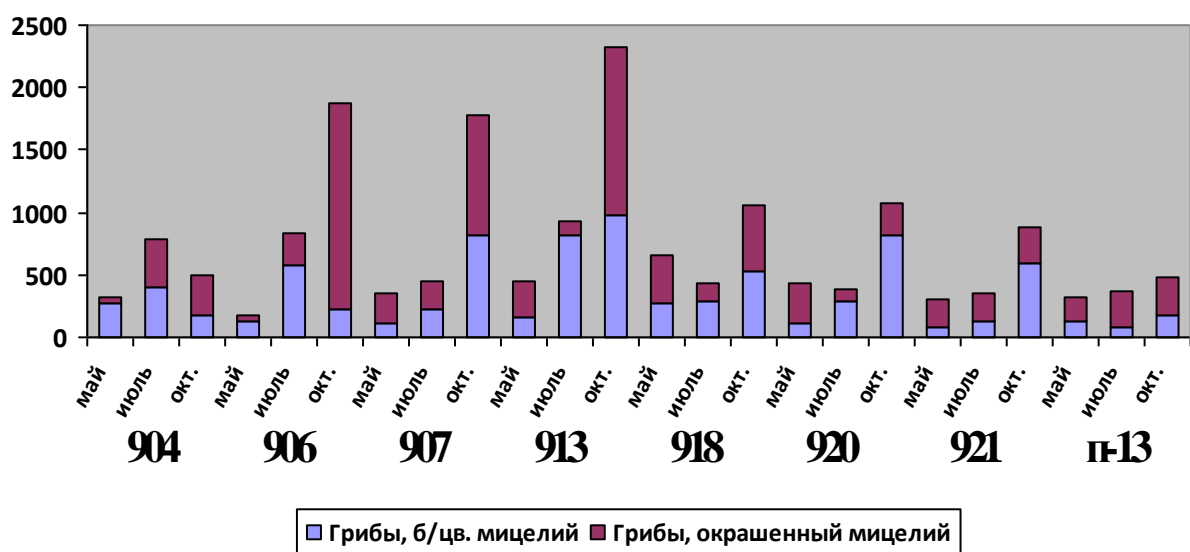


Рис. 2. Соотношение грибов с бесцветным и темноокрашенным мицелием, тыс. фрагментов/см²

Таким образом, все исследованные участки характеризуются значительной степенью нарушенности и экологической напряженности, о чем свидетельствует неравномерное развитие группировок почвенных водорослей и микромицетов, а так же рост числа темноокрашенных форм микроскопических грибов на протяжении всего сезона исследований.

Литература

Домрачева Л. И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар, 2005. 336 с.

Мелехова О. П., Егорова Е. И., Евсеева Т. И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование. М.: Академия, 2007. 288 с.

Домрачева Л. И., Дабах Е. В. Количественные показатели альго-микологических комплексов как начальная ступень фонового обследования почв // Актуальные проблемы регионального экологического мониторинга: Теория, методика, практика. Сб. матер. Всеросс. научной школы. Киров, 2004. С. 132–135.

Кондакова Л. В., Домрачева Л. И., Дабах Е. В., Плетнёва А. Принципы диагностики состояния почвы и использованием количественных характеристик альго-микологических комплексов // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН, 2008. № 6. С. 12–15.

Терехова В. А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.

АЛЬГОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ В ЭКОТОННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

А. Б. Уразбахтина

*Башкирский государственный университет,
aliya_urazbahtina@mail.ru*

Экотонным системам принадлежит важная роль в биосфере, поскольку они исполняют функции барьеров, мембран, аккумуляции, фильтрации, проявляют «краевой эффект» и отличаются повышенной биопродукцией и высоким биологическим разнообразием (Залетаев, 1997).

Важнейшим компонентом биотических сообществ экотонных систем является видовой состав водорослей. Особенно велика их роль в водно-наземных экотонах (Шарипова, 2006).

Нарастающая антропогенная нагрузка вносит качественные изменения в состав и физико-химические свойства почв, вызывая тем самым снижение биологического разнообразия.

Целью нашего исследования являлось выяснение влияния нефтяного загрязнения на трансформацию альгоценозов водно-наземного экотона.

Альгомониторинг нефтяного загрязнения проводили на территории оз. Нефтяник Кармаскалинского района Республики Башкортостан по трансекте от озера через каждые 15 м к месту, где находятся нефтяные качалки. Каждую из них окаймлял земляной вал высотой 50–70 см. Пробы отобраны на 8 участках по двум трансектам: 4 участка со стороны нефтяных качалок (уч. 1 под нефтяной качалкой) – 4); 4 с противоположной стороны озера (уч. 5–8).

Материалом для исследования послужили 72 почвенных и 80 бентосных образцов. Пробы отбирали в течение 4 месяцев, с июня по сентябрь 2010 г., с

периодичностью раз в месяц. На каждом участке отбиралось по 3 смешанных пробы. На участках литоральной зоны отбирались по 10 проб фитобентоса один раз в месяц. Сбор и обработка альгологического материала проводились по общепринятым в альгологии методам исследований (Вассер, 1989). Пробы бентоса отбирали трубкой диаметром 1 см смешением отдельных образцов. Сбор почвенных образцов осуществлялся по общепринятой методике.

Флористический анализ почвенной альгофлоры проводили в чашечных культурах со «стеклами обрастания» (Голлербах, Штина, 1969). Обилие водных и почвенных водорослей оценивали по 5-балльной шкале (Дубовик, Шарипова, Минибаев, 2004). Общее (суммарное) обилие водорослей определялось как сумма баллов обилия отдельных видов и разновидностей. Также проведен анализ почвенной альгофлоры по спектру экобиоморф (Штина, Голлербах, 1976).

Видовой состав водорослей сравнивали с помощью коэффициента флористической общности (КФО) Серенсена (Василевич, 1969).

Система водорослей приведена по сводке И. И. Васильевой-Кралиной (1999) с уточнением (Вассер, Царенко, 2004).

Сравнение альгофлоры разных участков проводили с учетом характера высшей растительности, поскольку реакция водорослей на условия среды наиболее сходны с реакцией высших растений (Кабиров, 1998).

Для сравнения исследованные участки были объединены по характеру высшей растительности:

- 1) участки с синантропной растительностью (уч. № 2),
- 2) участки с лесной растительностью (№ 3),
- 3) участки с луговой растительностью (№ 5, 6, 7).

На участках с синантропной растительностью по встречаемости доминируют виды *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptolyngbya nostocorum*, *Chlamydomonas augustae*. Доминанты по обилию *Chlamydomonas oblongella*, *Trichomus variabilis*, *Leptolyngbya notata*.

Доминирующими на участке с лесной растительностью являются *Phormidium acuminatum*, *Phormidium breve*, *Leptolyngbya nostocorum*.

Участки с луговой растительностью представлены доминирующими видами *Anabaena contorta*, *Phormidium chalybeum*, *Trichomus variabilis*.

Сравнение альгофлоры с использованием коэффициента Серенсена (рис. 1) этих перечисленных участков показало наибольшее сходство (52%), на участке 2 с растительностью класса *ARTEMISIETEA VULGARIS*, порядка – *ONOPORDETALIA ACANHII*, и участком 5 с растительностью класса *MOLINIO – ARRHENATHERETEA R.*

Наименьший процент сходства (9%) был замечен при сравнении участка 1, где растительность полностью отсутствовала, с участком 6, класса *MOLINIO – ARRHENATHERETEA*. Это объясняется тем, что на участке 1 (под качалкой) уровень техногенной нагрузки высокий.

1	–						
2	11	–					41–50%
3	12	33	–				31–40%
5		41		–			21–30%
6		38	18	42	–		11–20%
7		25	42	38	46	–	0–10%
	1	2	3	5	6	7	

Рис. Диаграмма Чекановского для участков

Исходя из данных видно, что с появлением очага нефтезагрязнения снижается численность чувствительных к нефтяному загрязнению водорослей, выживаемость водорослей и бентосных организмов, что вызвано загрязнением среды нефтью и нефтепродуктами, приводящее к нарушению динамического равновесия в экосистеме вследствие изменения структуры почвенного покрова, геохимических свойств почв, а также токсического действия на живые организмы.

Литература

- Василевич В. И. Статистические методы в геоботанике. Л.: Наука, 1969. 232 с.
 Водоросли / Под ред. С. П. Вассера. Киев: Наукова думка, 1989. 608 с.
 Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. Л.: Наука, 1969. 142 с.
 Дубовик И. Е., Шарипова М. Ю., Минибаев Р. Г. Основы ботаники. Альгология. Учебное пособие. Уфа: РИОБаш-ГУ, 2004. 150 с.
 Залетаев В. С. Мировая сеть водно-наземных экотонных, её функции в биосфере и роль в глобальных изменениях // Экотонные в биосфере. М.: РАСХН, 1997. С. 77–90.
 Кабиров Р. Р. Альгоиндикация с использованием почвенных водорослей (методологические аспекты) // Альгология. 1993. Т. 3. С. 73–85.
 Шарипова М. Ю. Водоросли экотонных сообществ. Уфа: РИО БашГУ, 2006. 182 с.
 Штина Э. А., Голлербах М. М. Экология почвенных водорослей. М.: Наука, 1976. 143 с.

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НА РАЗВИТИЕ АЛЬГО-МИКОЛОГИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ПОД КУЛЬТУРОЙ ЛЯДВЕНЦА РОГАТОГО

**Г. И. Березин¹, Т. С. Елькина², А. Р. Гайфутдинова²,
Д. Л. Старкова², Л. И. Домрачева^{2,3}**

¹ Вятский государственный гуманитарный университет,

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

nm-flora@rambler.ru

³ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

Всё большее распространение на территории Кировской области получает культура лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.), которая характеризуется продуктивным долголетием и высоким качеством корма. Но сохранение высокой продуктивности не возможно без активного использования

современных гербицидных препаратов с низкой дозой расхода, высокой эффективностью, избирательностью и со слабой устойчивостью в окружающей среде. Однако избежать локального пестицидного загрязнения почвенного покрова не удаётся, в связи с чем необходимо исследование его воздействия на биологические свойства почв. Это поможет применять биологические методы в диагностике пестицидного загрязнения почвы. Впервые возможность использования такой группировки почвенных организмов, как водоросли для оценки токсичности почвы после применения пестицидов доказана работами отечественных альгологов и обобщена в монографии Ю. В. Круглова «Микрофлора почвы и пестициды» (1991). Однако, с той поры в сельском хозяйстве используются новые поколения пестицидов, о действии которых на почвенную микрофлору известно очень мало (Казеев и др., 2010).

Цель данной работы – изучить в полевых опытах действие двух гербицидных препаратов (гербитокс и пивот) на развитие почвенных альго-микологических комплексов.

Полевые исследования проводились на опытном поле Вятской ГСХА (поле № 4 северного севооборота). Почва на участке представляла собой агрообразём текстурно-дифференцированный, типичный, тяжелосуглинистый на элювии пермских глин. Агротехника была общепринятой для условий Кировской области.

Изучение специфики развития альго-микологических комплексов проводили в беспокровных культурах лядвенца рогатого. В контрольном варианте делянки с лядвенцем рогатым не обрабатывались гербицидами. В опытных вариантах обрабатывались препаратами гербитокс (1,2 л/га), пивот (1 л/га). Площадь опытной делянки 1 м². Отбор почвенных проб на альгологический анализ проводили в июле и сентябре.

Гербитокс (Агритокс) представляет собой водорастворимый концентрат, содержащий смесь диметиламинной, натриевой и калиевой солей МЦПА кислоты (500 г/л чистой кислоты МЦПА). Гербицид предназначен для уничтожения однолетних двудольных сорняков.

Пивот – универсальный гербицид для уничтожения широкого спектра однолетних и многолетних злаковых и двудольных сорняков в посевах сои, люпина и люцерны. Форма препарата: водорастворимый концентрат. Действующее вещество имазетапир (100 г/л).

Определение численности клеток в популяциях фототрофных группировок показало, что применяемые гербициды сходным образом влияют на интенсивность их развития (табл. 1).

Таблица 1

Влияние гербицидов на численность почвенных фототрофных популяций

Вариант	Численность клеток водорослей тыс./г					
	Июль			Сентябрь		
	Зелёные	Диатомовые	Всего	Зелёные	Диатомовые	Всего
Контроль	733±150	470±50	1203±200	7200±170	470±50	7670±220
Гербитокс	530±60	470±150	1000±210	1100±100	800±100	1900±200
Пивот	630±230	570±320	1200±550	1100±100	630±150	1730±250

Оба гербицида оказывают незначительное ингибирующее влияние на зелёные водоросли в первый срок сбора почвенных проб (июль). К сентябрю подавление развития зелёных водорослей усиливается и достигает 6,5 раз относительно контрольного значения для обоих препаратов. На популяции диатомовых водорослей оба фунгицида оказали стимулирующее воздействие: ко 2-му сроку отбора почвенных проб, наибольший стимулирующий эффект наблюдается в варианте с препаратом гербитокс (170% относительно контроля).

Таблица 2

Влияние гербицидов на развитие микромицетов

Вариант	Численность фрагментов, тыс./г		Структура популяций, %			
	Июль	Сентябрь	Июль		Сентябрь	
			Б	О	Б	О
Контроль	1800±30	1637±238	53,9	46,1	65,2	34,8
Гербитокс	1330±100	740±200	37,6	62,4	63,5	36,5
Пивот	2003±247	2030±310	18,5	81,5	36	64

Примечание: Б – мицелий бесцветный, О – мицелий окрашенный.

Влияние гербицидов на развитие микромицетов (табл. 2) выражено в значительном подавлении их численности в варианте с препаратом гербитокс (в 1,4 и 2,2 раза соответственно по срокам отбора проб относительно контроля). Препарат пивот оказывает незначительное стимулирующее воздействие на численность микромицетов в оба срока. Действие препаратов на структуру популяций микромицетов выражено в явном доминировании меланизированных форм микромицетов по сравнению с контролем. В июле это явление характерно для обоих препаратов, однако к сентябрю структура популяции в варианте с препаратом гербитокс практически одинакова с контрольной. В то же время гербицид пивот индуцирует почти двукратное преобладание окрашенных форм в структуре популяции микромицетов и в июле и в сентябре.

Таким образом, результаты исследования, проведённого в полевых условиях о влиянии гербицидов гербитокс и пивот показали, что данные препараты оказывают следующее действие на развитие альго-микологических комплексов.

1. Препараты оказывают неоднозначное действие на представителей различных отделов одноклеточных водорослей. Так, через месяц после внесения гербицидов проявляется их ингибирующее воздействие на развитие одноклеточных зелёных водорослей, которое сохраняется на протяжении всего периода исследования. В то же время к сентябрю оба препарата оказали заметное стимулирующее воздействие на размножение диатомовых водорослей.

2. Гербициды оказали разнонаправленное воздействие на численность микромицетов, от незначительного ингибирования в июле и почти двукратного подавления в сентябре препаратом гербитокс, до существенного стимулирования их численности препаратом пивот в оба срока наблюдения. Оба гербицида стимулируют развитие окрашенных форм микромицетов в июле, но

к сентябрю этот эффект сохраняется только у препарата пивот, что указывает на большую степень токсичности пивота по сравнению с гербитоксом, так как доминирование меланизированных форм микромицетов в почве – один из показателей её химического загрязнения.

Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-3326.2012.5.

Литература

Круглов Ю. В. Микрофлора почвы и пестициды. М.: Агропромиздат, 1991. 128 с.

Казеев К. Ш., Лосева Е. С., Боровикова Л. Г., Колесников С. И. Влияние загрязнения современными пестицидами на биологическую активность чернозема обыкновенного // Агрехимия, 2010. № 11. С. 39–44.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСОВ ПОЧВЕННЫХ АКТИНОМИЦЕТОВ В СЕЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОМЫШЛЕННЫХ РАЙОНАХ г. КИРОВА

*Е. С. Соловьёва, Т. Я. Ашихмина, И. Г. Широких
Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ, irgenal@mail.ru*

Одним из ведущих факторов техногенного загрязнения городских почв являются тяжёлые металлы (ТМ). Если в зону действия ТМ попадают микробы-антагонисты, их подавление может увеличить сроки самоочищения почв вследствие снижения пула микробных антибиотиков.

Способность к синтезу антибиотиков широко распространена среди типичных почвенных микроорганизмов – актиномицетов. К настоящему времени закономерности распределения, родовая структура комплексов актиномицетов и видовой состав стрептомицетов в зональных и интразональных типах почв основных биоклиматических зон подробно изучены (Звягинцев, Зенова, 2001), тогда как в отношении актиномицетов урбанизированных территорий в доступной литературе встречаются лишь единичные результаты количественной оценки. Недостаточно исследовано влияние на актиномицетные комплексы в условиях городской среды загрязняющих почву ТМ.

Цель работы – сравнительная характеристика комплексов почвенных актиномицетов в селитебных и промышленных районах, различающихся по степени загрязнения ТМ, на примере города Кирова.

В Государственном докладе «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Кировской области в 2009 году» Управления Федеральной службы в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Кировской области отмечается рост удельного веса неудовлетворительных результатов исследований почвы населенных мест по санитарно-химическим показателям. Так, если в 2007 году в целом по области их удельный вес был ниже среднероссийского (РФ – 6,7%, Кировская область – 4,7%), то в 2008 г. он превысил среднероссийские показатели в 1,2 раза, а в 2009 – в 2 раза. В

большинстве неблагополучных по данному фактору территорий зафиксированы превышения ПДК до 2 раз по содержанию свинца, мышьяка, марганца, меди, цинка и никеля.

Образцы почв для исследования были отобраны летом 2010 г. с глубины 0–7 см в следующих экотопах: санитарные зоны промышленных предприятий и селитебные зоны. Участки отбора образцов располагались в различных районах города. Для каждого участка анализировали средний почвенный образец, который составлялся смешиванием пяти индивидуальных проб.

Численность актиномицетов определяли методом посева на агаризованные среды. Родовую структуру комплексов характеризовали на среде с пропионатом натрия, видовую структуру рода *Streptomyces* – на казеин-глицериновом агаре (КГА). Перед посевом образцы почв прогревали при 70 °С в течение 4 часов для ограничения роста немителиальных бактерий. Разнообразие актиномицетов оценивал согласно индексу Шеннона (Мэггаран, 1992).

Содержание подвижных форм кадмия, цинка, свинца, железа, меди и никеля в почвах определяли на атомно-абсорбционном спектрометре «СПЕКТР-5-4», предварительно экстрагируя воздушно-сухие почвенные образцы аммонийно-ацетатным буфером (рН 4,8) (Воробьева, 2006). Значения рН солевой вытяжки измеряли потенциометрически на рН-метре. Органическое вещество почвы определяли фотометрически по методу Тюрина в модификации ЦИНАО.

Среднее содержание ТМ в исследованных образцах из промышленных экотопов превышало среднее содержание в образцах из селитебной зоны (табл. 1). Наблюдалось превышение ПДК для подвижных форм меди и цинка. Почвы промышленной зоны характеризовались также более щелочным значением рН и меньшим содержанием органического вещества по сравнению с почвами селитебной зоны.

Таблица 1

Средние (по пяти образцам) значения химических показателей в почвенных образцах в зависимости от типа городского экотопа

Экотоп	Подвижные формы, мг/кг						рН _{KCl}	С, %
	Cd	Fe	Ni	Cu	Pb	Zn		
Промышленный	0,429	1,570	0,636	12,348*	2,819	28,225*	7,7	6,83
Селитебный	0,086	0,348	0,063	0,427	2,094	22,075	7,1	9,79

Примечание: «*» – наблюдалось превышение ПДК

При посеве на среду с пропионатом натрия численность актиномицетов в образцах почвы селитебной зоны в три раза превысила численность актиномицетов в зоне промышленного загрязнения. Уровень численности стрептомицетов (на КГА) в почвенных образцах из промышленной и селитебной зоны был примерно одинаков, однако доля актиномицетов от общей численности прокариот в зоне промышленного загрязнения достигала 36,6%, что более чем в три раза выше этого же показателя в почвах селитебной зоны (табл. 2).

Общая численность актиномицетов и их доля в прокариотном комплексе в зависимости от суммарного содержания тяжелых металлов и pH почвы

Экотоп	Сумма ТМ, мг/кг	pH _{KCl}	Численность, ×10 ⁴ КОЕ/г		Доля актиномицетов на КГА от суммы прокариот, %
			на среде с пропионатом натрия	на КГА	
Промышленный	46	7,7	45,3±20,5	26,5±12,9	36,6
Селитебный	25	7,1	135,9±116,6	27,6±24,7	11

По частоте встречаемости в почвах того и другого экотопов доминировали представители родов *Streptomyces*, *Micromonospora* и олигоспоровые виды. Представители рода *Streptosporangium*, в зависимости от экотопа, играли роль типичных редких (селитебные почвы) или случайных (промышленное загрязнение) в комплексе.

В целом, образцы промышленно загрязненных почв характеризовались более высоким родовым разнообразием ($H = 0,865$) актиномицетов по сравнению с селитебной зоной ($H=0,625$).

Вычисленное с помощью коэффициента Соренсена сходство между актиномицетными комплексами почв селитебной зоны промышленно загрязненных почв составило всего $K_s = 7,2\%$.

Полученные результаты указывают на существенные различия в структуре почвенных комплексов актиномицетов из селитебной и промышленной зон города. Эти различия обусловлены широким спектром урбаногенных факторов. Однако сопоставление характеристик актиномицетного комплекса промышленно загрязнённых почв с показателями среднего и суммарного содержания в этих же почвенных образцах ТМ даёт основание считать, что под воздействием ТМ снижается общее количество мицелиальных прокариот, но в то же время увеличивается их родовое разнообразие и долевая представленность в общем количестве прокариот. Т.е., представители различных актиномицетных таксонов различаются по реакции на содержание в почве ТМ. Наиболее стойкими к действию ТМ являются стрептомицеты, а наиболее чувствительными – представители рода *Streptosporangium*.

Литература

- Воробьева Л. А. Теория и практика химического анализа почв. М.: ГЕОС, 2006. С. 400.
- Звягинцев Д. Г., Зенова Г. М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. 257 с.
- Мэггаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 173 с.

ФАКТОРЫ СТРЕССА И АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВЫ В УРБОЭКСИСТЕМЕ

Н. Н. Назаренко

*Воронежский государственный аграрный университет
им. императора Петра I*

Территорию города с экологических позиций необходимо рассматривать как особую урбоэкосистему (УЭС), существующую за счет постоянного техногенного воздействия. Интенсивность и разнообразие этого воздействия во многом превышают темпы адаптации и устойчивость природной системы. В связи с этим возрастает актуальность оценок адаптационных возможностей и степени восстановления УЭС и ее компонентов после действия стресс-факторов.

Почва – ядро городской экосистемы, обеспечивающая ее очищение, нейтрализацию вредных соединений, сохранность зеленых насаждений. Основными загрязняющими веществами городских почв (урбаноземы), поступающими из атмосферы и с поверхностным и грунтовым стоком, являются тяжелые металлы, нефтепродукты и другие токсиканты [1]. Почвенные микроорганизмы являются наиболее чувствительными индикаторами на уровень антропогенного воздействия.

Современными исследованиями реакции на различные факторы окружающей среды активно функционирующего в почве микробного сообщества (МСО) занимались многие ученые. Полученные данные о структуре и динамике различных групп микроорганизмов разрознены, не учитывается последствие факторов. Большинство работ выполнено на дерново-подзолистых почвах. Считается, что черноземы как высокобуферные почвы значительно более устойчивы к антропогенной нагрузке. Количественные критерии для оценки нарушений структуры МСО используются, как правило, в модельных экспериментах. Один из таких подходов к микробиологической индикации состояния почвы предложен В. С. Гузевым [2]. Он основан на сочетании градиентного анализа и метода инициированного микробного сообщества (ИМС). Показано, что независимо от природы поллютанта изменения микробиоты почвы в ответ на возрастающие антропогенные нагрузки выражаются в последовательной смене четырех адаптивных зон (гомеостаз, стресс, резистентность, репрессия).

Целью нашей работы являлось изучение устойчивости и ответных реакций МСО урбаноземов крупного промышленного центра Центрального Черноземья г. Воронежа. В качестве объекта исследования были выбраны разные категории земель г. Воронежа (городские зоны). Контролем служили ненарушенные черноземы выщелоченные пригородной зоны.

Многолетние мониторинговые исследования показали, что наиболее информативными для индикации урбаноземов являются показатели видового состава и структуры почвенных микроскопических грибов (микробиоты). Вышеперечисленные показатели статистически существенно отличались для разных городских зон в зависимости от уровня антропогенной нагрузки.

Полученные материалы подвергнуты статистическому анализу. Расчеты проведены на IBM PC/AT с использованием программ в пределах пакета «Statistica».

Согласно разработанным В. С. Гузевым грациям реакции МСО почвы на антропогенное воздействие, обнаруженная нами устойчивость по годам и точкам отбора подтверждает, что комплекс микромицетов чернозема в *природных* экосистемах находится в адаптивной зоне «гомеостаза». По показателю плотности видов доминирующее положение в черноземах пригородной зоны занимали виды класса Deuteromycetes, а классы Zygomycetes и Ascomycetes представлены несколькими видами. Среди несовершенных грибов преобладали виды родов Penicillium, Aspergillus и Fusarium. Видовой состав и структура комплекса микромицетов характерна для черноземных почв, это обеспечивает стабильное выполнение почвой экологических функций.

Комплексы микромицетов на урбанизированных территориях отличаются по общему видовому составу и структуре от пригородных почв. Установленные нами изменения структуры комплекса микромицетов в рекреационных и селитебных зонах г. Воронежа соответствуют адаптивной зоне «стресса». Здесь обнаружено нарушение таксономической структуры комплекса типичных для чернозема выщелоченного почвенных грибов на родовом уровне, что особенно проявлялось в уменьшении представленности грибов из семейства Mucogaseae и рода Fusarium. Очевидно, снижение частоты встречаемости данных грибов связано с их экологическими особенностями, так как урбаноземы с резко сниженным содержанием растительных остатков являются неблагоприятными для развития данных грибов. Возрастала в 2–3 раза плотность родов Aspergillus и Trichoderma, среди которых много термофильных и термотолерантных видов. Доля плотности рода Penicillium снижалась в 1,5 раза.

Данная изменчивость позволяет системе адаптироваться к изменившимся условиям существования путем изменения своей организации при практически неизменном составе. Антропогенный фактор действует опосредованно, изменяя ранее сложившееся неустойчивое, динамическое равновесие между конкурирующими популяциями – членами сообщества.

В урбаноземах *промышленных* и *транспортных* зон города происходит необратимый переход комплекса микромицетов в адаптивную зону «резистентности». В этой адаптивной зоне наблюдается резкое снижение видового разнообразия и проявляется смена видового состава микромицетов. Частота встречаемости несовершенных грибов семейства Dematiaceae (темноцветные микромицеты) в урбаноземах этих зон значительно возрастает. Изменяется видовой состав почвенных микромицетов, при этом проявляется «концентрация доминирования» темноцветных гифомицетов и токсигенных видов. Среди *токсигенных* видов обнаружены: *Paecilomyces farinosum* (Holm ex Gray) A. Bown, *Penicillium viridicatum* Westing, *P. velutinum* Beyma, *P. purpurogenum* Fler et Stoll., *P. rubrum* Stoll., *P. rugulosum* Thom., *Aspergillus terricola* March., *A. fumigatus* Fres., *A. tamaris* Kita, *A. versicolor* Tiraboschi, *A. terreus* Thom., *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz., *Gliocladium roseum* (Lk) Bain, *Trichothecium roseum* Link ex Fries, *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk et Samson; а также *темноцветные* виды *Botryotrichum*

piluliferum Sacc. et March., *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb.ex Link) Hugnes, *Alternaria geophila* Daszewska. Считается, что меланиновые пигменты как антиоксидантами защищают клетку от повреждения, а токсины-антибиотики помогают почвенным микромицетам выигрывать конкурентную борьбу, обостряющуюся в условиях ингибирования и лимитирования роста [3, 4]. Усиление доминирования токсичных микромицетов свидетельствует о возрастании роли «метаболического регулирования» МСО в урбанэкосистемах.

Виды рода *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. fumigatus* и родов *Stachybotrys* и *Cladosporium* относятся к условно-патогенным, т.к. выделяются из пораженных органов при системных и частных микозах. Для видов *A. niger*, *A. fumigatus*, характерна способность вызывать аллергические реакции, для вида *Altherneria alternata* обнаружена корреляция содержания спор в воздухе и развития у людей бронхиальной астмы [5].

Таким образом, урбаностресс приводит к негативным и часто необратимым изменениям в структуре комплекса почвенных микромицетов. Это свидетельствует о снижении устойчивости и нарушении выполнения экологических функций почвой в антропогенных экосистемах. Микробиологические показатели, применяемые для характеристики городских почв, показали высокую степень информативности для разной степени антропогенной трансформации, и могут быть рекомендованы для включения их в программу городского мониторинга.

Литература

1. Почва, город, экология / Под. ред. Г. В. Добровольского. М.: Фонд «За экономическую грамотность», 1997. 320 с.
2. Гузев В. С., Левин С. В., Звягинцев Д. Г. Реакция микробной системы почв на градиент концентрации тяжелых металлов // Микробиология. 1985. Т. 54, № 3. С. 414–420.
3. Свистова И. Д., Щербаков А. П., Фролова Л. О. Токсины микромицетов чернозема: спектр антибиотического действия и роль в формировании микробного сообщества // Почвовед. 2004. № 10. С. 1220–1227.
4. Марфенина О. Е. Особенности комплексов микроскопических грибов урбанизированных территорий // Микробиология. 1996. № 1. С. 119–124.
5. Марфенина О. Е. Распространение потенциально патогенных микромицетов в окружающей среде // Проблемы медицинской микологии. 2002. Т. 2. № 2. С. 36–37.

РЕАКЦИЯ ПОЧВЕННЫХ АКТИНОМИЦЕТОВ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ СРЕДЫ МЫШЬЯКОМ

Е. В. Товстик¹, И. Г. Широких^{1,2}

*1 ГНУ НИИСХ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
2 Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН ВятГГУ, irgenal@mail.ru*

Загрязнение почв токсичными элементами носит, как правило, локальный характер, концентрируясь в основном вокруг крупных городов. Поступая в почву в больших количествах, различные загрязнители влияют на биологические свойства почвы: уменьшается общая численность микроорганизмов, сужается их видовой состав (разнообразие), изменяется структура

микробсоценозов, снижается интенсивность основных микробиологических процессов и активность почвенных ферментов (Левин и др., 1989).

Установлено, что снижение численности почвенных микроорганизмов под действием токсикантов, наблюдается не во всех случаях, иногда отмечается противоположный эффект. Имеются данные о том, что небольшие концентрации загрязнителей могут стимулировать развитие тех или иных микроорганизмов (Загуральская, Зябченко, 1994).

В большей степени, среди микроорганизмов, чувствительных к различным видам загрязнения, в первую очередь, к тяжелым металлам – аммонифицирующие, олигонитрофильные, коренеподобные бактерии и некоторые споровые актиномицеты, в меньшей степени – целлюлозолитические бактерии, наиболее устойчивы – микроскопические грибы (Калоянова, 2007; Левин, 1989).

Исследования показали, что с течением определенного промежутка времени опыта, не зависимо от концентрации мышьяка в почве, происходит увеличение, а в конце сукцессии – сокращение численности почвенных актиномицетов (Калоянова, 2007). Токсический эффект мышьяка автор связывает с повреждением мембраны клетки, блокировкой АТФ-азной активности.

Задачи работы – исследование численности и разнообразия актиномицетов в почвах с различным содержанием мышьяка и изучение в условиях модельного опыта реакции двух видов актиномицетов на различные концентрации мышьяка в среде.

Объектом исследования служили дерново-подзолистые почвы различного механического состава под луговыми ценозами на территории Оричевского района Кировской области. Образцы почв отобраны из горизонта 0–20 см в летний период 2007 г. Превышение ПДК по мышьяку в исследуемых образцах почвы было зафиксировано в 2005 г. На момент микробиологического обследования (2007 г.) превышения установленного норматива в почве по данному показателю не выявлено (Ашихмина и др., 2008). Уменьшение количества мышьяка в почве, возможно, было связано с его улетучиванием и выщелачиванием (Мотузова, 1981).

Численность актиномицетов учитывали методом посева почвенной суспензии на плотные питательные среды.

Изучение реакции актиномицетов на добавление в питательную среду различных концентраций мышьяка проводили в модельных опытах с культурами *S. albus* 141.15 (Albus Albus), *S. bottropensis* 140.4 (Cinereus Chromogenes), *S. hygrosopicus* 135.3 (Cinereus Achromogenes).

При исследовании кинетики роста вводили в питательную среду хлорид мышьяка в концентрациях, пересчитанных на As (III): $4 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-2}$, $4 \cdot 10^{-1}$, 4 мг/л, в опыте по накоплению сухой биомассы – 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 3,0 мг/л. Радиальную скорость роста культур стрептомицетов рассчитывали как увеличение диаметра колоний стрептомицетов за определенный промежуток времени на плотной питательной среде Гаузе 1. Накопление биомассы культурами актиномицетов определяли гравиметрическим методом (Нетрусов и др., 2005). Для этого исследуемые штаммы актиномицетов культивировали в

жидкой питательной среде Гаузе 1 на качалке (180 об./мин) в течение 5-ти суток в 4-х кратной повторности.

Полученные данные обработаны стандартными методами статистического анализа.

Исследование актиномицетных комплексов луговых дерново-подзолистых почв показало, что общая численность актиномицетов колеблется в пределах 10^3 – 10^6 колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г сухой почвы. В почвах с содержанием мышьяка выше ПДК, общая численность актиномицетов, в зависимости от механического состава, на 1–2 порядка выше, чем в почвах без превышения ПДК по мышьяку (рис. 1). Возможно, более высокая численность в загрязнённых почвах связана с гибелью более чувствительных микроорганизмов (клеточных бактерий) и активным развитием более устойчивых форм (актиномицетов). По некоторым данным (Калоянова, 2007), активно развивающиеся формы в качестве пищи могут использовать энергетический материал погибших клеток чувствительных микроорганизмов.

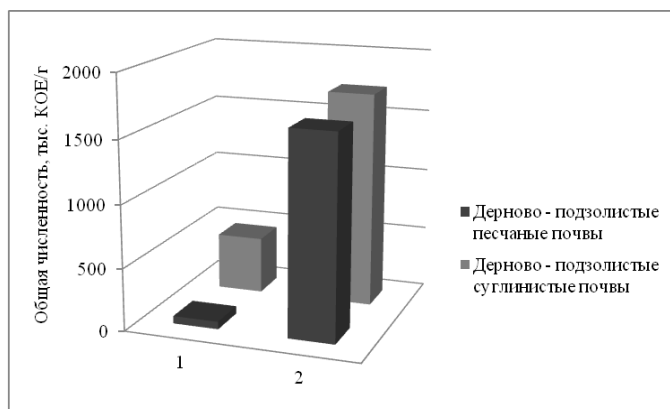


Рис. 1. Общая численность актиномицетов, выделенных из почв на среде с пропионатом натрия

Примечание: содержание мышьяка в почвах: 1 – в пределах ПДК, 2 – превышает ПДК.

В почвах с содержанием мышьяка, превышающим ПДК, выявлено снижение индексов разнообразия актиномицетов, что является отражением изменения структуры комплекса почвенных актиномицетов под действием токсических доз мышьяка (табл.).

Таблица

Индексы разнообразия родов актиномицетов в луговых дерново-подзолистых почвах

Содержание мышьяка	Дерново-подзолистая песчаная	Дерново-подзолистая суглинистая
>ПДК	0,69	0,85
<ПДК	1,51	0,69

Для изучения прямого влияния мышьяка на скорость радиального роста актиномицетов были выбраны два природных изолята *S. albus* 141.15 (Albus Albus) – непигментированный и *S. bottropensis* 140.4 (Cinereus Chromogenes) – пигментированный.

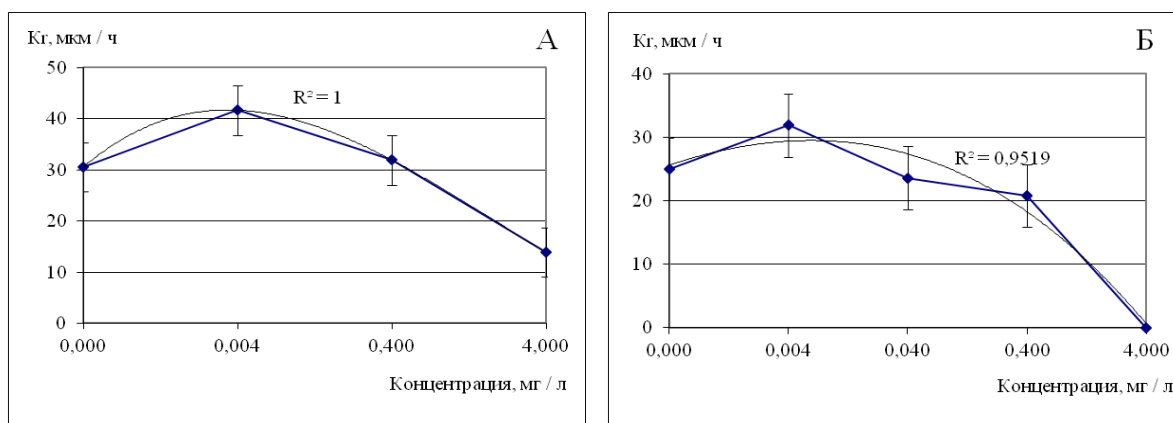


Рис. 2. Зависимость радиальной скорости роста (Kr) - *S. bottropensis* 140.4 (А) и *S. albus* 141.15 (Б) от концентрации мышьяка

Выявлена стимуляция, по сравнению с контролем, радиальной скорости роста актиномицетов на 25–30% при внесении в среду мышьяка в количестве 0,004 мг/л. При дальнейшем увеличении концентрации мышьяка в среде наблюдалась тенденция к снижению радиальной скорости роста. При максимальной в опыте концентрации мышьяка 4,0 мг/л, скорость роста темноокрашенного штамма *S. bottropensis* 140,4 снижалась в 2 раза, по сравнению с контролем, тогда как неокрашенного *S. albus* 141,15 падала до нуля. Возможно, это было связано с разной способностью исследованных видов к образованию меланинов, которые в живых организмах играют роль протекторов (Аверьянов, 1986). Штамм *S. bottropensis* образует меланоидные пигменты (Гаузе и др., 1983), за счет которых, возможно, он и оказался более устойчивым к действию токсической дозы мышьяка, чем штамм *S. albus*, который меланоидные пигменты не образует.

Исследование накопления биомассы актиномицетами под действием различных концентраций мышьяка, выявило, что при концентрации мышьяка в количестве 0,5 мг/л происходит стимуляция накопления биомассы, которая на 40% выше, чем в контроле (рис. 3). При максимальной в опыте концентрации 3 мг/л мышьяка угнетения актиномицетов не происходило.

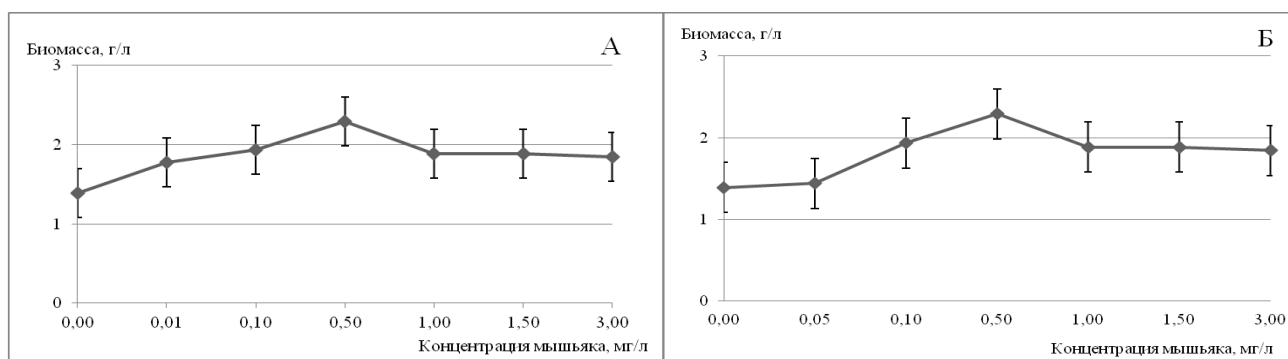


Рис. 3. Накопление биомассы *S. hygrosopicus* 135.3 (*Cinereus Achromogenes*) (А), и – *S. bottropensis* 140.4 (*Cinereus Chromogenes*) (Б) в жидкой среде Гаузе 1

Выводы. 1. По истечении времени в почвах, имевших мышьяковое загрязнение, наблюдается более высокая (1–2 порядка) численность

актиномицетов по сравнению с почвами, которые данный вид загрязнения не испытывали.

2. Загрязнение почв мышьяком снижает разнообразие почвенных актиномицетов.

3. Добавление в среду мышьяка (4 мг/л) снижает радиальную скорость роста актиномицетов на 50–100% по сравнению с контролем. Кинетика роста актиномицетов в среде с добавлением мышьяка (0,004–4 мг/л) зависит от способности культуры образовывать меланоидные пигменты.

4. Накопление биомассы актиномицетами в присутствии мышьяка (0,01–3 мг/л) не снижалось по сравнению с контролем. В среде с добавлением 0,5 мг/л мышьяка накопление биомассы актиномицетами было на 40% выше, чем в контроле.

Литература

Аверьянов А. А., Лапикова В. П., Петелина Г. Г. и др. Влияние меланина на цитотоксичность кислородных радикалов // Биохимия. 1986. Т. 52, №9. С. 1539–1547.

Ашихмина Т. Я., Кантор Г. Я., Дабах Е. В. Организация экологического мониторинга окружающей природной среды в районе объекта уничтожения химического оружия в Кировской области // Вестник ИБ. 2008. № 6. С. 6–12.

Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. Роды *Sreptomycetes*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.

Загуральская Л. М., Зябченко С. С. Воздействие промышленных загрязнений на микробиологические процессы в почвах бореальных лесов района Костамукши // Почвоведение. 1994. № 5. С. 105–110.

Калоянова Н. Эффект от замърсяването с арсен върху промените в микробиологичните свойства на две почви под ориз // Почвознание. Агрохимия. Екология. София: 2007. Т. 42. № 1. С. 37–43.

Левин С. В., Гузев В. С., Ассеева И. В. и др. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. С. 5–46.

Мотузова Г. В. Мышьяк в почвах // Агрохимия. 1981. № 1. С. 148–154.

Практикум по микробиологии / Под ред. А. И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

ИЗУЧЕНИЕ ФИТОРЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Ю. А. Новопашина¹, И. Г. Широких^{1,2}

¹ Вятский государственный университет,

² Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ, *irgenal@mail.ru*

В современном мире вопрос экологического развития сельского хозяйства стоит особенно остро. Необходимы перспективные технологии выращивания культур с применением минимальных доз химических удобрений, а по возможности, замена их биологическими препаратами. Актуальным является изучение вопроса симбиотических отношений растений

со специфическими микроорганизмами, например, аэробными метилотрофными бактериями.

Целью данной работы является исследование влияния розово-окрашенных аэробных метилотрофных бактерий на рост и морфогенез растений.

Аэробные метиловобактерии, использующие окисленные и замещенные продукты метана, но не метан, широко распространены в природе и часто ассоциированы с растениями (Троценко, 2001). Эти ассоциации постоянны и обусловлены тем, что метиловобактерии потребляют метанол, выделяемый растениями в окружающую среду. Связь растений с метилотрофами является взаимовыгодной, так как метилотрофы поставляют витамины, регулируют рост и развитие растений посредством синтеза фитогормонов, повышают устойчивость растений при различных стрессах, способствуют выживаемости (Федоров, 2011).

Методика. В своей работе мы использовали два штамма метиловобактерий: *M. radoitolerans* JCM 2831 и *M. extorquens* AM1 ВКМ В-2064 GFP, полученных из Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН. Для изучения фиторегуляторного влияния метиловобактерий использовали гнотобиотические растения картофеля Нора, размножаемых *in vitro*. и проростки пшеницы Приокская. Стерильные растения картофеля культивировали на среде Мурасиге-Скуга. Через две недели после начала культивирования учитывали морфометрические показатели растений, а так же оценивали устойчивость полученных картофельно-бактериальных ассоциаций к фитопатогену *Corynebacterium sepe-donicum*.

Пшеницу Приокскую выращивали на среде Кнопа. Влияние метиловобактерий на устойчивость растений пшеницы к осмотическому стрессу (10-процентный полиэтиленгликоль) изучали на уровне проростков в модельном вегетационном опыте. У проростков в возрасте 7 суток определяли морфометрические показатели, в возрасте 10 суток отбирали средние пробы корней и листьев на биохимический анализ. Интенсивность перекисного окисления липидов анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом. Содержание фотосинтетических пигментов определяли на спектрофотометре при длинах волн 662, 644 (хлорофиллы) и 440,5 нм (каротиноиды). Антоцианы экстрагировали из листьев, количественное определение антоцианов проводили при 510 и 657 нм.

Кроме того была изучена способность исследуемых микроорганизмов к синтезу фитогормонов в зависимости от стадии роста.

Так же была исследована возможность образования стабильных ассоциаций метилотрофных бактерий с растениями картофеля и пшеницы, для этого использовали штамм *M. extorquens* со встроенным геном зеленого флуоресцирующего белка (GFP).

Результаты. Обработанные метиловобактериями черенки картофеля отличались от инокулированных растений более мощной корневой системой и высоким коэффициентом клонирования.

При инокуляции метиловобактериями растений пшеницы наблюдается интенсивный рост растений, по сравнению с контрольными образцами.

Все инокулированные растения отличались от контрольных по внешнему виду и имели ярко-зеленую окраску, крупные листья и хорошо развитые корни.

Изученные штаммы метиловых бактерий *M. extorquens* AM1 ВКМ В-2064 GFP и *M. radiotolerans* JCM 2831 могут вступать в устойчивый ассоциативный симбиоз с растениями картофеля сорта Нора и пшеницы Приокской.

Таким образом, изученные нами штаммы метилотрофных бактерий стимулируют рост и развитие растений не только в оптимальных условиях, но и способны обеспечивать устойчивость растений при стрессовых воздействиях или атаке фитопатогенов.

Использование метиловых бактерий может стать стратегией целенаправленного улучшения свойств и урожайности растений. Создание препаратов на их основе позволит снизить использование химических удобрений. Дальнейшее изучение аспектов фитосимбиоза розово-окрашенных метиловых бактерий позволит полнее реализовать их метаболический потенциал в современном сельском хозяйстве.

Литература

Троценко Ю. А., Иванова Е. Г. Аэробные метилотрофные бактерии как фитосимбионты // Микробиология. 2001. Т. 70. № 6. С. 808–830.

Федоров Д. Н., Доронина Н. В. Фитосимбиоз аэробных метиловых бактерий: новые факты и гипотезы // Микробиология. 2011. Т. 80. № 4. С. 435–446.

Доронина Н. В., Федоров Д. Н. Стимуляция роста и морфогенеза растений *in vitro* ассоциативными аэробными метилотрофными бактериями *M. extorquens* D10, образующими цитокинины, ауксины и витамин B12 // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2010. Вып. 1. С. 215–225.

ОПЫТ МНОГОСТОРОННЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

*А. И. Фокина¹, М. С. Жмак¹, О. Н. Гребёнкина¹,
Е. А. Горностаева², С. Ю. Огородникова^{1,3}*

¹ Вятский государственный гуманитарный университет,

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

³ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
anya_var@mail.ru, g_lentochka@mail.ru, svetao_05@mail.ru

Одними из удивительных объектов нашего мира являются цианобактерии (ЦБ). Самым простым способом познакомиться с ними – посмотреть на них через объектив микроскопа, но для того, чтобы их познать полнее, многограннее, необходимо провести многостороннее изучение, применяя методы химических, физико-химических, физических исследований (Фокина, 2011). Исследования лучше проводить в условиях, моделирующих какие-либо экстремальные условия, что позволит выявить особенности функционирования ЦБ, имеющие важное научное и прикладное значение. Одними из самых распространённых поллютантов сточных вод предприятий с гальваническими цехами являются ионы никеля (II) и меди (II).

Поэтому целью нашей работы было изучить функциональные особенности биоплёнок почвенных цианобактерий с доминированием рода *Phormidium* в условиях загрязнения медью и никелем и выявить сферы возможного применения ЦБ.

Объекты и методы. В нашей работе были использованы плёнки цианобактерий с доминированием рода *Phormidium*. Биоплёнки отобраны из дерново-подзолистой почвы учхоза Вятской государственной сельскохозяйственной академии. Данные роды ЦБ широко распространены в почвах Кировской области. Культуру ЦБ предварительно выращивали на жидкой среде Громова № 6 с азотом в течение 2-х месяцев в люминостате при постоянной температуре (+25 °С) и 12-ти часовом освещении (3000 лк). Двухмесячные культуры помещали в растворы солей никеля (II) ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и меди (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), а также их смесь в концентрациях ионов металлов 20 мг/дм³. Исследования культуры и культуральной жидкости проводили через час контакта и через сутки.

Все определяемые показатели можно разделить на три группы: показатели устойчивости, показатели способности ЦБ снижать концентрацию токсикантов в растворе и показатели, характеризующие одновременно и устойчивость и способность к снижению концентрации токсиканта.

К первой группе показателей, характеризующих функциональный статус ЦБ, можно отнести: каталазную активность, интенсивность перекисного окисления липидов, содержание хлорофилла а и феофетина в культуре, морфологию поверхности клеток. Активность каталазы определяли газометрическим методом (Хазиев, 2005) в модификации для ЦБ. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в культурах ЦБ анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), образующимся в процессе ПОЛ. За основу была взята методика определения ПОЛ в растительных тканях (Лукаткин, 2002) в нашей модификации. Феофетин и хлорофилл а определяли спектрометрическим методом по монохроматической методике (Standard procedure ..., 2000). Морфология поверхности клеток была изучена с помощью электронного микроскопа JSM-6510 Scanning Electron Microscope (Дурнев, 2011).

Ко второй группе показателей, характеризующих способность ЦБ снижать концентрацию токсикантов в растворе, относят содержание токсиканта в растворе после контакта с культурой. Остаточное содержание ионов никеля (II) и меди (II) в растворе определяли методом инверсионной вольтамперометрии на приборе Экотест-ВА с датчиком «Модуль ЕМ-04» (Сборник, 2004). Содержание ионов тяжёлых металлов (ТМ) определяли в культуральном фильтрате через час контакта и через сутки.

К третьей группе показателей, характеризующих устойчивость ЦБ можно отнести количество и качество метаболитов, образующихся в ответ на действие токсикантов, некоторые из которых отвечают за связывание металлов. Качественный состав полярных и неполярных соединений в культуральной жидкости после воздействия токсикантов определяли методом газовой хромато-масс-спектрометрии на хромато-масс-спектрометре GCMS-QP2010

Plus (Росинский, 2011). Пробоподготовка состояла в приготовлении вытяжки этиловым спиртом и четырёххлористым углеродом.

Результаты и их обсуждение.

В результате исследований выявлено, что поллютанты усиливают активность фермента каталазы в культуре ЦБ. Причем, чем больше было время воздействия ТМ, тем выше была активность каталазы. Воздействие токсикантов на культуру ЦБ в течение суток приводило к существенному (2,5–3 раза) возрастанию активности каталазы, по сравнению с контролем (табл.). Стрессовые факторы оказывают на организм «стимулирующее» влияние, в первую очередь увеличивается интенсивность окислительных процессов в клетках, возрастает дыхательная активность. Такая защитная реакция направлена на мобилизацию энергетических ресурсов и накопление метаболитов, способствующих адаптации и выживанию организма в экстремальных условиях.

Таблица

Влияние поллютантов на активность каталазы и накопление малонового диальдегида в культуре ЦБ при разной длительности воздействия

Время действия ТМ, час	Контроль	Ni	Cu	Ni+Cu
Активность каталазы, ед.				
1	0,08±0,01	0,11±0,01	0,08±0,01	0,20±0,03
24	0,15±0,01	0,38±0,04	0,49±0,02	0,50±0,04
Содержание МДА, нмоль/мл				
1	0,18±0,01	0,08±0,01	0,19±0,01	0,44±0,03
24	0,12±0,01	0,02±0,01	0,11±0,01	0,14±0,02

Активация каталазы через час после действия смеси Ni+Cu сопровождалась накоплением в культуре ЦБ продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида, что свидетельствует об окислительном повреждении мембран. Дальнейшие наблюдения показали снижение интенсивности ПОЛ до контрольного уровня, по-видимому, это связано с эффективной работой антиоксидантной системы.

Кратковременное действие токсикантов (1 час) приводило к значительному снижению содержания хлорофилла *a* в вариантах с ионами меди (II) и смесью ионов меди (II) и никеля (II) (рис. 1). Снижение уровня хлорофилла в культуре клеток ЦБ сопровождается возрастанием количества феофетина (рис. 2).

Накопление феофетина в культуре ЦБ свидетельствует о разрушении хлорофилла *a* под влиянием ТМ. Через сутки происходит некоторое восстановление культуры, отмечается уменьшение количества феофетина и увеличение содержания хлорофилла *a* (рис. 1 и рис. 2). Увеличение содержания хлорофилла *a* и снижение интенсивности процессов ПОЛ в культуре ЦБ через сутки действия поллютантов свидетельствует об адаптации ЦБ к стрессовым условиям.

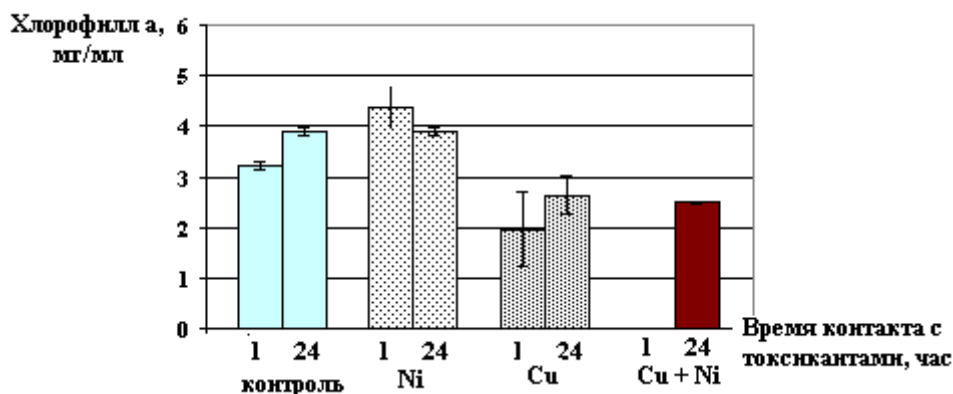


Рис. 1. Влияние поллютантов на содержание хлорофилла *a* в культуре ЦБ при воздействии в течение часа и суток

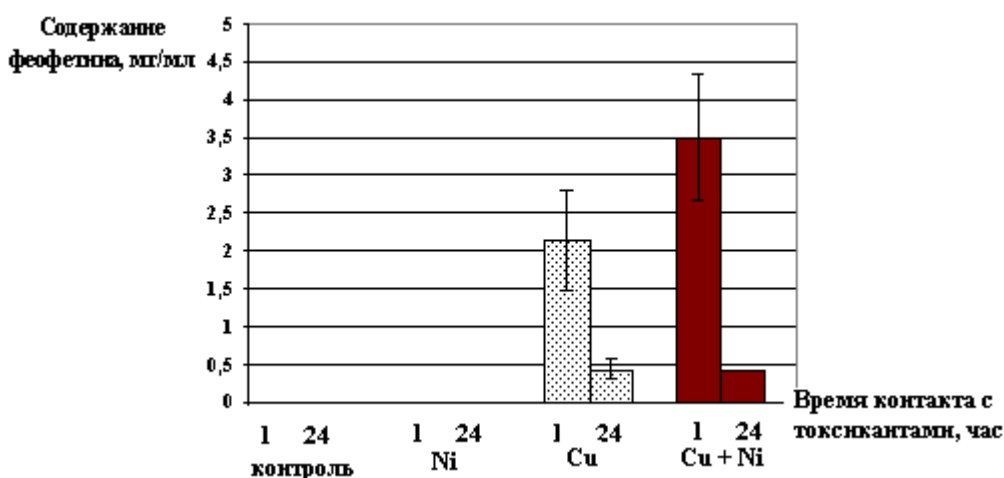


Рис. 2. Влияние поллютантов на содержание феофетина в культуре ЦБ при воздействии в течение часа и суток

Впервые для изучения поверхности исследуемых пленок была применена растровая электронная микроскопия (РЭМ). Исследование изменений структурных особенностей ЦБ методом РЭМ показало, что при любой продолжительности контакта с токсикантом структура ЦБ меняется, причем не в лучшую сторону. При данном контакте наблюдается разрыв связей между компонентами пленки. На рис. 3а видно, что ЦБ «облеплены» бактериями-спутниками. При воздействии ионов никеля, связь между ЦБ и бактериями-спутниками ослабевает, бактерии выстраиваются в отдельные, самостоятельные колонии. Это может быть связано с нарушением симбиотических связей. Ионы металлов, вступая во взаимодействие с компонентами слизистых чехлов ЦБ, нарушают физико-химические свойства чехла, делая его непригодным для существования в нём спутников (рис. 3б). Происходит даже некоторое изменение цвета пленок, с токсикантами они становятся более темными. Такое же явление происходит и в присутствии ионов меди.

Через час после контакта культуры ЦБ и ионов ТМ содержание последних в растворе резко уменьшается, на 99% в случае индивидуальных солей и на 96–99% в смеси друг с другом. Концентрации из растворов смеси солей уменьшаются несколько в меньшей степени. Через сутки во всех вариантах происходит увеличение концентрации ТМ в растворе (рис. 4). Это

может быть объяснено с двух позиций: во-первых, культура адаптируется и выбрасывает часть ионов, поступивших в первое время, из клетки в окружающую среду. Таким образом проявляется адаптация организмов к условиям обитания; во-вторых, повышение содержания металлов в растворе могло быть вызвано разрушением клеточных стенок микроорганизмов и соответственно пассивным выходом ионов в раствор; а может быть, то и другое. Хотя, уменьшение феофетина в клетках, ослабление ПОЛ, усиленная каталазная активность и увеличение содержания хлорофилла *a* через сутки, указывают на адаптацию организмов.

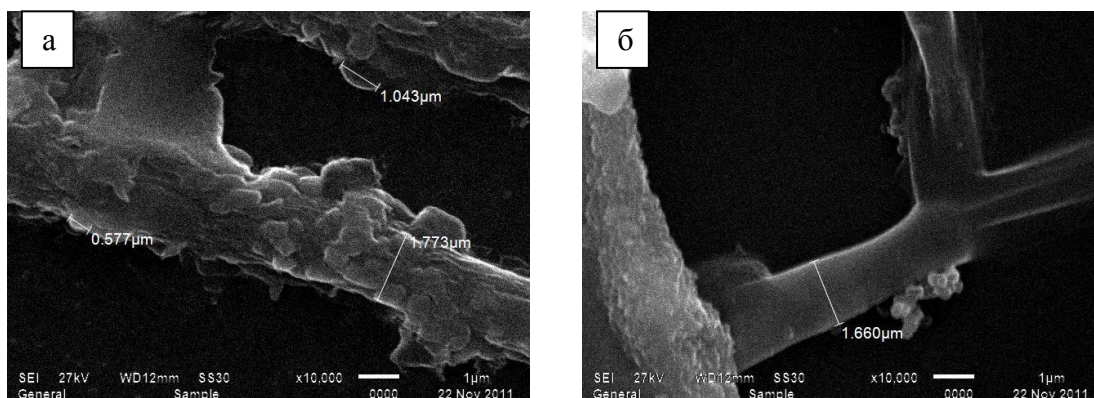


Рис. 3. Изменение структуры ЦБ под воздействием токсиканта:
а – контроль, б – в присутствии ионов никеля

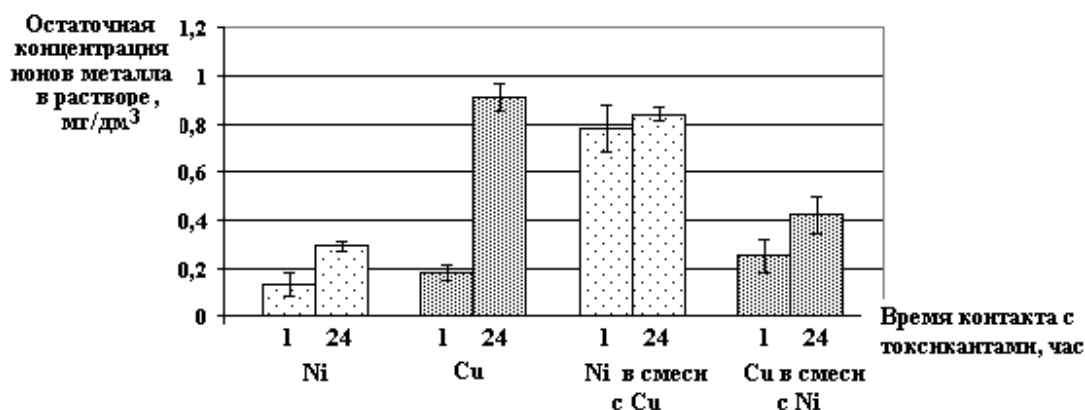


Рис. 5. Влияние продолжительности контакта и присутствия второго иона токсиканта на остаточную концентрацию ионов никеля и меди в растворе

Культуральная жидкость контрольного варианта (без воздействия ТМ) богата различными классами органических соединений. В ней представлены более 25 различных соединений, относящиеся к классам кетонов, спиртов, карбоновым кислот, тиолов, предельных и непредельных углеводородов. Большинство из них имеют высокую молекулярную массу, более 150 а. е. 32% по массовому содержанию приходится на гексадекановую кислоту, 25% на холеста-4,6-диен-3-ол, 13% на октадекановую кислоту. При воздействии токсикантов, в фильтрате резко падает разнообразие соединений, практически не представлены полярные соединения. Преобладают соединения, содержащие азот и кетосоединения. Этот факт может быть обусловлен тем, что полярные

соединения участвуют в связывании ионов никеля (II) и меди (II), поэтому в культуральной жидкости их определить не удалось.

Итак, для исследования отклика комплекса почвенных цианобактерий с преобладанием рода *Phormidium* были применены различные химические, физико-химические, физические методы исследования. Показано, что в растворе с концентрацией токсикантов 20 мг/дм³ биоплёнка даёт существенный отклик по всем определяемым показателям. Удалось выявить такие уникальные свойства биоплёнки, как высокая способность к снижению концентрации ТМ в растворе, что является перспективным для создания надёжного биосорбента. Она показывает сильный физиолого-биохимический отклик, что является основой для создания биотестера. Выявлены особенности в изменениях на популяционном уровне, что является важнейшим этапом в исследовании роли отдельных микроорганизмов сообщества в функционировании биоплёнки в условиях загрязнения ионами никеля (II) и меди (II).

Литература

Дурнев Е. А. Электронная микроскопия: Методические указания к лабораторным работам. Киров: Изд-во ВятГУ, 2011. 13 с.

Лукаткин А. С. Холодное повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

Росинский А. П., Алалыкин А. А. Газовая хромато-масс-спектрометрия: Методические указания. Киров: Изд-во ВятГУ, 2011. 37 с.

Сборник методик измерений массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта методом вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». М.: ООО «Эконикс-Эксперт», 2004. 61 с.

Фокина А. И., Зыкова Ю. Н., Данилов Д. Н., Ашихмина Т. Я., Жмак М. С. Методология изучения влияния ионов тяжёлых металлов на культуры почвенных цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология, 2011. № 3. С. 21–27.

Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.

Standard procedure for the determination of chlorophyll *a* by spectroscopic methods. Institute of Marine Research. Norway. 2000. 25 p.

ВЫЯВЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРИРОДНЫХ БИОПЛЁНОК *NOSTOC COMMUNE*

*Е. М. Слестникова¹, Е. А. Горностаева², А. И. Фокина¹,
К. А. Кокоулина¹, С. Ю. Огородникова^{1,3}, Л. В. Кондакова¹*

¹ *Вятский государственный гуманитарный университет,*

² *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,*

³ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,*

anya_var@mail.ru, g_lentochka@mail.ru, svetao_05@mail.ru

Приспосабливаясь к условиям окружающей среды, организмы ответными реакциями сигнализируют о её качестве с одной стороны, с другой, выживают организмы, способные существовать в этих условиях. Поэтому, чаще всего для ликвидации последствий экологических нарушений и индикации используют микроорганизмы и группы организмов с адекватными этому нарушению свойствами. С этой точки зрения потенциалом обладают природные биоплёнки

с доминированием цианобактерий (ЦБ) *Nostoc commune*. Одним из факторов нарушения экосистемы может быть загрязнение окружающей среды солями никеля и меди, так как эти металлы являются одними из распространённых компонентов процессов металлообработки.

Целью работы было – исследование биоремедиационного и тестового потенциала природных биоплёнок с доминированием ЦБ *Nostoc commune* по отношению к ионам меди (II) и никеля (II).

Объекты и методы исследования. Объектами исследования были природные плёнки с доминированием ЦБ *Nostoc commune*, собранные в октябре 2006 г. вдоль обочины шоссе на окраине г. Дзержинска Нижегородской области, который является одним из неблагополучных городов России. Выявляли сорбционные возможности биоплёнки с доминированием ЦБ, непосредственно собранной у автодороги, а также очищенной от некоторого количества ТМ путём выращивания культуры на питательной среде Громова № 6 без азота. Культуру исследовали в виде плёнки и гомогената. Изучали влияние ионов меди (II) и никеля (II) в концентрациях, равных 2 мг/л и 20 мг/л, на некоторые физиолого-биохимические показатели: каталазную активность, перекисное окисление липидов (ПОЛ), содержание хлорофилла *a*, интенсивность биофлуоресценции (ИБХЛ).

Активность каталазы определяли газометрическим методом (Хазиев, 2005). ПОЛ оценивали по интенсивности окраски раствора после реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), образующимся в процессе ПОЛ (Лукаткин, 2002). Феофетин и хлорофилл *a* определяли спектрометрическим методом по монохроматической методике (Standard procedure ..., 2000). Остаточное содержание ионов никеля (II) и меди (II) в растворе определяли методом инверсионной вольтамперометрии на приборе Экотест-ВА с датчиком «Модуль ЕМ-04» (Сборник, 2004). Содержание ионов тяжёлых металлов (ТМ) в культуральном фильтрате и изменение физиолого-биохимического состояния культуры определяли через час контакта и через сутки.

Изучение сорбционной способности ЦБ. Опыт закладывали с сухими, растёртыми в ступке до порошкообразного состояния плёнками *Nostoc commune*. Было взято 0,02 грамма порошка на 150 мл раствора токсиканта. Варианты соответствовали 2 и 20 мг/л ионов Cu^{2+} и Ni^{2+} , а также смеси ионов токсикантов в вышеуказанных концентрациях. Через сутки экспозиции, суспензию фильтровали и определяли остаточное количество Cu^{2+} и Ni^{2+} . Аналогичный эксперимент провели с биоплёнками, очищенными от содержащихся в ней ТМ. При очистке видовой состав несколько изменился. Доминирующие виды остались прежние, однако резко сократилось количество видов, практически не встречаются одноклеточные зелёные водоросли. Содержание ТМ в плёнке снизилось почти в два раза.

Сорбционные возможности очищенной биоплёнки оказались значительно выше (табл. 1). Скорее всего, при выращивании на среде Громова № 6 остались виды с большим сорбционным потенциалом. Во-вторых, содержащиеся до очистки в биоплёнке ТМ препятствовали поглощению ионов никеля (II) и меди (II).

**Остаточное содержание металлов в растворе после контакта
с сухой биоплёнкой**

Вариант	Остаточное содержание ионов металла в растворе, мг/л			
	Cu ²⁺		Ni ²⁺	
	до очистки	после очистки	до очистки	после очистки
Cu ²⁺ , 2 мг/л	0,41±0,06	0,09± 0,002	–	–
Cu ²⁺ , 20 мг/л	4,10±1,90	2,65± 0,02	–	–
Ni ²⁺ , 2 мг/л	–	–	0,23±0,01	0,03±0,001
Ni ²⁺ , 20 мг/л	–	–	10,27±1,74	4,97±0,001
Ni ²⁺ + Cu ²⁺ , 2 мг/л	0,30±0,03	0,10±0,03	0,21±0,002	0,06±0,002
Ni ²⁺ + Cu ²⁺ , 20 мг/л	1,53±0,23	3,14±0,03	12,27±1,06	8,36±0,03

Для дальнейших исследований были использованы биоплёнки после очистки в гомогенизированном состоянии.

Физиолого-биохимический отклик. Токсиканты уже через час воздействия усиливает каталазную активность биоплёнок, что говорит о напряжении в работе биологических систем культуры.

Результаты исследования влияния металлов на ИБХЛ и содержание хлорофилла *a* представлены в табл. 2.

**Влияние ионов Ni²⁺ и Cu²⁺ и времени экспозиции на интенсивность
биофлуоресценции и содержание хлорофилла *a* биоплёнок**

Вариант	ИБХЛ, I _{max} (mV)		Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/мл	
	Через час	Через сутки	Через час	Через сутки
Контроль	399±25	267±33	15,0±0,97	12,05±0,59
Ni ²⁺ , 2 мг/л	114±9	130±10	21,95±0,88	13,78±1,47
Cu ²⁺ , 2 мг/л	110±11	3±1	17,31±0,19	11,43±1,07
Ni ²⁺ , 20 мг/л	222±9	54±10	22,23±1,47	12,74±0,78
Cu ²⁺ , 20 мг/л	9±2	4±1	15,30±1,63	7,06±0,00
Ni ²⁺ , 2 мг/л + Cu ²⁺ , 2 мг/л	138±19	2±0	18,63±3,43	11,63±1,37
Ni ²⁺ , 20 мг/л + Cu ²⁺ , 20 мг/л	10±2	1±0	17,59±5,69	7,06±0,19

Через сутки почти во всех вариантах ИБХЛ снижается. Особенно отчетливо это заметно в вариантах с ионами меди. Неоднозначное влияние ионов никеля. По сравнению с контролем, в большинстве случаев ионы никеля ослабляют ИБХЛ, но по сравнению с вариантами, где токсикантом является медь, свечение сильнее. Не выявлено четкой закономерности в изменении содержания хлорофилла. Заметна бóльшая токсичность Cu²⁺, чем Ni²⁺. При этом уменьшение содержания хлорофилла *a* наблюдается только через сутки. Коэффициент корреляции Пирсона между ИБХЛ и содержанием хлорофилла *a* уменьшается с увеличением концентрации ионов металлов и в смеси веществ. Значение коэффициента может также, как и непосредственный отклик микроорганизмов, служить показателем при биотестировании: чем выше токсичность, тем ниже коэффициент корреляции.

Таким образом, испытываемые поллютанты оказывают сильное действие на культуру ЦБ *Nostoc commune*. При культивировании ЦБ *Nostoc commune* в среде с добавлением никеля и меди происходят существенные изменения в

содержании хлорофилла *a* и величины ПОЛ. Из двух испытанных токсикантов никель обладает более репрессивным действием, по сравнению с медью. Культура ЦБ *Nostoc commune* может считаться хорошим сорбентом, а также индикатором загрязнения окружающей среды солями тяжелых металлов.

Литература

Лукаткин А. С. Холодное повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

Сборник методик измерений массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта методом вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». М.: ООО «Эконикс-Эксперт», 2004. 61 с.

Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.

Standard procedure for the determination of chlorophyll *a* by spectroscopic methods. Institute of Marine Research. Norway. 2000. 25 p.

Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. Л.: Наука, 1969. 228 с.

Методика выполнения измерений массовых долей токсичных металлов в пробах почв атомно-абсорбционным методом. ФР.1.31.2007.04106. М. 13 с.

Методические указания по определению тяжёлых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. М. 1992.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ (II) НА БИОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

*Е. А. Горностаева¹, А. И. Фокина², Д. С. Лаптев³,
С. Ю. Огородникова^{2,4}, В. И. Жаворонков²*

¹ *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,*

² *Вятский государственный гуманитарный университет,*

³ *Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН,*

⁴ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,*

g_lentochka@mail.ru, anya_var@mail.ru, lapden@mail.ru, svetao_05@mail.ru

В окружающем нас мире находится огромное количество веществ, токсичных для всего живого. Современный человек сталкивается с ними в среде своего обитания. К таким веществам относятся поллютанты в выбросах предприятий, в том числе тяжелые металлы (ТМ), которые способствуют развитию всевозможных заболеваний человека (Домрачева и др., 2009). Поэтому крайне важным становится поиск различных аналитических систем для определения токсичности, а значит и контроля состояния объектов окружающей среды (Кудряшева и др., 2002). Одним из перспективных показателей для целей биоиндикации и биотестирования является интенсивность биохемилюминесценции веществ клеток некоторых организмов.

Биохемилюминесценция – это вид хемилюминесценции. Биолуминесценция основывается на химических процессах, при которых освобождающаяся энергия выделяется в форме света. Возникает при многих химических реакциях – например, при рекомбинации свободных радикалов или в реакциях окисления. На основе знаний о биохемилюминесценции открывается путь исследования влияния токсикантов на культуру гетероцистных ЦБ. Молекулами эмиттерами (ответственными за люминесцен-

цию) могут быть очень многие соединения, одним из которых является хлорофилл *a*. Так как клетки ЦБ содержат хлорофилл *a*, способный к люминесценции, мы определяли его количество.

Поэтому целью данной работы было изучение изменений биохемиллюминесценции гетероцистных цианобактерий (ЦБ) *Nostoc linckia* и *Nostoc paludosum* в условиях загрязнения медью.

Объекты и методы. В работе были использованы две чистые культуры ЦБ *Nostoc linckia* Born and Flah. № 271 и *Nostoc paludosum* Kütz. № 18 из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры ботаники, физиологии растений и микробиологии ВГСХА. Штаммы ЦБ выделены в альгологически чистую культуру из дерново-подзолистой почвы Учхоза ВГСХА. Данные виды широко распространены и в почвах урбанизированных территорий, в том числе в разных зонах г. Кирова.

Культуру ЦБ предварительно выращивали на жидкой среде Громова № 6 без азота в течение 2-х месяцев в люминостате при постоянной температуре (+25°C) и 12-ти часовом освещении (3000 лк). Токсикантом являлась соль меди (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Перед использованием культуру разбивали на гомогенизаторе при 9000 оборотов/мин в течение 5 минут. Подсчёт численности клеток проводили в камере Горяева (Практикум ..., 2005).

Во всех опытах оценку токсичности проводили с помощью регистрации кинетической кривой спонтанной люминолнезависимой хемиллюминесценции. Измерения проводили на биохемиллюминиметре БХЛ-07 (ЦНИЛ НГМА; «ИМБИО» Н. Новгород, Россия), регистрировали максимальную интенсивность быстрой вспышки (I_{max} , мВ), светосумму (S – площадь под кривой, мВ·сек) свечения пробы, величина которой обратно пропорциональна общей антиоксидантной активности. Для этого в измерительную кювету вносили 1 мл взвеси цианобактерий, помещали в измерительную камеру и включали режим термостатирования (+37°C). Измерение проводили в течение 30 секунд (Руководство ..., 2007).

Эксперимент включал несколько этапов: определение оптимального для биотестирования титра микроорганизмов, исследование чувствительности культуры при концентрациях ионов меди близких к значению ПДК, реакция культуры в более широком временном диапазоне и диапазоне концентраций. Оптимальный титр для биотестирования определяли на культуре *Nostoc linckia* в присутствии ионов меди с концентрацией 2 мг/дм³. Продолжительность контакта составляла 12 часов. Для исследования брали суспензии с титрами $1,22 \cdot 10^9$, $0,61 \cdot 10^9$, $0,31 \cdot 10^9$, $0,15 \cdot 10^9$, $0,08 \cdot 10^9$ клеток/мл. Контролем служили варианты с аналогичным титром, но без добавления соли меди. По окончании опыта определяли содержание хлорофилла *a* спектрометрическим методом по монохроматической методике (Standard, 2000) и интенсивность биохемиллюминесценции.

Для выявления реакции культуры в областях концентрации токсиканта близких к ПДК (0,1 мг/дм³), в культуру ЦБ с титром, определенным в предыдущем опыте, добавляли раствор CuSO_4 так, чтобы концентрация ТМ составляла 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,0 мг/дм³. Затем расширили область концентраций токсиканта и экспериментировали с различным временем экспозиции. Время

экспозиции культуры *Nostoc linckia* с ионами меди (II) составило 12 и 24 ч, а концентрации – 0,1, 1, 10 мг/дм³.

Затем для сравнения была взята другая чистая культура – *Nostoc paludosum*. С ней был проведен опыт с концентрациями Cu²⁺, равными 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,0 мг/дм³. Также исследование культуры *Nostoc paludosum* проводили с концентрациями поллютанта ниже предела ПДК: 0,01 и 0,05 мг/дм³, с разным временем экспозиции – 1, 2, 12 и 24 ч.

Результаты и их обсуждение. Результаты эксперимента показали, что при самом низком титре происходит усиление биохемиллюминесценции, что может маскировать проявление токсического эффекта при биотестировании. При высоких титрах отсутствует закономерность в контроле (табл. 1), коэффициент корреляции между количеством клеток и биохемиллюминесценцией составляет всего R = 0,63. Скорее всего, такое явление связано с затруднением фиксации излучения прибором от всех возможных источников в суспензии, так как высокая плотность раствора препятствует фиксации излучения от глубинных клеток. В присутствии токсиканта количество живых, люминесцирующих клеток, уменьшается. Поэтому эффект «заслонения» ниже и зависимость от титра выражена сильнее. Такой эффект затрудняет использование культур с высоким титром в целях биотестирования.

Таблица 1

Определение оптимального титра ЦБ *Nostoc linckia*

Титр, 10 ⁹ кл/мл	С токсикантом, J (мВ)	Без токсиканта, J (мВ)
1,22	2128±151	2310±48
0,61	1751±176	2286±51
0,31	776±91	2367±56
0,15	486±8	1869±67
0,08	726±38	1503±80

Интенсивность люминесценции оказалась менее показательна в контрольных вариантах, чем содержание хлорофилла. Содержание хлорофилла в контроле точно коррелирует с количеством клеток в растворе (R=0,99), в то время как интенсивность биохемиллюминесценции нет. Результаты определения хлорофилла а у ЦБ *Nostoc linckia* показали зависимость концентрации хлорофилла а от титра клеток: с уменьшением титра – уменьшается содержание хлорофилла (рис. 1). Коэффициент корреляции Пирсона между содержанием хлорофилла а и биохемиллюминесценцией в контрольных вариантах составляет 0,73. Таким образом, было выявлено, что самым подходящим для работы титром является 0,15 • 10⁹ кл/мл.

В области концентраций от 0,1 до 1,0 мг/дм³ в культуре *Nostoc linckia* не прослеживаются закономерностей в изменении люминесценции. Так при концентрации ионов меди (II) в растворах равной 0,1 и 1,0 мг/дм³ люминесценция составляет 1720±49 и 2021±36 мВ соответственно, причем свечение культуры без токсиканта составляет 1869±67 мВ (табл. 2). Концентрация 0,2 мг/дм³ оказалась более токсичной, чем даже более высокие концентрации ионов меди (II), а при концентрации 0,4 мг/дм³ происходит усиление биохемиллюминесценции.

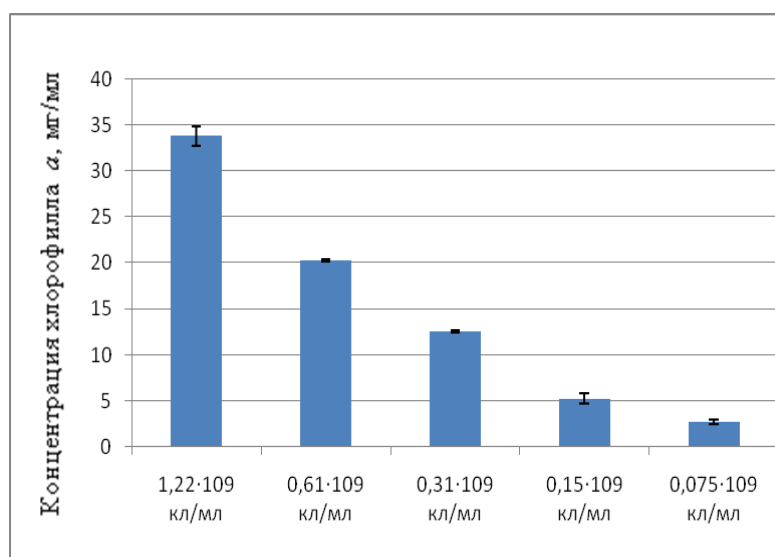


Рис. 1. Содержание хлорофилла *a* в культуре *Nostoc linckia* при различном титре клеток

Таблица 2

Влияние концентрации меди (II) на биохемилюминесценцию культуры *Nostoc linckia*

Концентрации ионов меди (II), мг/дм ³	Без токсиканта, J (мВ)	С токсикантом, J (мВ)
0,1	1869±67	1720±49
0,2		995±5
0,4		2009±14
0,8		1507±13
1,0		2021±36

Так как в данном опыте нет закономерных различий в интенсивности биохемилюминесценции при действии ионов меди (II), то в третьем опыте мы проработали более широкий диапазон концентраций, в том числе с разным временем экспозиции загрязнителя с культурой *Nostoc linckia*, а именно 12 и 24 ч. При концентрации, равной значению ПДК (0,1 мг/дм³), наблюдается увеличение свечения ЦБ со временем.

А при концентрации 1 и 10 мг/дм³ наблюдается обратное явление – при увеличении времени экспозиции уменьшается максимальная интенсивность быстрой вспышки. В среднем общий уровень свечения ЦБ через 12 ч выше, чем в контроле.

Проследить общее уменьшение биохемилюминесценции можно по данным через 24 ч, где значение планомерно уменьшается с увеличением концентраций токсиканта (рис. 2).

На следующем этапе исследования использовали штамм ЦБ *Nostoc paludosum*. С ним, как и с культурой *Nostoc linckia*, был проведен опыт для выявления действия ионов меди (II) в области концентраций близких к ПДК от 0,1 до 1,0 мг/дм³. Титр 0,15·10⁹ клеток/мл. Полученные результаты сравнили и пришли к выводу, что интенсивность свечения культуры *Nostoc linckia* является сильнее (рис. 3). Возможно, это является проявлением неустойчивости к токсиканту культуры *Nostoc paludosum*.

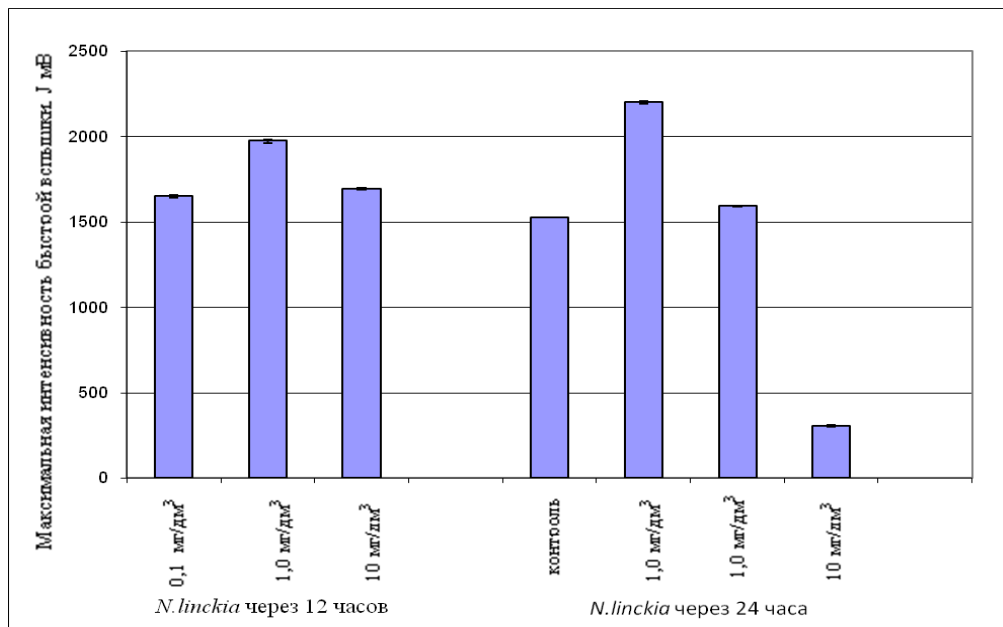


Рис. 2. Влияние продолжительности контакта с токсикантом и его концентрации на биоchemилуминесценцию *Nostoc linckia*

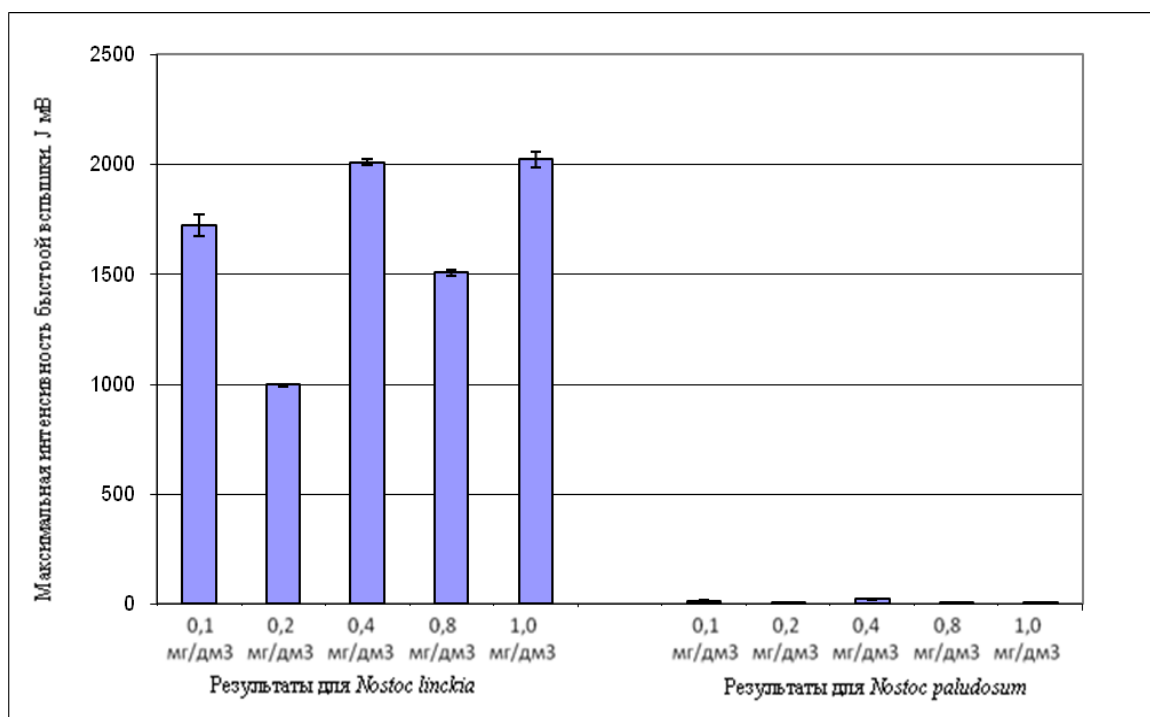


Рис. 3. Разница в интенсивности биоchemилуминесценции культур при различных концентрациях токсиканта

Дальнейшие опыты вели с культурой *Nostoc paludosum* при концентрации поллютанта ниже предела ПДК, а именно, 0,01 и 0,05 мг/дм³. Исследования ЦБ проводили через 1, 2, 12 и 24 ч (табл. 3). Они показали, что *Nostoc paludosum* имеет разный уровень отклика на действие ионов меди (II) в изученных интервалах.

Конкретной динамики замечено не было, но наибольший всплеск биоchemилуминесценции при концентрации поллютанта 0,05 мг/дм³ наблюдался при времени экспозиции 2 и 12 ч, а при концентрации 0,01 мг/дм³ – через 24 ч. Титр составлял $0,15 \cdot 10^9$ кл/мл.

Влияние концентрации ионов меди (II) и продолжительности экспозиции на биофлюоресценцию ЦБ *Nostoc paludosum*

Концентрации ионов меди (II), мг/дм ³	Время экспозиции 1 ч, J (мВ)	Время экспозиции 2 ч, J (мВ)	Время экспозиции 12 ч, J (мВ)	Время экспозиции 24 ч, J (мВ)
контроль	101±4			
0,01	182±5	157±13	129±1	197±16
0,05	155±11	233±1	229±13	107±1

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Отклик в виде интенсивности биофлюоресценции, исследованных видов ЦБ на действие ионов меди неоднозначен. Результаты часто сложны в интерпретации, что пока затрудняет использование данных видов в биотестировании сред с низкими концентрациями токсиканта. Необходимо дальше искать подходящие, оптимальные условия. Положительной стороной является то, что это уникальная возможность изучения функционирования систем микроорганизмов, а в сочетании с другими показателями – основа для выявления маркеров функционирования на биохимическом и популяционном уровне.

2. Необходимо учитывать титр микроорганизмов, так как при высоких титрах проявляется «эффект заслонения». А при низких титрах в низких концентрациях токсиканта – усиления вспышки, что может скрадывать результат биотестирования.

3. Во многом у одинаковых культур может проявляться различная интенсивность свечения. Поэтому при отработке системы биотестирования необходимо учитывать особенности каждой отдельной культуры.

4. Реакция на токсикант обусловлена не только откликом каждой отдельной клетки, но и поведением популяции в стрессовых ситуациях.

Литература

Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Попов Л. Б., Зыкова Ю. Н. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий (обзор) // Теор. и прикл. экол. 2009. № 1. С. 8–18.

Кудряшева Н. С., Кратасюк В. А., Есимбекова Е. Н. Физико-химические основы биофлюоресцентного анализа: учеб. пособ. Красноярск: Краснояр. гос. ун-т, 2002. 254 с.

Практикум по микробиологии / Под ред. А. И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

Руководство по эксплуатации биофлюориметра БХЛ-07. Нижний Новгород, 2007. 35 с.

Standard procedure for the determination of chlorophyll *a* by spectroscopic methods. Institute of Marine Research. Norway. 2000. 25 p.

БИОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПОЧВЕННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДА *PHORMIDIUM* В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ МЕДЬЮ (II) И НИКЕЛЕМ (II)

*Е. А. Горностаева*¹, *А. И. Фокина*², *Д. С. Лаптев*³,
С. Ю. Огородникова^{2,4}, *В. И. Жаворонков*², *В. М. Зворыгина*²

¹ *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,*

² *Вятский государственный гуманитарный университет,*

³ *Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН,*

⁴ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,*

g_lentochka@mail.ru, anya_var@mail.ru, lapden@mail.ru, svetao_05@mail.ru

В настоящее время для решения проблемы оценки токсичности сред привлекают несколько подходов, каждый из которых имеет свои особенности, область использования, достоинства и недостатки. Одним из таких методов является биотестирование, который состоит в определении токсичности среды непосредственно при действии ее на живой организм (Кудряшева и др., 2002). В последние годы особенно активно проводятся испытания биосорбентов и биоремедиаторов, в которых действующим началом служат сапротрофные бактерии и микромицеты, а также многовидовые консорциумы. Появились исследования, в которых упор делается на цианобактериальный компонент подобных биопрепаратов. Цианобактерии (ЦБ) – это уникальная группа фототрофных прокариотных микроорганизмов, широко распространенных повсеместно. Они обладают рядом преимуществ перед микробами-гетеротрофами: независимость от источников органического углерода (способность к фотосинтезу) и независимость от связанных соединений азота (азотфиксация у гетероцистных форм). Благодаря тому, что клетки ЦБ содержат хлорофилл и другие компоненты, способные к люминесценции, открывается путь исследования возможности создания биотестера на основе знаний о влиянии токсикантов на биохемилюминесценцию культур ЦБ.

Целью нашей работы было изучение зависимости между интенсивностью биохемилюминесценции и количеством хлорофилла *a* в биоплёнках почвенных цианобактерий с доминированием рода *Phormidium*, с разным титром в условиях загрязнения медью (II) и никелем (II).

Объекты и методы. Использованы плёнки цианобактерий с доминированием рода *Phormidium*. Данные роды ЦБ широко распространены в почвах Кировской области. Культуру ЦБ предварительно выращивали на жидкой среде Громова № 6 с азотом в течение 2-х месяцев в люминостате при постоянной температуре (+25°C) и 12-ти часовом освещении (3000 лк). Двухмесячные культуры гомогенизировали. Титр в исходной для опыта суспензии ЦБ составлял $(8,6 \pm 1,35) \cdot 10^9$ клеток/мл. Суспензию разбавляли в 2, 4, 8 и 16 раз, получая, таким образом, пять вариантов с различным разбавлением. Подсчёт количества клеток проводили в камере Горяева (Практикум ..., 2005). К суспензиям культур с различным разведением добавляли растворы солей никеля (II) и меди (II) ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), создавая концентрацию ионов металлов во всех вариантах 20 мг/дм³. В качестве контроля были

суспензии культуры с различным разведением, но без добавления токсикантов. Через сутки проводили оценку токсичности с помощью регистрации кинетической кривой спонтанной люминолнезависимой хемилюминесценции. Измерения проводили на биохемилюминометре БХЛ-07 (ЦНИЛ НГМА; «ИМБИО» Н. Новгород, Россия), регистрировали максимальную интенсивность быстрой вспышки (I_{\max} , мВ), светосумму (S – площадь под кривой, мВ·сек) свечения пробы, величина которой обратно пропорциональна общей антиоксидантной активности. Для этого в измерительную кювету вносили 1 мл взвеси цианобактерий, помещали в измерительную камеру и включали режим термостатирования ($+37^{\circ}\text{C}$). Измерение проводили в течение 30 секунд (Руководство ..., 2007). Количество наблюдений составляло 3. Параллельно определяли количество хлорофилла *a* спектрометрическим методом по монохроматической методике (Standard ...). Рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона между содержанием хлорофилла *a* и интенсивностью биохемилюминесценции.

Результаты и их обсуждение. Показано, что биопленки с доминированием ЦБ рода *Phormidium* по-разному реагирует на действие испытуемых поллютантов. В контрольных вариантах прослеживается следующая зависимость: с уменьшением титра уменьшается максимальная интенсивность быстрой вспышки. Что касается вариантов с ионами металлов, то в обоих случаях наблюдается уменьшение свечения по мере разбавления культуры ЦБ. Особенно сильное воздействие оказывают на культуру ионы меди (II), например, при разбавлении 1:4 свечение по сравнению с контролем уменьшается в 21 раз. Противоположное действие оказывают ионы никеля (II), которые, напротив, увеличивают свечение биопленок с доминированием рода *Phormidium*, по сравнению с контролем, т. е. можно говорить о неком стимулировании. Особенно это заметно в вариантах с разбавлением исходной суспензии в 8 и 16 раз (табл.).

Таблица

Влияние разбавления и ионов тяжёлых металлов на интенсивность биохемилюминесценции культуры цианобактерий

Разбавление культуры ЦБ	J контроль, мВ	J с ионами никеля(II), мВ	J с ионами меди (II), мВ
1	2646±40	2657±43	649±9
1:2	2408±88	2498±44	115±14
1:4	1845±84	1887±63	163±1
1:8	986±29	1753±79	90±9
1:16	451±25	862±52	47±1

Активация биолюминесценции катионами может быть объяснена влиянием катионов на стадии образования и эволюции элетронно-возбужденных состояний. При этом может образовываться более эффективный дополнительный канал для переноса энергии электронного возбуждения через электронно-возбужденные состояния молекул-акцепторов. Кроме того, известный эффект – увеличение скорости ферментативных реакций в результате активации ферментативных групп катионами переходных металлов. Ингибирование биолюминесценции катионами металлов может быть

результатом необратимого присоединения электрона. Такие взаимодействия характерны как раз для ионов меди. Таким образом, воздействие солей металлов на ферментативную биолюминесцентную систему показывает, что ингибирование и активация биолюминесценции – результат воздействия катионов на процессы миграции электронной плотности. Поскольку миграция электронной плотности является основой всех элементарных физических и химических процессов, следовательно, физико-химические характеристики способности акцептирования электронной плотности ксенобиотиками, а именно, сродство к электрону, редокс-потенциал, интегрируют все эффекты ксенобиотиков на сложные биологические системы (Кудряшева и др., 2002).

Результаты определения хлорофилла *a* у ЦБ представлены на рис. Видна зависимость концентрации хлорофилла *a* от титра клеток: с уменьшением титра уменьшается и количество хлорофилла на объем суспензии.

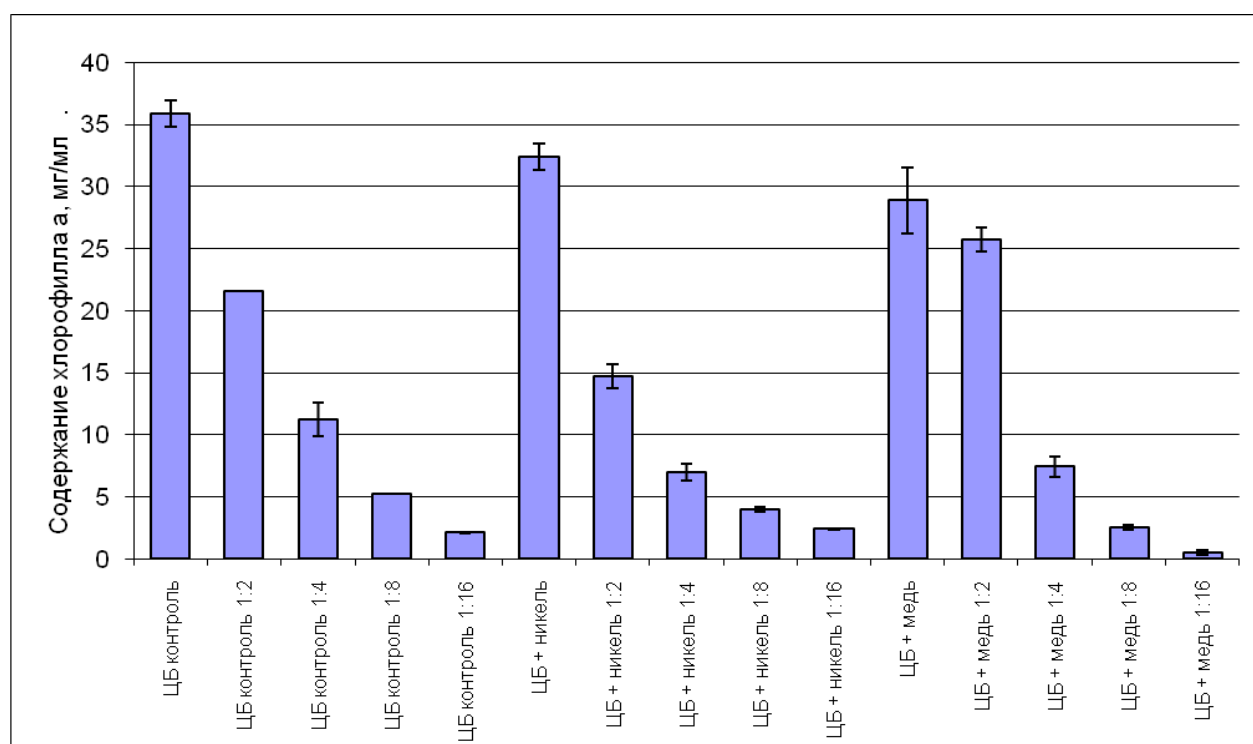


Рис. Влияние разбавления и ионов тяжёлых металлов на содержание хлорофилла *a* в культуре цианобактерий

Сходные значения наблюдаем в вариантах с контролем и с ионами никеля (II). Похожая зависимость была замечена выше при рассмотрении свечения ЦБ. Данный факт подтверждает тесная взаимосвязь между биохемилюминесценцией и количеством хлорофилла *a* в биоплёнках ЦБ. В контрольном варианте между люминесценцией и содержанием хлорофилла *a* коэффициент корреляции Пирсона равен 0,92, в вариантах с воздействием ионов никеля (II) и меди (II) 0,81 и 0,70 соответственно. Этот факт, несомненно, говорит о функциональной связи исследуемых параметров. Ионы меди оказывают более токсичное действие и в вариантах с их воздействием коэффициент корреляции между содержанием хлорофилла *a* в культуре и интенсивностью биохемилюминесценции меньше, чем в контроле и в вариантах с ионами никеля. В

присутствии токсикантов корреляция между показателями становится ниже, чем в контрольных вариантах.

Таким образом, в данной работе представлены данные о зависимости биолюминесценции от количества хлорофилла *a* в биоплёнках почвенных цианобактерий с доминированием рода *Phormidium* с разным титром в условиях загрязнения медью и никелем. Показана корреляция между данными показателями, которая говорит об их взаимосвязи. Данная проблема актуальна и требует дальнейшего изучения.

Литература

Кудряшева Н. С., Кратасюк В. А., Есимбекова Е. Н. Физико-химические основы биолюминесцентного анализа: учеб. пособ. Красноярск: Краснояр. гос.ун-т, 2002. 254 с.

Практикум по микробиологии / Под ред. А. И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

Руководство по эксплуатации биолюминометра БХЛ-07. Нижний Новгород, 2007. 35 с.

Standard procedure for the determination of chlorophyll *a* by spectroscopic methods. Institute of Marine Research. Norway. 2000. 25 p.

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МЕТИЛФОСФОНАТОВ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ РЕАКЦИЯМ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Е. В. Коваль¹, С. Ю. Огородникова^{1,2}

¹ *Вятский государственный гуманитарный университет,*

² *Институт биологии Коми НУ УрО РАН,*

svetao_05@mail.ru

Цианобактерии (ЦБ) – древнейшая группа среди живых организмов. Будучи космополитами, они являются типичными обитателями горячих источников, различных водоемов и почв, в том числе и загрязненных (Орлеанский, 2002). ЦБ представляют большой интерес из-за своих разнообразных физиологических возможностей (Громов, 1976). Многочисленными исследованиями доказано, что ЦБ потенциально обладают большими адаптационными, биоремедиационными и антагонистическими способностями (Домрачева, 2005; Кузякина и др., 2007). ЦБ широко используются в качестве тест-объектов для оценки токсичности почв, воды и других сред (Домрачева, 2005).

Метилфосфонаты являются классом фосфорорганических соединений, характеризующихся наличием химически стабильной углерод-фосфорной связи (Ашихмина, 2007). Эта связь устойчива к химическому гидролизу и тепловому разрушению, а также к фотолизу (Филиппович, 1999). В частности, к метилфосфонатам относится фосфорорганический ксенобиотик – метилфосфоновая кислота (МФК) и широко применяемый гербицид – глифосат, действующим веществом которого является N-(фосфонометил)- глицин.

Целью работы было оценить токсичность метилфосфонатов, на примере метилфосфоновой кислоты и глифосата, для цианобактерий.

Изучали токсичность МФК для природных многовидовых биопленок с доминированием азотфиксирующей гетероцистной цианобактерии

Nostoc commune в широком диапазоне концентраций: $1 \cdot 10^{-5}$; $1 \cdot 10^{-4}$; $2,5 \cdot 10^{-4}$; $5 \cdot 10^{-4}$; $7,5 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-3}$; $4 \cdot 10^{-3}$; $8 \cdot 10^{-3}$; $4 \cdot 10^{-2}$; $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л. Биопленки были отобраны у авто- и железной дороги в г. Дзержинске Л.В. Кондаковой в 2011 году.

Оценивали токсичность глифосата для природных многовидовых биопленок с доминированием безгетероцистных цианобактерий рода *Phormidium* в диапазоне концентраций по действующему веществу: $1 \cdot 10^{-4}$; $5 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-3}$; $5 \cdot 10^{-3}$; $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Для работы использовали глифосат, содержащий 36% действующего вещества, производства Кирово-Чепецкой химической компании, и метилфосфоновую кислоту английской фирмы Lancaster.

В культуру ЦБ помещали токсикант, через сутки после инкубации ЦБ с раствором метилфосфоната оценивали содержание хлорофилла а и интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в культуре. Интенсивность ПОЛ оценивали по общепринятой методике (Лукаткин, 2002), модифицированной нами для ЦБ. Содержание хлорофилла а в культуре цианобактерий оценивали спектрофотометрически при длинах волн 665 и 750 нм (Standard procedure..., 2000). Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов (Лакин, 1973).

Изучена токсичность разных концентраций МФК ($1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л) для биопленок *N. commune*. Установлено, что МФК в концентрациях $1 \cdot 10^{-1}$ – $4 \cdot 10^{-3}$ моль/л оказывает летальное действие на исследуемые биопленки, через сутки после инкубации с токсикантом отмечено разрушение хлорофилла и гибель культуры.

МФК в более низких концентрациях $1 \cdot 10^{-5}$; $1 \cdot 10^{-4}$; $2,5 \cdot 10^{-4}$; $5 \cdot 10^{-4}$; $7,5 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л не вызывает гибель ЦБ, однако, оказывает влияние на содержание хлорофилла а и интенсивность ПОЛ в фототрофном комплексе (рис. 1).

Установлено, что под влиянием МФК в концентрациях $1 \cdot 10^{-5}$ – $2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л происходит снижение хлорофилла а в среднем на 17 %. МФК в концентрациях $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л и более вызывает существенное достоверное уменьшение содержания хлорофилла а в данной культуре.

МФК в концентрациях $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л не оказывала существенного влияния на интенсивность протекания процессов ПОЛ. Инкубация биопленок *N. commune* с МФК в концентрациях $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л и более инициировали существенное увеличение интенсивности ПОЛ в популяциях ЦБ.

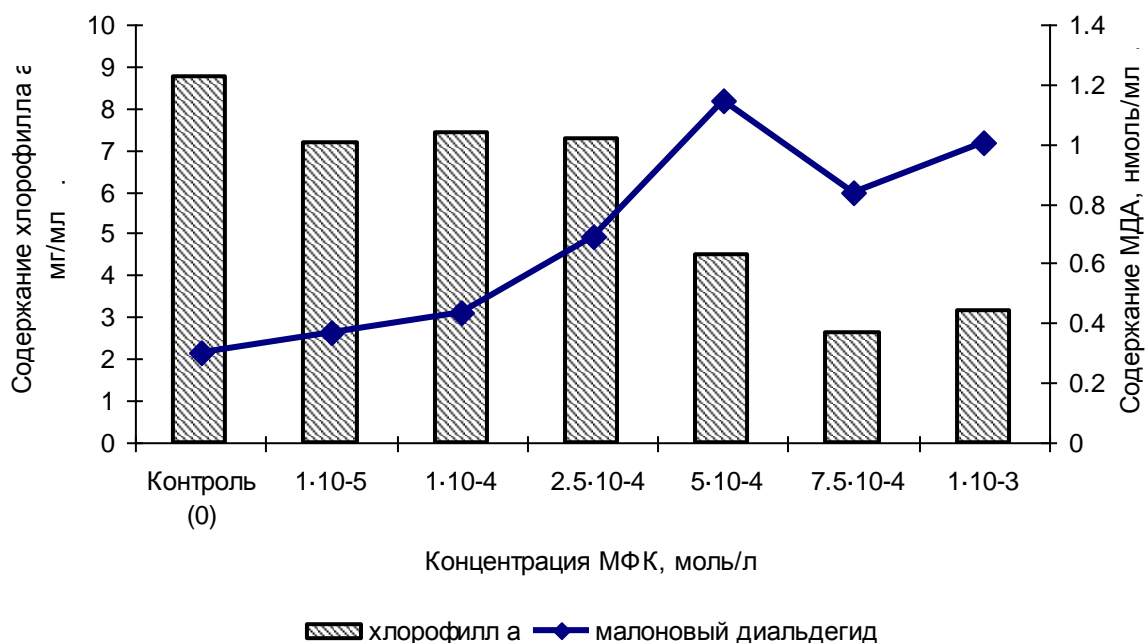


Рис. 1. Содержание хлорофилла а и малонового диальдегида в биопленках *N. commune* через сутки после инкубации на растворах метилфосфоновой кислоты (моль/л)

Инкубация биопленок *N. commune* на растворе МФК вызвала биохимические изменения в культуре ЦБ. Под действием высоких концентраций токсиканта отмечено снижение количества хлорофилла а в клетках культуры в результате угнетения процессов биосинтеза пигментов и окислительной деструкции молекул хлорофилла. Свидетельством активации окислительных процессов в клетках культуры является интенсификация процессов ПОЛ.

Изучено влияние водных растворов глифосата в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$; $5 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-3}$; $5 \cdot 10^{-3}$; $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л на цианобактериальные биопленки *Phormidium* (рис. 2). Глифосат вызывает видимое снижение содержания хлорофилла а в культуре в среднем на 37,9%. Четкая зависимость дозы и реакции не была установлена.

Выявлено увеличение интенсивности ПОЛ в биопленках под действием глифосата, причем, наибольшее содержание малонового диальдегида отмечали при более высоких концентрациях.

Оценка токсичности глифосата позволила выявить биохимические изменения в биопленках с доминированием ЦБ рода *Phormidium*. Выявлено снижение содержания хлорофилла а в одинаковой степени под действием всех концентраций глифосата. Интенсивность процессов ПОЛ в культуре ЦБ под действием глифосата возрастала с увеличением дозы токсиканта.

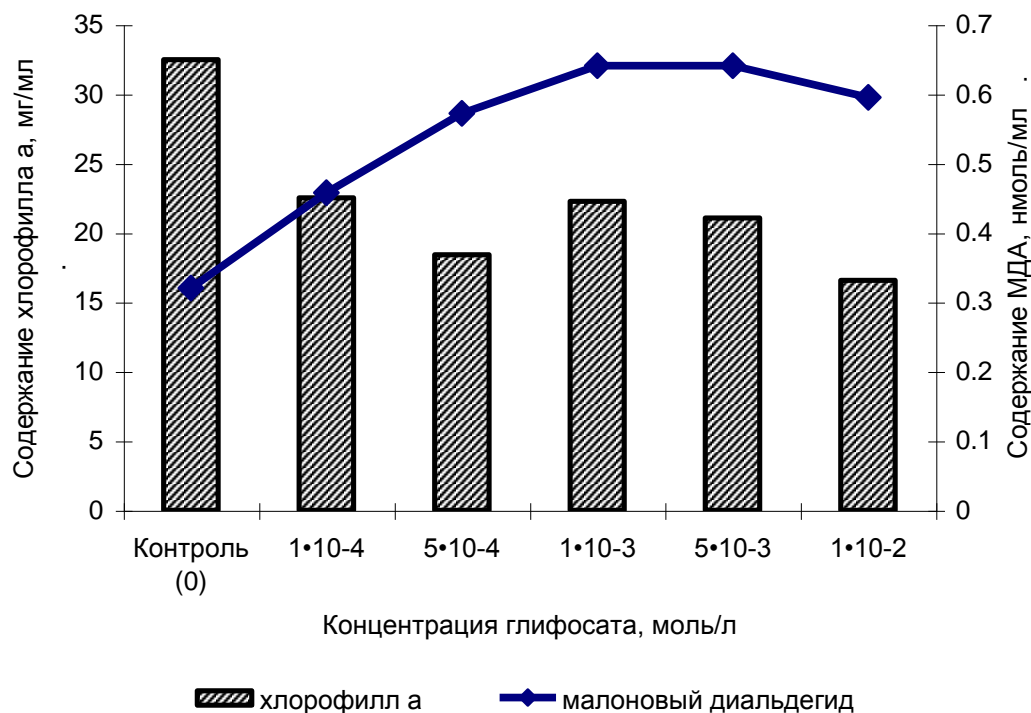


Рис. 2. Содержание хлорофилла а и малонового диальдегида в биопленках ЦБ рода *Phormidium* через сутки после инкубации на растворах глифосата

Таким образом, изучено влияние метилфосфонатов на биохимические показатели ЦБ. Установлено, что МФК в концентрациях $1 \cdot 10^{-1}$ – $4 \cdot 10^{-3}$ моль/л оказывает летальное действие на культуру ЦБ. МФК в концентрациях $5 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л вызывает значительное снижение уровня пигментов и активацию процессов перекисного окисления липидов. Более низкие концентрации не оказывают существенного негативного влияния на биохимический статус ЦБ. Глифосат, также как МФК, в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л вызывает снижение содержания хлорофилла а и активацию окислительных процессов. На основании интенсивности биохимических изменений, которые инициируют в культуре ЦБ метилфосфонаты, можно сделать вывод о том, что безгетероцистные ЦБ (биопленки с доминированием *Phormidium*) по сравнению с азотфиксирующими ЦБ (биопленки с доминированием *N. commune*) менее чувствительны к действию метилфосфонатов. Вследствие этого биопленки *N. commune* можно использовать для оценки токсичности природных сред, загрязненных метилфосфонатами.

Литература

- Громов Б. В. Ультраструктура синезеленых водорослей. Л.: Наука, 1976. 95 с.
- Домрачева Л. И. «Цветение» почвы и закономерности его развития.: Сыктывкар, 2005. 336 с.
- Кузякина Т. И., Латкин А. С., Ефимов А. А., Ефимова М. В. Термофильные синезеленые водоросли (цианобактерии) Паратунского геотермального месторождения. Способы культивирования и использования в биотехнологии // Современные проблемы науки и образования, 2007. № 6. С. 121–126.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 343 с.
- Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.

ЧАСТНЫЕ РЕАКЦИИ НА ИОНЫ В ИССЛЕДОВАНИИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

К. О. Черезова, Е. О. Кузнецова, А. И. Фокина
Вятский государственный гуманитарный университет,
kseniya.cherezova@mail.ru

Цианобактерии (ЦБ) (лат. Cyanobacteria, или сине-зелёные водоросли или цианопрокариоты, от греч. κυανός – сине-зелёный) – значительная группа крупных грамотрицательных бактерий, способных к фотосинтезу, сопровождающемуся выделением кислорода. Различные неорганические соли оказывают огромное влияние на цианобактерии. При действии тяжёлых металлов (ТМ) на организмы, одним из информативных показателей является наличие токсикантов внутри клетки, на внешней их стороне и в культуральной жидкости. Обнаружить ионы позволяют гистохимические реакции [2]. По наличию ТМ в тех или иных частях клетки можно судить об особенностях взаимодействия с токсикантом и некоторых особенностях функционирования культуры.

В литературе имеется мало сведений по гистохимическому анализу ЦБ после воздействия ТМ, а по воздействию на ЦБ рода *Phormidium* данные вообще отсутствуют. Поэтому целью стало исследовать возможность применения частных реакций на S^{2-} , Ni^{2+} , Cu^{2+} для культуры цианобактерий.

Объектом исследования была культура цианобактерии рода *Phormidium*, так как данные организмы являются одним из перспективных объектов исследования в области биотестирования и биосорбции.

Предварительно культуру ЦБ выдерживали сутки в растворе сульфатов меди (II) и никеля (II) с концентрациями ионов металлов 2 и 20 мг/дм³. Далее в суспензии ЦБ частными реакциями определяли ионы S^{2-} , Ni^{2+} , Cu^{2+} . Кроме ионов меди и никеля для определения были выбраны сульфид-ионы, так как они могут принимать участие в детоксикации ТМ. Пробу на сероводород (H_2S) проводили с нитратом серебра ($AgNO_3$), на никель Ni^{2+} – с диметилглиоксимом в аммиачной среде, на Cu^{2+} – с раствором гидроксида аммония (NH_4OH). Реакции проводили на предметном стекле, результат реакции отслеживали под микроскопом при увеличении 320.

Результаты представлены в табл.

В варианте, где концентрация Ni^{2+} составляла 2 мг/дм³ никеля не обнаружено. Так как реагенты были взяты в концентрациях, достаточных для протекания реакции, то вероятно, ионы никеля либо поглощались клетками ЦБ, либо образовывали соединения, которые с диметилглиоксимом практически не взаимодействуют. Во всех остальных вариантах, как ионы меди (II), так и ионы никеля (II) были обнаружены. Концентрация ионов металлов снижается после контакта с культурой. Об этом свидетельствует различная интенсивность окраски культуральной жидкости с аналитическим реагентом в растворе до

контакта с ЦБ и после. Также факт обнаружения на поверхности ЦБ солей тяжелых металлов говорит о том, что культура цианобактерий адсорбирует катионы Ni^{2+} и Cu^{2+} .

Таблица

Видимый результат гистохимической реакции на поверхности ЦБ

Вариант Открываемый ион	Контроль	20 мг/дм ³ Ni^{2+}	2 мг/дм ³ Ni^{2+}	20 мг/дм ³ Cu^{2+}	2 мг/дм ³ Cu^{2+}	20 мг/дм ³ Cu^{2+} + 20 мг/дм ³ Ni^{2+}	2 мг/дм ³ Cu^{2+} + 2 мг/дм ³ Ni^{2+}
S^{2-}	–	–	–	–	–	–	–
Ni^{2+}	–	Розовое окрашивание	–	–	–	Розовое окрашивание	Розовое окрашивание
Cu^{2+}	–	–	–	Синее окрашивание	Синее окрашивание	Синее окрашивание	Синее окрашивание

Примечание: Прочерк в таблице означает, что окрашивания не появилось и результат отрицательный.

Таким образом, нами установлено, что гистохимические реакции можно использовать для изучения влияния тяжелых металлов на цианобактерии рода *Phormidium*. Ионы вступают в реакцию с реактивами и результатом этого взаимодействия является окрашивание, которое можно наблюдать под микроскопом. Визуально можно отличить, где именно образуется окрашенное соединение: в растворе или на поверхности организмов, по интенсивности окрашивания раствора можно говорить о снижении концентрации токсикантов в растворе.

Литература

1. Серегин И. В., Иванов В. Б. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях // Физиология растений, 1997. Т. 44. С. 915–921.
2. Экологическая физиология растений. Екатеринбург, 2008. С. 157.
3. «Архитекторы земной атмосферы» Введение в биологию цианобактерий Беркли. 03 Feb. 2006 .

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ СТАРОГО И НОВОГО ПОКОЛЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ

А. Р. Гайфутдинова¹, Т. С. Елькина¹, Г. И. Березин², Л. И. Домрачева^{1,3}

¹ *Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
nm-flora@rambler.ru,*

² *Вятский государственный гуманитарный университет,*

³ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН*

В настоящее время человек старается интенсифицировать производство сельскохозяйственной продукции. Для достижения подобных целей необходимо использование вспомогательных химических средств защиты растений,

так как болезни и вредители значительно снижают сбор урожая. В связи с этим необходимо оценивать воздействие пестицидов на почву. Одним из путей решения этой задачи является изучение реакции на них почвенных фототрофных микробных комплексов.

Целью нашей работы является определение изменений структуры фототрофных микробных комплексов и жизнеспособности клеток цианобактерий (ЦБ) под воздействием пестицидов в модельных опытах.

Для определения степени токсичности использовались следующие пестициды: симазин, ДДТ, гексохлорбензол, дивиденд стар, круизер, гербитокс, пивот. Было проведено 2 серии модельных опытов.

В первой серии моделировали действие пестицидов на почвенную микрофлору. Использовалась дерново-подзолистая супесчаная почва из Даровского района Кировской области. В чашки Петри помещались навески почвы по 60 г, увлажненные до 60% от полной влагоемкости, в контрольный вариант была внесена дистиллированная вода, в остальные чашки вносились пестициды в пересчете на производственные дозы. Затем на поверхности почвы размещались стекла обрастания. Опыт длился 3 месяца.

В результате прямого микроскопирования получены следующие данные (табл. 1). В контрольном варианте видно преобладание водорослей и незначительное развитие ЦБ. При внесении большинства испытуемых пестицидов проявлялось подавление развития водорослей и вспышки размножения ЦБ, что говорит о высокой токсичности препаратов для эукариотных водорослей. Лишь пестициды нового поколения инсектицид круизер и гербицид гербитокс были малотоксичны для водорослей.

Влияние пестицидов на структуру популяций почвенных микромицетов можно проследить на рис. В контроле наблюдается паритетное представительство микромицетов с бесцветным и окрашенным мицелием. Под воздействием пестицидов резко снижается содержание микромицетов с неокрашенным мицелием и возрастает количество с окрашенным.

Таблица 1

Влияние пестицидов на развитие альго-микологических комплексов (структура популяций, %)

Вариант	Фототрофные микроорганизмы	
	Водоросли	ЦБ
Контроль	93,00	7,00
Симазин	4,83	95,17
ДДТ	13,27	86,73
Гексохлорбензол	8,23	91,77
Дивиденд стар	15,10	84,90
Круизер	90,1	9,90
Гербитокс	87,60	12,40
Пивот	8,52	91,48

Так, наиболее токсичным является ДДТ, под его воздействием количество микромицетов с бесцветным мицелием минимально по сравнению с другими пестицидами и составляет всего 6,7%. Наименее токсичным является гербитокс. В этом варианте популяций бесцветных микромицетов составляет

34,4% от общего количества грибов. Этот показатель наиболее близок к контролю.

Таким образом, преобладание в структуре популяций микромицетов в вариантах с внесением большинства испытуемых пестицидов окрашенных форм, можно считать важным биоиндикаторным признаком на токсичность пестицидов даже через три месяца после внесения в почву.

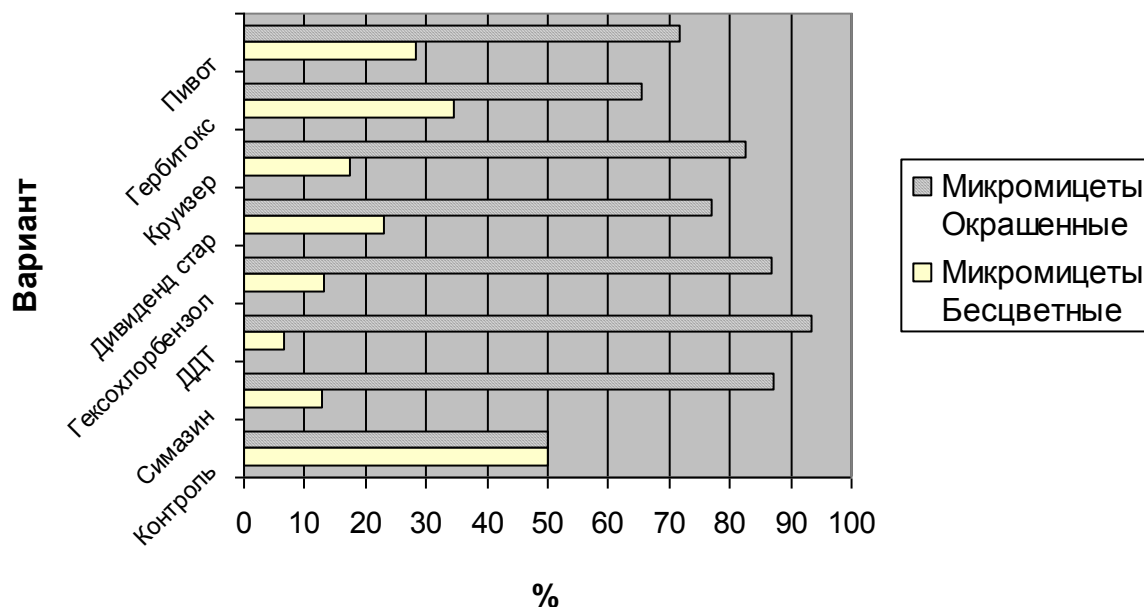


Рис. Структура популяций микромицетов, %

Вторая серия опытов была посвящена определению токсичности почвенной вытяжки с внесенными пестицидами для чистой культуры ЦБ *Nostoc muscorum*. Для этого использовался тетразольно-топографический метод (Домрачева и др., 2008), позволивший достаточно быстро получить объективные результаты, отраженные в табл. 2.

Таблица 2

Влияние пестицидов на жизнеспособность клеток *Nostoc muscorum*

Вариант	Клетки живые, %	Клетки мертвые, %	Индекс токсичности
Контроль	95,83±0,66	4,17	1
Симазин	82,2±9,47	17,80	0,86
ДДТ	60,96±1,53	39,03	0,64
Гексохлорбензол	78,53±5,13	21,47	0,82
Дивиденд стар	83,23±1,01	16,77	0,87
Круизер	79±0,40	21,00	0,82
Гербитокс	90,1±2,10	9,90	0,94
Пивот	89,9±7,46	11,10	0,93

Как видно из табл. 2, максимальная токсичность почвенной вытяжки отмечается в вариантах с внесением пестицидов старого поколения: ДДТ>Гексохлорбензол=Круизер>Симазин=Дивиденд стар>Гербитокс=Пивот. Таким образом, лидером по токсичности является ДДТ, который не случайно запрещен к использованию во всех странах мира, однако вызывает опасение и

сравнительно высокая токсичность препарата нового поколения круйзер, который используется в качестве инсектицида.

Одновременное использование методов биоиндикации и биотестирования для определения токсичности почвы после применения пестицидов позволяет достаточно корректно определить круг наиболее токсичных препаратов по реакциям микромицетов и ЦБ.

Литература

Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Ашихмина Т. Я., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Фокина А. И. Применение тетразольно-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теоретическая и прикладная экология, 2008. № 2. С. 23–28.

ВЛИЯНИЕ Cu^{2+} НА СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ИМВ В-7241 И *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ИМВ Ас-5017 ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА НЕУГЛЕВОДНЫХ СУБСТРАТАХ

*А. Д. Конон, А. П. Софилканич, С. А. Парфенюк, И. В. Филюк,
Т. А. Шевчук, Т. П. Пирог*

Национальный университет пищевых технологий

Из данных литературы известно, что микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) (рамнолипиды, софоролипиды, липопептиды) характеризуются способностью к образованию стабильных комплексов с тяжелыми металлами (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}), благодаря чему защищают клетки продуцента от их действия, а также могут использоваться в природоохранных технологиях для удаления металлов (Jaybarath et al., 2009; Orell et al., 2010).

Ранее была показана способность изолированных штаммов *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 синтезировать ПАВ при культивировании на гидрофильных и гидрофобных субстратах (н-гексадекан, жидкие парафины, этанол, глюкоза, глицерин) (Пирог и др., 2010; Пирог и др., 2009; Пирог и др., 2012).

Цель данной работы – исследовать рост и синтез ПАВ при культивировании *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на средах с различными источниками углерода в присутствии катионов меди.

Культивирование *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 проводили на описанных нами ранее питательных средах [1–3]. В качестве источника углерода и энергии использовали этанол, н-гексадекан, жидкие парафины (C_{10} – C_{18}), а также подсолнечное масло в концентрации 2% (по объему). При культивировании *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с подсолнечным маслом в среду дополнительно вносили 0,1% глюкозы. В начале процесса культивирования, в экспоненциальной и стационарной фазе роста штаммов ИМВ В-7241 и ИМВ Ас-5017 в среду вносили Cu^{2+} (0,01–0,5 мМ) в виде 1 М раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Рост бактерий и синтез ПАВ оценивали по таким показателям: концентрация биомассы, поверхностное натяжение (σ_s) свободной от клеток культуральной жидкости, условная концентрация ПАВ (ПАВ*, безразмерная величина), индекс эмульгирования культуральной жидкости (E_{24} , %) (Пирог и др., 2010; Пирог и др., 2009; Пирог и др., 2012).

Показано, что при добавлении 0,01 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом наблюдали увеличение условной концентрации ПАВ на 25% по сравнению с культивированием штамма на среде без Cu^{2+} . При этом концентрация биомассы незначительно снижалась, а индекс эмульгирования культуральной жидкости практически не изменялся. Внесение 0,01 мМ Cu^{2+} в стационарной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом или повышение концентрации катионов меди до 0,05 мМ не сопровождалось каким-либо существенным изменением концентрации биомассы, показателя ПАВ* и E_{24} . После пересева бактерий, выращенных в присутствии Cu^{2+} , на среду без катионов меди наблюдали некоторое снижение показателей синтеза ПАВ по сравнению с использованием посевного материала, полученного на среде с этанолом без Cu^{2+} .

В то же время при культивировании штамма ИМВ Ас-5017 на н-гексадекане или подсолнечном масле наблюдали совсем другие закономерности, чем при выращивании на этаноле. Во-первых, клетки, растущие на гидрофобных субстратах, оказались устойчивыми к более высоким концентрациям катионов меди. Во-вторых, стимуляция синтеза ПАВ в присутствии катионов меди была более существенной, чем на этаноле. Так, внесение 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с н-гексадеканом или подсолнечным маслом сопровождалось увеличением условной концентрации ПАВ на 40–42% по сравнению с культивированием бактерий на средах без Cu^{2+} .

Внесение максимальной из исследованных концентраций Cu^{2+} (0,5 мМ) в экспоненциальной фазе роста штамма ИМВ В-7241 на среде с этанолом, н-гексадеканом и жидкими парафинами сопровождалось увеличением условной концентрации ПАВ на 50–60% по сравнению с показателем на среде без катионов меди. Добавление катионов меди как в экспоненциальной, так и стационарной фазе роста *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на всех исследуемых субстратах практически не сказывалось на значении индекса эмульгирования (E_{24}) и концентрации биомассы. Максимальное повышение (на 140%) значения ПАВ* было зафиксировано при внесении 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста штамма ИМВ В-7241 на среде с жидкими парафинами. Отметим, что при культивировании *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на этом субстрате существенное (в 2 и более раз) повышение условной концентрации ПАВ наблюдали во всех вариантах добавления катионов меди (независимо от их концентрации и момента внесения).

Интересным оказался тот факт, что пересев бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, выращенных на всех субстратах в присутствии Cu^{2+} , на среду без катионов меди сопровождался существенным повышением показателя ПАВ* по сравнению с использованием аналогичного инокулята, полученного на среде без Cu^{2+} . При этом максимальное (в 2,1–3,5 раза) увеличение условной

концентрации ПАВ было отмечено при культивировании штамма ИМВ В-7241 на жидких парафинах.

Известно, что в ответ на неблагоприятные факторы внешней среды у многих микроорганизмов наблюдается увеличение синтеза протекторных соединений (внеклеточных белков, полисахаридов). Вполне вероятно, что повышение синтеза ПАВ у штаммов ИМВ В-7241 и Ас-5017 в присутствии катионов меди обусловлено функционированием подобного адаптационного механизма.

Другим механизмом, обуславливающим повышение синтеза ПАВ штаммами ИМВ В-7241 и ИМВ Ас-5017 в присутствии Cu^{2+} , является активация катионами меди некоторых ферментов, в частности алкангидроксилазы АлкБ типа – первого фермента катаболизма гидрофобных субстратов. Эксперименты показали, что в присутствии 0,05 и 0,1 мМ Cu^{2+} активность алкангидроксилазы штамма ИМВ Ас-5017 повышалась в 1,5 и 2 раза соответственно. Более существенным было увеличение после внесения катионов меди активности алкангидроксилазы *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241. Так, в присутствии 0,01 и 0,05 мМ Cu^{2+} алкангидроксилазная активность штамма ИМВ В-7241 повышалась в 3 раза.

Поскольку увеличение синтеза ПАВ наблюдалось и при внесении Cu^{2+} в этанолсодержащую среду, мы предположили, что катионы меди могут также являться активаторами ключевых ферментов C_2 -метаболизма и биосинтеза ПАВ. Показано, что в присутствии определенных (разных для различных ферментов) концентраций Cu^{2+} в реакционной смеси наблюдается увеличение активности как 4-нитрозо-N,N-диметиланилин(НДМА)-зависимой алкогольдегидрогеназы, так и ферментов биосинтеза поверхностно-активных глико- (фосфоенолпируват-(ФЕП)-синтетаза) и аминоклипидов (НАДФ⁺-зависимая глутаматдегидрогеназа) у бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, растущих на этаноле.

Таким образом, в результате проведенной работы установлена возможность интенсификации синтеза ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на гидрофобных (н-гексадекан, жидкие парафины, подсолнечное масло) и гидрофильных (этанол) субстратах при внесении катионов меди в экспоненциальной фазе роста обоих штаммов или использовании посевного материала *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, выращенного до стационарной фазы роста на среде с Cu^{2+} .

Полученные результаты могут быть основой для повышения эффективности технологий микробного синтеза путем увеличения в среде культивирования продуцента активаторов ключевых ферментов метаболизма ростового субстрата и биосинтеза целевого продукта.

Литература

Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Клименко Ю. А. Интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на н-гексадекане // Прикл. биохимия и микробиология. 2010. 46, № 6. С. 651–658.

Пирог Т. П., Антонюк С. И., Карпенко Е. В., Шевчук Т. А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикл. биохимия и микробиология. 2009. 45, № 3. С. 304–310.

Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Конон А. Д., Шулякова М. А., Иутинская Г. А. Синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 в среде с глицерином // Микробиол. журнал. 2012. 74, № 1. С. 20–27.

Jayabarath J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. Bioremediation of heavy metals using biosurfactants // Int. J. Biotechnol. Appl. 2009. 1, N 2. P. 50–54.

Orell A., Navarro C.A., Arancibia R., Mobarec J.C., Jerez C.A. Life in blue: copper resistance mechanisms of bacteria and archaea used in industrial biomining of minerals // Biotechnol. Adv. 2010. 28, N 6. P. 839–848.

СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ШТАММАМИ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ИМВ Ас-5017, *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ИМВ В-7241 И *NOCARDIA VACCINII* К-8 В ПРОЦЕССЕ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ

М. А. Шулякова, Д. И. Хомяк, О. Ю. Мащенко, Т. А. Шевчук, Т. П. Пирог
Национальный университет пищевых технологий,
mariejanvier@rambler.ru

Широкое использование ископаемого топлива приводит к большим выбросам парниковых газов и наносит непоправимый вред окружающей среде. Текущая нестабильность поставок нефти и непрерывное колебание цен вызывают еще больший интерес к альтернативным источникам энергии. Биодизельное топливо – экологически чистый вид топлива, используемый для замены нефтяного дизельного. В настоящее время, в связи с ростом объемов производства биодизеля, в мире возникает проблема утилизации побочного продукта – глицерина, причем на каждые 100 л биодизеля образуется почти 10 л технического глицерина (так называемая глицериновая фракция, которая оседает при отстаивании) [1]. Глицериновая фракция, кроме глицерина (60–80%), содержит большое количество различных примесей, что делает невозможным его использование во многих традиционных областях применения из-за повышенной щелочности и концентрации метанола. Хранение и утилизация глицериновой фракции представляет серьезную экологическую проблему, а ее очистка является дорогостоящей технологией.

Таким образом, для повышения экономической целесообразности и рентабельности производства биодизеля необходима разработка новых альтернативных способов утилизации этого отхода. Одним из возможных путей утилизации создаваемого глицерина является использование его в качестве субстрата в биотехнологических процессах для получения практически ценных продуктов, в том числе и поверхностно-активных веществ (ПАВ) [1]. С микробиологической точки зрения главной задачей на сегодня является получение микроорганизмов, устойчивых к ингибиторам, присутствующим в неочищенном глицерине, особое место среди которых необходимо уделять остаткам метанола, а также натриевым или калиевым солям, так как известно, что они способны ингибировать рост клеток [2].

В предыдущих исследованиях нами была установлена возможность использования очищенного глицерина (98%) в качестве источника углерода и энергии для синтеза ПАВ штаммами *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017,

Acinetobacter calcoaceticus ИМВ В-7241 и *Nocardia vaccinii* К-8 [3]. Учитывая изложенное выше, необходимым является исследование возможности биоконверсии неочищенного глицерина в поверхностно-активные вещества, что и было целью нашей работы. Для этого моделировали средний состав глицериновой фракции по количеству остаточных спиртов (метанола или этанола) и солей натрия или калия (в виде хлоридов). В дальнейшем такой субстрат называли «неочищенный» глицерин.

Для оценки количественного содержания ПАВ в культуральной жидкости использовали показатель ПАВ*, названный «условная концентрация ПАВ», который определяли, как описано в работе [4].

Установлено, что внесение в среду культивирования всех штаммов КС1 или NaCl в концентрации 2,5% приводило к повышению показателей синтеза ПАВ на 4–35% (табл.).

Таблица

Синтез ПАВ штаммами ИМВ Ас-5017, ИМВ В-7241 и К-8 на «неочищенном» глицерине

Штамм	Источник углерода, %	Содержание хлоридов, %	ПАВ*	ПАВ*, % от контроля
<i>R. erythropolis</i> ИМВ Ас-5017	Глицерин, 1,0	KCl, 2,5	3,1±0,16	119,2±5,96
		NaCl, 2,5	3,5±0,18	134,6±6,73
	Глицерин, 1,0 + метанол, 0,3	KCl, 2,5	2,9±0,15	111,5±5,58
		NaCl, 2,5	3,3±0,17	128,1±6,09
	Глицерин, 1,0 + этанол, 0,3	KCl, 2,5	3,9±0,20	150,0±7,50
		NaCl, 2,5	4,6±0,23	176,9±8,85
<i>A. calcoaceticus</i> ИМВ В-7241	Глицерин, 1,0	KCl, 2,5	2,5±0,13	104,2±5,21
		NaCl, 2,5	2,8±0,14	116,7±5,84
	Глицерин, 1,0 + метанол, 0,3	KCl, 2,5	2,9±0,15	120,8±6,04
		NaCl, 2,5	3,2±0,16	133,3±6,66
	Глицерин, 1,0 + этанол, 0,3	KCl, 2,5	3,5±0,17	145,8±7,29
		NaCl, 2,5	3,6±0,18	150,0±7,50
<i>N. vaccinii</i> К-8	Глицерин, 1,5	KCl, 2,5	2,9±0,15	116,0 ± 5,80
		NaCl, 2,5	3,2±0,16	128,0 ± 6,40
	Глицерин, 1,5 + метанол, 0,3	KCl, 2,5	2,7±0,14	108,0 ± 5,40
		NaCl, 2,5	4,2±0,21	168,0 ± 8,04
	Глицерин, 1,5 + этанол, 0,3	KCl, 2,5	3,0±0,15	120,0 ± 6,00
		NaCl, 2,5	3,6±0,18	144,0 ± 7,20

Примечание. Контроль (100%) – показатели синтеза ПАВ на среде с очищенным глицерином (1–1,5%).

Наличие этих солей даже в количестве 5–10% не вызывало значительного ингибирования процессов образования ПАВ. Это может быть обусловлено стимулирующим влиянием катионов этих металлов на активность ферментов анаплеротических реакций и биосинтеза поверхностно-активных веществ исследуемых штаммов. В частности, ранее было показано, что при культивировании *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на этаноле Na⁺ является активатором фосфоенолпи-

руват(ФЕП)-карбоксилазы в присутствии в реакционной смеси 100 мМ Na⁺ активность фермента повышалась в 1,2–1,3 раза [5]. В свою очередь, физиологическое значение этого фермента при выращивании ИМВ В-7241 на среде с этанолом заключается в усилении глюконеогенеза, а, следовательно, и повышении синтеза поверхностно-активных гликолипидов.

Замена в среде культивирования нитрата калия на эквимолярную по азоту концентрацию нитрата натрия в среде с гексадеканом сопровождалось повышением показателей синтеза ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 в 1,5–2 раза [4]. Такой эффект был обусловлен тем, что катионы натрия являются активатором первого фермента окисления n-гексадекана у штамма ИМВ Ас-5017. Для штамма *N. vaccinii* К-8, растущего на глицерине, также была показана целесообразность использования именно нитрата натрия в качестве источника азота [6].

Дальнейшие эксперименты показали, что наличие в среде с глицерином и солями 0,3% метанола или этанола не только не подавляет рост бактерий, но и сопровождается повышением показателей синтеза ПАВ на 11–77%, по сравнению с показателями на очищенном глицерине (табл.). Очевидно, в таких условиях спирты являются вторичными источниками углерода и ассимилируются клетками. Такие результаты можно объяснить установленной нами широкой субстратной специфичностью нитрозо-N, N-диметиланилин(НДМА)-зависимых алкогольдегидрогеназ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 [3].

Таким образом, представленные в работе данные свидетельствуют о возможности использования неочищенного глицерина в качестве субстрата для получения практически ценных микробных поверхностно-активных веществ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017, *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *N. vaccinii* К-8.

Литература

1. Da Silva G., Mack M., Contiero J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology // *Biotechnol. Adv.* 2009. V. 27. № 1. P. 30–39.
2. Yazdani S., Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007. V. 18. № 3. P. 213–219.
3. Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Конон А. Д., Шулякова М. А., Иутинская Г. А. Глицерин как субстрат для синтеза поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 // *Микробиол. журнал.* 2012. Т. 74, № 1. С. 20–27.
4. Pirog T. P., Shevchuk T. A., Voloshina I. N., Karpenko E. V. Production of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* strain ЕК-1, grown on hydrophilic and hydrophobic substrates // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2004. V. 40. № 5. P. 470–475.
5. Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Долотенко Е. Ю. Роль фосфоенолпируваткарбоксилазы в синтезе поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 // *Микробиол. журнал.* 2011. Т. 73. № 4. С. 9–15.
6. Пирог Т. П., Гриценко Н. А., Хомяк Д. И., Конон А. Д. Оптимизация синтеза поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* К-8 при конверсии отходов производства биодизеля // *Микробиол. журнал.* 2012. Т. 74. № 1. С. 20–27.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КИСЛОТНОСТИ СРЕДЫ НА РОСТ И АНТАГОНИСТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ *STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS* A-4

О. В. Рябова¹, И. Г. Широких^{1,2}

¹ ГНУ НИИСХ Северо-Востока РАСХН,

² Лаборатория биомониторинга Института биологии
Коми НЦ УрО РАН и ВятГГУ, irgenal@mail.ru

Одним из наиболее важных физико-химических свойств почвы является кислотность, оказывающая существенное влияние на рост и развитие растений и ассоциированных с ними микроорганизмов. Известно, что многие почвы на территории России, в том числе под сельскохозяйственными угодьями, по естественным или антропогенным причинам являются кислыми или щелочными, в связи с чем оказывают стрессовое влияние на растения и полезную почвенную биоту. Зачастую в таких почвах хорошо развиваются фитопатогенные грибы, в борьбе с которыми в последнее время предлагается использовать микроорганизмы-антагонисты (Монастырский, Першакова, 2009). Одними из перспективных агентов биоконтроля фитопатогенов являются мицелиальные бактерии-актиномицеты (Chamberlain, Crawford, 1999). В настоящее время антагонизм актиномицетов и его механизмы достаточно хорошо изучены. Однако в данном вопросе мало внимания уделяется исследованию влияния факторов окружающей среды, в том числе кислотности, на рост актиномицетов и их антагонистическую активность.

Цель исследования – изучение влияния кислотности среды на рост и антифунгальную активность актиномицета *Streptomyces hygrosopicus* A-4.

Штамм *S. hygrosopicus* A-4, выделенный нами из прикорневой зоны растений на кислой дерново-подзолистой почве, по результатам предыдущих исследований проявлял высокую антагонистическую активность по отношению к микромицетам родов *Fusarium*, *Bipolaris* и *Alternaria*. Показана его биологическая эффективность в борьбе с корневыми гнилями злаков и клевера (Мерзаева, Широких, 2008), а также альтернариозом картофеля.

Культивирование *S. hygrosopicus* A-4 проводили на качалке (180 об/мин) при $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ в жидкой среде РНМ с различными исходными значениями рН. Учитываемые параметры – индуцированная рН, сухая биомасса актиномицета, диаметр зоны подавления роста фитопатогена *Fusarium avenaceum* 7/2 (методом лунок). Также исследовали морфобиологическую реакцию актиномицета на изменение кислотности среды по строению мицелиальных агрегатов при микроскопии препаратов, приготовленных из жидкой культуры.

Культивирование *S. hygrosopicus* A-4 в средах с различной кислотностью позволило установить, что данный изолят способен развиваться в широком диапазоне рН: уже в первую неделю выращивания наблюдался заметный прирост биомассы (1,90-2,21 г/л) актиномицета в интервале рН_{исх.} от 4,5 до 10,0 (табл.). При этом почти во всех вариантах опыта происходило подкисление среды в процессе культивирования. В условиях же более высоких значений кислотности (рН_{исх.}=3,5-4,0) при визуальной оценке рост актиномицета не

обнаруживался даже к 14-м суткам культивирования. Через две недели выращивания наблюдалось незначительное снижение биомассы, что обусловлено, очевидно, наступлением фазы отмирания. Несмотря на то, что в ходе эксперимента не было выявлено достоверных различий по количеству биомассы актиномицета в области значений рН от 4,5 до 10, изучение морфологии культуры при микроскопии препаратов показало, что строение мицелиальных агрегатов различалось в разных вариантах опыта: при переходе от щелочных условий к кислым наблюдалось уплотнение этих структур. В сильнощелочных (рН=10,0) условиях в мазках обнаруживалось множество отдельных длинных, иногда поврежденных, нитей мицелия, не собранных в агрегаты. В условиях повышенной кислотности среды (рН=4,5–5,0) актиномицет, наоборот, формировал мелкие, плотные мицелиальные агрегаты с выраженным центром и короткими ветвящимися, неповрежденными гифами. При рН=3,5 и 4,0 культура большей частью была представлена непроросшими спорами.

Таблица

**Изменение биомассы актиномицета и кислотности среды
в процессе культивирования**

рН исходная, ед.	Биомасса на ...сутки, г/л		рН индуцированная на ...сутки, ед.	
	7	14	7	14
3,5	–	–	3,5	3,6
4,0	–	–	4,3	4,1
4,5	1,95±0,29	1,88±0,18	4,6	4,3
5,0	2,06±0,29	1,83±0,18	4,3	4,4
6,0	1,90±0,29	1,79±0,18	4,6	4,9
7,0	1,94±0,29	1,52±0,18	6,2	7,7
8,0	2,21±0,29	1,57±0,18	7,8	7,9
9,0	2,00±0,29	1,32±0,22	8,3	8,3
10,0	1,98±0,34	1,83±0,22	8,9	8,7

Примечания: 1) Доверительный интервал определен при $P=0,95$;
2) «←» – при визуальной оценке рост отсутствовал

Антифунгальная активность культуральной жидкости стрептомицета обнаруживалась при выращивании на средах с исходными значениями рН от 4,0 до 10,0. Максимальный противогрибковый эффект выявлен на средах со значениями рН_{исх.} 4,5 и 5,0 (рис.). Достаточно высокая активность *S. hygrosopicus*

А-4 в отношении фузариума обнаружена также в зоне щелочных значений рН. Это, вероятно, связано с тем, что исследуемый изолят способен продуцировать различные соединения антифунгальной природы (антибиотики, литические ферменты), имеющие оптимум биологической активности в различных областях значений рН среды. Наименьшей активностью характеризовалась культуральная жидкость, полученная при выращивании актиномицета на среде с исходным значением рН 4,0. Слабое ингибирование роста гриба культурой

S. hygroscopicus A-4, выращенной при сильнокислой реакции среды объясняется её очень слабым ростом (не детектируемым визуально) в данных условиях и, следовательно, недостаточным для проявления высокого ингибирующего эффекта количеством накапливаемых за время культивирования метаболитов.

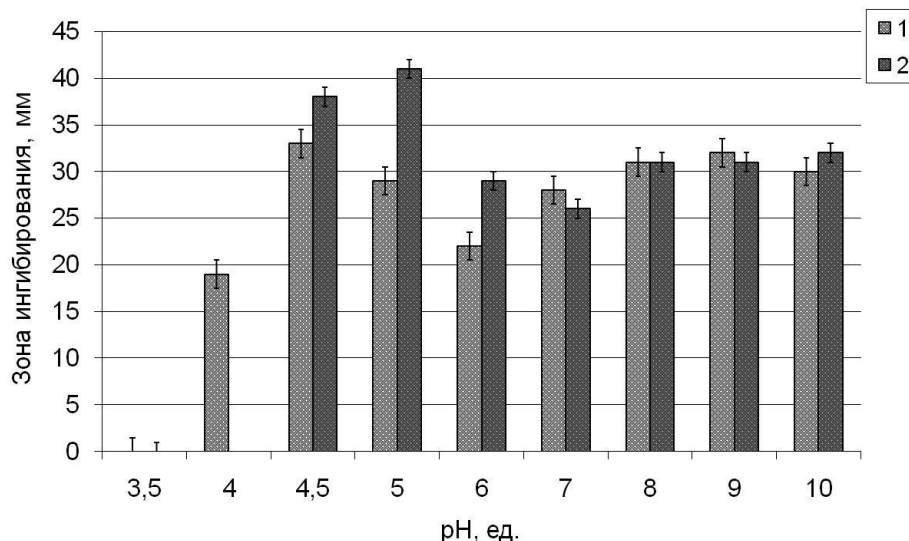


Рис. Ингибирующая активность *Streptomyces hygroscopicus* A-4 в градиенте рН в отношении *Fusarium avenaceum* 7/2 на 7-е (1) и 14-е (2) сутки культивирования

Таким образом, в лабораторных условиях при культивировании на питательной среде установлена способность актиномицета-антагониста фитопатогенов *S. hygroscopicus* A-4 активно развиваться и продуцировать антифунгальные метаболиты в широком диапазоне значений рН. Наиболее высокую противогрибковую активность актиномицет проявлял в кислой среде (рН=4,5–5,0), что вполне согласуется с фактом его выделения из ризосферы растений, произраставших на кислой дерново-подзолистой почве. Это позволяет рекомендовать данный штамм для использования в целях биоконтроля численности фитопатогенов в почвах с повышенной кислотностью.

Литература

Монастырский О. А., Першакова Т. В. Современные проблемы и решения создания биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур от возбудителей болезней // Агро XXI. 2009. № 7–9. С. 3–5.

Chamberlain K., Crawford D.L. In vitro and in vivo antagonism of pathogenic turfgrass fungi by *Streptomyces hygroscopicus* strains YCED9 and WYE53 // Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. 1999. V. 23. P. 641–646.

Мерзаева О. В., Широких И. Г. Возможность использования актиномицетов в борьбе с грибковыми заболеваниями растений // Агротехнологические и экологические аспекты развития растениеводства на Евро-Северо-Востоке Российской Федерации: Материалы научной сессии и школы молодых ученых по эколого-генетическим основам северного растениеводства. Киров: НИИСХ Северо-Востока, 2008. С. 89–94.

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СИНТЕЗ КАРОТИНОИДОВ У *ASPERGILLUS VERSICOLOR*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБЪЕКТА «УКРЫТИЕ»

Ю. П. Громик, Т. И. Тугай

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины

Радиоактивное загрязнение окружающей среды достигло глобальных масштабов. Оно происходит в результате испытаний ядерного оружия, аварий на объектах атомной энергетики, при добыче и переработке ядерного топлива и т. д. Тяжелыми для биогеоценоза и здоровья человека стали экологические последствия крупнейшей техногенной катастрофы на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС), в результате которой произошло загрязнение значительных территорий Украины, Белоруссии и России. В связи с таким постоянным радиационным загрязнением окружающей среды зона отчуждения стала одним из крупнейших в мире природных полигонов для изучения влияния хронического облучения на биоту, действие которого сейчас приобретает первостепенное значение (Гродзинский, 2000).

Практически не исследовано влияние хронического облучения на микобиоту, которая является неотъемлемой и биологически активной составляющей биогеоценоза. Микромицеты играют важную роль в процессах трансформации радиоактивных частиц, переводя их в растворимую форму, способную легко включаться в миграционные процессы в почве и в трофические цепи. Высокая биологическая активность и многофункциональность микроскопических грибов имеет важное значение для биоремедиации загрязненных радионуклидами почв (Жданова и др., 2006).

Согласно литературным данным, (Жданова и др., 2006) известно, что среди грибов, выделенных из зоны отчуждения ЧАЭС, на втором месте по количеству способных адаптироваться к значительным дозам облучения после вида *Cladosporium cladosporioides* был *Aspergillus versicolor*. Данный микромицет заслуживает внимания и в связи с тем, что он широко распространен в почвах различных климатических зон, в жилых и промышленных помещениях, на техногенных субстратах.

Известно, что организмы подвергаются воздействию света при прохождении жизненного цикла, а их разнообразная окраска обусловлена в значительной степени присутствием особых полиеновых соединений, получивших название каротиноидов.

Каротиноидные пигменты, как компоненты неферментативной антиоксидантной системы, защищают клеточные структуры от действия активных форм кислорода, «гася» синглетный кислород, а также нейтрализуют перекисные радикалы и разрывают цепные реакции свободнорадикального окисления ненасыщенных карбоновых кислот, препятствуя перекисному окислению липидных компонентов клеточных мембран (Corol et al., 2003).

Данные о возможном участии каротиноидов микроскопических грибов в реализации адаптации к действию ионизирующего излучения, способности положительно реагировать на него, в частности у *A. versicolor*, в доступной лите-

ратуре отсутствуют. Поэтому целью данной работы было исследование влияния хронического ионизирующего излучения на синтез каротиноидных пигментов у штаммов *A. versicolor*, проявляющих радиоадаптивные свойства.

Объектами наших исследований были штаммы микроскопических светлопигментированных грибов *Aspergillus versicolor*, которые часто встречаются в зоне отчуждения и, согласно литературным данным (Zhdanova et al., 2004), характеризуются резистентностью к действию значительных доз ионизирующего облучения и способны положительно реагировать на его действия, т.е. обладают радиоадаптивными свойствами. У этих микромицетов при действии облучения ранее была выявлена активация роста гиф и увеличение количества проросших конидий, по сравнению с контрольными штаммами (без облучения). *A. versicolor* 99, выделенный из объекта «Укрытие», характеризовался наличием радиоадаптивных реакций, в *A. versicolor* 432, выделенного из чистых относительно радиоактивного загрязнения территорий, адаптивных реакций не выявлено. Данные штаммы находятся в коллекции отдела физиологии и систематики микромицетов Института микробиологии и вирусологии НАНУ.

Культивирование микромицетов в условиях хронического облучения осуществляли на ранее сконструированной исследователями модельной установке, которая имитировала радиоактивность почвы 5-км зоны отчуждения ЧАЭС, где основным источником γ -излучения был ^{137}Cs . Мощность экспозиционной дозы на ее поверхности составляет 0,774 мкКл / кг.

Грибы культивировали в жидкой среде Чапека в течение 14 суток.

Определение каротиноидов проводили у штаммов, которые предварительно подвергались облучению, и в контрольных – необлученных штаммов. Экстракцию каротиноидов из биомассы осуществляли с помощью ацетона. Содержание каротиноидов определяли в исходной вытяжке пигментов. Для этого измеряли оптическую плотность экстракта на спектрофотометре при двух длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов α и β в красной области спектра и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов.

Концентрацию (С) каротиноидов рассчитывали по уравнениям, составленным на основе экспериментально полученных коэффициентов поглощения по Хольму-Ветштейну (Полевой, Максимова, 1991).

Результаты исследования показали, что ионизирующее излучение у исследованных штаммов оказывало влияние на синтез каротиноидных пигментов у *A. versicolor*. У штамма *A. versicolor* 99, проявляющего радиоадаптивные свойства, выделенного из зоны отчуждения, ионизирующее облучение низкой интенсивности служило индуктором синтеза каротиноидных пигментов, увеличивая их синтез в 1,7 раза по сравнению с контролем (без облучения). У контрольного штамма *A. versicolor* 432, выделенного из чистых относительно радиоактивного загрязнения территорий, ионизирующее облучение практически не влияло на синтез каротиноидов.

Установлено, что при действии облучения у штамма *A. versicolor* 99 содержание каротиноидных пигментов выше в 1,2 раза, чем у штамма *A. versicolor* 432 (табл.).

**Влияние излучения на содержание каротиноидных пигментов у штаммов
*A. versicolor***

Штаммы	Содержание каротиноидных пигментов в биомассе, мкг / л
<i>A. versicolor</i> 432 к	1,1±0,048
<i>A. versicolor</i> 432 о	1,2±0,047
<i>A. versicolor</i> 99 к	0,8±0,036
<i>A. versicolor</i> 99 о	1,4±0,054

Примечание: к – контрольные штаммы культивировали без облучения; о – культивирование грибов в условиях облучения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ионизирующее облучение стимулировало синтез каротиноидных пигментов у штамма *A. versicolor* 99, проявляющего радиоадаптивные свойства.

Ранее было показано, что у *A. versicolor* в клеточной стенке присутствуют меланиновые пигменты как компонент неферментативной антиоксидантной защиты клеток (Тугай, 2011). Ионизирующее излучение было индуктором синтеза меланина только у контрольного штамма *A. versicolor* 432 и не оказывало влияния на его синтез у штамма *A. versicolor* 99 с радиоадаптивными свойствами.

Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу утверждения, что особенности трансдукции сигнала активных форм кислорода у *A. versicolor* 99, проявляющиеся, в частности, в активации синтеза каротиноидных пигментов, особой функцией которых может быть «гашение» синглетного кислорода, вносят свой вклад в реализацию радиоадаптивных свойств у этого штамма.

Литература

- Гродзинський Д. М. Радіобіологія: Підручник. К.: Либідь, 2000. 448 с.
- Жданова Н. М., Василевская А. І., Захарченко В. О. Екологічні наслідки впливу Чорнобильської катастрофи на стан мікроскопічних грибів, виділених на забруднених радіонуклідами територіях Українського Полісся // Агроєкологічний журнал. 2006. № 2. С. 39–44.
- Полевой В. В., Максимова Г. Б. Методы биохимического анализа растений. М.: Мир, 1991. 192 с.
- Тугай Т. І. Функціонування антиоксидантної системи *Aspergillus versicolor* с радиоадаптивними свойствами при облучении // Мікробіол.журн. 2011. Т. 73. № 5. С. 28–35.
- Corol Delia-Irina, Dorobantu I. I., Toma N., Nitu R. Diversity of Biological Functions of Carotenoids // Roumanian Biotechnological Letters. 2003. V. 8. № 1. P. 1067–1074.
- Zhdanova N. N., Tugay T., Dighton J., Zheltonozhsky V., McDermott P. Ionizing radiation attracts soil fungi // Mycol.Res. 2004. V. 108, № 9. P. 1089–1096.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНОГО ИЗОЛЯТА *FUSARIUM CULMORUM* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПЛОТНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

А. А. Ханжин, В. Ю. Охапкина

Вятский государственный гуманитарный университет,
verona2205@mail.ru

В естественных условиях в агроценозах всех зерносеющих стран мира наиболее широко распространены следующие возбудители, вызывающие фузариозное поражение колоса: *Fusarium graminearum*, *F.culmorum*, *F.moniliforme*, *F.nivale*, *F.sporotrichiella*, *F.avenaceum* (Монастырский, 2001; Платонова, Сурин, 2004). В более влажных и теплых условиях доминируют *F.culmorum*, *F.sporotrichiella*, *F.oxysporum* (Шешегова, 2003).

Целью настоящих исследований являлось проведение модельных экспериментов по оценке влияния различных концентраций солей тяжелых металлов в среде на интенсивность роста и морфологические особенности культуры токсигенного природного изолята микромицетов эпидемиологически значимого вида *F. culmorum*.

В ходе опытов в плотную питательную среду Чапека традиционного состава вносили кратные количества растворимых соединений кобальта (Co^{2+}), свинца (Zn^{2+}) и меди (Cu^{2+}) до достижения конечных концентраций 5, 25, 50 и 125 по ПДК. Посевную культуру *F.culmorum* выращивали на скошенном в пробирках агаре Чапека в течение 10 сут. при температуре $25\pm 1^\circ\text{C}$. Для получения взвеси конидий в пробирку с культурой вносили 5 мл стерильной дистиллированной воды и тщательно встряхивали в течение 30 мин. для отделения конидий от мицелия. В полученной суспензии определяли содержание конидий путем подсчета в камере Горяева.

При засеве испытуемых плотных сред в центр чашки Петри с помощью микропипетки помещали инокулят объемом 5 мкл, содержащий 5 тыс. конидий таким образом, чтобы диаметр полученной капли составлял 5 мм. Параллельно для удобства последующей оценки интенсивности конидиеобразования проводили засев по 0,5 мл суспензии на аналогичную плотную питательную среду, скошенную в пробирках. Культивирование осуществляли при температуре $25\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 5 сут. Ежедневно учитывали диаметр колоний.

В качестве интегрального показателя влияния внешних условий рассчитывали и сравнивали с контролем радиальную скорость роста колоний микромицетов (K_r). Расчет показателя осуществляли на 5 сут. наблюдения по формуле:

$$K_r = (d_2 - d_1) : (t_2 - t_1), \text{ где}$$

d_1 и d_2 – диаметр колонии (мм) в начальный и конечный моменты измерения соответственно, d_1 принята равной 0,5 мм.;

t_1 и t_2 – время начального и конечного измерения (часы).

Наряду с этим, по окончании культивирования оценивали интенсивность конидиеобразования в культуре, выращенной на среде, скошенной в пробирках.

Для этого макроконидии смывали со среды дистиллированной водой в объеме 5 мл и подсчитывали их концентрацию в камере Горяева.

Полученные результаты представлены в табл. 1–3.

Таблица 1

Характеристики роста культуры штамма *F. culmorum* на агаре Чапека, содержащем различные концентрации ионов меди (Cu^{2+}), $X \pm I_{95}$, $n=3-5$

Конечная концентрация в среде, ПДК ($\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	Диаметр колонии на ... сут. наблюдения, мм				Радиальная скорость роста колоний, $\text{мм} \cdot \text{ч}^{-1}$	Накопление макроконидий на среде в пробирках, тыс. макроконидий
	1	2	3	5		
Контроль	13,0±0,5	27,0±1,0	36,0±1,5	69,5±2,0	0,580	382,1±34,3
5 (5)	5,0±0,5	9,5±0,5	15,5±0,5	39,0±1,0	0,325	155,3±26,5
25 (25)	Нет роста	6,0±0,5	11,2±1,3	34,0±2,0	0,283	101,2±18,0
50 (50)	Нет роста	Нет роста	7,0±0,5	22,5±0,5	0,188	0,063±0,015
125 (125)	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста

Таблица 2

Характеристики роста культуры штамма *F. culmorum* на агаре Чапека, содержащем различные концентрации ионов кобальта (Co^{2+}), $X \pm I_{95}$, $n=3-5$

Конечная концентрация в среде, ПДК ($\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	Диаметр колонии на ... сут. наблюдения, мм				Радиальная скорость роста колоний, $\text{мм} \cdot \text{ч}^{-1}$	Накопление макроконидий на среде в пробирках, тыс. макроконидий
	1	2	3	5		
Контроль	14,0±0,5	28,5±1,0	37,0±1,5	74,0±2,0	0,617	405,5±44,8
5 ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	11,0±1,5	23,0±1,5	32,5±0,5	70,0±1,0	0,583	384,9±36,6
25 ($2,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	8,4±0,5	17,0±1,5	27,0±1,5	55,0±0,5	0,458	197,8±31,7
50 ($5,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	Нет роста	7,0±0,5	14,4±1,0	29,5±1,0	0,242	0,648±0,022
125 ($12,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$)	Нет роста	6,2±0,5	11,5±0,5	25,6±1,3	0,208	0,098±0,018

Анализ данных табл. 1 и 2 показывает, что внесение в плотную питательную среду ионов кобальта и в большей степени меди приводит к значительному подавлению ростовых свойств фузариев и снижению интенсивности конидиеобразования, прямо пропорционально зависящих от содержания токсиканта. Так, в опыте с содержанием ионов меди в агаре в концентрации $25 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ (25 ПДК) и $50 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ (50 ПДК) радиальная скорость роста уменьшается в 2 и в 3 раза по сравнению с контролем соответственно, а

концентрация ионов меди $125 \text{ мг}\cdot\text{мл}^{-1}$ (125 ПДК) полностью подавляет рост грибов. Сходная картина наблюдается и в опытах с ионами кобальта.

Таблица 3

Характеристики роста культуры штамма *F.culmorum* на агаре Чапека, содержащем различные концентрации ионов свинца (Zn^{2+}), $X \pm I_{95}$, $n=3-5$

Конечная концентрация в среде, ПДК ($\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$)	Диаметр колонии на ... сут. наблюдения, мм				Радиальная скорость роста колоний, $\text{мм}\cdot\text{ч}^{-1}$	Накопление макроконидий на среде в пробирках, тыс. макроконидий
	1	2	3	5		
Контроль	11,0±1,0	24,5±1,0	32,5±1,5	76,0±2,0	0,630	425,2±48,0
5 ($5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$)	15,5±0,5	40,0±0,5	78,0±2,0	–	1,083	684,4±51,2
25 ($25 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$)	8,4±0,5	17,0±1,5	27,0±1,5	–	1,013	637,8±44,3
50 ($50 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$)	16,5±1,5	36,0±0,5	74,0±1,0	–	0,973	612,4±29,9
125 ($125 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$)	13,4±0,5	36,0±0,5	68,0±2,0	–	0,944	582,6±38,0

Примечание: «←» – диаметр колонии сравнивался по размеру с диаметром чашки Петри, который составляет 100 мм.

В то же время в опытах с ионами цинка были получены совершенно другие результаты (табл. 3). Во всех случаях наблюдается стимуляция роста культуры *F. culmorum*. При содержании его в среде в концентрации от $5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ (5 ПДК) до $125 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ (125 ПДК) радиальная скорость роста во всех случаях превышает аналогичный показатель в контроле в 1,5–1,7 раза. Аналогичные данные отмечались и при оценке накопления макроконидий.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать заключение: различные тяжелые металлы оказывают неоднозначное воздействие на ростовые свойства культуры природного изолята *F.culmorum*. Выраженное ингибирующее действие на рост микромицетов оказывают ионы меди, в меньшей степени – ионы кобальта. Особое внимание стоит уделить результатам, полученным в отношении ионов цинка, который в широких диапазонах концентраций оказался способным стимулировать рост микромицетов природного изолята вида *F.culmorum*.

Литература

- Монастырский О. А. Токсинообразующие грибы, паразитирующие на зерне // Агро XXI. 2001. № 11. С. 6–7.
- Платонова Ю. В., Сурин Н. А. География грибов рода *Fusarium* (литературный обзор) // Фундаментальные исследования. 2004. № 4 С. 95–97.
- Шешегова Т. К. Фузариоз колоса и зерна озимой ржи // Защита и карантин растений. 2003. № 4. С. 50–51.

Научное издание

Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия

Всероссийская молодёжная конференция

Редакторы: Т. Я. Ашихмина, Н. М. Алалыкина, С. Г. Скугорова

Верстка: Е. М. Кардакова

Подписано к печати Формат 60x84 1/16.

Бумага офсетная. Гарнитура Times.

Усл. п. л. 8,48. Тираж 500 экз. Заказ №184.



Вятский государственный гуманитарный университет,
610002, г. Киров, ул. Красноармейская, 26.

Отпечатано в типографии ООО «Лобань»,
610000, г. Киров, ул. Большевиков, 50.