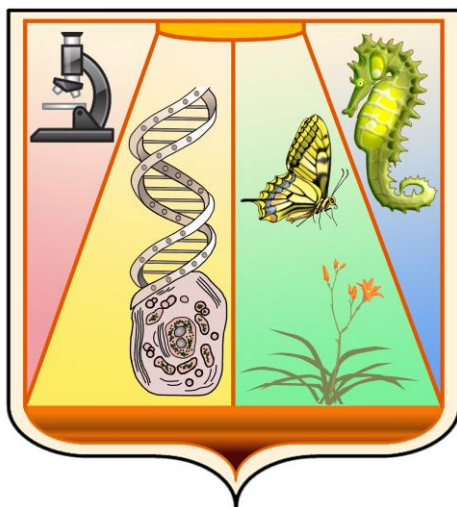


# АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИИ, МОРСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

*Материалы  
X Региональной конференции  
студентов, аспирантов вузов  
и научных организаций  
Дальнего Востока России*



Владивосток  
2011

Дальневосточный федеральный университет  
Школа Естественных Наук

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
ЭКОЛОГИИ, МОРСКОЙ БИОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ**

**Материалы  
X Региональной конференции студентов, аспирантов  
вузов и научных организаций  
Дальнего Востока России**

4-6 мая 2011 г.

Владивосток  
Издательство Дальневосточного университета  
2011

Редакционная коллегия:

А.В. Адрианов, академик РАН, зам. директора Школы естественных наук ДВФУ;

В.М. Пешеходько, к.б.н., доцент каф. ботаники ДВФУ;

Ю.А. Галышева, к.б.н., доцент каф. общей экологии ДВФУ;

К.И. Нагорнова, аспирант Школы естественных наук ДВФУ.

Актуальные проблемы экологии, морской биологии и биотехнологии. Материалы X Региональной конференции студентов, аспирантов вузов и научных организаций Дальнего Востока России. - Владивосток, 2011. – 312 с.

ISBN 978-5-93577-053-3

В сборник включены тезисы участников конференции, проводимой на базе биологического кластера Школы Естественных Наук ДВФУ с 4 по 6 мая 2011 г. Публикуемые материалы затрагивают широкий спектр фундаментальных и прикладных проблем в области биологии. Организация конференции, включая издание настоящего сборника, выполнена в рамках реализации ГК02.740.11.0678, научной школы НШ-64869.2010.4 и гранта Правительства Российской Федерации № 11G34.31.0010.

Для специалистов-биологов, молодых ученых, аспирантов, студентов, а также школьников, интересующихся биологической наукой.

## СОДЕРЖАНИЕ

Авраменко Т.В. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФОРМИРОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ .....	11
Алалыкина И.Л., Ковкековдова Л.Т., Фадеев В.И. СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ДОННЫХ ОСАДКАХ И ТКАНЯХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛИХЕТ С СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО ШЕЛЬФА САХАЛИНА .....	13
Алданов В.А., Алданов С.В. АНАЛИЗ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ МЕТАЛЛОЛОМА, НАХОДЯЩЕГОСЯ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ .....	18
Ахматова А.Ф. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕМЕРТИН РОДА OERSTEDIA (MONOSTILIFERA, TETRASTEMMATIDAE) .....	23
Безбородова А.А. СПОСОБЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ РНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ .....	25
Белая С.А., Губенко О.М. ПРОДУКЦИОННЫЕ И ДЕСТРУКЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В Б. КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) В СЕНТЯБРЕ 2010 г. ....	31
Бобовский А.О. СОСТОЯНИЕ ПОСЕЛЕНИЯ И РЕСУРСЫ КОРБИКУЛЫ ЯПОНСКОЙ ( <i>CORBICULA JAPONICA</i> ) В Р. РАЗДОЛЬНАЯ .....	37
Борисова Д.С. ПОЛОВОЗРАСТНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ПОЛЕВОЙ МЫШИ И ЕЕ РОЛЬ В ПОДДЕРЖАНИИ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА .....	41
Брянская А.В., Малуп Т.К., Розанов А.С., Лазарева Е.В., Пестунова О.П., Демидов Е.А., Пельтек С.Е. РАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В СОЛЕННЫХ ОЗЕРАХ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ .....	46
Василенко А.А., Ковальчук С.Н., Булгаков А.А., Петрова И.Ю., Рассказов В.А. ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ТРЕПАНГА АПОСТИХОПУС ЯПОНИКУС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ И ИХ СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА .....	50
Васильева Т.В., Токмакова Н.П. ПОВЕДЕНИЕ НЕЙРАЛЬНЫХ КЛЕТОК РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭМБРИОНОВ И ОБОНЯТЕЛЬНОГО ТРАКТА ВЗРОСЛЫХ КРЫС ЛИНИИ W1STAR ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ .....	54
Власенко Р.В., Соколенко Д.А. БАТИМЕТРИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕРЦЕНАРИИ СТИМПСОНА У БЕРЕГОВ	

ПРИМОРЬЯ.....	57
Воробьева Н.С. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ <i>ULVA FENESTRATA</i> .....	61
Воронова А.Н. ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КУЛЬТУРУ НЕЙРАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК.....	65
Вятчин И.Г. НЕОБЫЧНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКА ТРОПОМИОЗИНА ИЗ МЫШЦ МИДИИ <i>CRENOMYTILUS GRAYANUS</i> .....	69
Гончаров Н.В., Титов С.И. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ <i>VASA</i> И <i>SOX2</i> – МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК У БРЮХОНОГОГО МОЛЛЮСКА <i>SUCCINEA LAUTA</i> .....	71
Гринченко А.В. АКТИВНОСТЬ АГГЛЮТИНИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ <i>ANADARA BROUGHTONI</i> И <i>MODIOLUS KURILENSIS</i> ИЗ АКВАТОРИЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ .....	73
Гущеров П.С., Бурдин А.М., Сидоренко М.М. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРЫХ КИТОВ ( <i>ESCHRICHTIUS ROBUSTUS</i> ) КОРЕЙСКО-ОХОТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ В РАЙОНЕ ИХ ПОСТОЯННОГО ЛЕТНЕГО НАГУЛА У СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ О. САХАЛИН (РАЙОН ЗАЛ. ПИЛЬТУН) В ПЕРИОД С 2008-2010 ГГ. ....	76
Гущеров П.С. ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СОЦИАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛУХ ( <i>DELPHINOPTERUS LEUCAS</i> ) В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ.....	79
Гущеров П.С., Галеев А.И. ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗА ЖИЗНИ ЛИЧИНКИ МУРАВЬИНОГО ЛЬВА ( <i>MYRMELEON FORMICARIUS</i> ).....	81
Демиденко Е.В., Кумейко В.В. РАЗМНОЖЕНИЕ, ЭМБРИОГЕНЕЗ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК ЛИЧИНОК <i>BOUGAINVILLIA SUPERCILIARIS</i> (HYDROZOA) .....	83
Демидова Т.С., Морина О.М. ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ТЕМПЕРАТУР ВОЗДУХА, ПОЧВЫ И ВОДЫ В НИЖНЕМ ПРИАМУРЬЕ .....	87
Железнова Л.В., Салманова Е.И. ГЛИСТНЫЕ ИНВАЗИИ АМУРСКОГО ТИГРА И ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕОПАРДА .....	92
Зайцева Ю.Б., Соловьев Д.А., Росликова В.И., Матвеев Т.И. ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЛОВЫХ ФОРМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ ПАРКА ИМ. МУРАВЬЕВА-АМУРСКОГО Г. ХАБАРОВСКА .....	95

Зинадшина Е.И. СТРУКТУРА ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЛАЗОВСКОГО ЗАПОВЕДНИКА .....	99
Истомина А.А., Довженко Н.В., Бельчева Н.Н. АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У РАЗНЫХ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИИ ГИПОКСИИ/АНОКСИИ .....	104
Каменев Д.Г. ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН СИЛИКАТЕИНА МОРСКОЙ РОГОВОЙ ГУБКИ <i>LATRUNCULIA OPARINAE</i> .....	107
Катугина А.О. ВЫЯВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА УЧАСТКОВ 12S/16S МТДНК В ВЫБОРКАХ МОРСКИХ ОКУНЕЙ РОДА <i>SEBASTES: SEBASTES TACZANOWSKII</i> И <i>S.OWSTONI</i> .....	110
Ключников Д.А. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТЬЕВЫХ ВОД Г. УССУРИЙСКА ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ ПОЛНОЦЕННОСТЬ .....	112
Коленко П.И., Петрова Е.А. ВИДОВОЙ СОСТАВ, ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МОКРИЦ ( <i>ISOPODA</i> , <i>ONISCIDEA</i> ) НА ПОБЕРЕЖЬЕ БУХТЫ КИЕВКА ЯПОНСКОГО МОРЯ .....	116
Косьяненко А.А., Слинко Е.Н., Колосова Л.Ф. ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ ПУРПУРНОЙ АСЦИДИИ <i>HALOCYNTHIA AURANTHIUM</i> .....	120
Котова В.А., Атопкин Д.М. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ РАКОВ- ОТШЕЛЬНИКОВ РОДА <i>PAGURUS</i> ПО ДАННЫМ ЧАСТИЧНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА COI МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК .....	123
Красноперова Ю.С., Шедько М.Б. РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДИФИЛЛОБОТРИОЗА ЛЮДЕЙ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ .....	126
Крылова М.К. ИЗУЧЕНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ГОНАДЫ УЛИТКИ ЯНТАРКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ МЕТОДОВ .....	129
Лелюхина Е.В. ДИНАМИКА ОСЕННЕЙ МИГРАЦИИ ПЕНОЧЕК (РОД <i>PHYLLOSCOPUS</i> ) В ЮЖНОМ ПРИМОРЬЕ ПО ДАННЫМ КОЛЬЦЕВАНИЯ .....	132
Лобанова У.Ю., Минлятова С.П. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ВОЗРАСТНОЙ СОСТАВ МАССОВЫХ ВИДОВ СОРЕРОДА АВАЧИНСКОГО ЗАЛИВА (ВОСТОЧНАЯ КАМЧАТКА) В ВЕСЕННИЙ И ОСЕННИЙ ПЕРИОД 2009 ГОДА .....	137

Ломакина А.В., Павлова О.Н., Морозов И.В., Земская Т.И. ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОДНОЙ ТОЛЩЕ И ДОННЫХ ОСАДКАХ ДВУХ РАЙОНОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ НЕФТЕПРОЯВЛЕНИЙ НА ОЗЕРЕ БАЙКАЛ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА 16S рРНК и alk ГЕНОВ .....	140
Лосенкова К.В., Седова Н.А. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭВФАУЗИИД (CRUSTACEA: EURHAUSIACEA) ВЛИЗИ ЮГО- ВОСТОЧНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КАМЧАТКИ ВЕСНОЙ 2009 г .....	146
Ляпун И.Н., Плехова Н.Г., Сомова Л.М. СПОСОБЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ РНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ .....	150
Мазейка А.Н., Костецкий Э.Я., Санина Н.М., Цыбульский А.В., Воробьева Н.С. НОСИТЕЛЬ СУБЪЕДИНИЧНЫХ АНТИГЕНОВ НА ОСНОВЕ МОНОГАЛАКТОЗИЛДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛА ИЗ <i>ULVA FENESTRATA</i> И КУКУМАРИОЗИДА A2-2 ИЗ <i>CUCUMARIA JAPONICA</i> .....	156
Мазникова О.А. МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ МАЛОРОТОЙ КОРЮШКИ ЛИМАНА Р. АМУР .....	159
Майорова М.А., Рыбалкина С.М., Кравченко Д.Н. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОНАД ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>CORVICULA JAPONICA</i> ИЗ УСТЬЯ РЕКИ КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ) .....	162
Максяткина И.В., Запорожец Т.С., Юдина Т.П., Черевач Е.И. ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ САПОНИНОВ ИЗ <i>SAPONARIA OFFICINALIS</i> НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И НЕЙТРОФИЛОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ .....	165
Мищенко П.В. ДИНАМИКА АДГЕЗИИ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ И ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В КУЛЬТУРЕ .....	167
Мороз К.А. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТВАЛОВ ПАВЛОВСКОГО БУРОУГОЛЬНОГО РАЗРЕЗА .....	170
Мясникова А.М., Журавель Е.В. МЕЖГОДОВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМБРИОТЕСТА, ВЫПОЛНЕННОГО В ВОДЕ ИЗ ЗАЛИВА НАХОДКА .....	174
Никитенко А.Ю., Вороной Н.О., Атопкин Д.М. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИЙ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА <i>CORVICULA JAPONICA</i> ЭСТУАРИЯ РЕКИ КИЕВКА ПРИМОРСКОГО КРАЯ ПО ДАННЫМ ЧАСТИЧНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА COI МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК .....	178

Никулин В.Ю., Гончаров А.А. АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ВНУТРЕННЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА (ITS) рДНК РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CRASSULACEAE - ТОЛСТЯНКОВЫЕ .....	182
Никулин А.Ю., Гончаров А.А. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА trnH-psbA ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК В СЕМЕЙСТВЕ CRASSULACEAE – ТОЛСТЯНКОВЫЕ ...	186
Овчаренко М.С. ФЛОРА И РАСТИТЕЛЬНОСТЬ АВАЧИНСКОГО ПЕРЕВАЛА (КАМЧАТСКИЙ П-ОВ) КАК ОСНОВА ДЛЯ БОТАНИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО И ПРИРОДООХРАННОГО ПРОСВЕЩЕНИЯ.....	189
Ольховик А.В. ВНУТРИГОДОВАЯ ДИНАМИКА МАКРОФИТОБЕНТОСА В ЭСТУАРИИ РЕКИ СУХОДОЛ (УССУРИЙСКИЙ ЗАЛИВ, ЯПОНСКОЕ МОРЕ).....	193
Орленко В.И. ХАРАКТЕРИСТИКА АКВАПОЧВ ПРИБРЕЖНОЙ ПОЛОСЫ Б. КИЕВКА, КАК СРЕДЫ ОБИТАНИЯ МЕЙОБЕНТОСА .....	198
Остапенко Е.А. ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ .....	203
Павленко Н.Б., Орлова Т.Ю. МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ИЗ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ....	205
Панина О.Ю., Коган Р.М. АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ (НА ПРИМЕРЕ ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ ЕВРЕЙСКОЙ АВТОНОМНОЙ ОБЛАСТИ) .....	207
Панькова М.В. СРАВНЕНИЕ ДИВЕРГЕНЦИИ ИНТРОНОВ И ЭКЗОНОВ ГЕНА ГОРМОНА РОСТА У ЛОСОСЕВИДНЫХ РЫБ.....	214
Пономарева К. А., Седова Н.А. ЧИСЛЕННОСТЬ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ <i>NEOCALANUS CRISTATUS</i> (COPEPODA, CALANOIDA) В ПРИКАМЧАТСКИХ ВОДАХ ВЕСНОЙ 2001, 2002 гг. ....	215
Попкова П.А., Кумейко В.В. ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ РАЗНЫХ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЕ И КАЧЕСТВЕННОМУ СОСТАВУ ПРОИЗВОДНЫХ НИЗКОЭТЕРИФИЦИРОВАННОГО ПЕКТИНА ЦИТРУСОВЫХ .....	218
Припадова Е.А., Дербенцева А.М. ЭРОЗИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ РАЗВИТИЕ ОВРАГОВ .....	222



Прокопенко О.Д., Петрова Е.А., Гончаров Н.В. ВИДОВОЙ СОСТАВ И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УХОВЕРТОК В ПРИБРЕЖНОЙ ПОЛОСЕ БУХТЫ КИЕВКА.....	226
Пушкарева В.С., Журавель Е.В. СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МОРСКИХ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ К ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРИЯ .....	231
Савельев П. А., Баланов А. А. ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИКОДА ТАНАКИ <i>LYCODES TANAKAE</i> (PISCES: ZOARCIDAE) В ВОДАХ ПРИМОРЬЯ (ЯПОНСКОЕ MORE).....	235
Савельева А.В., Даутов С.Ш. ОРГАНЫ РАЗМНОЖЕНИЯ АППЕНДИКУЛЯРИИ <i>OIKOPLEURA GRACILIS</i> (TUNICATA, CHORDATA): ФОРМИРОВАНИЕ ГОНАД, ИХ РАЗВИТИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРА.....	241
Салманова Е.И. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСКРЕБОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕОПАРДА, КАК ОСНОВНОГО СПОСОБА МАРКИРОВКИ .....	244
Сейткалиева А.В., Мензорова Н.И. РАЗРАБОТКА ИММОБИЛИЗОВАННОГО РЕАГЕНТА НА ОСНОВЕ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ИЗ ЯЙЦЕКЛЕТОК МОРСКОГО ЕЖА <i>STRONGYLOCENTROTUS</i> <i>INTERMEDIUS</i> .....	245
Сигида Е.А., Мусько С.С. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРСКИХ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПРИ ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЯНЫХ РОЗЛИВОВ.....	250
Симоненко З.Ю., Дроздовская О.А. МОНИТОРИНГ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД УССУРИЙСКОГО ЗАЛИВА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ МИКРОБНОЙ ИНДИКАЦИИ.....	251
Соболева Е.Г., Дроздовская О.А., Галышева Ю.А. СЕЗОННАЯ ОЦЕНКА САНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ПЛЯЖНЫХ ЗОН ГОРОДА ВЛАДИВОСТОКА.....	257
Сокольников Ю. Н. ОЦЕНКА ФАГОЦИТАРНОГО СТАТУСА ГЕМОЦИТОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ <i>MODIOLUS KURILENSIS</i> ИЗ ФОНОВОЙ И ИМПАКТНОЙ АКВАТОРИИ ЯПОНСКОГО МОРЯ.....	263
Способ М.В. ВИД-ДВОЙНИК МОРСКИХ БЛЮДЕЧЕК РОДА <i>LOTTIA</i> (GASTROPODA, MOLLUSCA), ВЫЯВЛЕННЫЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ФЕРМЕНТОВ.....	266
Турленко А.В., Киселев К.В. СТРУКТУРА И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА PGCDPK1A В КОРНЯХ, ЛИСТЬЯХ И	

КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ЖЕНЫШЕНЯ.....	268
Тюнин А.П., К.В. Киселев БИОСИНТЕЗ РЕЗВЕРАТРОЛА И ЭКСПРЕССИЯ МЕТИЛАЗ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ВИНОГРАДА АМУРСКОГО <i>VITIS AMURENSIS</i> В УСЛОВИЯХ СНИЖЕНИЯ ОБЩЕГО СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК.....	270
Хлопова А. В., Черниенко И. С. ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ САМЦОВ АЯНО–ШАНТАРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КАМЧАТСКОГО КРАБА <i>PARALITHODES CAMTSCHATICA</i> (TILESUS, 1885) ОХОТСКОГО МОРЯ (ХАБАРОВСКИЙ КРАЙ).....	272
Цветкова Н.Б., Бузалева Л.С. СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК, КАК АДАПТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> ВО ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ.....	277
Черниенко Э.П. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕМЕРСАЛЬНЫХ РЫБ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТАТАРСКОГО ПРОЛИВА ВЕСНОЙ 2010 ГОДА .....	282
Черновалова А.В., Черновалова А.В. ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕОЛОГИЧЕСКИХ КОНСТАНТ БУРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ДОЛИНЫ РЕКИ АМУР С ИХ ПРОТИВОЭРОЗИОННЫМИ СВОЙСТВАМИ.....	286
Черновалова А.В., Черновалова А.В. КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ПОЧВ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ЭРОЗИОННЫМ ПРОЦЕССАМ (НА ПРИМЕРЕ ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРЬЯ) .....	289
Шарова О.А., Раков В.А. МАЛАКОФАУНА ИЗ ПОЗДНЕГОЛОЦЕНОВЫХ МОРСКИХ ОТЛОЖЕНИЙ БУХТЫ НАРВА (АМУРСКИЙ ЗАЛИВ) .....	291
Швед Н.А., Сяпина И.Г., Кумейко В.В. MALDI-TOF АНАЛИЗ ПОЛИПЕПТИДОВ ВИТЕЛЛОГЕНИНА ПОЛОСАТОЙ КАМБАЛЫ <i>LIPSETTA PINNIFASCIATA</i> .....	295
Шохрина В.В., Гончаров А.А. АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ВНЕШНЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА ЯДЕРНОГО РИБОСОМНОГО ОПЕРОНА (ETS RDNA) В СЕМ. CRASSULACEAE DC .....	301
Шумакова О.А., Киселев К.В. ВОЗДЕЙСТВИЕ АКТИВАТОРА КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ РЕЗВЕРАТРОЛА, ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ CA2+-ЗАВИСИМЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ И СТИЛЬБЕН-СИНТАЗ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ВИНОГРАДА <i>VITIS AMURENSIS</i> .....	304
Яворская Н.М. ХИРОНОМИДЫ (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ПИТАНИИ РЫБ.....	306

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФОРМИРОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ

Авраменко Т.В. (студент)

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток.

*samaya\_zabavnaya@mail.ru*

Получение новых наноматериалов с использованием биологических процессов или при помощи биологических систем представляет большой фундаментальный и практический интерес. Синтез наночастиц металлов является наиболее продуктивно развивающимся направлением в этой области. В настоящее время существует множество химических и физических методов синтеза наночастиц различных металлов (золото, серебро, цинк, медь, кобальт, никель и др.), однако эти методы как правило характеризуются низкой продуктивностью, требуют высоких затрат и использования вредных для окружающей среды и человека веществ. Поэтому в настоящее время большое внимание исследователей привлекают биотехнологические подходы синтеза наночастиц металлов. В последние годы в качестве агентов вызывающих образование наночастиц металлов большое внимание исследователей привлекают растения и различные группы соединений из растений. В то же время изучение формирования наночастиц металлов в клеточных культурах растений и под действием экстрактов из клеточных культур остается неизученной областью.

Целью настоящей работы являлось изучение способности водных экстрактов каллусных культур растений к формированию наночастиц серебра. В качестве объектов исследования использовали каллусные культуры женьшеня (*Panax ginseng*), воробейника (*Lithospermum erythrorhizon*), марены (*Rubia cordifolia*) и табака (*Nicotiana tabacum*). Обнаружение наночастиц производили спектрофотометрическим методом. Для установления размеров и внешних морфологических характеристик наночастиц воспользовались методом сканирующей электронной микроскопии.

Известно, что растительные экстракты способны восстанавливать ионы серебра в растворах до образования наночастиц.

Из клеточных культур были получены водные экстракты и приготовлен 0,1 М раствор  $\text{AgNO}_3$ ; затем полученные компоненты смешали в соотношении 1:10 соответственно. Растворы инкубировали в течение суток, после чего наблюдали значительное усиление интенсивности окраски. Согласно литературным источникам, данный эффект сопровождается образованием наночастиц и яркость окраски прямопропорциональна их количеству в растворе. Используя высокоскоростное центрифугирование при 14 000 об/мин получили плотный осадок, состоящий, предположительно, из наночастиц серебра. Для выяснения природы осадка провели измерение оптической плотности, растворив его в дистиллированной воде. Полученные спектры поглощения совпадали с таковыми у наночастиц серебра. Однако в некоторых образцах наблюдался сдвиг пика в более высокие области. Данный феномен удалось объяснить, используя сканирующий электронный микроскоп. Полученные фотографии свидетельствовали о разнородности размеров наночастиц и их конгломератов (от 20 до 200 нм); с уменьшением размеров частиц серебра увеличивается длина поглощаемых волн света, что и объясняет сдвиг пика.

Таким образом, удалось показать способность каллусных культур инициировать формирование наночастиц различных размеров – от 20 нм в диаметре и выше, и освоена методика их очистки. Был проведен сравнительный анализ спектров поглощения контрольных и трансформированных культур женьшеня и табака, который показал, что содержание наночастиц в генномодифицированных образцах выше. Данный факт свидетельствует о прямой корреляции между количественным соотношением наночастиц и вторичных метаболитов в используемом экстракте. Также было установлено, что в культуре трансформированного табака формировались наночастицы меньшего размера, чем в контрольном. В ходе эксперимента было также выявлено, что с очисткой экстракта фиксировалось уменьшение количества наночастиц.

## СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ДОННЫХ ОСАДКАХ И ТКАНЯХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЛИХЕТ С СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО ШЕЛЬФА САХАЛИНА

Алалыкина И.Л. (инженер)<sup>1</sup>, Ковековдова Л.Т. (ст. н.с.)<sup>3,2</sup>,  
Фадеев В.И. (зав. лабораторией)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,*

<sup>2</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ*

<sup>3</sup>*Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр  
(ТИНРО-центр), г. Владивосток*

*alalykina@mail.ru, vfadeev@mail.primorye.ru*

В водных экосистемах соединения тяжелых металлов (ТМ) входят в число приоритетных загрязняющих веществ, способных оказывать негативное воздействие на гидробионтов. Многощетинковые черви являются важнейшим компонентом любого бентосного сообщества. Показано, что концентрации металлов в тканях некоторых видов полихет пропорциональны содержанию этих элементов в грунте, что позволяет использовать их как индикаторов загрязнения донных осадков биологически доступными легко усвояемыми формами тяжелых металлов (Diez et al., 2000; Dean, 2008). Данных по содержанию ТМ в тканях полихет, обитающих у берегов Сахалина, нет. Вместе с тем, северо-восточный шельф Сахалина выделяется значительными запасами нефти и газа. Освоение нефтегазовых месторождений сопровождается масштабным комплексным воздействием на окружающую среду, что обуславливается химическим и механическим воздействием на фито, зоопланктон, нейстон и бентос.

Анализ элементов в тканях полихет и в грунтах, отобранных непосредственно в местах обитания животных, проводили атомно-абсорбционным методом в ТИНРО-центре. Перед анализом животных выдерживали в чистой морской воде в течение 4-7 суток для освобождения кишечника от грунта.

Концентрации ТМ, измеренные в донных отложениях северо-восточного шельфа Сахалина (Пильгунский район), существенно ниже соответствующих значений вероятно действующих концентраций (ВДК) (Long et al., 1995), вызывающих снижение обилия и видового разнообразия бентоса, и значительно ниже концентраций поллютантов в осадках Японского моря (Амурский залив и бухта Золотой Рог). Однако сравнение многолетних данных свидетельствует о повышении содержания большинства кислоторастворимых форм ТМ в грунтах северо-восточного шельфа Сахалина со временем (табл. 1).

Таблица 1

Концентрации тяжелых металлов (мкг/г сух. веса) в донных осадках Пильгунского района северо-восточного шельфа Сахалина, в грунтах Амурского залива и бухты Золотой Рог (Японское море) и диапазоны ВДК для макробентоса

Элемент	ВДК	Пильгунский район северо-восточного шельфа Сахалина					Амурский залив	Б. Золотой Рог
		2001 г.	2005 г.	2007 г.			2004 г.	2000-03 гг.
				Пс	Пм	Ил		
Fe	Н.д.	824-4160	1390-7580	1005-1060	4857-7032	17667	23732-24982	15000-20250
Zn	271-410	0,3-12,9	1,98-15,10	1,5-1,75	10,5-14,25	37	397-443	182-837
Cu	108-270	0,11-1,53	0,79-6,60	0,2-0,62	1,23-1,8	9,37	39,7-49,3	235-423
Mn	Н.д.	Н.д.	Н.д.	31-37	114-193	363	755-1013	112-150
Cd	4,2-9,6	0,002-0,029	0,00-0,27	0,02	0,02-0,06	0,07	0,22-0,24	4,0-9,5
Co	Н.д.	Н.д.	Н.д.	0,5-0,71	3,12-5,63	8,72	18,4-21,9	6,3-7,5
Ni	43-52	Н.д.	Н.д.	0,29-1,73	4,31-47,71	33,21	15,3-17,6	235-925
Pb	112-218	0,76-3,48	0,00-1,9	2,3-4,2	3,8-11	9,4	280-303	235-925
Ссылка	Long et al., 1995	Лишавская, Мощенко, 2008	Фадеев, 2006	Собственные данные				Давыдкова и др, 2005

Примечание: Н.д. – нет данных; Пс, Пм, ИП, Ил – тип грунта, соответственно песок среднезернистый, песок мелкий, илистый песок, ил.

Содержание некоторых микроэлементов анализировали в тканях полихет часто встречающихся в бентосе северо-восточного шельфа Сахалина и прибрежных акваторий Японского моря (табл. 2). Преобладающими элементами в тканях донных червей были Fe и Zn. В тканях нефтид с северо-восточного шельфа Сахалина уровень содержания этих элементов оказался сходным. Содержание Fe в тканях остальных полихет было на порядок выше, чем Zn. Наибольшая концентрация Fe отмечена в тканях детритофага *C. capitata*, Zn – в тканях всеядной полихеты *N. vexillosa*, обитающих в черных илах бухты Золотой Рог Японского моря.

Наиболее высокое содержание Fe отмечено у *N. vexillosa*. Следует отметить, что концентрация Fe в илистых осадках обитания этого вида достигала максимальной величины (17667 мкг/г сух. веса) по сравнению с песчаными грунтами обитания нефтид из этого района (табл. 1). Несколько меньшее содержание Zn в тканях *N. vexillosa*, по сравнению с нефтидами, вероятно связано с регуляцией его содержания в организме животного независимо от концентрации этого элемента в среде. Полученные результаты не противоречат данным других авторов (Бryan, Gibbs, 1980; Nejmeddine et al., 1988), согласно которым, Fe, Cu и Pb аккумулируются в тканях nereid пропорционально содержанию этих элементов в среде, а Zn и Mn регулируются животными. Концентрации Cu, Mn, Cd и Co в тканях присахалинской *N. vexillosa* были сходными с содержанием этих элементов у нефтид.

Медь по уровню накопления в тканях полихет оказалась на третьем месте после Fe и Zn. В зависимости от места обитания животных, содержание Cu в тканях изменялось от 3,19 до 6,64 мкг/г сухого веса на северо-восточном шельфе Сахалина и от 6,18 до 24,5 мкг/г сухого веса в прибрежных акваториях Японского моря. В тканях полихет из япономорских вод наиболее высокие концентрации Cu (до 24,5 мкг/г сухого веса) отмечены у *D. (Sch.) japonica* (б. Золотой Рог) и *N. jacutica* (б. Киевка).

Концентрации Mn, Cd и Co в тканях многощетинковых червей измерялись на сходном уровне. Содержание марганца в тканях полихет изменялось от 0,65 до 3,1, кадмия - от 0,12 до 3,43 и кобальта - от 0,02 до 4,66 мкг/г сухого веса. Максимальная концентрация Cd выявлена в тканях полихет *D. (Sch.) japonica* (3,43 мкг/г сухого веса) и *C. capitata* (2,1 мкг/г сухого веса) из б. Золотой Рог. Наибольшее содержание Co отмечено у япономорской *N. vexillosa* (4,66 мкг/г сухого веса).

Таблица 2

Концентрации тяжелых металлов в тканях некоторых видов полихет (мкг/г сухой массы) из Охотского (северо-восточный шельф Сахалина) и Японского (зал. Восток, зал. Амурский, б. Киевка и б. Золотой Рог) морей

Вид	Район	Тип грунта	Fe	Zn	Cu	Mn	Cd	Co
<i>Nephtys caeca</i>	СВ Сахалин	Пм+Пс	211±54	261± 59	6,64±0,16	0,65±0,15	1,43±0,63	0,02±0,01
<i>N. longosetosa</i>		Пм	213	116	3,22	2,4	1,97	0,03
<i>Nephtys</i> sp.		Пм	259±25	203±19	4,50±1,27	2,25±0,05	1,97±0,75	0,03±0,01
<i>Nereis vexillosa</i>	СВ Сахалин	Ил	965	95,7	3,19	3,1	0,64	0,02
	б. Киевка	ИП	510±128	256±23	11,36±2,52	1,8±0,55	0,12±0,02	0,05±0,01
	б. Золотой Рог	Ил	1351±94	312±93	10,4±2	–	2,31±0,21	4,66±0,56
<i>Hediste japonica</i>	зал. Амурский	ИП	226±36	137±43	6,18±0,82	1,53±0,19	0,26±0,01	0,10±0,01
<i>Alitta branti</i>	б. Золотой Рог	Ил	669±46	197±56	14,4±0,32	–	1,82±0,14	–
<i>Dorvillea (Schistomeringos) japonica</i>	зал. Восток	ИП	672±47	96±7	6,72±1,14	–	Н.о	–
	б. Золотой Рог	Ил	1029±70	229±67	24,5±4,9	–	3,43±0,28	–
<i>Naineris jacutica</i>	б. Киевка	ИП	454	91,6	16,42	2,9	1,44	0,02
<i>Capitella capitata</i>	б. Киевка	ИП	669	43,1	10,28	2,3	0,97	0,1
	б. Золотой Рог	Ил	3708	212	11,2	–	2,1	–

Примечание. Значения представляют собой или среднее арифметическое (n=3) ± стандартная ошибка или единичную оценку; прочерк – оценка отсутствует; Н.о – не обнаружен; Содержание элементов в полихетах из б. Золотой Рог и зал. Восток приведено по: Давыдова и др., 2005, с пересчетом на г сухого веса.



Сравнивая содержание элементов в тканях червей из различных мест обитания (табл. 2) обнаруживаем, что уровень содержания практически всех металлов был достоверно выше в тканях животных из бухты Золотой Рог. Это соответствует условиям значительного антропогенного загрязнения акватории бухты тяжелыми металлами, что согласуется с данными ряда авторов (Tkalin, 1993; Белан, 2001; Fadeeva et al., 2003).

Полихеты *C. capitata*, *D. (Sch.) japonica* и некоторые виды рода *Nereis* – признанные позитивные индикаторы загрязнения морских систем. Полихеты *Nephtys longosetosa*, *Scoloplos armiger*, *Owenia fusiformis*, *Galathowenia oculata*, *Scalibregma inflatum*, *Maldane sarsi*, *Praxillella praeterrmissa*, обитающие у берегов северо-восточного Сахалина, считаются чувствительными к загрязнению видами и относятся к группе негативных индикаторов загрязнения (Gray et al., 1990; Olsgard, Gray, 1995; Белан, 1992; 2001).

Согласно литературным данным (Rainbow et al., 2006b), содержание Fe, Zn и Cu в тканях nereиды *Hediste diversicolor* из относительно чистых прибрежных акваторий юго-восточной Англии составляет до 518, 114 и 9,42 мкг/г сухой массы соответственно. Концентрации этих же металлов в тканях *H. diversicolor* из сильно загрязненных участков побережья Англии составляли до 1521, 510 и 1430 мкг/г сухой массы соответственно (Diez et al., 2000; Rainbow et al., 2006b).

Очевидно, что содержание микроэлементов в тканях полихет из района северо-восточного шельфа Сахалина (табл. 2) не велико и не превышает величин, определяемых в животных из относительно чистых районов. В целом это соответствует условиям невысокого антропогенного воздействия на акватории северо-восточного шельфа Сахалина.

Таким образом, анализ содержания тяжелых металлов в донных осадках и тканях полихет из разных мест обитания позволяет сделать вывод о том, что в прибрежных акваториях северо-восточного шельфа Сахалина в период исследований наблюдалась благоприятная экологическая ситуация. Этому могут способствовать активный гидродинамический режим акватории и вдольбереговой перенос вод Восточно-Сахалинского течения, препятствующие накоплению поллютантов в песчаных осадках.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов договор № 11.G34.31.0010, ГК № 02.740.11.0678 и «Ведущие научные школы России» (№ 64869.2010.4).

## **АНАЛИЗ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ МЕТАЛЛОЛОМА, НАХОДЯЩЕГОСЯ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ**

Алданов В.А. (сотрудник)<sup>1</sup>, Алданов С.В. (студент)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Служба радиационной безопасности ООО «ПримТехнополис»,*

<sup>2</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*thanderbolta10@mail.ru*

Правительством Российской Федерации проблемам радиационной безопасности населения уделяется большое внимание. Свидетельство тому — принятые в последнее время законодательные документы: Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009), Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ-99/2010) и ряд других нормативных документов. Несмотря на проводимые мероприятия по учёту и контролю за обращением с радиоактивными веществами (РВ) и радиоактивными отходами (РАО), количество радиационных аварий и происшествий с РВ и РАО не уменьшается. Одной из проблемных является деятельность по заготовке, реализации и переработке металлолома.

Россия является крупнейшим экспортёром металлолома в мире (объём экспорта составляет более 10 млн. тонн в год). В Дальневосточном регионе основными пунктами по перевалке металлолома являются порты и пограничные железнодорожные переходы Приморского края. Металлолом, поступающий на экспорт, заготавливается как на территории Приморского края, так и ввозится из других субъектов ДВ региона. Следует учитывать и тот факт, что в ДВ регионе расположены сотни объектов, использующих источники ионизирующих излучений (ИИИ), занимающихся переработкой сырья с повышенным содержанием природных радионуклидов (урана и тория): объекты Тихоокеанского флота, армии и авиации, использующие атомную энергию, авиастроительные, судостроительные, ремонтные предприятия, в результате деятельности которых получают РАО. Кроме того, на территории Приморского края в 1985 г. произошла катастрофа с ядерной энергетической

установкой на АПЛ на судоремонтном заводе в бухте Чажма, в результате которой также образовалось значительное количество РАО. Часто на таких объектах в обычные отходы, предназначенные для вторичной переработки, попадают РАО. Поэтому на сегодняшний день проблема радиоактивного загрязнения металла, предназначенного для вторичной переработки, является актуальной.

Как показывает анализ аварийных ситуаций, произошедших на предприятиях, занимающихся сбором и экспортом металлолома, ИИИ, РВ и РАО попадают в металлолом, в основном, с территорий, на которых раньше дислоцировались воинские части, с аэродромов, кораблей (в т.ч. и гражданских) и из района аварии в б. Чажма. С гражданских предприятий ИИИ попадают в металлолом гораздо реже, и это связано, в первую очередь, с хорошо поставленным учётом ИИИ в настоящее время. Редкие случаи обнаружения гражданских ИИИ происходят на тех предприятиях, которые не попали в 90-е годы под надзор и контроль. В последнее время, в связи с транзитом металлолома через Приморский край на экспорт, участились случаи обнаружения ИИИ, прибывших из-за пределов Приморского и Хабаровского края, Читинской и Амурской областей. Причём если в 1999 – 2004 гг. ИИИ представляли собой точечные источники, то в последние годы участились случаи обнаружения крупных фрагментов оборудования, загрязнённого РВ (трубы, металлургический шлак).

В Приморском крае ежегодно происходит в среднем 10 аварийных ситуаций, связанных с обнаружением ИИИ в металлоломе: 1999 г. – 2 случая; 2000 г. – 8; 2001 г. – 21; 2002 г. – 6; 2003 г. – 10; 2004 г. – 8; 2005 г. – 18; 2006 г. – 20; 2007 г. – 14; 2008 г. – 17; 2009 г. – 11; 2010 – 8 случаев. Рассмотрим наиболее показательные из них (табл. 1). Как видно, заметный след по-прежнему остается в отходах после аварии АПЛ в 1985 г. в б. Чажма.

Так, грунт, песок, мелкие камни и ржавчина в порту Козьмино «фонят» с ММЭД 17,1 мР/ч, что превышает более чем в 1000 раз естественный радиационный фон в данном месте (ЕРФ). Как оказалось эти отходы попали туда с перенесенным из бухты Чажма доком.

Продолжая тему б. Чажма, нельзя не заметить случай

нахождения металлической рамы на территории города Владивостока принесенной на один из металлоприемников. Источник был слабее (10,4 мР/ч), но ММЭД также почти на 3 порядка превышала ЕРФ.

В конце 2001 г. была пресечена транзитная перевозка из Японии реактивных двигателей и комплектующих к ним через территорию нашей страны в Китай. Детали двигателей были изготовлены из ториевого сплава (торий – 232 добавляется в алюминиевые сплавы для повышения жаропрочности) и кроме рентгеновского и гамма-излучений (ММЭД ~20,8 мР/ч) являлись источниками  $\alpha$  и  $\beta$ -частиц, более опасных для здоровья человека.

В Лазовском районе в поселке Валентин, у мыса Силина был найден РИТЭГ (радиоизотопный термоэлектрический генератор), содержащий Стронций - 90 и Иттрий - 90. Генератор, ранее находившийся в составе изотопной энергетической установки навигационного знака, был разграблен охотниками за металлоломом, элементы защиты и охлаждения, содержащие алюминийсодержащие сплавы отсутствовали. Генератор был брошен, так как биологическая защита РИТЭГа (выполненная из обеднённого урана) весила более полутоны и имела температуру более 1000 °С.

Как было сказано выше, мародерства затрагивают не только гражданские строения, но и военные склады. В 2005 г. на одном из металлоприёмных пунктов были найдены 89 насадок к прицелам АК (Автоматический Карабин или Автомат Калашникова), каждая из которых имела светомассу постоянного действия на основе солей радия – 226 (СПД). Это также не единичный случай. Неоднократно находятся авиационные, навигационные и артиллерийские приборы содержащие СПД.

В том же году на свалке Горностаи был найден Авиационный прибор военного производства, от которого исходило 3043,8 Р/ч. Спустя 2 недели такой же прибор был найден в здании ДВГУ на ул. Суханова 8, также с мощным излучением (2154,6 Р/ч). При длительном контакте с источником такого уровня излучения может начаться лучевая болезнь.

Таблица 1

Примеры обнаруженных Источников Ионизирующих Излучений, выявленных службой радиационной безопасности ООО «ПримТехнополис»

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8
Место проведения работ	г. Владиво-сток	Порт Козьмино	Порт Восточный	Прим. край, Лазовский район, пос. Валентин, мыс Силина	г. Владивосток Рыбный порт	г. Владивосток Горностай	г. Владивосток ДВГУ	ВМРП, Крокус
Дата проведения работ	06.2001 г.	07.2001 г.	12.2001 – 03.2002 г.	03.2004 г.	08.2005 г.	11.2005 г.	11.2005 г.	09. – 12. 2010 г.
Наименование источника	Металли-чекская прямоугольная рама из района аварии АПЛ 1985 г. в б. Чажма	Твердые РАО в виде грунта, песка, пыли, после дезактивации дока из района аварии АПЛ 1985 г. в б. Чажма	Реактивные двигатели, фрагменты двигателей и др. – транзит Япония – КНР	РИТЭГ (предп. «Бета-М» разграбленный сборщиками цветного металла)	Насадки на прицелы АК	Авиационный прибор	Авиационный прибор	Трубы 320 на 12 м на саммит
Кол-во ИИИИ	1	50 дм <sup>3</sup>	96	1	89	1	1	22
Активность источника, вид и интенсивность излучения	ММЭД – 10,374 мР/ч	ММЭД – 17,1 мР/ч	ММЭД – 20,7936 мР/ч ПП Бета 2500 расп/см <sup>2</sup> *мин Ауд – 0,8:1,2*105 Бк/кг	ММЭД – 259,92 мР/ч А ~ 35000 – 50000 Ки	ММЭД – 5962,2 мР/ч	ММЭД – 3043,8 Р/ч	ММЭД – 2154,6 Р/ч	ММЭД – до 855 мкР/ч
Геометрические размеры источника, (мм)	Дл. – 650 Шир. – 650 Высота – 315 Вес – 25 кг	Мин. – 0,5 Макс. – 40	Мин. – 0,1 кг Макс. – 1375 кг	Диаметр – 300 Высота – 700	Разные фигурные	Диаметр – 83 Высота – 125	Диаметр – 83 Высота – 65	0,32x12
Нуклидный состав источника	Кобальт – 60, Цезий – 137	Кобальт – 60	Торий – 232	Стронций – 90 + Иттрий – 90	Радий – 226	Радий – 226	Радий – 226	ЕРН

Из более свежих случаев важно рассказать о трубах, доставленных на остров Русский в 2010 г. которые должны были использоваться для водопровода к зданиям Саммита. Вследствие преступной халатности или банального невежества то 22 трубы с диаметром 320 мм и длиной 12 м, излучающие до 855 мкР/ч, были привезены Санкт-Петербургской компанией из Оренбурга во Владивосток.

Для случаев возможного контакта с ИИИ были созданы Нормы Радиационной Безопасности, или НРБ 99/2009, в которых описаны 3 группы лиц, разделенные по возможной поглощенной радиации. Группа А, или лица имеющие полное право на работы с ИИИ, должна получить не более 5700 мР (50 мЗв) за 5 лет, но не более 2280 мР (20 мЗв) за 1 год. Группа Б, лица имеющие ограниченный доступ к ИИИ: 2850 мР (25 мЗв) за 5 лет, но не более 570 мР (5 мЗв) за 1 год. Последней группой лиц является гражданское население, т.е. лица не имеющие никаких прав на работу с ИИИ: 570 мР за 5 лет, из которых следуют 114 мР (1 мЗв) за 1 год.

Благодаря взаимодействию организаций, осуществляющих государственный надзор в области обеспечения РБ, и специализированных организаций, проводящих мероприятия по ликвидации последствий радиационных аварий, в Приморском крае случаев облучения населения свыше установленных пределов не зарегистрировано и, как правило, инциденты с обнаружением ИИИ в металлоломе оперативно ликвидируются. Мероприятия по ликвидации последствий радиационных аварий проводятся в соответствии с требованиями нормативных документов с учётом сложившейся ситуации. Однако в последнее время ситуация складывается не в лучшую сторону. Предприятия, осуществляющие заготовку металлолома, в соответствии с «Гигиеническими требованиями к обеспечению радиационной безопасности при заготовке и реализации металлолома» (СанПиН 2.6.1.993—00), обязаны проводить радиационный контроль металлолома и при обнаружении ИИИ немедленно ставить в известность надзорные органы. На самом деле таких случаев за последние годы не было ни одного. Зато в местах расположения приёмных пунктов металлолома неоднократно

обнаруживались ИИИ. Недобросовестность заготовителей металлолома может привести как к радиоактивному загрязнению окружающей среды, так и к облучению населения.

Снизить риск возникновения радиационных аварий, предотвратить облучение населения выше установленных пределов и загрязнение окружающей среды радиоактивными веществами возможно только при совместной работе органов исполнительной власти, организаций, осуществляющих государственный контроль и надзор в области обеспечения радиационной безопасности, предприятий, использующих радиоактивные вещества и в процессе деятельности которых образуются радиоактивные отходы, а также предприятий занимающихся заготовкой и реализацией металлолома. Несомненно, необходима общая грамотность населения в области радиационной безопасности.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
НЕМЕРТИН РОДА OERSTEDIA  
(MONOSTILIFERA, TETRASTEMMATIDAE)**

Ахматова А.Ф. (аспирант)

*Учреждение Российской академии наук Институт биологии моря  
им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток*

*Ahmatova.alina@mail.ru*

Немертины представляют собой таксономически слабо изученную группу беспозвоночных животных. Несмотря на то, что данная группа как самостоятельный тип существует около 100 лет, на сегодняшний день филогенетические взаимоотношения внутри типа все еще остаются до конца не выясненными. Вследствие ряда проблем, связанных главным образом с недостаточностью диагностических признаков, идентификация многих видов немертин оказывается затруднительной. Это справедливо и для немертин морей Дальнего Востока, в том числе видов рода *Oerstedia*. Настоящая работа представляет собой молекулярно-генетическое исследование 4 видов гоппонемертин рода *Oerstedia* (*O. oculata* (Kulikova, 1987), *O. zebra* (Chernyshev, 1993), *O. phoresiae* (Kulikova, 1987) и *O. valentinae*

(Chernyshev, 1993)) на основе данных о первичной последовательности фрагмента ядерной ДНК, кодирующего 28S рибосомальную РНК. В анализ также были включены данные из генного банка по исследуемому гену для *O. zebra*, *O. venusta* и *O. dorsalis*. Исследуемые виды рода *Oerstedtia* широко распространены в заливе Петра Великого Японского моря. Все они изначально были описаны как представители рода *Oerstedtiella* Friedrich, 1935, но затем перенесены в род *Oerstedtia* Quatrefages, 1846. Эти виды являются весьма схожими по признакам внешней морфологии, однако имеются некоторые различия в окраске тела. *O. zebra* имеет ярко выраженную полосатую окраску спинной части тела, в то время как у *O. oculata* и *O. phoresiae* спинная и боковая поверхность тела окрашены в коричневый или светло-коричневый цвет. У большинства особей *O. oculata* на верхушке головы имеются два белых дорсальных пятнышка, хотя встречаются особи без белого пигмента на голове. У *O. phoresiae* верхушка головы бледно окрашена, без пятнышек или с двумя непигментированными зонами ниже уровня глаз. *O. valentinae* по окраске тела занимает промежуточное положение между *O. zebra* и *O. oculata*, но имеет более крупные размеры тела (14-20 мм в длину вместо 8-12 мм у *O. zebra* и *O. oculata*). Кроме того, по строению слепой кишки *O. phoresiae* несколько отличается от *O. oculata* и *O. zebra*. К тому же, периоды размножения у данных видов не совпадают (апрель-май у *O. valentinae*, май-июнь у *O. oculata* и *O. zebra*, июль-август у *O. phoresiae*).

Ранее методами аллозимного анализа было показано, что хорошо различимые по окраске тела *O. oculata* и *O. zebra* генетически идентичны, а внешне похожие *O. oculata* и *O. phoresiae* по аллозимным маркерам, как оказалось, очень сильно различаются [2]. Проведенный молекулярно-генетический анализ на основе анализа первичных последовательностей ядерного 28S рибосомального гена подтверждает эти выводы. А именно, полученные данные позволяют установить, что, во-первых, экземпляры *O. zebra* и *O. valentinae* не имеют отличий от *O. oculata* и, во-вторых, *O. oculata* и *O. phoresiae* действительно являются самостоятельными видами. Таким образом, *O. zebra* и *O. valentinae* следует признать младшими синонимами *O.*



*oculata*. Кроме того, установлено, что *O. phoresiae*, ранее известная только по материалам из Японского моря, обитает и на литорали острова Чеджу (Южная Корея), т.е. проникает в субтропические воды. И, наконец, показано, что *O. venusta sensu* Thollesson and Norenburg [1] из прибрежных вод Хоккайдо следует относить к *O. oculata*.

Литература:

1. Thollesson M., Norenburg J.L., Ribbon worm relationships: a phylogeny of the phylum Nemertea. Proc. R. Soc. London, 2003. V. 270, 407–414.
2. Zaslavskaya N.I., Chernyshev A.V., 2008. Allozyme comparison of three nemertean species of the genus *Oerstedtia* (Nemertea: Monostilifera) from the Sea of Japan, Biochemical Systematics and Ecology 36, 554-558.

## **СПОСОБЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ РНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ**

Безбородова А.А. (студентка)

*Научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии СО РАМН,  
Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
pl\_nat@hotmail.com*

Периодическая культура бактерий является моделью, приближенной к природным условиям их обитания, поскольку в любой фазе она находится в состоянии перестройки своего метаболизма в соответствии с меняющимися параметрами среды. В процессе периодического культивирования бактериальная культура проходит следующие фазы роста и развития: 1) фаза адаптации к среде (лаг-фаза); 2) фаза экспоненциального (логарифмического) роста; 3) стационарная фаза; 4) фаза отмирания. В зависимости от фаз роста и развития бактериальной популяции изменяется морфофункциональное состояние микробных клеток [8].

В лаг-фазу, охватывающую промежуток времени между инокуляцией бактерий в питательную среду и фазой экспоненциального роста, наблюдается гигантизм бактерий со значительным увеличением биомассы клеток за счет интенсивного накопления в них ДНК, белка и РНК. При этом вследствие задержки деления клеток, размер бактерий увеличивается в несколько раз.

Образование полиэргических нитевидных форм бактерий направлено на сохранение и умножение генофонда популяции; ведущим звеном является многократная репликация ДНК, от которой отстают процессы наращивания мембранных структур и синтеза вещества клеточной стенки, необходимых для формирования поперечных перегородок при делении. Так называемый «гигантизм юных форм», по мнению М.А. Пешкова [13], является признаком высоких жизненных потенциалов инокулула.

Посев культуры на свежую среду сопровождается периодом, во время которого не только не наблюдается деление клеток, но иногда имеет место даже уменьшение их численности [1]. Истощенные клетки старого посевного материала должны перейти из состояния голодания или самоотравления в состояние, соответствующее способности к размножению, которое определяется необходимым количеством рибосом, способностью и условиями к репликации ДНК, синтезу клеточной стенки и т.п. [16]. Изменение скорости синтеза РНК и образования рибосом сопровождается и часто предшествует изменениям скорости роста бактерий [8]. Чем меньший стресс испытывает культура в начале культивирования, тем более устойчива она к последующим стрессовым воздействиям [17].

Экспоненциальная (логарифмическая) фаза роста характеризуется постоянной максимальной скоростью деления бактериальных клеток, зависящей от вида микроорганизма, от среды и условий их культивирования [9]. Эта фаза в наибольшей степени выражает способность культуры к размножению. Переход в экспоненциальную фазу роста происходит скачкообразно через фрагментацию нитевидных форм клеток. Деление множества особей, появившихся в течение короткого промежутка времени при фрагментации, приводит к своего рода «взрыву» роста, что обеспечивает популяции необходимую, достаточно высокую численность. Бактериальные клетки, в которых на данном этапе преобладают конструктивные, пластические обменные процессы, вырабатывают биологически активные вещества, вероятно, ферментного типа, названные «протеином деления» и «активаторами

роста» у *Escherichia coli* и *Salmonella typhi* [5], «шизокинами» в культурах *Bacillus subtilis* и *B. megaterius* [18], «усиливающими клеточное деление», в частности, у *Clostridium perfringens* [4] и т.п.

В экспоненциальной фазе, в период фенотипической адаптации бактериальные клетки наиболее ранимы и у части особей могут развиваться патологические изменения [5]. Например, в культуре менингококка в этой фазе изредка встречаются гигантские, неделящиеся клетки, площадь среза которых в 2-2,5 раза превосходит площадь нормальных клеток. Этот и ряд других признаков (сглаженные контуры клеток, бедный фибриллярным компонентом нуклеоид) свидетельствуют о нежизнеспособности подобных бактерий [6]. В связи с этим, по мнению И.Ш. Вайсмана [5], следует проводить четкое разграничение между нормальным и патологическим гетероморфным ростом на ранних стадиях развития бактериальных культур.

Нарастающее по мере экспоненциального роста загущение популяции вызывает соответствующую реакцию клеток. Относительно *Lactobacillus plantarum*, например, она выражается вначале в гиперплазии цитоплазматических мембранных структур, что не наблюдается в ранней экспоненциальной фазе [5]. Увеличение плотности бактериальной популяции вызывает реакцию клеток, о которой можно судить не только по морфологии, но и по выработке ими биологически активных веществ, служащих своего рода метаболическим сигналом к торможению роста ее численности [18]. Начало замедления роста бактерий коррелирует с началом синтеза запасных (резервных) веществ – углеводов, липидов, полифосфатов и др. [12].

Началом стационарной фазы считается период, когда количество бактерий перестает увеличиваться и наблюдается максимальное накопление их биомассы. Ее количество некоторое время остается постоянным: скорость прироста клеток равна скорости их гибели. В начале стационарной фазы бактериальные клетки более однородны по размеру, чем в логарифмической фазе роста [6]. Однако в динамике развития бактериальной популяции при уменьшении концентрации субстрата в среде культивирования и накоплении токсических

продуктов метаболизма наблюдается увеличение степени клеточного полиморфизма [11]. В клетках наблюдается снижение синтеза ДНК и РНК [8].

Фаза замедления роста периодической культуры может быть разнообразной и самой сложной. Она может полностью отсутствовать при культивировании бактерий на простых синтетических средах, когда рост сразу останавливается из-за отсутствия какого-либо элемента питания, в особенности источника углерода и энергии. При избытке питательных веществ рост бактерий замедляется из-за накопления продуктов метаболизма. При ограничении роста культуры в связи с недостатком элементов питания метаболизм микроорганизмов изменяется, в результате чего вместо синтеза нормальных составных частей клетки и образования новых дочерних клеток их ферментные системы переключаются на синтез запасных веществ. В частности, считается, что полифосфаты, обнаруживаемые в бактериальных клетках в экспоненциальной фазе роста, исчезают из клеток стареющих культур, когда возникает их дефицит в питательной среде [10].

В стационарной фазе рост микроорганизмов прекращается и у многих из них наблюдается выделение вторичных метаболитов в окружающую среду подобно экзоцитозу у эукариотических клеток [6]. При этом экзопродукты выводятся из внутрицитоплазматических мембранных структур через внутреннюю цитоплазматическую мембрану в периплазматическое пространство, где накапливаются в виде аморфного вещества.

Поздняя стационарная фаза является периодом отмирания культуры. Происходит значительное замедление роста бактерий, увеличивается потребление энергетического субстрата на поддержание их жизнедеятельности. Скорость отмирания клеток выше скорости их размножения. Когда популяция достигает критически высокого для данных условий уровня численности и переходит в состояние голодания, вырабатываются биологически активные метаболиты, действующие на уровне структур клеточной стенки бактерий. Это вызывает нарушение их организации и обменных функций, подавляя

автолитические процессы на уровне формирования поперечных перегородок и блокируя деление бактерий. В этой фазе часто обнаруживаются бактериальные клетки, размерами превышающие нормальные, искривленные и разбухшие, называемые инволюционными формами, а также наблюдается большое количество лизированных бактерий [14]. Однако при этом немалая часть особей в популяции оказывается устойчивой к повреждению и переходит в покоящееся (анабиотическое) состояние [2, 7].

У неспорообразующих бактерий к числу адаптационных явлений к условиям голодания относится их деление без роста (дробление) вплоть до появления ультрамикроскопических клеток [14], формирование выростов (простеков, гиф, стебельков), увеличивающих поверхность клеточных мембран. Однако в результате дробления могут формироваться и мелкие нежизнеспособные бактериальные клетки.

Покоящиеся бактерии сохраняют интактность, основные клеточные структуры (нуклеоид, цитоплазматическую мембрану, клеточную стенку) и химические компоненты, хотя содержание белка, липидов и РНК в них значительно снижено. Обычно такие бактерии имеют уменьшенный размер и кокковидную форму, цитоплазма их более электронноплотная, чем у клеток исходной культуры, в зоне нуклеоида определяется электронноплотный материал, цитоплазматическая мембрана плохо контурируется, клеточная стенка утолщена, увеличена ее вязкость [7].

В стационарной фазе роста бактерии проявляют способность к утилизации продуктов автолиза лизированных клеток [3]. Элиминация бактерий путем лизиса более или менее значительного числа особей, к чему ведут патологические изменения в части клеток, и переход другой части особей в покоящиеся формы, также способствуют экономной утилизации питательных веществ, остающихся в среде [5].

Таким образом, по мнению И.Ш. Вайсмана [5], воздействие эндогенных ингибирующих метаболитов можно считать в известной мере инструментом оздоровления бактериальной популяции, отбора наиболее жизнеспособных особей. Автолиз микробных культур должен рассматриваться как стадия, предшествующая и необходимая

для образования покоящихся форм бактерий и сохранения их вида.

#### Литература:

1. Баснакьян И.А., Боровкова В.М., Кузьмин С.Н. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1981. № 9. С. 14-19.
2. Беспалов М.М., Колпаков А.И., Лойко Н.Г. и др. // Микробиология. 2000. Т. 51. № 3. С. 117-123.
3. Бузолёва Л.С., Кривошеева А.М. // Тихоокеанский мед. журн. 2001. № 2. С.11-13.
4. Браун В. Генетика бактерий. М.: Наука, 1968. 445 с.
5. Вайсман И.Ш. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. - 1985. № 2. С. 24-27.
6. Высоцкий В.В., Котлярова Г.А. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1999. № 2. С. 100-104.
7. Демкина Е.В., Соина В.С., Эль-Регистан Г.И // Микробиология. – 2000а. Т. 59. № 3. С. 283-288.
8. Каминский Г.Д. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. - 1985. № 7. С. 111-122.
9. Куимова Т.Ф. Влияние условий культивирования и фаз роста на морфологию и ультраструктуру различных микроорганизмов при ферментациях. ИНТ. 1984. Т. 13. 124 с.
10. Несмеянова М.А. // Биохимия. 2000. Т. 65. Вып. 3. С. 368-374.
11. Николаев Ю.А., Проссер Дж. И., Паников Н.С. // Микробиология. 2000. № 5. С. 629-635.
12. Ратнер Е.Н., Образцова А.Я., Лауринавичус К.С., Беляев С.С. // Микробиология. 1988. Т. 56. Вып. 2. С. 510-514.
13. Пешков М.А. Цитология бактерий. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1955. 220 с.
14. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях. Владивосток. 2009. 200 с.
15. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. - СПб.: Специальная литература, 1998. 592 с.

16. Хмель И.А. // Успехи микробиол. 1970. Т. 6. С. 58-85.
17. Cheroutre-Vialette M., Lebert A. // Food microbiol. 2000. Vol. 17, N 1 - P. 83-92.
18. Liu X., Ng C., Ferenci T. // J. Bacteriol. 2000. Vol. 182, N 15. P. 4158-4164.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК № 16.740.11.0182).

**ПРОДУКЦИОННЫЕ И ДЕСТРУКЦИОННЫЕ  
ПРОЦЕССЫ В Б. КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)  
В СЕНТЯБРЕ 2010 г.**

Белая С.А. (ведущий инженер кафедры общей экологии)

Губенко О.М. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*tokiohotel4ik483@yandex.ru*

Исследование продукционно-деструкционных процессов в б. Киевка проведено студентами и сотрудниками кафедры общей экологии осенью 2010 г. (19-20.09). Комплексная съемка включала в себя измерение гидрологических, химических и продукционных параметров вод бухты и являлась частью научно-исследовательской работы по теме «Структура и функционирование прибрежных экосистем российской части Японского моря» ГК № 02.740.11.0678, НШ – 64869.2010.4.

Экосистема бухты уникальна по сочетанию различных по характеру и степени воздействия факторов среды. Здесь отчетливо проявлены зоны влияния пресных вод реки Киевка; выделяются локальные биотопы прибрежных сообществ макробентоса; имеются участки, не подверженные воздействию терригенного стока и расположенные вдали от высокопродуктивных прибрежных биоценозов. Такое экологическое разнообразие и отсутствие заметного антропогенного пресса делает бухту идеальным полигоном для натуральных наблюдений и позволяет на примере одной акватории

системно оценить процессы организации и функционирования водной экосистемы в целом.

Основной задачей исследования было определение биологической продуктивности вод бухты по величине продукции фитопланктона. Величину первичной продукции (ПП) измеряли скляночным методом в кислородной модификации [5]. Этот метод не является высокочувствительным, но вполне оправдывает свое применение в продуктивных прибрежных экосистемах. Более того, кислородный метод дает оценку дыхания, что имеет непосредственное значение при расчете биотического баланса. В эксперименте использовались 3 светлых и 2 темных склянки. Определение начальной концентрации растворенного кислорода проводилось в 2-х повторностях. Образцы экспонировали в условиях *in situ* в течение половины светового дня. Пересчет часовой продукции в общедневную производился по уравнению Васмунда [6]:

$$P_d = 0,65(t-2)*P_{ч}$$

где  $P_d$  – продукция за световой день;  $P_{ч}$  – продукция в час;  $t$  – продолжительность дня, ч. Для 43° с.ш. продолжительность светового дня в сентябре 2010 г. составляла 12,33 ч.

Величина первичной продукции под квадратным метром поверхности вычислялась по площади, ограниченной кривой распределения продукции в столбе воды. Интенсивность проникающей в толщу воды фотосинтетически активной радиации (ФАР) измеряли 2D квантовым датчиком Underwater UWQ, Li-Cor. На всех станциях проводили CTD-зондирование. Гидрохимические параметры определяли по стандартным методикам, принятым в океанологических исследованиях [4]. Расположение станций представлено на рисунке 1.

Полученные результаты наглядно отражают общую картину распределения органического вещества и направленность биотического баланса по акватории бухты (табл.1). О биологической продуктивности водной среды судят по скорости образования органического вещества (ОВ).





Рисунок 1. Схема расположения станций отбора проб.

Первичное автохтонное ОВ (первичная продукция) создается в процессе фотосинтеза всеми видами растительных организмов, однако основными продуцентами в морской среде всё же являются планктонные водоросли. Таким образом, изучение интенсивности фотосинтеза фитопланктона дает представление об уровне продуктивности акватории, а соотношение продукции (А) к деструкции (R) позволяет определить функциональное состояние экосистемы.

Наиболее интенсивные процессы первичного продуцирования и деструкции наблюдаются в прибрежной зоне. Это обусловлено, в первую очередь, притоком биогенов и органического вещества со стоком реки, а также наличием локальных скоплений сообществ макробентоса, обеспечивающих запас питательных элементов в среде. Зависимость продукции фитопланктона от минерализованного вещества автохтонного происхождения наиболее ярко проявляется на ст. 1. Район этой станции представляет собой высокопродуктивный биотоп, не подверженный влиянию пресных вод. Здесь располагается пояс Ламинарии (сахарины) японской (*Saccharina japonica*) со средними значениями биомассы – 4,6 кг/м<sup>2</sup>.

Органическое вещество водорослей – продукты экскреции и распада – минерализуется деятельностью гетеротрофных микроорганизмов, и уже в новом качестве (в виде минеральных солей), благодаря активной гидродинамике, насыщает среду.

Таблица 1

## Продукционные характеристики вод б. Киевка

№ ст.	Описание станций	Глубина, м	A, мгС/(м <sup>3</sup> день)	P, мгС/(м <sup>3</sup> день)	R, мгС/(м <sup>3</sup> день)	A/R
1.	Пояс ламинарии	1	94,39	87,36	7,04	13,42
2.	Северо-восточная часть бухты, побережье	1	107,65	42,13	65,52	1,64
3.	Устье р. Киевка	1	63,07	48,26	14,80	4,26
4.	Район м. Суткового, о. Обливной	0,5	31,53	0,17	31,37	1,01
		15	30,62	-7,48	38,10	0,8
5.	Центр бухты, 750 м от берега	0,5	29,61	13,98	15,63	1,89
		5	47,34	6,62	40,72	1,16
		12	37,90	2,77	35,13	1,08
6.	Центр бухты, 2 км от берега	0,5	19,91	-9,85	29,77	0,67
		5	164,77	125,77	39,01	4,22
		10	13,86	-123,05	136,91	0,1
		20	-	-	-	-

Примечание: А – средняя величина валовой первичной продукции, Р – средняя величина чистой первичной продукции, R – деструкция органического вещества

Скорость образования органического вещества в поверхностном слое на данной станции в 13 раз превышает его деструкцию, что говорит о высокой фотосинтетической активности и автотрофном характере функционирования этой части экосистемы. Биологическую активность данного района подтверждают и максимальные для всей бухты в период съемки значения БПК<sub>5</sub> – 2,13 мгО/л и Р<sub>орг</sub> – 23,49 мкг/л.

Иная картина наблюдается на станциях 2 и 3. Однородное распределение мягких субстратов обуславливает здесь скудное биоразнообразие, а активная гидродинамика препятствует накоплению органики в донных отложениях. Все минеральное вещество на данном участке привносится с речным стоком, а не образуется локально в результате деструкции растительных организмов. Концентрация питательных элементов в среде достаточна для активной жизнедеятельности фитопланктона. Величины ПП характеризуют этот район как мезотрофный [3]. Деструкции же подвергается в основном органическое вещество аллохтонного происхождения. Отношение A/R равно 1,64 на ст. 2 и 4,26 на ст. 3 говорит о том, что продукционно-деструкционные процессы здесь сопоставимы.

Влияние реки распространяется практически на всю акваторию бухты. Конвекционные процессы в середине сентября, когда проводилась съемка, еще не выражены, поэтому всё органическое и минеральное вещество в районе станций 4 и 5 носит аллохтонный характер. Это подтверждают гидрохимические показатели: значения перманганатной окисляемости на обеих станциях составили 1,33 и 0,96 мгО/л, а  $R_{мин}$  – 13,37 и 25,63 мкг/л соответственно. Для сентября, когда наблюдается сезонный спад интенсивности жизнедеятельности гидробионтов, зафиксированные величины весьма показательны. Активность фитопланктона находится на низком уровне. Так, например, скорость образования органического вещества за световой день на ст. 5 в столбе воды составляла 85 мгС/м<sup>2</sup> - ниже среднего для Японского моря [1]. Значения ПП уравниваются деструкцией органического вещества. Биотический баланс на всех горизонтах обеих станций колебался в пределах от 0,8 до 1,89 и равнялся в среднем  $1,19 \pm 0,4$ .

Ст. 6 – самая мористая станция – удалена от берега на 2 км и расположена на изобате 20 м. Здесь влияние реки сводится к минимуму, обуславливая дефицит биогенных элементов в среде. Интенсивная солнечная радиация ( $\sum \text{ФАР} = 4,0 \text{ Е} \cdot \text{м}^2/\text{ч}$ ) при недостаточном снабжении элементами питания и высокой степени прозрачности воды вызывает явление фотоингибирования. Чистая

продукция фитопланктона в поверхностном слое данной станции представляла собой отрицательную величину. Наибольшая скорость фотосинтеза отмечена на горизонте 5 м. Известно, что максимумы величин ПП располагаются на глубинах, где интенсивность падающей радиации в 2-3 раза ниже, чем на поверхности [2]. В нашем случае, ФАР0 составила 1018 мкЕ/м<sup>2</sup>, а величина ФАР5 – 535 мкЕ/м<sup>2</sup>. Здесь наблюдается значительное превышение первичной продукции над деструкцией органического вещества, тогда как в поверхностном слое и на глубине 10 м биотический баланс отрицателен. На горизонте 20 м интенсивность фотосинтетических процессов настолько низка, что не является возможным зарегистрировать ее общепринятым кислородным методом.

Таким образом, для сентября 2010 г. при общем снижении интенсивности продукционно-деструкционных процессов характерны достаточно высокие показатели ПП в прибрежной части бухты, что обусловлено поступлением минеральных компонентов в среду с речным стоком или образованием их внутри крупных скоплений макрофитов. Высокие значения деструкции фиксируют ОБ аллохтонного происхождения. Первичная продукция и деструкция ОБ в открытой части акватории сопоставимы и характеризуются невысокими величинами.

#### Литература:

1. Звалинский В.И., Лобанов В.Б., Захарков С.П., Тищенко П.Я. Хлорофилл, замедленная флуоресценция и первичная продукция в северо-западной части Японского моря осенью 2000 г. // Океанология. 2006. Т. 46. №1. С. 27-37.
2. Кобленц-Мишке О.И., Ведерников В.И. Адаптация планктонных водорослей // Биология океана. Т. 1. Биологическая структура океана. М.: Наука. 1977. С 9-18.
3. Кобленц-Мишке О.И., Ведерников В.И. Первичная продукция // Биология океана. Т. 2. Биологическая продуктивность океана. М.: Наука. 1977. С 183-209.
4. Руководство по химическому анализу морских и пресных вод при экологическом мониторинге рыбохозяйственных водоемов и

перспективных для промысла районов Мирового океана. М.: Изд-во ВНИРО, 2003. 202 с.

5. Федоров В.Д. О методах изучения фитопланктона и его активности. М.: Изд-во Московского ун-та, 1979. 168 с.
6. Wasmund N. Zur Tagesproduktion des Microphytobenthos // Wiss. Z. Wilhelm-Pieck Univ. Rostock. Math.-Naturwiss. R., 1979. V.28, № 4-5. S. 113-116.

## **СОСТОЯНИЕ ПОСЕЛЕНИЯ И РЕСУРСЫ КОРБИКУЛЫ ЯПОНСКОЙ (*CORBICULA JAPONICA*) В Р. РАЗДОЛЬНАЯ**

Бобовский А.О. (аспирант)

*Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр  
(ТИНРО-Центр), г. Владивосток*

*bobovskiy@mail.ru*

Корбикула японская *Corbicula japonica* Prime, 1864 относится к закапывающимся в грунт двустворчатым моллюскам, скопления которых, на мелководных участках рек, озер и лагун можно облавливать без больших материальных затрат. Мясо моллюска содержит высокую концентрацию незаменимых аминокислот и во многих странах используется в пищу. Так же, мягкие ткани применяют для получения препаратов, используемых при лечении вирусного гепатита. Его обывзествленные створки после обжига и перемалывания применимы как добавка к рациону сельскохозяйственных животных [1, 3, 4, 5].

На территории России корбикула японская обитает в водоемах вдоль континентального побережья Японского моря к югу от устья р. Амур, а также южного Сахалина и южных островов Курильской гряды [2]. В Приморье самое крупное поселение этого моллюска располагается в южной части р. Раздольная где с 1994 г. ведется промысел данного вида. Максимальный годовой вылов здесь достигал 477 т. Исследования по корбикуле в р. Раздольная были начаты в 1990 г. и с 1996 г. стали проводятся регулярно. Мониторинг скоплений позволяет отслеживать динамику запасов, и особенности распределения, размерно-весовую структуру, а также другие

особенности биологии и экологии вида, что является необходимым для обоснования прогноза ОДУ и рациональной эксплуатации поселений.

Материалом для работы послужили данные, собранные в августе - сентябре 2008 г. и сентябре - октябре 2009 г. в период проведения научно-исследовательских работ в бассейне р. Раздольная на участке от устья до места впадения р. Вторая Речка. Пробы отбирали с глубин от 0,3 м до 4 м посредством дночерпателя Петерсена (площадь раскрытия  $1/40 \text{ м}^2$ ), укрепленного на 4-х метровой штанге. Ежегодно производили 179 дночерпательных станций по стандартной сетке станций (рис. 1, 2). Общая обследованная площадь составила порядка  $19 \text{ км}^2$ . Для определения положения дночерпательных станций применяли портативное навигационное GPS оборудование, а также проводили привязку расположения станций по карте, используя береговые ориентиры на местности.

Сравнительный анализ показывает, что после маловодного 2008 г. когда площадь обитания моллюсков сократилась, а показатели удельной биомассы выросли, в 2009 г. произошло снижение средней плотности и средней удельной биомассы корбикулы по бассейну р. Раздольной за счет перераспределения моллюсков на большие площади. В 2009 г. суммарная площадь, занятая поселением моллюска в бассейне р. Раздольная, общий и промысловый запас были больше, чем в 2008 г. Такое увеличение ресурсных показателей является следствием увеличения общей исследуемой площади, роста особей и перераспределением моллюсков на участки, где в маловодном 2008 г. они отсутствовали. Можно отметить, что в 2009 г. наибольшую площадь ( $153,3 \text{ га}$ ) занимали участки поселения со средней удельной биомассой от  $0,2$  до  $0,5 \text{ кг/м}^2$ , наименьшую ( $22,7 \text{ га}$ ) со средней удельной биомассой более  $10 \text{ кг/м}^2$ . Максимальные ресурсы корбикулы сосредоточены на участках с удельной биомассой более  $10 \text{ кг/м}^2$ .



Рисунок 1. Стандартная сетка дночерпательных станций на р. Раздольная (от Тавричанского лимана до прот. Устьево́й)

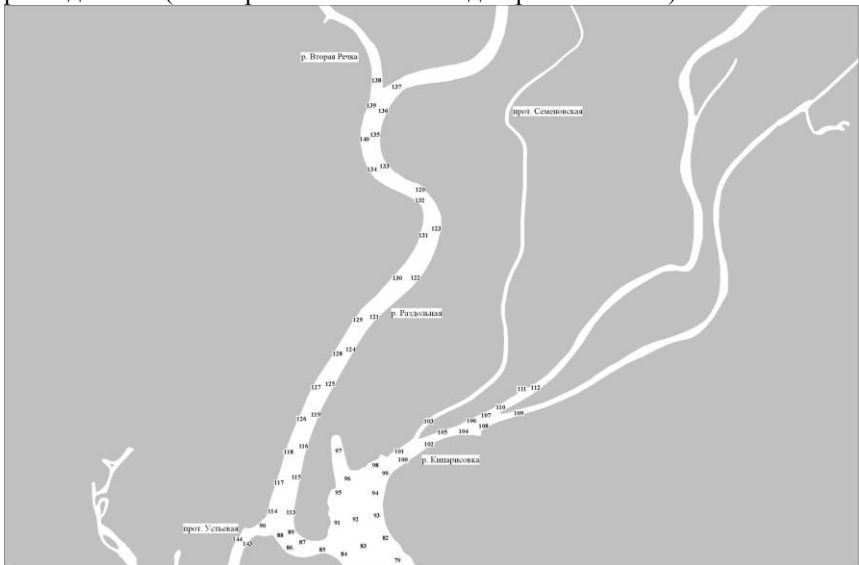


Рисунок 2. Стандартная сетка дночерпательных станций на р. Раздольная (от прот. Устьево́й до р. Вторая Речка)

Как и в предыдущий год исследований, максимальные значения удельной биомассы отмечены в месте впадения р. Кипарисовка в основное русло р. Раздольная (ст. 82), в южной части лагуны Тихая (ст. 41, 35), выше протоки Устьева по основному руслу (ст. 129) и по левому берегу основного русла напротив Федоровской сопки (ст. 75). На участках, где наблюдали максимальные значения биомасс (ст. 35, 75, 83), особи имели диапазон повреждения наружного слоя раковины от 10 до 70 %, их сортировка требовала много времени. По этой причине лов моллюсков здесь не велся. Большинство особей на участках в районе станций 41, 129 имели повреждения наружного слоя раковины в пределах 10-20 %, что приемлемо для товарного вида моллюска (рис. 1, 2).

На участках (ст. 23, 85) постоянного интенсивного промысла корбикулы наблюдаются концентрации особей непромыслового размера (длина раковины до 22 мм) до 293 экз./м<sup>2</sup>. По нашему мнению, данный факт является следствием того, что при промысле корбикулы происходит рыхление дна, удаление створок и старых особей, посторонних предметов, что благоприятно влияет на оседание и рост молоди моллюсков. В районах активного промысла пустые створки практически не попадались, почти все живые особи корбикулы имели длину раковины от 22 до 40 мм. Раковины с длиной створок больше 25 мм имели повреждения периостракума от 10 до 20 %. Вероятно, это связано с тем, что выловленные некондиционные особи и створки вывозятся в другие места, где проводится переборка моллюсков.

В 2009 г. корбикула была обнаружена в средней части Тавричанского лимана, а в протоке Волчья особи корбикулы не обнаружены. В 2008 г. корбикула обитала в протоке Волчья, а в средней части Тавричанского лимана она не встречалась. Вероятно, это можно связать с особенностями гидрологического режима. Анализ размерного состава показал, что длина раковины особей варьирует от 8 до 47 мм (средняя - 32.5 мм). Основу скоплений (81 %) составляют особи с длиной раковины от 26 до 42 мм. Сравнительный анализ показал, что основу скоплений корбикулы (82 %) в 2008 г. составляют моллюски длиной от 24 до 38 мм (средняя - 31.9 мм).



Доля особей непромыслового размера (до 22 мм) в 2009 г. составляла 5,6 %, а в 2008 г. - 6,3 %. Вероятно, снижение показателя, по сравнению с прошлым годом, произошло за счет увеличения доли моллюсков промысловых размеров. Как и в предыдущие годы, резкое снижение численности моллюска наблюдается при длине раковины более 42 мм. Анализ весовой структуры 2009 г. показал, что общая масса моллюсков изменялась от 1 до 33 г (средняя - 13.6 г). Основу поселения (74 %) составляли особи с массой от 5 до 20 г. В 2008 г. масса моллюсков изменялась от 1 до 32.1 г (средняя - 13.4 г). Основу поселения (80 %) составляли особи с массой от 10 до 20 г.

#### Литература:

1. Ключарева О.А., Коренева Т.А., Сокольская Н.Л., Старобогатов Я.И. Донные беспозвоночные озер Южного Сахалина//Озера Южного Сахалина и их ихтиофауна. Изд-во МГУ. 1964. С. 47 - 81.
2. Курсалова В.И., Старобогатов Я.И. Моллюски рода *Corbicula* антропогена Северной и Западной Азии и Европы //Моллюски. Пути, методы и итоги их изучения. Сб. 4. Л., 1973. 343 с.
3. Мандрыка О.Н. Исследование популяции двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* Prime из солоноватых озер побережья Японского моря// Вестник Ленинградского университета.1981. №15. Вып. 3. С. 18 – 25.
4. Явнов С.В., Раков В.А. Корбикула. Владивосток: ТИНРО, 2002. 131 с.
5. Arita J., Takemura K., Nagashima Y., Shiomi K. Purification and properties of a proteinaceous toxin from the brackishwater clam (*Corbicula japonica*)//Toxicon. 2001. V. 39. P. 1061-1067.

### **ПОЛОВОЗРАСТНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ ПОЛЕВОЙ МЫШИ И ЕЕ РОЛЬ В ПОДДЕРЖАНИИ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА**

Борисова Д.С. (аспирант)

*Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, г. Владивосток*

*mouse-ka@list.ru*

Работы, отражающие связь половозрастной структуры популяции грызунов с их инфицированностью хантавирусной инфекцией, на Дальнем

Востоке России редки. Для полевой мыши, основного носителя патогенного вируса Hantaan, представление о значении отдельных возрастных групп в циркуляции хантавируса в Приморском крае можно получить только из автореферата диссертации М.Е. Косого (1987). Однако вопрос о связи половозрастной структуры популяции полевой мыши с динамикой её инфицированности хантавирусом в различные годы исследований остается практически неизученным.

В Спасском районе Приморского края в окрестностях с. Гайворон был выбран стационарный участок, на котором проводились учеты грызунов с целью выявления их роли в поддержании изучаемой природно-очаговой инфекции. Наблюдения осуществлялись в строго ограниченные сроки: весной с 10 по 20 апреля, летом с 15 по 25 июля, осенью с 5 по 15 октября. По стандартной методике (Новиков, 1953; Кучерук, 1963) в каждый тур учетов выставлялось 78 постоянных линий по 25 плашек Геро в каждой. У отловленных особей определяли пол, участие в размножении в момент исследования и возраст. Возраст грызунов определяли по методикам, предложенным С.Н. Варшавским и К.Т. Крыловой (1948), Т.В. Кошкиной (1955) и Н.В. Тупиковой с соавторами (1957; 1970).

Первоначально возраст зверьков определяли с точностью до одного месяца, в дальнейшем для удобства анализа материала грызуны были объединены в 4 возрастные группы: перезимовавшие, подснежного размножения, младшие сеголетки и старшие сеголетки. К перезимовавшим отнесены особи, родившиеся не позднее ноября предыдущего года. Группу подснежного размножения составили зверьки, родившиеся в зимний период (декабрь предыдущего года – февраль текущего). Грызуны, родившиеся в данном году исследования не ранее марта и не позже мая, отнесены к младшим сеголеткам, не ранее мая и не позже ноября – к старшим сеголеткам.

Присутствие антигена хантавируса в легких и специфических антител в сыворотках крови или настое внутренних органов (сердце, печень, почки, селезенка, слюнные железы, бурый жир, мозг) у отловленных зверьков выявляли с помощью иммуноферментного анализа с коммерческой тест-системой «Хантагност» и непрямого

метода флюоресцирующих антител с культуральным диагностикумом согласно методическим рекомендациям (1982). Вирусносителями считались все особи, в пробах крови или внутренних органов которых были обнаружены антиген хантавируса либо специфические антитела.

В среднем, за весь период наших наблюдений в 2003-05 гг. весной в популяции полевой мыши наблюдалось абсолютное доминирование перезимовавших особей - 74.27 %. Среди отловленных зверьков 21.32 % относились к особям подснежного размножения, а 4.41 % населения были молодыми особями первой весенней генерации. Хотя многие исследователи и отмечают у молодых грызунов врожденный иммунитет к хантавирусам (Бойко и др. 1982; Башкирцев и др., 1985; Гавриловская и др., 1985), из 6 зверьков, относившихся к младшей возрастной группе, один оказался вирусносителем. Сходная возрастная структура популяции характерна как для неинфицированных, так и для инфицированных особей.

Средняя инфицированность грызунов была высока - 25.0 %, хотя в абсолютных показателях она не превышала 0.6 ос./100 л-н, что объясняется достаточно низкой весенней численностью мышей. Инфицированность самцов оказалась в 1.3 раза выше, чем самок (28.33 и 22.37 %, соответственно). Интересно отметить, что весной максимальная инфицированность грызунов любого пола отмечалась у особей подснежного размножения. Возможно, это связано с особенностями поведения полевой мыши в зимний период, когда животные могут образовывать агрегации (Косой, 1984), а родившиеся молодые зверьки в подобных условиях имеют больше шансов быть инфицированными. В гендерной структуре неинфицированной части популяции полевых мышей преобладали самки, тогда как среди инфицированных это соотношение составляло 1:1.

Летом, к середине июля, в результате интенсивного размножения зверьков возрастная структура популяции полевой мыши значительно изменилась: резко возросло участие сеголеток при сокращении особей старших возрастных групп. По сравнению с весенним периодом инфицированность популяции снизилась в 4.4

раза, составив 5.73 %. При этом возрастная структура её неинфицированной и инфицированной частей различна. 73.16 % неинфицированных особей представлено возрастными группами младших и старших сеголеток, тогда как среди инфицированных их доля в 2.5 раза ниже (29.17 %). Вирусоносители-самцы встречались в 1.9 раза чаще, чем самки. В то же время в неинфицированной части популяции преобладание самцов не выражено (1.06:1).

Осенью возрастная структура полевой мыши характеризовалась резким преобладанием сеголеток младшей возрастной группы как среди самцов, так и самок, что характерно для грызунов различных ландшафтов Приморья, в том числе лугово-полевых (Нестеренко, 1987; Костенко, Нестеренко, 1989; Черемкин, 1990). В среднем, доля грызунов-вирусоносителей осталась на том же уровне что и в летний период (5.41 %). Гендерная структура грызунов сместилась в сторону преобладания самок, что наиболее заметно в инфицированной части популяции.

Наши наблюдения показали, что среднее многолетнее соотношение самцов и самок в территориальных группировках полевой мыши в экосистемах лесостепного ландшафта Приханкайской равнины близко к единице (1:1.05). В зависимости от сезона года и конкретного биотопа оно может значительно колебаться, что связано, прежде всего, с активностью размножения и особенностями миграции зверьков. Доли инфицированных грызунов у различных полов по нашим данным различались незначительно. Вирусоносительство было выявлено у 85 особей полевых мышей, из которых 45 особей – самцы и 40 – самки (52,94 и 47,06 %, соответственно). Среди неинфицированных грызунов соотношение полов несколько иное (48,81% - самцы и 51,19 % - самки). При этом доля инфицированных самцов и самок по гендерным группам составила 9.09 и 7.66 % соответственно. Подобные различия долей самцов и самок между инфицированной и неинфицированной частью популяции полевой мыши статистически недостоверны ( $t_d = 0,82$ ;  $p > 0,05$ ), что не позволяет нам считать самцов более активными агентами в развитии эпизоотического процесса среди грызунов данного вида в лесостепных

ландшафтах Приханкайской равнины.

Ранее отмечалась зависимость между спонтанной инфицированностью полевой мыши и её репродуктивным состоянием. Прежде всего, это относилось к самцам: число инфицированных самцов среди достигших половозрелости, могло быть в 12,1 раза выше, чем среди неполовозрелых (Слонова, 2008). Полученные нами результаты показали, что в анализируемых гендерных группах доля вирусоносителей примерно одинакова. При этом половоактивные особи (самцы и самки в равной степени) с высокой степенью достоверности инфицированы чаще, чем зверьки обеих полов, не принимающие участие в размножении. Частота инфицированности половозрелых самцов в 5.5 раза выше, чем у неполовозрелых ( $td=4.78$ ;  $p<0,01$ ), а среди самок - в 2.3 раза ( $td=2.57$ ;  $p<0,05$ ).

Таким образом, участие в размножении можно рассматривать в качестве одного из факторов, способствующих инфицированию грызунов хантавирусом. Это характерно как для самцов, так и для самок. В весенний период наблюдается абсолютное доминирование перезимовавших особей. В отдельные годы возможно подснежное размножение грызунов. Подобная возрастная структура характерна как для неинфицированной, так и инфицированной части популяции, вне зависимости от пола зверьков. Вместе с тем, максимальная относительная инфицированность отмечена у особей подснежного размножения, родившихся зимой, что, возможно, связано с образованием в этот период полевыми мышами агрегаций: в подобных условиях молодняк имеет больше шансов быть инфицированным.

В результате интенсивного размножения грызунов к середине лета возрастная структура значительно изменяется. Доля сеголеток возрастает до 70.64 %, а перезимовавших особей резко сокращается до 17.90 %. В инфицированной части популяции доминируют перезимовавшие грызуны (58.33 %), а в неинфицированной – сеголетки (73.16 %). Осенью возрастная структура практически «зеркальна» весенней: абсолютное доминирование сеголеток при единичном участии перезимовавших особей, что характерно как для вирусоносителей, так и для неинфицированных грызунов. Самцы и

самки в популяции полевой мыши играют равнозначную роль в эпизоотическом процессе. При этом размножающиеся зверьки обоих полов инфицированы хантавирусом достоверно чаще, чем нерамножающиеся.

## **РАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В СОЛЕННЫХ ОЗЕРАХ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ**

Брянская А.В.<sup>1</sup> (ст.н.с.), Малуп Т.К.<sup>1</sup> (м.н.с.), Розанов А.С.<sup>1</sup> (м.н.с.),  
Лазарева Е.В.<sup>2</sup> (ст.н.с.), Пестунова О.П.<sup>3</sup> (ст.н.с.), Демидов Е.А.<sup>1</sup>  
(старший лаборант), Пельтек С.Е.<sup>1</sup> (зав. лабораторией)

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН,*

<sup>2</sup>*Институт геологии и минералогии СО РАН,*

<sup>3</sup>*Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск  
bal412003@mail.ru*

На протяжении последних десятилетий значительные исследовательские ресурсы направлены на изучение микробных сообществ, обитающих в экстремальных и умеренно экстремальных условиях. Соленые озера представляют собой пример таких систем, в которых условия среды значительно отличаются от оптимальных для большинства живых организмов.

В Новосибирской области и Алтайском крае расположено огромное количество мелких бессточных соленых и горько-соленых озер с разной площадью водной поверхности. Находясь на незначительном расстоянии друг от друга, эти озера имеют собственную территорию водосбора и, не смотря на достаточно схожие условия образования, сильно отличаются по геохимическим показателям. К настоящему времени с позиций микробиологии исследовано лишь небольшое количество озер этого района [1]. А в комплексном геохимическом и микробиологическом плане не изучено практически ни одно из них. В связи с этим целью нашей работы было проведение геохимических, геологических и микробиологических исследований 11 соленых озер Новосибирской области. В данной работе мы приводим информацию о микробном разнообразии, а также об ионном составе воды этих озер.

В результате экспедиционных работ 2008-2010 г.г. были изучены

11 озер Купинского и Баганского районов Новосибирской области (для удобства обозначения и ввиду отсутствия у некоторых озер названий, им была присвоена нумерация от 41 до 51, которой мы будем придерживаться в тексте). В результате проведения полевых работ было составлено подробное морфометрическое описание исследованных озер. Все озера характеризовались небольшими глубинами, за исключением озера Горькое (41), для которого была установлена глубина 3-4 м. Часть озер – пересыхающие. Берега и поверхность прибрежных илов часто покрыты солевой коркой. Для большинства озер отмечено развитие мощных иловых отложений черного или серо-голубого цвета. Берега пологие, заросшие травянистой растительностью. В прибрежной полосе на поверхности илов отмечается розово-бурый «налет» *Artemia salina*.

Геохимия природных растворов. Проведенное исследование показало, что по основному ионному составу воды всех исследованных водоемов сходны. Из катионов резко преобладали натрий и магний, причем их соотношение сохранялось практически постоянным и составляло Na:Mg от 0.18 до 0.28 вне зависимости от минерализации раствора. По концентрации анионов озера подразделялись на 2 класса – хлоридный (озера 41, 42, 45 и 46) и хлоридно-сульфатный (озера 43, 44, 47, 48, 49, 50 и 51).

Значения рН воды варьировали от 7 до 9. Большие различия наблюдались в минерализации раствора, причем от класса вод это не зависело. Большинство озер хлоридно-сульфатного класса были представлены крепкими рассолами и имели минерализацию от 200 до 250 г/л. Это водоемы по многим показателям были схожи между собой. Воды озера 44 относились к слабым рассолам (74 г/л). Озеро 43 имело самую низкую минерализацию и его воды относились к солоноватым (4,3 г/л). В наименее минерализованных водах доля гидрокарбоната в водах становилась более заметной.

Состав микробных сообществ. В процессе полевых работ было отмечено, что в прибрежной зоне некоторых озер интенсивно развиваются микробные сообщества. В литоральной зоне озер 41 и 48 сплошной массой развивались рыхлые, крупинчатые, темно-зеленые и желто-зеленые с белесоватыми и пурпурными участками микробные

сообщества. Эти сообщества имели сходный облик и сходный состав доминантов. Доминировали здесь колониальные цианобактерии рода *Microcystis* и диатомовые водоросли. В прибрежной полосе озер 44, 45 и 47 были обнаружены песчаные маты, аналогичные матам озера Зун-Торей (Забайкалье) [2]. При микроскопировании этих сообществ было установлено, что основным компонентом здесь является нитчатая цианобактерия *Scytonema* sp. В некоторых озерах на высших водных растениях развивались зеленые водоросли. В озере 44 помимо песчаных матов обнаружены разрастания нитчатых зеленых водорослей, под которыми развиваются розово-малиновые слои пурпурных бактерий, морфологически близких к *Thiocapsa* sp. В ряде озер отмечено массовое развитие ракообразных *Artemia salina*. И, наконец, в некоторых озерах вода имела розовую окраску за счет обильно развивающихся в планктоне архей.

Накопительные культуры, полученные на природной воде и различных минеральных средах, показали, что разнообразие фототрофов в исследуемых озерах значительно выше наблюдаемого в планктоне. Наибольшее разнообразие зеленых водорослей было зарегистрировано в озере 43. Здесь многочисленны были виды родов *Scenedesmus* и *Chlorella*. Нитчатые цианобактерии родов *Phormidium* и *Leptolyngbya* интенсивно развивались в накопительных культурах озер 45, 48, 51.

Впервые методом флуоресцентной *in situ* гибридизации была изучена структура микробных сообществ соленых озер Новосибирской области. Доминирующими компонентами данных микробных сообществ часто являются археи, реже бактерии, водоросли и иногда цианобактерии.

В воде и донных осадках исследованных озер были обнаружены представители всех основных физиологических групп: амилोलитики, целлюлолитики, сульфатредукторы и др. Из проб воды и донных осадков было выделено 155 бактериальных и архейных штаммов. С помощью молекулярно-биологических методов по гену 16S рРНК было установлено филогенетическое положение большинства из них. Были обнаружены представители родов: *Halomonas*, *Salinivibrio*,



*Halanaerobium*, *Psychroflexus*, *Halorubrum*, *Marinobacter*, *Nesterekonia*, *Kocuria*, *Bacillus*, *Dietzia*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Arthrobacter* и др.

На примере микробного сообщества озера 48 было проведено пилотное клонирование, в результате которого были выявлены и идентифицированы 3 вида одноклеточных и колониальных цианобактерий, принадлежащих к родам *Synechococcus* и *Cyanothece*; и представители Deltaproteobacteria (*Desulfatibacillum* sp., *Pelobacter* sp., *Desulfotalea* sp.), Alphaproteobacteria (*Erythrobacter* sp.), Bacteroidetes (*Gramella* sp.) и Firmicutes (*Bacillus* sp.). Что касается цианобактериального компонента данного микробного сообщества, то надо отметить, что он в некоторой степени уникален. Не смотря на присутствие здесь представителей широко распространенных родов: *Synechococcus*, *Cyanothece* и *Microcystis*, такой цианобактериальный состав встречается крайне редко. Значительно более типичным для соленых озер являются представители нитчатых цианобактерий: *Microcoleus*, *Oscillatoria*, *Shizothrix* и др. [3]. Обнаруженные в озере 48 представители Alphaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Bacteroidetes и Firmicutes являются частым компонентом соленых экосистем других регионов [4].

Таким образом, проведенные исследования показали, что основными доминантами, ответственными за особенности формирования структуры микробных сообществ соленых озер Новосибирской области, непосредственно в планктоне являются археи и устойчивые к высоким значениям минерализации бактерии, реже – водоросли или цианобактерии. Доминантами в микробных сообществах, развивающихся в прибрежной зоне озер, являются нитчатые и колониальные цианобактерии родов *Scytonema* и *Microcystis*. В целом же состав микробных сообществ соленых озер Новосибирской области крайне разнообразен, интересен и перспективен для дальнейших работ в области экологии, микробиологии, геохимии и биотехнологии.

Работа поддержана Интеграционными проектами СО РАН №10 и 73.

Литература:

1. Сорокин Д.Ю. Натронофильные аэробные хемотрофные бактерии содовых озер // Тр. Ин-та микробиологии им. С.Н. Виноградского. М.: Наука, 2007. Вып. 14. С. 258-275
2. Захарюк А.Г., Козырева Л.П., Егорова Д.В., Намсараев Б.Б. Физико-химическая и микробиологическая характеристика песчаных матов содового озера Зун-Торей (Забайкалье) // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ» № 1. 2006. С. 104-107
3. Oren A., Seckbach J. Oxigenic photosynthetic microorganisms in extreme environments // Nova Hedwigia. 2001. 123 p.
4. Jiang H, Dong H, Zhang G, Yu B, Chapman LR, Fields MW. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. Appl Environ Microbiol. 2006;72(6). P. 3832-3845.

**ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО МАННАН-  
СВЯЗЫВАЮЩЕГО ЛЕКТИНА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО  
ТРЕПАНГА *APOSTICHOPUS JAPONICUS* С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ И ИХ  
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА**

Василенко А.А. (аспирант)<sup>1</sup>, Ковальчук С.Н. (сотрудник)<sup>1,3</sup>,  
Булгаков А.А. (сотрудник)<sup>1</sup>, Петрова И.Ю. (сотрудник)<sup>2</sup>,  
Рассказов В.А. (сотрудник)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,*

<sup>2</sup>*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,*

<sup>3</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ, Владивосток*

*vasilenkoanton@mail.ru*

Актуальной проблемой современной медицины является рост числа онкологических заболеваний. К настоящему времени они занимают одно из первых мест в мире по распространённости среди всех групп населения. В связи с этим одной из основных проблем практической онкологии является ранняя и дифференциальная диагностика рака, осуществление которой позволит значительно уменьшить смертность от онкологических заболеваний.

Известно, что трансформация клетки в раковую приводит к репрессии некоторых генов, отвечающих за синтез гликозидаз и гликозилтрансфераз, что приводит к нарушениям нормальной структуры гликопротеинов, в частности, к появлению углеводных цепей с повышенным содержанием остатков маннозы, а также фукозы и сиаловых кислот [1, 2]. Это открывает возможность для иммунологической диагностики опухолевых заболеваний, основанной на выявлении специфических антигенов, экспрессируемых раковыми клетками.

Маннан-связывающие белки семейства коллектинов ( $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых лектинов С-типа) проявляют высокую специфичность и эффективность связывания терминального невосстанавливающего остатка маннозы, а также высоко разветвлённых маннанов и гликопротеинов высокоманнозного и гибридного типов [3, 4, 5]. Эти данные позволяют говорить о перспективности использования маннан-связывающих лектинов для обнаружения маркеров опухолевых клеток и разработки на их основе высокочувствительных методов диагностики онкологических заболеваний уже на ранних стадиях их развития.

Исследования, проводившиеся ранее в ТИБОХ ДВО РАН, показали, что в целомоческой жидкости дальневосточного трепанга *A. japonicus* содержится лектин (МСЛТ), высокоспецифичный в отношении маннанов с разветвленной структурой. Были подобраны условия выделения и очистки его индивидуального препарата, получены поликлональные моноспецифические антисыворотки, создан иммуноферментный метод, позволяющий изучить способность лектина взаимодействовать с углеводными цепями онкофетальных антигенов. В ходе исследований была показана возможность использования тест-систем на основе этого лектина для обнаружения в сыворотке крови онкофетальных антигенов в достаточно низкой концентрации [6, 7, 8]. В результате проведённых исследований на основе лектина из *A. japonicus* был разработан и запатентован способ диагностики рака шейки матки с помощью лектин-иммуноферментной тест-системы [9].

Несмотря на перспективность использования МСЛТ для диагностики онкологических заболеваний, перед его применением стоит ряд проблем: исходный материал труднодоступен, содержание лектина в нём низко, в настоящее время промысел *A. japonicus* находится под полным запретом. В связи с этим, представляется целесообразной и экономически перспективной разработка методики получения рекомбинантного аналога лектина из *A. japonicus* генно-инженерными методами.

Для решения поставленной задачи нами было проведено выделение суммарной РНК из целомоцитов *A. japonicus*, на основе полученной РНК синтезирована суммарная кДНК целомоцитов, с помощью ген-специфичных праймеров получен кодирующий фрагмент кДНК МСЛТ. На основе плазмид рQE-80L (Qiagen, США), рЕТ-22b(+) (Novagen, США) и кодирующего фрагмента кДНК МСЛТ получены экспрессирующие векторы рQE-80L-МСЛТ и рЕТ-22-МСЛТ.

Проведена экспрессия МСЛТ в клетках *E. coli* Top10 (для рQE-80L-МСЛТ) и *E. coli* Rosetta-gami(DE3) (для рЕТ-22-МСЛТ). Показано, что в обоих штаммах рекомбинантный лектин экспрессируется в нерастворимой форме.

Для первичной очистки лектина, полученного при использовании плазмиды рQE-80L-МСЛТ, была применена проточная металло-аффинной хроматография в денатурирующих условиях. Проведена серия экспериментов по подбору оптимальных условий для восстановления активности рекомбинантного МСЛТ путём рефолдинга. Эффективность рефолдинга определяли с помощью иммуноферментного анализа. Показано, что максимальная перекрёстная иммунохимическая реактивность рекомбинантного белка с антителами к нативному белку составила 69%. При этом субстратная активность рекомбинантного МСЛТ составила 15% от активности нативного лектина в той же концентрации.

Для получения рекомбинантного МСЛТ в растворимой форме с помощью плазмиды рQE-80L-МСЛТ была проведена экспрессия МСЛТ в присутствии пяти различных систем шаперонов фирмы Takara (Япония). Полученные в результате экспрессии растворимые фракции

бактериальных лизатов были очищены с помощью металло-аффинной хроматографии в нативных условиях. Показано, что только в присутствии шаперона Tf рекомбинантный МСЛТ экспрессируется в растворимой форме, при этом максимальная концентрация рекомбинантного белка достигается в течение четырёх часов после индукции экспрессии. Для первичной очистки полученного лектина был синтезирован сорбент муцин-сефароза и проведена проточная аффинная хроматография в нативных условиях. С помощью иммуоферментного анализа показано, что активность полученного таким образом МСЛТ существенно превышает активность МСЛТ после рефолдинга, и составляет приблизительно 40% от активности нативного лектина в той же концентрации.

Таким образом, нами установлено, что для получения рекомбинантного маннан-связывающего лектина дальневосточного трепанга *A. japonicus* наиболее оптимальной из исследованных экспрессионных систем является полученный нами штамм *E. coli* Top10, трансформированный плазмидами pQE-80L-МСЛТ и pTf-16.

#### Литература:

1. Maramatsu T. Carbohydrate signals in metastasis and prognosis of human carcinomas. // *Glycobiology*. 1993. V. 3, № 4, P. 291-296.
2. Miura M., Fukuyama Y., Hirano T., Hirano M., Matsuzaki H., Oka H. Sugar chain multiformity of human carcinoembryonic antigen: difference between normal and tumor-associated subfractions. // *Clin. Chem*. 1990. V. 35, № 3, P. 583-584.
3. Ezekowitz R.A.B., Stahl P.D. The structure and function of vertebrate mannose lectin-like protein. // *J. Cell Sci. Suppl*. 1988. V. 9, P. 121-133.
4. Childs R., Feizi T., Yuen C. Differential recognition of core and terminal portion of oligosaccharide ligands by carbohydrate-recognition domain of two mannose-binding proteins. // *J. Biol. Chem*. 1990. V. 256, P. 20770-20777.
5. Gadjeva M., Takahashi K., Thil S. Mannan-binding lectin – a soluble pattern recognition molecule. // *Molec. Immunol*. 2004. V. 41, P. 113-121.

6. Bulgakov A.A., Nazarenko E.L., Petrova I.Yu., Eliseikina M.G., Vakhrusheva N.M., Zubkov V.A. Isolation and properties of a mannan-binding lectin from the coelomic fluid of *Cucumaria japonica*. // *Biochemistry (Moscow)*. 2000. V. 65, № 8, P. 933-939.
7. Булгаков А.А., Петрова И.Ю., Елисейкина М.Г., Вахрушева Н.М. Свойства маннан-связывающего лектина из целомической жидкости трепанга *Stichopus japonicus*. // *Биология моря*. 1999. Т. 25, № 2, С. 91-93.
8. Bulgakov A.A., Eliseikina M.G., Petrova I.Yu., Nazarenko E.L., Kovalchuk S.N., Kozhemyako V.B., Rasskazov V.A. Molecular and biological characterization of a mannan-binding lectin from the holothurian *Apostichopus japonicus*. // *Glycobiology*. 2007. V. 17, № 12, P. 1284-1298.
9. Булгаков А.А., Родионова О.М., Апанасевич В.И., Петрова И.Ю., Елисейкина М.Г. Способ диагностики рака шейки матки: Описание изобретения к патенту. // Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. 2007. № 2343485, МПК G01N33/53.

**ПОВЕДЕНИЕ НЕЙРАЛЬНЫХ КЛЕТОК РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ  
ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭМБРИОНОВ И ОБОНЯТЕЛЬНОГО  
ТРАКТА ВЗРОСЛЫХ КРЫС ЛИНИИ WISTAR ПРИ  
КУЛЬТИВИРОВАНИИ**

Васильева Т.В. (студентка), Токмакова Н.П. (доцент)  
*Школа естественных наук ДВФУ, г. Владивосток*

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) обладают уникальным свойством – плюрипотентностью, благодаря которой способны к самоподдержанию и дифференцировке в специализированные клетки любого типа тканей. Как известно, сами нервные клетки утрачивают способность к размножению уже на самой ранней стадии нейральной дифференцировки (стадии нейробласта). А стволовые клетки в ответ на различные поражения нервной ткани начинают делиться с последующей дифференцировкой в нервные и глиальные клетки.

В настоящее время появляется все больше работ, в которых

показана возможность использования стволовых и прогениторных клеток разных отделов головного мозга и обонятельного тракта млекопитающих и человека для решения ряда проблем клеточной терапии нервной системы. Однако следует отметить, что обонятельный эпителий является более доступным источником для этих целей, поскольку не требуются сложных нейрохирургических вмешательств. В целом для успешной пересадки стволовых клеток, независимо от области применения, очень важно научиться сохранять их жизнеспособность. Потенциал использования стволовых клеток в регенеративной медицине зависит от возможности сохранения свойств этих клеток *in vitro* до их трансплантации в организм реципиента.

В работе использовали метод культивирования нейральных клеток *in vitro*. Для получения эмбрионального материала беременных крыс усыпляли, извлекали эмбрионов, выделяли необходимые отделы головного мозга: средний мозг, обонятельные луковицы, гиппокамп. Обонятельный эпителий взрослых крыс измельчали механически, дезагрегировали при помощи трипсина и коллагеназы. Стволовые нейральные клетки культивировали в питательной среде DMEM с эмбриональной телячьей сывороткой (12%) в течение 1,5 месяца без добавления факторов роста и без использования фидерного слоя с антибиотиками и фунгицидами в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37° C. После достижения культурами 80-90% конfluентности каждые три дня производили пересев. При этом старались отбирать преимущественно недифференцированные клетки и нейросферы.

В результате проделанной работы были выявлены сходства морфологии и поведения нейральных клеток среднего мозга, гиппокампа и обонятельных луковиц эмбрионов крыс при культивировании в среде с сывороткой без ростовых факторов и фидерного слоя. После посева в течение сут нейральные клетки исследованных отделов головного мозга эмбрионов крыс имеют округлую форму, являются недифференцированными и сохраняются на протяжении всего срока культивирования. На 2-3 сут в культурах эмбрионов крыс появляются клетки с признаками дифференцировки и на более поздних сроках (14-30 сут.) культивирования обнаруживаются

морфологически различные клетки нейральной и глиальной дифференцировки. В культурах среднего мозга, обонятельных луковиц и гиппокампа эмбрионов крыс образуются нейросферы, и по мере культивирования они различаются по морфологическим признакам: размерам, плотности, количеству клеток и по степени миграции дифференцированных клеток. В культуре обонятельных луковиц взрослого мозга крыс нейральные клетки имеют морфологию и поведение, сходные с нейральными клетками обонятельных луковиц эмбрионов. Выявленные в ходе культивирования обонятельного эпителия взрослых крыс округлые клетки, их конгломераты, нейросферы и клетки, детерминированные на дифференцировку в нейроны и глию, свидетельствуют о наличии в обонятельном эпителии фонда прогениторных клеток.

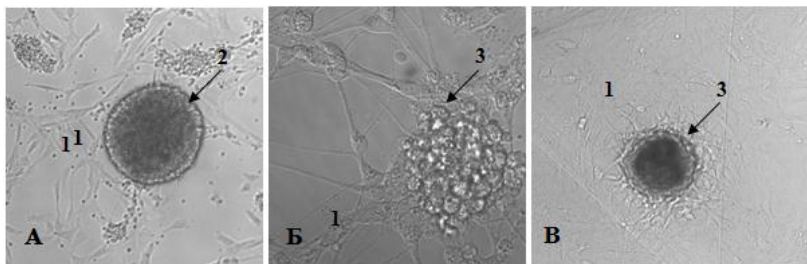


Рисунок 1. Нейральные клетки и нейросферы обонятельных луковиц эмбрионов (А, Б) и взрослых (В) крыс. 1– дифференцированные клетки; 2 – нейросфера без выхода дифференцированных клеток; 3- нейросферы с выходом дифференцированных клеток.

Проведенные нами исследования показали, что поведение нейральных клеток, выделенных из разных отделов головного мозга эмбрионов крыс и обонятельного тракта взрослых крыс линии Wistar, оказывается сходным при культивировании их в среде ДМЕМ с сывороткой (12%). Известно, что сыворотка в концентрации 12% используется наряду с другими факторами для усиления пролиферации клеток. В нашей работе обнаружено, что условия культивирования обеспечивают не только увеличение количества нейральных клеток, но и не препятствует их дифференцировке и образованию нейросфер уже



на 2 и 3- и сут. Способность нейральных клеток эмбрионального и зрелого мозга животных и человека формировать нейросферы показана во многих работах (Weiss et al., 1996; Svendsen et al., 1999; Uchida et al., 2000; Викторов, 2001; Мануилова и др., 2002; Подгорный, 2006; Сукач, Иванов, 2007; и др.). В разных статьях так же указываются разные сроки образования нейросфер в культуре - на 3, 7, 10 сут. При этом исследователи использовали разные среды с сывороткой и без нее, ростовые факторы, фидерный слой (Подгорный, 2006). Следует обратить внимание на тот факт, что при использовании наших условий культивирования на 3 сут происходит не только формирование нейросфер нейральными клетками эмбрионального мозга, но и прогениторными клетками обонятельного эпителия взрослых крыс. Кроме этого наблюдается прикрепление нейросфер к культуральному пластику и миграция клеток их них.

#### **БАТИМЕТРИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕРЦЕНАРИИ СТИМПСОНА У БЕРЕГОВ ПРИМОРЬЯ**

Власенко Р.В. (студент)<sup>1</sup>, Соколенко Д.А. (аспирант)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ,*

<sup>2</sup>*Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр  
(ТИНРО-Центр), г. Владивосток*

*rv\_vlasenko@mail.ru*

На шельфе Приморья двустворчатый моллюск мерценария Стимпсона *Mercenaria stimpsoni* (Gould, 1861) является одним из преобладающих по биомассе представителей макрозообентоса и рассматривалась как перспективный для промысла объект уже после первых экспедиционных исследований этого района [1, 2, 4]. Промысел до недавнего времени отсутствовал, но в настоящее время моллюск стал интересен промысловым организациям, а данных для рациональной эксплуатации его скоплений недостаточно.

Мерценария Стимпсона – тихоокеанский приазиатский низкобореальный вид, распространенный в Японском и южной части Охотского моря. В островной части Японского моря обитает у северной части о. Хонсю, Хоккайдо, западного Сахалина. У

материкового побережья – от южной оконечности п-ова Корея до м. Золотой. Сублиторальный вид. Селится на песчаном, илисто-песчаном, мелко-галечном и ракушечном грунте, на глубине 2 – 45 м. Зарывается в слой грунта на длину раковины [4, 5, 6].

В основу настоящей работы положены данные, полученные в ходе проведения водолазных гидробиологических исследований побережья Приморья (от устья р. Туманной до м. Тёплый) в период 2001-2010 гг. Всего было выполнено свыше 10000 станций от уреза воды до глубины 20 м, исследована акватория площадью свыше 1300 км<sup>2</sup>.

Поселения мерценарии приурочены к прибойным песчаным берегам и песчаным намывным бухтам с интенсивным гидрологическим режимом. Мерценария предпочитает прибойно-намывные и прибойно-размывные бухты, встречается и в заиляемо-защищенных, но лишь у мысов омываемых течением. Максимальное обилие отмечено на песчаных и илисто-песчаных грунтах. В большинстве бухт, как правило, глубокая часть котловины занята илистыми грунтами, которые лимитируют нижнюю границу распределения мерценарии. В прибойно-намывных бухтах часто встречается в сообществах спизулы *Spisula sachalinensis* и мактры *Mactra chinensis*, где обычно является субдоминантным, а с увеличением глубины становится доминантным видом.

В заливе Петра Великого поселения мерценарии выявлены в районе от устья р. Туманная до м. Островок Фальшивый, в зал. Китовый и бухтах Бойсмана, Баклан, Пограничная, Лазурная, Рифовая (рис. 1). Эти районы характеризуются открытостью для активного волнового воздействия и хорошим водообменом. Наиболее значительные поселения находятся севернее м. Поворотный, из них выделяются скопления в бухтах Краковка, Соколовская, Евстафия, Рудная, заливах Ольга, Опричник, Китовое Ребро, у м. Дальнего, на участках от м. Баратынского до м. Четырёх Скал, от м. Страшный до м. Первенец. В бухтах Ежовая, Нерпа, Зеркальная, в районе от м. Балюзек до м. Южный и в районе мысов Надежды и Речной определены самые большие запасы – от 1300 до 2200 т (рис. 1). Побережье северного

Приморья характеризуется резкими свалами глубин, особенно в районах мысов, открытостью и однородными по прибойности участками, что благоприятствует существованию крупных скопления мерцанарии.

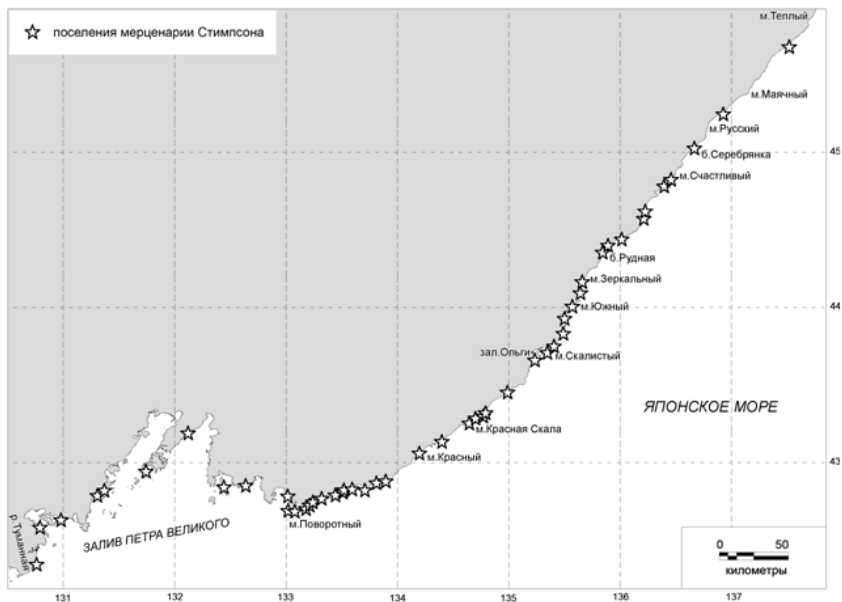


Рисунок 1. Распространение поселений мерцанарии Стивенса в прибрежных водах Приморья.

В заливе Петра Великого мерцанария встречается в диапазоне глубин от 1,5 до 15 м, максимальное обилие отмечено на глубинах 6-10 м. На участке от м. Поворотный до м. Островной (б. Киевка), встречается на глубинах 5-15 м, максимальное обилие наблюдается на 10-15 м (Рис. 2). Эти районы относятся к Южноприморской биогеографической провинции [3, 7], их береговая линия сильно изрезана, имеется много защищенных бухт и заливов.

На участке от м. Островной до м. Тёплый мерцанария встречена в диапазоне глубин от 2 до 20 м (предельная глубина исследований), максимальное обилие отмечено на 12-20 м (рис.2).

Верхняя граница батиметрического диапазона лимитируется

прибойными явлениями, отсутствием подходящих субстратов, зарослями zostеры. Нижняя граница обычно лимитируется заилением (в бухтах) и термическим режимом.

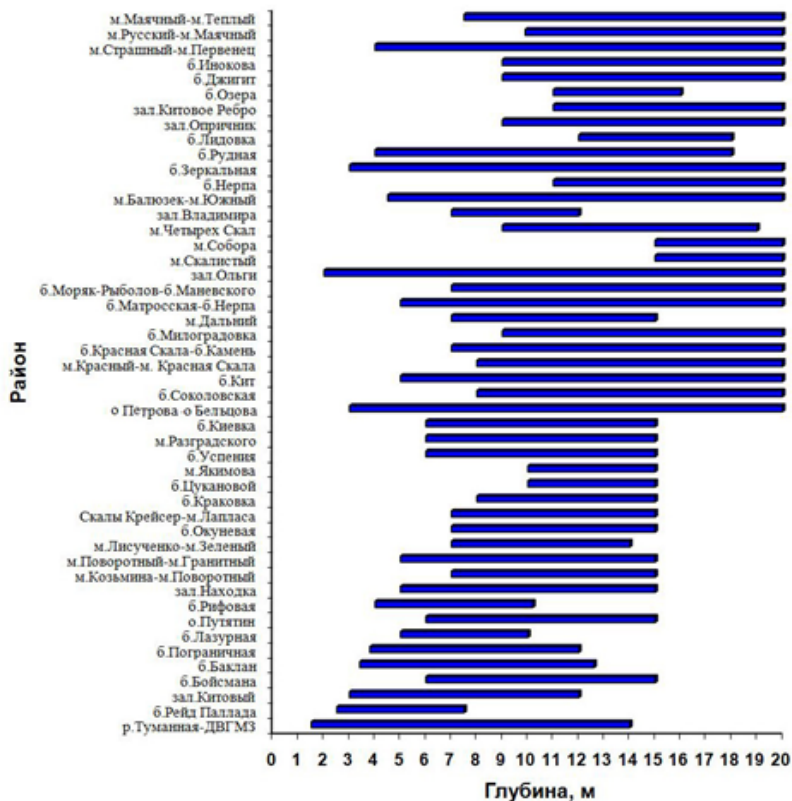


Рисунок 2. Батиметрическое распределение мерценарии Стимпсона в прибрежных водах Приморья

Литература:

1. Арзамасцев И. С., Яковлев Ю. М., Евсеев Г. А., Гульбин В. В., Ключкова Н. Г., Селин Н. И., Ростов И. Д., Юрасов Г. И., Жук А. П., Буяновский А. И. Атлас промысловых беспозвоночных и водорослей Дальнего Востока Росси. Владивосток: Изд-во

- «Аванте», 2001. 192 с.
2. Атлас двустворчатых моллюсков дальневосточных морей России. Владивосток: Дюма, 2000. 167 с.
  3. Линдберг Г.У. Крупные колебания уровня океана в четвертичный период. Л.: Наука, 1972. 548 с.
  4. Разин А.И. Морские промысловые моллюски южного Приморья. М.-Хабаровск, ОГИЗ-ДАЛЬГИЗ, 1934. 110 с.
  5. Скарлато О.А., Двустворчатые моллюски умеренных широт западной части Тихого океана. Л.: Наука, 1981. 479 с.
  6. Соколенко Д.А. Распределение, структура поселений и особенности экологии *Mercenaria simpsoni* в прибрежных водах Приморья// Биология – наука XXI века: 8-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 17-21 мая 2004 года). Сборник тезисов. С. 227.
  7. Черешнев И.А. Биогеография пресноводных рыб Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 1998. 131 с.

## **ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ *ULVA FENESTRATA***

Воробьева Н.С. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*Natali\_1389@mail.ru*

Одной из важнейших проблем современной биологии является расшифровка механизмов реагирования различных организмов на изменение условий их существования. Клетки способны воспринимать, преобразовывать и усиливать сигналы физической и химической природы, поступающие из окружающей среды, и с помощью генетического аппарата реагировать на них, перестраивая свой обмен веществ и таким образом адаптироваться к изменившимся условиям. Связующим звеном между изменяющимися условиями среды и ответом клеток на них являются биологические мембраны – одна из универсальных систем передачи информации. Основа биомембран – липидный матрикс. Для оптимального функционирования биомембран необходимо жидкокристаллическое

состояние липидного матрикса, так как оно определяет нормальное протекание многочисленных мембраносвязанных процессов при функционировании клеток. Это состояние зависит как от природы и распределения составляющих липидного матрикса, так и от факторов окружающей среды, среди которых наиболее мощным и важным является температура. Особенно уязвимыми в условиях изменения климата оказываются растения, рост, развитие и функционирование которых в основном определяется температурным фактором среды обитания. Морские макрофиты, как и высшие наземные растения, являются фотосинтезирующими организмами. Действие температуры затрагивает у них в первую очередь фотосинтетический аппарат. Известно, что первичные эффекты действия температуры связаны в первую очередь с молекулярными компенсаторными механизмами на уровне клеточных мембран.

Нами было изучено влияние температуры на липидный состав *Ulva fenestrata*, взятой в Адриатическом и Японском морях. Адриатическое море характеризуется более высокими летними температурами воды (26°C) по сравнению с Японским (22°C). Замечено, что часть таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море не содержит хлорофилла. При этом размер данной части существенно увеличивается при повышении температуры, вплоть до полного обесцвечивания таллома. Нами были приготовлены экстракты из белой и зеленой частей таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море и из *U. fenestrata*, взятой в Японском море.

Анализ липидного состава каждого из трех экстрактов показал, что состав зеленых частей таллома *U. fenestrata*, взятых в различных морях сходен по наличию и процентному содержанию компонентов. В липидном составе белой части таллома *U. fenestrata* полностью отсутствуют липиды характерные для мембран хлоропластов, что подтверждает отсутствие здесь хлорофилла.

Для уточнения более тонких механизмов адаптации мембран на липидном уровне нами был проведен анализ жирнокислотного (ЖК) состава моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицерола (ДГДГ) (табл.1), как основных липидов

хлоропластов, а так же диацилглицеро-(N,N,N)-триметилгомосерина (ДГТС) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ), как основных липидов плазматической мембраны. Предполагается, что ДГТС в плазматических мембранах морских макрофитов заменяет фосфатидилхолин.

Таблица 1  
Состав жирных кислот МГДГ и ДГДГ *U. fenestrata*  
(% от суммы жирных кислот)

	МГДГ (1)	МГДГ (2)	ДГДГ (1)	ДГДГ (2)
16:0	1.1	7.7	26.3	40.3
16:1 n-9	0.3	0.8	1.1	0.6
16:1 n-7	0.3	2.5	2.7	4.0
16:3 n-3	1.0	1.5	3.8	1.7
16:4 n-3	43.0	33.6	2.8	2.0
18:0	0.2	0.9	1.0	0.3
18:1 n-9	0.4	2.4	1.7	4.6
18:1 n-7	1.8	7.3	5.3	11.9
18:2 n-6	2.1	1.8	15.1	5.2
18:3 n-3	23.7	15.0	14.6	25.1
18:4 n-3	25.5	25.4	25.3	3.6
20:5 n-3	0.6	1.0	0.5	0.8
НЖК	1.3	8.5	27.3	40.6
МЖК	2.8	13.0	10.7	21.0
ПЖК	96.0	78.5	62.0	38.4
ИН	358	307	211	138

Примечание: НЖК – насыщенные ЖК, МЖК – моновенасыщенные ЖК, ПЖК – полиненасыщенные ЖК, ИН – индекс ненасыщенности.

Основными жирными кислотами (ЖК) МГДГ являются 16:4 n-3, 18:3 n-3 и 18:4 n-3. В составе ДГДГ преобладают 16:0, 18:1 n-7, 18:2 n-6 и 18:4 n-3 жирные кислоты. Показано, что при повышенной температуре в зеленой части таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море по сравнению с *U. fenestrata*, взятой в Японском море, снижается содержание суммы полиеновых жирных кислот в МГДГ и ДГДГ. В МГДГ *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море в сравнении с МГДГ *U. fenestrata*, взятой в Японском море значительно возрастает содержание 16:0 и 18:1 n-7 ЖК, в то время как содержание 16:4 n-3 и 18:4 n-3 падает. Содержание 18:4 n-3 в обоих образцах идентично. В ДГДГ из *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море в сравнении с МГДГ *U. fenestrata*, взятой в Японском море сумма насыщенных и мононенасыщенных ЖК преобладает над суммой полиеновых ЖК за счет увеличения доли 16:0, 18:1 n-7 и 18:1 n-9, а так же снижения содержания 18:2 n-6 и 18:4 n-3 ЖК. В составе ДГТС преобладают 16:0, 18:4 n-3, 18:1 n-7, 22:5 n-3 и 18:3 n-6 ЖК. В *U. fenestrata*, взятой в Японском море и в зеленой части таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море суммарные показатели жирнокислотного состава ДГТС (НЖК, МЖК и ПЖК) оказались значительно ближе, чем эти показатели в сравнении с белой частью таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море. В ДГТС зеленой части таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море в сравнении с ДГТС из *U. fenestrata*, взятой в Японском море возрастает содержание 16:1 n-7 и 18:4 n-3, в то время как содержание 18:3 n-6 резко падает. В ДГТС из белой части таллома в сравнении с зеленой частью таллома *U. fenestrata* наблюдается снижение суммы полиеновых ЖК, в то время как существенно возрастает содержание насыщенных и мононенасыщенных ЖК.

В составе ФЭ из *U. fenestrata*, взятой в Японском море и зеленой части таллома *U. fenestrata*, взятой в Адриатическом море преобладают 16:0, 16:1, 18:1 n-7 и 18:3 n-3 ЖК в то время как в белой части таллома основными являются 16:0 и 18:1 n-7 ЖК. В ФЭ белой части таллома значительно снижено содержание ПЖК за счет резкого увеличения доли 16:0 и 18:1 n-7 ЖК.



Выполненное исследование показывает, что при повышенных температурах в первую очередь происходят изменения в липидном составе фотосинтетического аппарата, которые сопровождаются увеличением суммы НЖК и МЖК и снижением суммы ПЖК, как в МГДГ, так и в ДГДГ. Особенно заметно снижение суммарной ненасыщенности ЖК при сравнении индексов ненасыщенности. В липидном составе плазматических мембран при повышении температуры наблюдается та же тенденция – возрастает содержание НЖК и МЖК и снижается содержание ПЖК.

### **ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КУЛЬТУРУ НЕЙРАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК**

Воронова А.Н. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*E-mail: avoronova92@gmail.com*

Гуминовые кислоты представляют собой люминесцентные, темно-коричневые органические кислоты с негидролизуемой и гидролизуемой частями из различных активных функциональных групп. Несмотря на значительную историю вопроса, химическая формула гуминовых кислот до сих пор не известна. Показано, что различные производные гуминовых кислот являются высокоэффективными энтеросорбентами, мягкими иммуномодуляторами и биорегуляторами, снимают любую интоксикацию, повышают активность здоровых клеток. При этом они хорошо растворимы в воде и оказывают биологический эффект при очень малых концентрациях (около 0,001%). Однако, для окончательного установления лечебно-профилактических эффектов необходимы дополнительные исследования на модельных объектах, в том числе и на культурах клеток.

Цель нашей работы заключалась в изучении влияния гуминовых препаратов на культуру нейральных прогениторных клеток. Для достижения данной цели нами сформулированы следующие задачи: 1. Определить, могут ли гуминовые препараты разного происхождения способствовать снижению токсического эффекта тяжелых металлов за счет эффективной адсорбции их в культуре; 2. Выяснить, оказывают ли

гуминовые препараты стимулирующее или угнетающее действие на рост и дифференцировку нейральных стволовых клеток.

Материалом для исследований послужили гуминовые препараты, выделенные из верхнего горизонта буроземов (далее - гумат) и гумивит-К (далее - гумивит), выделенный из окисленного бурого угля, продающийся в аптеках г. Владивостока в качестве БАД-парафармацевтика.

Биологическое действие препаратов изучалось на культуре нейральных клеток из обонятельных луковиц крысиных эмбрионов (21-дневных), которая предварительно в течение 13 недель выращивалась в стандартных культуральных условиях (со сменой среды и регулярными пересадками). В экспериментальные 24- и 96-луночные планшеты клетки высаживались в концентрации 12 500 клеток/см<sup>2</sup> после ферментативной дезагрегации трипсином. В 96-луночных планшетах клеточная суспензия помещалась в среду без добавления эмбриональной телячьей сыворотки (далее - сыворотки), с 2 и 12%-ным ее содержаниями, и конечной концентрацией гуминовых веществ - 0,001%. В 24-луночных планшетах клетки помещались в среду с различной концентрацией гуминовых препаратов (0,1, 0,01, 0,001%), в часть лунок планшета добавляли также стандартный образец для ионов Свинца (II) (ГСО 7252-96) в конечной концентрации 0,03 мг/л (предельное значение, ПДК, по свинцу).

После 8 (96-луночные) и 14 (24-луночные) суток культивирования, материал был зафиксирован 4%-ным параформальдегидом с переводом в 700 спирт. За сутки до фиксации в часть лунок добавляли бромдезоксипридин (БДУ). Для определения эффективности роста и дифференцировки культуру после фиксации окрашивали мышинными антителами на БДУ и тубулин бета III (маркер нейральной дифференцировки клеток). Вторичные антитела были конъюгированы с Alexa 488.

Клетки во время всего эксперимента до фиксации и после окраски антителами изучали с помощью конфокального лазерного микроскопа LSM 510 Meta (CarlZeiss).

В ходе эксперимента с тяжелыми металлами (24-луночные

планшеты) было выявлено, что 0,001% гумивит (рекомендуемая для наружного применения дозировка препарата) и 0,0001% гумат являются наиболее физиологичной концентрацией исследуемых гуминовых препаратов. Также установлено, что на гумат реакция клеток более негативна. Даже при незначительных его концентрациях, 0,001%, апоптоз выражен сильнее, чем при добавлении аналогичных концентраций гумивита. Предположительно, физиологичная концентрация гумата ниже, чем использованная в эксперименте. В лунках с добавлением свинца происходит угнетение клеточной активности, однако, при сравнении с контролем, после добавления гумата и гумивита особой разницы в поведении и самочувствии клеток не наблюдается. Только малая концентрация гуминовых препаратов (0,001%) в той или иной степени повышает способность клеток противостоять разрушительному действию тяжелого металла, что отразилось в улучшении роста и дифференцировки. Вследствие чего мы можем заключить, что для доказательства положительного влияния гуминовых препаратов при воздействии токсичными тяжелыми металлами, требуются дальнейшие более детальные исследования.

При наблюдении за культурой нейральных клеток во второй части эксперимента (96-луночные планшеты) в течение 8 дней было отмечено, что клетки в среде без добавления сыворотки, как в контроле, так и в лунках с гуминовыми препаратами, имеют округлую форму, не проявляют признаков дифференцировки. Часто формируются конгломераты из этих клеток и даже структуры, напоминающие нейросферы, но также без признаков дифференцировки. Примерно через неделю после начала эксперимента в среде без сыворотки начали появляться клетки с признаками апоптоза. В контрольных лунках с сывороткой в концентрации 2% наблюдается массовый выход нейральных клеток в дифференцировку. Примерно в половине лунок конfluence достигают 100%. Однако, экспериментальные лунки, в которые добавлялись исследуемые гуминовые препараты, показывали такую же картину, как в бессывороточной среде, но без признаков апоптоза. Абсолютно неоднозначными получились результаты в среде с сывороткой в

концентрации 12%. Известно, что среда такого качества для нервных клеток является хорошим стимулятором пролиферации. Именно поэтому сыворотку в концентрации 10-15% используют при наращивании культуры. Однако в нашем эксперименте в контрольных лунках картина сильно напоминала бессывороточную среду с той лишь разницей, что единично встречались дифференцированные клетки. В экспериментальных лунках с добавлением гуминовых препаратов картина при концентрации сыворотки в 12% напоминала таковую при 2% экспериментальной. Клетки, выращенные на 12% сыворотке - округлые без отростков, плохо распластаны по субстрату, нейросферы редко встречаются, высок процент апоптоза. При сравнении действия гумата и гумивита было отмечено, что нейральные прогениторные клетки при добавлении гумата реагируют менее интенсивно, чем при добавлении гумивита. Скорее всего, этот факт связан с не оптимальной концентрацией гумата.

Исследование на клеточную активность показало, что процент делящихся клеток (окраска антителами против БДУ) во всех лунках экспериментального 96-луночного планшета составляет от 1 до 5%. К 5% значение данного показателя приближается в среде с 2%-ами сыворотки и без нее. При этом добавление исследуемых гуминовых препаратов достоверно не изменяет процент делящихся клеток ни в сторону увеличения, ни в сторону уменьшения. Нейральная дифференцировка (окраска на тубулин бета III) идет активнее при 12%, наименее активно - при 2% сыворотки. Таким образом, иммуногистохимическое изучение активности нейральных прогениторных клеток в культуре при разных концентрациях сыворотки через 8 суток эксперимента не выявило эффективного действия на пролиферацию и дифференцировку.

Результаты данного исследования во многом являются предварительными, но уже сейчас можно сказать, что препарат, выделенный из верхних горизонтов бурозема, проявляет биологическое действие при более низких концентрациях, чем препарат гумивита. Кроме того, именно при низких концентрациях проявляется защитное действие гуминовых препаратов, как активных

сорбентов двухвалентных, в том числе и тяжелых, металлов. Нами не выявлено пока активного влияния исследуемых гуминовых препаратов на клеточную активность (пролиферацию и дифференцировку), однако эксперимент шел всего 8 суток. Возможно, большая часть биологических эффектов проявляется именно при длительном культивировании на такого рода субстратах.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования, договор № 11.G34.31.0010, а также в рамках Государственных контрактов с Министерством образования и науки РФ № 02.740.11.0292 и № 02.740.11.0450.

## **НЕОБЫЧНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКА ТРОПОМИОЗИНА ИЗ МЫШЦ МИДИИ *CRENOMYTILUS GRAYANUS***

Вятчин И.Г. (студент)

*Школа естественных наук, ДВФУ,  
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток  
vjatchin@yandex.ru*

Тропомиозин, также как миозин и актин, является главным сократительным белком, входящим в состав всех сократительных систем. Миозин и актин образуют простейшую молекулярную сократительную модель, а тропомиозин, совместно с тем или иным  $Ca^{2+}$ -связывающим белком, регулирует ее работу, активируя актин-миозиновое взаимодействие в присутствии  $Ca^{2+}$ , и ингибируя его в отсутствие  $Ca^{2+}$ . Молекулярные сократительные модели (обычно образованные из белков скелетных мышц позвоночных) широко используются в области биологической подвижности. В частности, данные модели используются нами для изучения механизма запирающего сокращения мышц двустворчатых моллюсков. В процессе тестирования этих моделей, мы неожиданно обнаружили, что введение тропомиозина из гладких мышц мидии *Crenomytilus grayanus*, в стандартную сократительную модель, ведет не к активированию

актин-миозинового взаимодействия, а к его ингибированию.

Нами была исследована зависимость этого ингибирующего эффекта от условий среды (ионная сила, концентрация ионов Mg и величина pH) и соотношения белков в сократительных моделях. Показано, что, в зависимости от условий среды, степень ингибирования актин-миозинового взаимодействия, которая тестировалась по ингибированию MgATPазной активности синтетического актомиозина, варьирует от 28 до 86%. Столь сильная зависимость указывает на участие в данном эффекте ионных связей, вовлеченных, скорее всего, во взаимодействие между молекулами тропомиозина и нитями актина. Об этом также говорит и зависимость ингибирующего эффекта от соотношения между тропомиозином и актином в сократительной модели. Максимальный эффект наблюдается при молярном соотношении актин/тропомиозин = 7, что соответствует ситуации *in vivo*, когда каждая молекула тропомиозина, образующего тяж на поверхности актина, взаимодействует с семью актинами. Согласно стерической теории регуляции мышечного сокращения, тропомиозин способен перемещаться по поверхности тонких нитей, открывая или закрывая на актине центры связывания с миозином. Хорошо известно, что в отсутствие Ca<sup>2+</sup>-связывающих белков тропомиозин скелетных мышц позвоночных занимает такое положение на тонкой нити, при котором актиновые центры связывания с миозином открыты и актин-миозиновое взаимодействие активировано. Обнаруженное нами ингибирование тропомиозином мидии этого взаимодействия означает, что данный тропомиозин частично блокирует центры связывания с миозином.

Как уже говорилось, в состав стандартной сократительной модели входит скелетно-мышечный миозин (миозин кролика). Это связано с тем, что миозин кролика является Ca<sup>2+</sup>-нечувствительным белком и, следовательно, гибридные сократительные модели с его участием позволяют исследовать Ca<sup>2+</sup>-регуляцию, связанную с тонкими нитями беспозвоночных. «Нестандартное» поведение тропомиозина мидии в стандартной сократительной модели побудило нас расширить круг используемых гибридных моделей. Оказалось, что

замена миозина кролика на миозин мидии в составе в этой модели приводит к исчезновению ингибирующего влияния тропомиозина мидии.

Таким образом, если наше предположение, о частичном блокировании тропомиозином мидии центров связывания актина с миозином кролика, верно, то отсутствие блокирования этим тропомиозином центров связывания актина с миозином мидии означает, что локализация центров связывания этих миозинов на актине различна. Похоже, что тропомиозин и миозин, белки, прямо не взаимодействующие в мышце друг с другом, тем не менее, обладают свойствами, которые им позволяют функционировать согласованно.

### **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ VASA И SOX2 – МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК У БРЮХОНОГОГО МОЛЛЮСКА *SUCCINEA LAUTA***

Гончаров Н.В. (студент), Титов С.И. (аспирант)  
*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*  
*nickolass\_92@mail.ru, sergio.titoff@gmail.com*

Для понимания процессов пролиферации зародышевых клеток и развития органов и тканей на ранних стадиях онтогенеза, а также для выяснения путей дифференцировки и миграции стволовых клеток в зрелом организме используются различные способы их идентификации. Наиболее распространенным и достоверным является способ выявления стволовых клеток с помощью специальных молекулярных маркеров. Молекулярными маркерами могут служить мРНК различных генов, участвующих, с одной стороны, в поддержании мультипотентности клеток, и, с другой стороны, в спецификации клеток по тому или иному пути развития.

Одними из интереснейших молекулярных маркеров являются гены *vasa* и гены группы *sox*, экспрессирующиеся в мультипотентных стволовых клетках с высоким пролиферативным потенциалом.

Ген *vasa* – ген материнского эффекта, кодирующий DEAD-box РНК-хеликазу, которая вовлечена в детерминацию половых клеток и поддержание клеточной мультипотентности и являющаяся, таким образом, молекулярным маркером мультипотентных стволовых клеток.

Sox - семейство генов, входящее в надгруппу HMG. Одним из интереснейших представителей этого семейства является ген *sox2*, который принимает участие в регуляции эмбрионального развития и детерминации клеточной судьбы. Также важной функцией гена *sox2* является участие в развитии нервной системы и формировании органов зрения. Экспрессия *sox2* обеспечивает функционирование мультипотентных клеток нервного зачатка, нейральных стволовых клеток. Кроме того, активация этого гена является ключевым условием для *in vitro* индукции соматических дифференцированных клеток в мультипотентное состояние.

В данной работе было проведено секвенирование кДНК генов *vasa* и *sox2* улитки янтарки с помощью метода быстрой амплификацией концов кДНК (RACE) и установлена последовательность соответствующих мРНК. Были определены кодируемые полипептиды и установлено положение всех гомологичных консервативных доменов. Так, в полипептидной последовательности, соответствующей продукту RACE ПЦР с праймерами к гену *vasa*, были обнаружены восемь консервативных мотивов, в частности AXXGXGKT (так называемый ATP-A) и DEAD (ATP-B). В полипептидной последовательности, соответствующей продукту RACE ПЦР с праймерами к генам группы *sox*, были обнаружены домены HMG и TA (транс-активационный домен), а также фланкирующие HMG консервативные мотивы. Также был проведен BLAST-анализ полученных последовательностей и выявлена высокая гомология как мРНК, так и соответствующих полипептидов с продуктами экспрессии генов группы *sox* и *vasa* других представителей типа Mollusca. Ген группы *sox* был впервые обнаружен у представителей группы Pulmonata.

Методом количественной ПЦР в реальном времени установили экспрессионные профили генов *sox2* и *vasa* мультипотентных клеток различных стадий эмбрионального, личиночного и постнатального периодов. мРНК исследуемых консервативных генов может использоваться в качестве молекулярных маркеров мультипотентных клеток в гистогенезах брюхоногих моллюсков, являющихся удачными



модельными объектами физиологии. Применение мРНК генов *vasa* и *sox2* для идентификации мультипотентных клеток позволит точнее раскрыть принципы управления процессами клеточной дифференцировки и спецификации в эмбриональном и постнатальном развитии.

**АКТИВНОСТЬ АГГЛЮТИНИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ  
ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ДВУСТВОРЧАТЫХ  
МОЛЛЮСКОВ *ANADARA BROUGHTONI* И *MODIOLUS  
KURILENSIS* ИЗ АКВАТОРИЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ**

Гринченко А.В. (аспирант)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*grishagrin@mail.ru*

Последние десятилетия сферой особого интереса биологов стал неспецифический врожденный иммунитет поскольку, как выяснилось, в его основе, даже у очень отдаленных таксонов, лежат одни и те же принципы. Этим и объясняется столь интенсивное его изучение у беспозвоночных, так как понимание этих механизмов в более простых организмах может дать толчок к новым разработкам в области медицины. Кроме того, подобные исследования дополняют знания из других областей биологии для более глубокого понимания процесса макроэволюции и филогенетических отношений между различными группами живых организмов. Не стоит забывать и о более приземленной практической надобности в изучении защитных механизмов у промысловых видов и тех, которые таковыми могут стать.

К последним относятся объекты изучения данной работы - два вида двустворчатых моллюсков дальневосточных морей *Anadara broughtoni* (Shrenk, 1867) и *Modiolus (modiolus) kurilensis* (Bernard, 1983). Первый является объектом активного промысла и марикультуры у наших ближайших соседей - в Корее, Китае и Японии. У нас же пока процесс культивирования этого вида находится в процессе становления, однако отдельные хозяйства уже занимаются его разведением с целью коммерческой реализации. Данный вид

двустворчатых моллюсков является довольно интересным объектом изучения еще и потому, что имеет ряд отличительных особенностей, самой яркой из которых является наличие в крови эритроцитов, содержащих гемоглобин, подобный по структуре с гемоглобином позвоночных. Это связано с особенностями их обитания. Вид встречается на илистых отложениях с глубинами от 1-2 до 12-18 м. Распространен в Желтом, а также в Японском море, где встречается вдоль побережья Хонсю, в бухтах заливов Посьета и Петра Великого, и образует массовые поселения в Амурском и Уссурийском заливах.

Данная работа была проведена с материалом, собранным в 2009 году. Для сезонных сравнений были собраны половозрелые особи *A. broughtoni* и *M. kurilensis* из акватории Амурского залива (район о. Скребцова) 20 марта, 4 мая, 26 мая и 22 ноября. Для сравнения иммунного статуса животных со станций с разной степенью антропогенной нагрузки были собраны половозрелые особи *M. kurilensis* 22 июня из залива Восток, как фоновой акватории, и 4 июля из Спортивной гавани Амурского залива - акватории с высокой антропогенной нагрузкой.

Для определения активности агглютинирующих факторов плазмы как основного показателя гуморального иммунитета моллюсков была проведена реакция прямой геммагглютинации – осаждение эритроцитов, агрегированных агглютинидами гемолимфы, без добавления дополнительных агентов.

Взятие гемолимфы осуществляли путем иссечения мантийной синуса, затем гемолимфу центрифугировали при 1300g в бакет-роторе в течение 10 мин. Клетки удаляли, а плазму замораживали при температуре -180С.

Для постановки реакции использовали эритроциты человека четырех групп крови (ABO), обработанные несколькими способами: нативные эритроциты - отмытые от консервирующего раствора фосфатной изотоничной буферной средой (ФБС: 0,9% NaCl, 10мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH=7,4); фиксированные эритроциты - фиксацию проводили 0,25% р-ром глутарового альдегида в течение 10 мин. с последующей нейтрализацией альдегидных групп аминогруппами

глицина; трипсинизированные эритроциты - предварительно обработанные раствором трипсина панкреатического на ФБС в концентрации 0,1 мг/мл с последующей фиксацией глютаровым альдегидом.

Для постановки реакции прямой гемагглютинации изначально использовали 1,5%-ые суспензии Эр, однако после цикла проведенных работ мы стали использовать суспензии Эр стандартизированных концентраций - 60000 кл./мкл (клеток на микролитр). Подсчет количества клеток проводили в камере Горяева. Дальнейшие постановки реакций прямой гемагглютинации для *M. kurilensis* проводили только на стандартизированных суспензиях нативных Эр.

Основными агглютинидами беспозвоночных являются лектины - белки, способные к обратимому связыванию с углеводной частью гликоконъюгатов без нарушения ковалентной структуры любых из узнаваемых гликозидных лигандов. Для определения углеводных специфичностей лектинов гемолимфы *M. kurilensis* была проведена реакция отмены прямой гемагглютинации сахарами. Для отмены реакции гемагглютинации использовали 30 мМ растворы 23 видов углеводов различной структуры: мио-инозитол, лактоза моногидрат, D-глюкуроно-3,6-лактоза, DL-арабиноза, D-(-)-рибоза, D-(+)- фукоза, D-(+)-галактурановая к-та, D-(+)-раффиноза пентагидрат, D-(+)-ксилоза, D-(+)-мелибиоза, D-(+)-манноза, D-(+)-мальтоза моногидрат, L-(-)-сорбоза, L-рамноза моногидрат,  $\alpha$ -метил-D-глюкопираноза, Муцин II (from porcine stomach, Sigma) - crude, Муцин III (from porcine stomach, partially purified, Sigma, M 1778), N-ацетил-D-глюкозамин, D-глюкуроновая к-та, D-глюкоза, N-ацетил-D-галактозамин, N-ацетилнейраминавая к-та (из *E. coli*).

В ходе работы было установлено, что активность агглютинирующих факторов гемолимфы *M. kurilensis* из акватории Амурского залива в районе о. Скребцова имеет сезонную динамику; средние показатели со стандартным отклонением для разных временных точек составляет: 20 марта -  $53,1 \pm 10,9$ ; 4 мая -  $79,4 \pm 13,2$ ; 26 мая -  $106,6 \pm 19,5$ ; 22 ноября -  $104 \pm 18,2$ . Для модельных же акваторий с различной антропогенной нагрузкой было показано, что титры

агглютинации гемолимфы *M. kurilensis* не имеют существенных отличий и в летний период составляют: для залива Восток -  $126,8 \pm 22,2$ ; для Спортивной гавани -  $118,2 \pm 26,5$ . Титры агглютинации на плазме *A. broughtoni* были весьма низкими во все сезоны и вероятнее всего, что эритроциты человека не являются в данном случае подходящими агглютиногенами.

Для исследованных образцов гемолимфы *M. kurilensis* была обнаружена активность, установленная для модиолинов Е и Н, выделенных и описанных ранее лектинов *M. modiolus*, характерного для морей северной Атлантики. Однако, кроме того, впервые для представителей данной систематической группы обнаружена агглютинирующая активность гемолимфы в отношении D-глюкуроновой и D-(+)-галактуриновой кислот, которая убывала в ряду гомологичных сахаров несколько иного строения (N-ацетилированные амины нейтральных сахаров и нейтральные моносахариды, соответственно). Полученные данные свидетельствуют об обнаружении нового лектина или группы лектинов в составе плазмы гемолимфы *M. kurilensis*.

**ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРЫХ КИТОВ  
(*ESCHRICHTIUS ROBUSTUS*) КОРЕЙСКО-ОХОТСКОЙ  
ПОПУЛЯЦИИ В РАЙОНЕ ИХ ПОСТОЯННОГО ЛЕТНЕГО  
НАГУЛА У СЕВЕРО-ВОСТОЧНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ О. САХАЛИН  
(РАЙОН ЗАЛ. ПИЛЬТУН) В ПЕРИОД С 2008-2010 ГГ.**

Гушеров П.С.<sup>1</sup>(техник 1 категории), Бурдин А.М.<sup>2</sup> (сотрудник),

Сидоренко М.М. (сотрудник)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ТИНРО-Центр, г. Владивосток

<sup>2</sup>Камчатский филиал ТИГ ДВО РАН, г. Петропавловск-Камчатский

<sup>3</sup>Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,

г. Владивосток

В настоящее время к серому киту корейско-охотской популяции проявляется особое внимание. Вызвано это тем, что ее животные численностью около 130 особей (Cooke et.al. 2008, Weller et. al. 2007) находятся в красной книге, а основная акватория их нагула находится в непосредственной близости от мест добычи углеводородов на шельфе

северо-восточного Сахалина, в районе залива Пильтун. В 2008-2010 гг. были продолжены, начатые в 1995 г. наблюдения за серыми китами корейско-охотской популяции в районе устья залива Пильтун.

Учеты китов проводились с маяка Пильтун, высотой 35 м. Маяк расположен на берегу протоки залива Пильтун в 1.2 км от берега Охотского моря (между 10 и 11 секторами на рис. 1) . Учет китов проводился на акватории протяженностью 20 км при видимости не менее 4 км от берега и волнении моря до 4 баллов по шкале Бофорта. В процессе работы использовался бинокль (7x45). Одно непрерывное наблюдение длилось не менее 30 мин. При благоприятных погодных условиях в течение одного дня осуществлялись не менее трех учетов (утром, днем и вечером).

В 2008 г. серые киты на обследуемой акватории чаще всего наблюдались напротив входа в залив Пильтун и чуть севернее и южнее от него (8-15 сектора) (рис. 1).

В июле большинство китов располагалось в 11 и 12 секторах, а в августе 12 и 13. Наиболее интенсивно посещаемые животными участки являются квадраты А10-А13, В8, В10-В13, С15, D20. Рассматривая распределение серых китов на разном удалении от берега, надо отметить, что большинство животных встречалось на расстоянии 2 км от береговой полосы.

D	5		6	1		1	4	5	7	1	6	6	2	5	1	5	1		1	26
C	12	11	3	4		2	5	4	2	6	5	14	11	9	16	6	4	8	12	6
B	3	1	2	7	7	5	13	16	6	16	30	24	48	9	2	3	3			
A							1		3	25	11	31	7	6	2					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

Рисунок 1. Распределение и плотность серых китов в районе зал. Пильтун в 2008 году; А, В, С, D – квадраты (А-1 км от берега, В-2 км, С-3 км, D-4 км), 1 – 20 – сектора.

В 2009 г. основная часть серых китов концентрировалась в 6-16 секторах (рис. 2). В июле большинство китов располагалось в 1 и 14 секторах, а в августе в 12 и 14. Большинство китов предпочитали квадраты А10, А12-А14, А19, В6, В11-В14, В16, С1, С16. Преимущественно киты регистрировались в пределах 2 км от берега,

меньше всего в пределах 4 км.

В 2010 г. основная часть китов встречалась у входа в залив Пильтун в 8-17 секторах (рис. 3). В июле большинство китов регистрировалось в 8 и 10 секторах, в августе в 13 и 15. Основное количество китов располагалось в квадратах А10, А12-А13, В9-В10, В14-В15, В17, С5, С15-С16. Большая часть китов держатся на расстоянии 2 км от берега, меньше всего на расстоянии 4 км.

Как следует из данных проведенных нами исследований, пространственное распределение серых китов корейско-охотской популяции в районе залива Пильтун в период с 2008-2010 гг. было неравномерным. Но, в целом, животные предпочитали держаться в непосредственной близости от входа в зал. Пильтун. В 2008, 2009 и 2010 гг. 36, 37 и 37% китов, соответственно, было зарегистрировано в северной части обследуемой акватории, следовательно, большее количество серых китов было отмечено в южной части акватории. Характер распределения китов в разные месяцы различался. Например, в июле 2009 г. большинство китов распределялось в 1 и 14 секторах, а в августе большая часть животных была отмечена в 12 и 14 секторах. Большинство серых китов распределялись здесь не далее 2 км от берега.

Проведенные в 2008-2010 гг. наблюдения являются одним из

Число китов	Цвет
0-5	
5-25	
От 25 и более	

этапов многолетней программы изучения серых китов корейско-охотской популяции. Происходит накопления материала, анализ которого в дальнейшем позволит более реально оценивать современное состояние изучаемой популяции серых китов и воздействие на неё добычи нефти на шельфе восточного Сахалина.

<b>D</b>	8	4	1	1		6	1		4			1	4	10		1	3	2		2
<b>C</b>	26	5	1	7	2	10	2	4	6	9	6	3	2	1	4	21	1	8	6	9
<b>B</b>	13	1	10	1	3	33	11	13	12	12	24	27	37	29	9	17	12	5	6	13
<b>A</b>	2			6	1		2	1	7	16	7	36	29	37		6		1	20	8
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

Рисунок 2. Распределение и плотность серых китов в районе зал. Пильтун в 2009 году.

D	1	1		2	4	4	2	2	3		3	2	1	1	4	2				1
C	5	4	3	10	16	3	7	9	12	7	10	8	14	11	29	17	3	3	1	1
B	2		2	5	5	12	11	14	28	37	24	22	21	35	44	16	26	14	8	1
A				1	1			6	7	19	11	20	23	14	1	5	3		1	2
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

Рисунок 3. Распределение и плотность серых китов в районе зал. Пильтун в 2010 году.

## **ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СОЦИАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛУХ (*DELPHINOPTERUS LEUCAS*) В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ**

Гущеров П.С. (студент, техник 1 категории)

*Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-центр), г. Владивосток*

За поведением содержащихся в неволе животных наблюдают профессиональные зоологи и этологи, зоотехнический персонал, и студенты-биологи. Грамотно проведенные экологические наблюдения за животными представляют ценность не только для развития науки, но и могут оказаться большим подспорьем в практической работе с, поскольку позволяют по внешнему состоянию прогнозировать дальнейшие действия животного. Совершенствование методов ухода и содержания в условиях неволи остается одной из главных задач. Успех проведения практических мероприятий определяется возможностью получения достоверной информации, реально отражающей видоспецифические черты биологии, которые проблематично получить при изучении белухи в дикой природе.

Нами было исследовано становление социальных отношений в группах белух, находящихся в дельфинарии (б. Средняя, зал. Восток, Приморский край), на примере самца Нила, который первоначально прошел адаптацию к условиям неволи в одной группе, а затем в другой. После выстраивания и стабилизации иерархических отношений в группе, на основании анализа частоты и направленности агонистических (агрессивных) контактов построены социограммы для обеих групп, в составе которых находился Нил. Иерархия – система поведенческих связей между особями в группе, регулирующая их

взаимоотношения. Социограмма - форма изображения системы взаимоотношений в стабильно замкнутом индивидуализированном сообществе животных, имеющем иерархическую структуру. Установлено, что если в составе первой группы Нил занимал нижнее иерархическое положение в социальном статусе группы (рис. 1), то в составе второй группы, после удаления всех резидентов первой и вселения новых особей на ту же территорию, он приобрел статус лидера (рис. 2). Смена статуса с аутсайдера на лидера привела Нила к его психологической реабилитации и росту благополучия. Следовательно, социальный статус белух может претерпевать радикальные изменения. В зависимости от состава группы и условий ее формирования одна и та же особь может занимать разные ступени иерархической лестницы.

Таким образом, социальный статус белух в условиях неволи не является постоянным, поскольку может регулироваться целенаправленными действиями сотрудников.

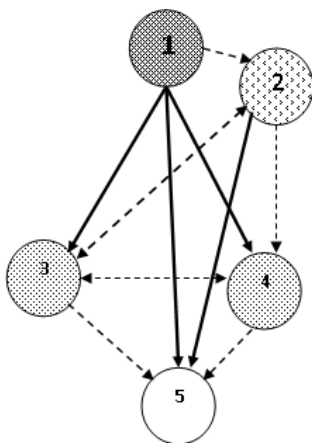


Рисунок 1. Социограмма первой группы белух: 1- Табол (лидер) (♂), 2- Кема (♀), 3- Нола (♀), 4- Тибр (♂), 5- Нил (аутсайдер) (♂).

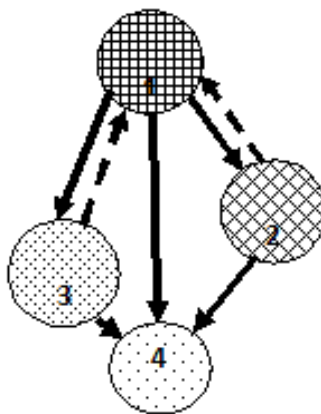


Рисунок 2. Социограмма второй группы белух: 1- Нил (лидер) (♂), 2- Лера (♀), 3- Кира (♀), 4- Кема (аутсайдер) (♀).



## ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗА ЖИЗНИ ЛИЧИНКИ МУРАВЬИНОГО ЛЬВА (*MYRMELEON FORMICARIUS*)

Гущеров П.С.<sup>1,2</sup> (студент, техник 1 категории),

Галеев А.И. (студент)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр  
(ТИНРО-центр),

<sup>2</sup>Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

Наши исследования проводились с 23-27 июля 2007 г. в окрестностях МБС «Заповедное». В настоящей работе нами были выявлены особенности образа жизни личинки муравьиного льва. Личинки муравьиных львов (рис. 1) живут в воронках, которые служат не только местом их обитания, но и ловушкой для своих жертв. Как правило, они строят свои воронки на солнечном, защищенном от ветра и дождя месте таким образом, чтобы края воронки были сухие и легко осыпались вниз. Найденные нами воронки личинок располагались на песчаных увалах у берега моря вблизи прибрежных растений. Было решено произвести сбор трех личинок, которых мы поместили в резервуар (36x25x25), наполненный песком, для дальнейшего наблюдения за ними.

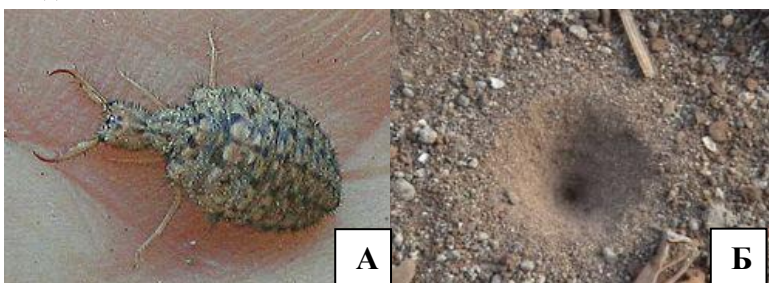


Рисунок 1. Личинка (А) и воронка личинки (Б) муравьиного льва (*Myrmeleon formicarius*).

В первый день наблюдений за личинками муравьиных львов мы обратили внимание на то, что начали образовываться две воронки. Рыли свои воронки личинки при помощи быстрых сокращений конца брюшка, а навалившиеся сверху песчинки они отбрасывали резкими движениями головы. Есть предположение, что если личинка голодает,

то это может сказываться на размере её воронки (табл. 1). В первый день мы кормили личинку из воронки №1 (табл. 2). Объектом питания для личинок нами был выбран муравей, как самый распространенный из жертв. Когда жертва попадает в воронку, её тут же ожидают челюсти муравьиного льва. Как только они проникают в тело жертвы, в него впрыскивается пищеварительный сок, содержащий парализующие токсины. Интересен тот факт, что останки своих жертв муравьиные львы выкидывают из своих воронок резкими движениями головы.

На второй день наблюдений обе воронки уже полностью сформировались. Личинкам положили ещё по одному муравью, которых они охотно схватили и употребили. Только на третий день начала образовываться воронка №3. Все эти дни личинка была голодна, и размер воронки №3 был самый маленький из всех.

Таблица 1

Размеры воронок личинок муравьиного льва *M. formicarius*

№ Воронки	Диаметр воронки (мм)	Глубина воронки (мм)
1	60	20
2	40	10
3	20	10
4	50	15

Таблица 2

Питание личинок муравьиного льва *M. formicarius*

Дни наблюдений	№ Воронки	Питание
1	1; 2	1-да; 2-нет
2	1; 2	1-да; 2-да
3	1; 2; 3	-
4	1; 2; 3	1-да; 2-да; 3-да
5	2; 3; 4	2-да; 3-да; 4-да

Это подтверждает предположение о том, что отсутствие питания сказывается на размере воронок. На третий день муравьев личинкам не давали. После однодневного перерыва в питании, все три личинки охотно употребили муравьев, проявляя при этом агрессию к ним. На последний день наших наблюдений в резервуаре появилась воронка №4. После кормления стало ясно, что личинка, находившаяся в воронке №1, перебралась на новое место (воронка №4).

Проведенные нами исследования показывают, что личинки муравьиных львов живут в воронках, которые они создают себе в песке. В зависимости от того, голодна личинка или нет, сказывается размер её воронки. В течение всей жизни личинки могут менять место обитания, построив новую воронку. Также стоит отметить, что у личинок муравьиных львов выраженная суточная активность.

## **РАЗМНОЖЕНИЕ, ЭМБРИОГЕНЕЗ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК ЛИЧИНОК**

### ***BOUGAINVILLIA SUPERCILIARIS (HYDROZOA)***

Демиденко Е.В.(аспирант), Кумейко В.В. (ст.н.с.)

*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского*

*ДВО РАН, г. Владивосток*

*demidenko\_e@list.ru*

Hydrozoa являются одними из первых многоклеточных организмов с четко дифференцированными эктодермальным и энтодермальным зародышевыми листками. Несмотря на такую простоту организации, клеточные элементы стрекающих довольно разнообразны. У этих животных впервые появляется нервная система, развивается зачаток мышечной системы, обособляются элементы сенсорных систем. Каждая из названных систем пока еще представлена ограниченным числом клеточных типов. И демонстрирует первые шаги клеточной дифференцировки. В связи с этим гидроидные являются удобной экспериментальной моделью для изучения базовых механизмов дифференцировки клеток, развитию клеточной сигнализации и возникновения взаимодействий «клетка - клетка» и «клетка - внеклеточный матрикс». Что и является отправной точкой нашего интереса к данной группе животных.

Нашим объектом является гидромедуза *Bougainvillia*

*superciliaris*. Она - один из представителей Hydrozoa с полным жизненным циклом. Она достаточно легко культивируется в лабораторных условиях. У нее достаточно долгий период размножения (три месяца), что очень удобно для сбора материала и позволило нам собрать животных на ранних стадиях эмбриогенеза. Мы исследовали онтогенез *Bougainvillia* как проводя длительное культивирование этих животных в лабораторных условиях, так и осуществляя регулярные сборы новых экземпляров из естественной среды их обитания.

Материал собирался в момент преобладания вободноплавающих медуз, конец марта — середины мая 2007 г., с периодичностью раз в неделю. В бухте Мелководная острова Русский, залива Петра Великого, Японского моря.

Соотношение мужских и женских особей в эксперименте составляло 1:6. В начале исследования их содержали раздельно, затем все животные были помещены в один аквариум. После чего наблюдали дробление оплодотворенных яйцеклеток и развитие личинок.

Для приготовления гистологических препаратов материал фиксировали в 4 % параформальдегиде, после чего проводили заливку материала в парафин, готовили срезы по стандартной методике (Роскин, Левинсон, 1957). Полученные срезы депарафинировали и окрашивали гематоксилин – эозином, после чего материал исследовали на микроскопе OLIMPUS, фотографировали с помощью цифровой камеры той же фирмы.

Для морфологических ультраструктурных исследований материал фиксировали в 2,5 % глутаральдегиде. Дофиксировали в 1% растворе OsO<sub>4</sub> в течении одного часа в полной темноте. Заливку фиксированного материала производили в смесь эпоксидных смол Epon 812 и Araldit M. Готовые контрастированные препараты анализировали на трансмиссионном электроном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия) при увеличениях от 4 000 до 25 000 крат. Поздние стадии сперматогенеза и оогенеза исследовали с помощью методики смыва, фильтрованной морской водой, половых продуктов из области гонад. Готовые временные препараты, изучали с помощью светового микроскопа (Olimpus).

Собранных личинок помещали в чашки Петри с питательным агаром или без него. Содержали в холодильной камере при температуре не ниже 9°C. *B. superciliaris* имеет шаровидную форму купола, с четырьмя радиальными гастральными каналами. Гонады располагаются радиально симметрично вдоль гастральной полости ротового хоботка. Часть клеток покровного эпителия гонады, а так же некоторые клетки гастральной полости и каналов имеют гранулы естественного пигмента.

Основные процессы развития сперматогенеза и оогенеза проходили в период с середины апреля по конец мая, когда температура воды не превышала +1 °С в начале и в конце +8 - +10 °С.

Сперматогенез, начало которого приурочено к середине апреля. На срезах гонад мужской особи *B. superciliaris* в период активного сперматогенеза видно, что непосредственно к пищеварительному эпителию примыкает слой относительно крупных высокохромаффинных клеток с ярко выраженной базофилией, которые мы идентифицировали как сперматоциты. Сперматогонии, идентифицированные как относительно крупные слабо базофильные клетки, располагаются очагами, также непосредственно примыкающими к эпителию гастральной полости. Часть гонады, удаленная от гастральной полости содержит главным образом мелкие базофильные клетки, представленные сперматидами и спермиями.

Поздние стадии сперматогенеза: сперматоциты, сперматиды и сперматозоиды в период с 22-30 апреля мы наблюдали на витальных препаратах. Наибольшую двигательную активность проявляли мелкие клетки с каплевидной изогнутой головкой и длинным жгутиком - сперматозоиды. Жгутиковые клетки с большими размерами тела мы идентифицировали как сперматиды, безжгутиковые клетки более крупных размеров - как сперматоциты.

Оогенез, длится немного дольше, чем сперматогенез. С середины апреля до середины мая. В гонады женской особи за 15 апреля уже хорошо различимы превителлогенные базофильные ооциты, покрытые снаружи вместе с другими ооцитами слоем трофоцитов (покровных питающих клеток). Несколько дальше от

базальной мембраны располагаются более крупные клетки, находящиеся на стадии накопления желтка с цитоплазмой, частично заполненной эозинофильным материалом. В зрелых гонадах в этот период можно одновременно с оогенезом наблюдать единичные, пока еще редкие стадии дробления. В период 22-30 апреля в гонадах наблюдаются разные стадии оогенеза. Здесь хорошо различимы ооциты на стадии вителлогенеза, а также превителлогенные ооциты и ранние стадии дробления. К концу апреля такое состояние гонады становится наиболее типичным. В этот период кроме ранних стадий дробления встречаются и преларвальные стадии (стадии молодой личинки).

Оплодотворение и все стадии эмбрионального развития проходят у *B. superciliaris* внутри материнского организма. Стадии раннего развития исследовали на тотальных препаратах живых эмбрионов и половых продуктов. Мы установили, что для *B. superciliaris* характерно полное равномерное синхронное дробление. Уже первая борозда дробления разделяет яйцеклетку на две равные доли, а все последующие деления способствуют формированию четного числа бластомеров с некоторым смещением друг относительно друга относительно центра двух дочерних частей. Данное смещение хорошо видно уже на стадиях 4 и 8 бластомеров.

За период 72 часа большинство эмбрионов в материнском организме проходят все стадии раннего развития, в ходе которых образуется предличинка внутри оболочки, которая формирует раннюю личиночную стадию округлой формы с четко разграниченными слоями покровных жгутиковых клеток и клетками внутренней клеточной массы. На витальных препаратах личинка сначала бьет жгутиками, начинает вращаться вокруг своей оси по часовой стрелке, затем удлиняется и переходит к активному плаванию. На данной стадии планулы покидают материнский организм. К моменту выхода из материнского организма у личинок наблюдается выраженная передне-задняя полярированность. Они приобретают булавовидную форму и начинают плавать расширенным передним полюсом вперед и имеет 2 четко организованных слоя клеток, которые образуют эктодерму и

энтодерму. На 5й день развития с начала оплодотворения, мы видим эктодермальный слой планулы состоящий в основном из одинаковых клеток, не до конца оформившихся жгутиковых клеток. Так как они располагаются многорядно и имеют форму ядра не характерную для жгутиковых клеток. Но мы можем видеть жгутики в единичном числе и большое количество микроворсинок.

Уже на 6-й день развития мы можем наблюдать первые появление секреторных клеток. Планула в первые дни своей жизни вне тела матери ведет очень подвижный образ жизни, о чем говорит огромное количество жгутиковых клеток. Плавает в основном в верхнем слое пелагиали, питается исключительно желтком. И на 7-8 день развития, когда личинки начинают оседать, она уже имеет в поверхностном слое 2 хорошо различимых клеточных типа: жгутиковые и секреторные. Эти клетки, имеют большое количество секреторных везикул, выделяют некое вещество. Это было подтверждено нами экспериментами в культуре личиночных форм, готовых к оседанию, помещенных в стерильную морскую воду. За период от 10 минут до 1 часа после пассажа, мы наблюдали активное выделение белого опалисцирующего секрета. Вещество собирали методом микродиссекции. И анализировали электрофарезом по Леммли.

В препарате обнаружили единственный мономерный полипептид. Данную молекулу белковой природы, возможно в сочетании с мукополисахаридами, до момента идентификации мы назвали фактором агрегации. Мы предполагаем, что он ответственен за объединение и взаимодействие клеток генетически различных индивидов, которых мы видим при образовании колонии полипов путем зигоза (слияние личинок). После чего образуется колония полипов.

## **ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ТЕМПЕРАТУР ВОЗДУХА, ПОЧВЫ И ВОДЫ В НИЖНЕМ ПРИАМУРЬЕ**

Демидова Т.С. (аспирант), Морина О.М. (к.б.н., доцент)  
*Тихоокеанский государственный университет, г. Хабаровск*  
*demidova\_tatiana@mail.ru, o.morina@mail.ru*

В настоящее время гидроклиматическая информация стала иметь особую экономическую ценность. Недоучет знаний по сценариям динамики климата и водности рек может негативно сказаться на экологическом состоянии территории. Рядом исследователей (Новороцкий, 1984; Махинов, 2006) было установлено, что на Амуре гидроклиматические и геоморфологические процессы происходят циклически, и на данном этапе идет рост температуры, а также активный вынос аллювиальных наносов, что привело к увеличению количества островов в русле реки. Крупномасштабные преобразования русла реки у Хабаровска ставят под угрозу сложившуюся хозяйственную систему города. Основное русло реки Амур заносится и быстро превращается во второстепенный рукав в результате перераспределения стока в пользу протоки Пемзенская. Амур “уходит” от Хабаровска, порождая трудности для судоходства, деятельности городских водозаборов, экологического состояния реки и рекреационного использования ее прибрежных территорий

Целью работы стало проведение сопряженного анализа динамики температуры воздуха, почвы и воды по ряду метеостанций и гидропостам на Нижнем Приамурье от верхнего течения (Хабаровск, АГМС до устья реки Амур - Николаевск – на Амуре, для определения возможного влияния внутрпочвенного стока на увеличение выноса взвешенных веществ в водотоки.

Основной метод изучения динамики температур в системе воздух-почва-вода - анализ графиков динамики температур, построенных, статистическая обработка данных гидрометеослужбы и собственных данных. Нами было определено, что вектор изменений температуры почвы может, как сохранять направление хода температур воздуха, так и изменять его на противоположное (Морина, 2004). К тому же резкость колебания амплитуды и скорость роста внутрпочвенных температур выше аналогичных процессов в воздухе, что не может не сказаться на количестве выносимых взвешенных веществ через внутрпочвенный, затем речной сток, и, в конечном варианте, накоплении в морских акваториях. На наш взгляд, происходит также изменение качественного состава вымываемых



веществ. В слоях и на границах почвенных горизонтов в течение года непрерывно происходит перемещение тепла и влаги. Амплитуда колебаний в 40 % случаев в Хабаровском крае в слое почвы 0,2-0,8-1,6 м выше, чем в воздухе и составляет от 0,8 до 4°С. При этом, значения перепадов с глубиной происходит неравномерно.

Было установлено, что в летний период скорость роста температура воды выше, чем в воздухе (рис. 1, 2). Так, если в Хабаровске и Николаевске в августе отмечаемый рост температуры воздуха за период 1955-2008 гг составил 0,5°С, то в воде произошел рост на 1°С. Этот природный фактор, несомненно, сказывается на изменении кормовой базы рыболовства, на качестве речной биоты и должен учитываться при регламентации природопользования с учетом основного экологического принципа - устойчивого развития, т.е. равноправия поколений. В Мариинске, расположенном ближе к средней части Нижнего Приамурья, происходит значительное потепление воздуха – на 1,5 °С, но в почве значения роста лежат на отметке на 4°С на глубине 1,6 м, и еще резче - на 5,7°С в на глубине 2,4 м (рис. 3, 4). Безусловно, такие высокие внутрипочвенные температуры сказываются на быстром физическом выветривании горных пород, что приводит к увеличению скорости формирования почв, и указывают на рост скорости выноса твердого стока наряду с отмечающимися учеными-гидрологами, ландшафтоведями, увеличение плоскостного смыва. Возможно, данные выводы привлекут внимание к изучению роли почвенной климатологии для изучения температурного внутрипочвенного выветривания наряду с другими геоморфологическими методами. Следует отметить, что коэффициент ранговой корреляции Спирмена при сравнении хода температуры воздуха, почвы и воды показывает довольно высокие значения в разные месяцы - 0,721-0,915.

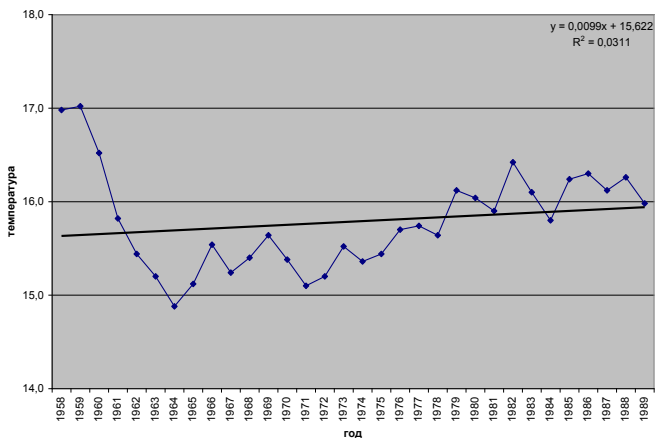


Рисунок 1. Динамика температуры воздуха в августе на метеостанции Николаевск с 1958 по 1989 гг.

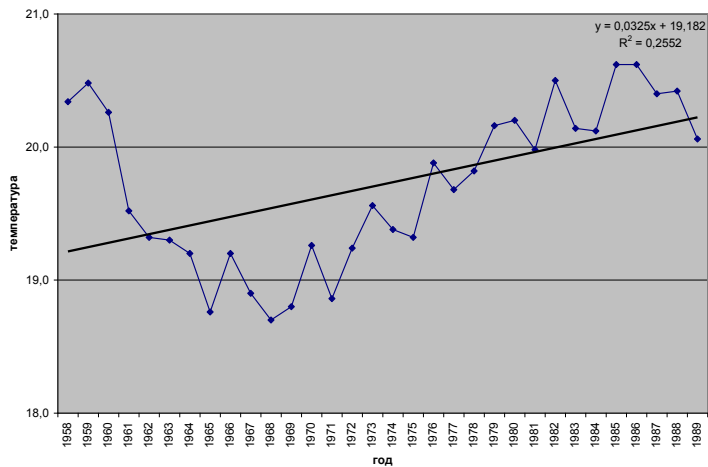


Рисунок 2. Динамика температуры воды в августе на метеостанции Николаевск с 1958 по 1989 гг.

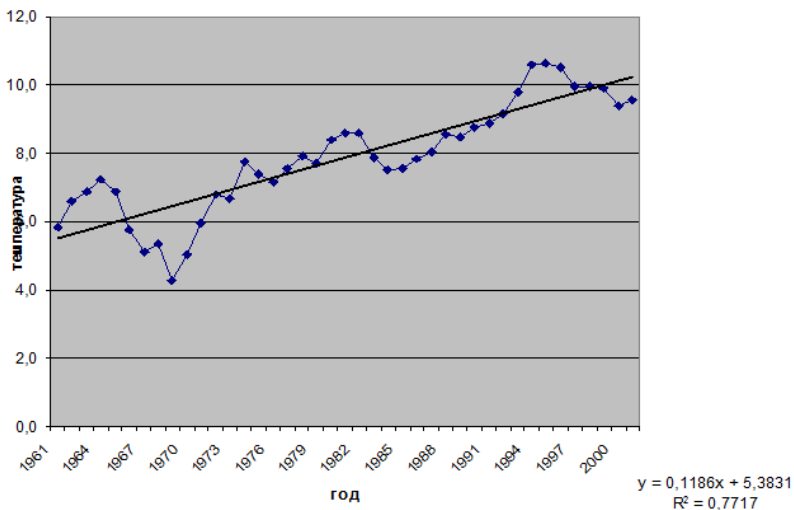


Рисунок 3. Динамика температуры почвы на глубине 1,6 м на метеостанции Мариинск.

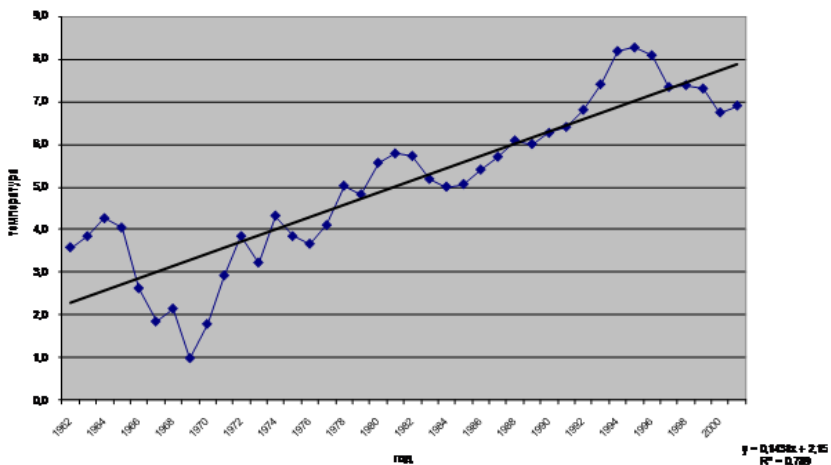


Рисунок 4. Динамика температуры почвы на глубине 2,4 м на метеостанции Мариинск.

## ГЛИСТНЫЕ ИНВАЗИИ АМУРСКОГО ТИГРА И ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕОПАРДА

Железнова Л.В. (к.б.н., старший преподаватель),

Салманова Е.И. (аспирант)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*dustmites@mail.ru*

Дальневосточный леопард (*Panthera pardus orientalis*) и амурский тигр (*Panthera tigris altaica*) – уникальные по своему географическому расположению представители семейства кошачьи (Felidae). Амурский тигр является самым северным среди всех подвидов тигра. По оценкам специалистов, на Дальнем Востоке России (Приморский край и юг Хабаровского края) обитает 350-400 особей, еще 15-20 особей обитают в лесах Северо-восточного Китая вблизи границы с Россией. Исторический ареал амурского тигра занимал часть Дальнего Востока России, Корейский полуостров, Северо-восточный Китай и доходил до северо-востока Монголии. Сегодня амурский тигр встречается лишь на небольшой части прежнего ареала. Более трагичная ситуация с сокращением исторического ареала наблюдается для Дальневосточного подвида леопарда. В прошлом ДВ леопарда занимал северо-восточную часть Китая, Корейский полуостров и южную треть Приморского края. Сегодня популяция дальневосточного леопарда, насчитывающая всего 25-40 особей, обитает в Приморском крае на узкой полоске местообитаний вдоль границы с КНР (Хасанский и частично Надеждинский р-ны с Российской стороны и приграничная территория Китая).

Основой кормовой базы, как леопарда, так и тигра являются копытные. Иногда добычей для тигра становятся гималайские и бурые медведи, случаются нападения тигров на домашних животных (коров, лошадей, собак). В теплый сезон и тигры, и леопарды добывают енотовидную собаку и барсуков, особенно легко доступных весной после зимней спячки. Для сохранения этих уникальных подвидов кошачьих очень важно знать все аспекты их биологии и экологии. Немаловажным аспектом является знание о их возможных инвазионных и инфекционных заболеваниях. Учитывая столь разнообразный рацион питания тигра и леопарда можно

предположить, что они имеют и разнообразную гельминтную фауну.

Целью данной работы является выявить какие гельминтные инвазии характерны для дальневосточного леопарда и амурского тигра, обитающих на территории охотничьего хозяйства Неженское и части заказника Леопардовый.

Общая площадь территории исследования составляет 500 км<sup>2</sup>, большая ее часть располагается на территории Неженского охотничьего хозяйства и частично охватывает территорию заказника Леопардовый, вдоль его границы. На данной территории по итогам последнего фотоучета 2010г. обитает 8 особей тигра и 14 особей ДВ леопарда. На территории исследования находится пять рек первой категории (места нереста лососевых рыб). Для данных исследований послужили фекалии собранные в период с января 2009 г. по январь 2011г. Видовая принадлежность фекалия определялась по характерным следам присутствия хищника: его следы, запаховые метки, поскребы. Фекалии помещались в стерильные контейнеры и замораживались при – 200 С. На контейнерах указывали дату сбора, видовую принадлежность и координаты места сбора. Всего было собранно за данный период времени 109 фекалий. Из них от ДВ леопарда 71, и от амурского тигра 38. Для нахождения яиц в фекалиях был применён метод Фюллеборна. Он характеризуется простотой выполнения и высокой эффективностью при большинстве нематодозов и цестодозов животных, и в меньшей степени при трематодозах. В стеклянный стаканчик ёмкостью 50-100 мл помещали 3-5г фекалий. Потом постепенно добавляли насыщенный раствор поваренной соли и тщательно перемешивали стеклянной палочкой до однородной смеси. Крупные частицы сразу удаляли палочкой. С каждого контейнера делали три таких пробы. После отстаивания проб в течение 45-60 минут медной петелькой снимали три капли поверхностной плёнки, помещали на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и просматривали под микроскопом при увеличении в 5, 10, 40 раз. После каждой пробы петлю промывали в стакане с водой.

В результате проведённых исследований у амурского тигра были обнаружены яйца круглых червей - *Toxacara mystas*, *Capillaria*

*plica*, *Uncinaria stenocephala*, яйца цестод – *Taenia* sp., и яйца трематод – *Nanophyetus* sp. Все обнаруженные виды гельминтов, кроме капиллярии паразитируют в тонком кишечнике. Капиллярия паразитирует в мочевом пузыре. Из 38 собранных фекалий от тигра, каждый 2-ой содержал яйца гельминтов. Если в данной местности обитает всего 8 особей амурского тигра, то 5 из них являются заражёнными. В 83% в фекалиях встречаются яйца *T.mystas*, в 13% яйца *C.plica*, в 8% яйца *Nanophyetus* sp. и всего в 4 % яйца *U.stenocephala* от числа заражённых фекалий. В 2 образцах были обнаружены яйца *T. mystas* и *Nanophyetus* sp., и в одном образце – *T.mystas* и *C. plica*. Наибольшая заражённость амурского тигра наблюдалась в 2010 г., из 29 образцов фекалий, собранных за этот год, 18 содержали яйца гельминтов, что составляет 62 %.

В фекалиях ДВ леопарда были обнаружены яйца нематод – *T.mystas*, *C.plica*, *U. stenocephala* , яйца цестод – *Diphyllobothrium* sp., и яйца трематод – *Nanophyetus* sp. Из 71 собранного фекалий, так же каждый 2-ой образец содержал яйца гельминтов. Таким образом, из 10 особей ДВ леопарда, обитающих на данной территории, 7 являются заражёнными. Из 46 заражённых фекалий в 70% фекалий были найдены яйца *T. mystas*, в 41% - яйца *Nanophyetus* sp., в 13% - яйца *C. plica* и только в 2% яйца *U. stenocephala* и *Diphyllobothrium* sp. Кроме того в 9 образцах фекалий были обнаружены яйца *T.mystas* и яйца *Nanophyetus* sp., в 2 образцах – яйца *T. mystas* и *C. plica*, и только в одном образце – *T. mystas* и *U. stenocephala*. Заражённость ДВ леопарда остаётся высокой за весь наблюдаемый период. Так в 2009 году из 39 полученных образцов, в 25 были обнаружены яйца гельминтов, что составляет 64%, а 2010 г., из 32 образцов фекалий, 22 содержали яйца гельминтов - 69 %.

Таким образом, дальневосточный леопард более заражён, чем амурский тигр. Кроме того можно с определённой долей вероятности утверждать, что в осенне-зимний период он использует в качестве источника питания пресноводную и проходную рыбу, которая заходит в реки данного района. Хотя необходимо дополнительные исследования в этой области.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ВАЛОВЫХ ФОРМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ ПАРКА ИМ. МУРАВЬЕВА- АМУРСКОГО Г. ХАБАРОВСКА**

Зайцева Ю.Б. (студентка)<sup>1</sup>, Соловьев Д.А. (магистрант)<sup>1</sup>,  
Росликова В.И. (ст. н.с.)<sup>2</sup>, Матвеевко Т.И. (доцент)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Тихоокеанский государственный университет,*

<sup>2</sup>*Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, г. Хабаровск  
matveenkoti@mail.ru*

Почвенный покров играет барьерную роль на пути проникновения тяжелых металлов в биологические объекты. Поступление поллютантов в окружающую природную среду ведет к их накоплению в почве. Большое значение имеет не только содержание, но и формы элементов в почве, так как они различны по степени доступности для растений и могут находиться в малоподвижной и подвижной или растворимой форме. Малоподвижны тяжелые металлы в химических соединениях с другими элементами и органической частью, наиболее подвижны на малогумусных кислых почвах легкого гранулометрического состава с малой емкостью катионного обмена и низкой буферностью [1]. Почва проявляет свои буферные свойства, переводя водно-растворимые соединения металлов в труднорастворимые формы, а труднорастворимые в более мобильные. Валовое количество тяжелых металлов характеризует общую загрязненность почвы. В естественных незагрязненных почвах валовое содержание элементов обусловлено их присутствием в материнской породе и определяется генезисом, петрохимией, фаціальными различиями материнского субстрата и процессами почвообразования (рис. 1). Кроме того, содержание элементов в почве связано с реакцией среды, содержанием в почве органического вещества, биологическим круговоротом элементов в почвенно-грунтовой среде и с неоднородностью видового состава растительного покрова [5].

В настоящее время, несмотря на большое количество данных по проблеме накопления тяжелых металлов в почве, изучению их общего (валового) содержания уделяется недостаточно внимания не только в работах отечественных, но и зарубежных ученых.

Целью работы явилось исследование закономерностей

распределения валовых форм тяжелых металлов в почвах парковой зоны стадиона им. Ленина и Центрального парка культуры и отдыха (ЦПКиО). Задачей – выявление содержания поллютантов в почвенном покрове. Объектом исследования послужил почвенный покров парка им. Муравьева-Амурского г. Хабаровска, который представлен буроземами преобразованными, стратоземами, реплантоземами, конструктороземами и др.. Определение валовых форм тяжелых металлов в почвенных образцах проводилось методом рентгено-флуоресцентной спектрометрии.

Парк им. Муравьева-Амурского располагается на 2х инженерно-геологических районах:

1-й район (территория стадиона им. Ленина) – террасовидная равнина высокой и низкой поймы и разновозрастных озерно-аллювиальных надпойменных террас р. Амур и его притоков;

2-й район (Центральный парк культуры и отдыха) – холмисто-увалистая поверхность, развитая на элюво-делювии и скальных осадочно-вулканогенных образованиях [4].

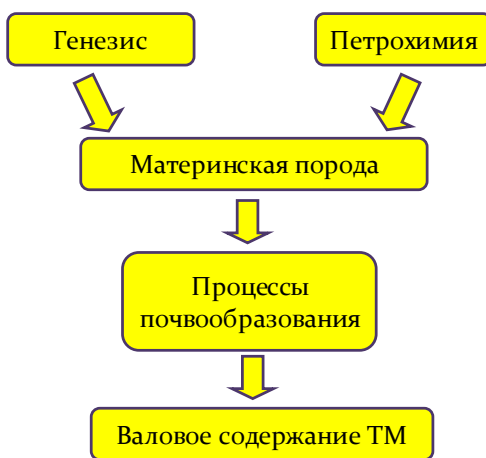


Рисунок 1. Факторы, влияющие на валовое содержание элементов в почвах.



Содержание валовых форм марганца на исследованной территории варьировало в широких пределах от 558,67 до 1273 мг/кг (рис. 2), при среднем значении 784,21 мг/кг и не превышало ПДК (1500 мг/кг). Его среднее значение несколько выше, чем в черноземах (775 мг/кг) [2]. Распределение марганца в почвенном покрове парка относительно равномерное, максимальное его значение наблюдается в Т.4, что возможно связано с подкормкой газонов удобрениями.

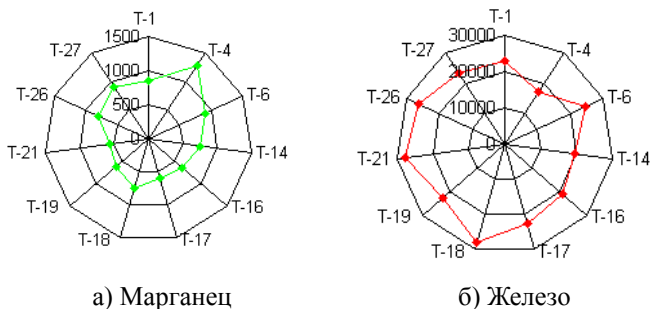


Рисунок 2. Валовое содержание марганца и железа в почвенном покрове парка им. Муравьева-Амурского, мг/кг.

Концентрация железа в почвах парка (рис. 2) колеблется от 16881,33 до 28247 мг/кг (среднее значение – 23283,18 мг/кг), что ниже его содержания в осадочных породах (глинах и сланцах) – 33300 г/т.

Содержание цинка в почвах на исследованной территории варьирует от 54,5 до 187,67 мг/кг (среднее значение 104,39 мг/кг), что несколько ниже ПДК (110 мг/кг). Обнаруженные концентрации валовых форм цинка выше, чем в дерново-подзолистых почвах Московской области – 10 мг/кг.

Количество валовых форм свинца в районе парка составляет от 28,5 до 86,67 мг/кг (среднее – 44,35 мг/кг) (рис. 3) и превышает ПДК (32 мг/кг) [3] в 1,4 раза. Дерново-подзолистые почвы Московской области содержат свинца 8 мг/кг.

Максимальное количество цинка и свинца (рис. 3) обнаружено в Т.14 и Т.27 – местах понижения рельефа.

Полученный материал позволяет сделать заключение о том, что

содержание валовых форм железа и марганца относительно равномерно распространено на территории парка. Отмечается накопление цинка и свинца в точках понижения рельефа. Прослеживается следующее количественное распределение элементов в почвах парка:  $Fe > Mn > Zn > Pb$ .

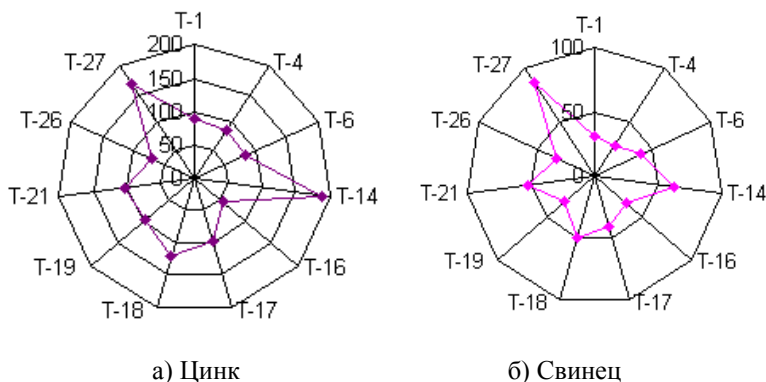


Рис. 3. Количество валовых форм цинка и свинца в почвах парка им. Муравьева-Амурского (мг/кг).

#### Литература:

1. Овчаренко М.М. Тяжелые металлы в системе почва-растение-удобрение. М.: Высшая школа, 1997. 290 с.
2. Ильин В.Б. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 229 с.
3. Перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно допустимых количеств (ОДК) химических веществ в почве: ГН 6229-91. Введ.1991.11.19. М., 1992. 6 с.
4. Подгорная Т. И., Росликова В. И. Влияние техногенных геологических процессов на современное почвообразование в городах Дальнего Востока. Владивосток, 1999. 72 с.
5. Черных Н. А. Экологический мониторинг токсикантов в биосфере: Монография. М.: Изд-во РУДН, 2003. 430 с.

## СТРУКТУРА ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ЛАЗОВСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Зинадшина Е.И. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*elenazinadhsina@gmail.com*

Территория заповедника располагается на южных отрогах Сихотэ-Алиня и занимает вытянутый в меридиональном направлении хребет Заповедный. Хребет делит охраняемую территорию на две части: северную континентальную и южную приморскую. Сильнопоресеченный рельеф и большая крутизна склонов характерна для большей части территории Лазовского района. По величине и режиму увлажнения материковая часть территории Лазовского заповедника, расположенная северо-западнее хребта Заповедный, относится к гидроклиматическому району избыточного увлажнения, а приморская - к району оптимального увлажнения. Общие особенности климата заповедника определяются, прежде всего, близостью моря. Климат заповедника носит типично муссонный характер, проявляющийся в смене направлений воздушных потоков летом и зимой. Сильнопоресеченный рельеф, влияние моря определяют своеобразную смену климатических условий, как в горизонтальном, так и в вертикальном направлении. На территории заповедника явно выделяют две климатические микрозоны: прибрежная и континентальная. Лазовский заповедник охватывает как прибрежную, так и континентальную часть, что обуславливает различные климатические условия, в которых формируются почвы.

Актуальность работы заключается в исследовании ненарушенного почвенного покрова Лазовского заповедника в частности его почвенной структуры, что важно для определения фоновых параметров почв. Новизна работы заключается в том, что почвенный покров Лазовского заповедника не был детально исследован. Здесь нет рекреационных нагрузок и это территория зональных почв.

Цель: изучение структуры почвенного покрова (СПП) территории Лазовского заповедника.

Задачи:

- выделить элементарные почвенные ареалы (ЭПА) на ключевых участках, отражающих типичный почвенный покров прибрежной и континентальной частей Лазовского заповедника;

- дать характеристику СПП почвенного покрова на примере ключевых участков, используя качественные показатели СПП: количество и площадное распределение ЭПА, коэффициент контрастности, коэффициент неоднородности, индекс дробности, индекс сложности, коэффициент расчленения, КДПП;

- проанализировать, как изменяется структура почвенного покрова прибрежной и континентальной частей Лазовского заповедника в зависимости от изменения критерия контрастности.

Чтобы отразить весь почвенный покров мы взяли два ключевых участка: Участок №1. Склон сопки с высотой 470 м бассейна р. Прямушка (континентальная часть). Расположен в материковой части Лазовского заповедника, падь Корейская, бассейн р. Прямушка, нижняя треть склона восточной экспозиции. Широколиственный лес, сомкнутость крон 70 %. Растительность: в древесном ярусе преобладает клён, кустарничковый ярус представлен леспедацией, чубушником, лимонником. Почвенный покров склона представлен буроземом типичным, крайнемелким, мелким и среднемелким, легкосуглинистым со среднеразвитым профилем на делювии гранодиоритов.

Участок № 2 Расположен на территории бассейна р. Проселочная (падь Проселочная), склон г.Туманная, в нижней трети склона сопки северной экспозиции. Растительность: дубняк разреженный без подлеска, мертвопокровный, единично осока.

В данной работе мы используем весовой и натурный методы выявления СПП. К ним относится метод исследований ключевых участков. Все методы натурального (полевого) выявления СПП требуют закладки большого количества почвенных выработок, в результате чего они очень трудоемки и не позволяют охватить большие территории. Однако метод ключевых участков удобен тем, что позволяет получить количественные показатели для основных характеристик структур: состава и соотношения площадей почв-компонентов, коэффициента

дробности, коэффициента расчлененности, коэффициента сложности, коэффициента контрастности, коэффициента неоднородности.

Участки размером 50 м x 50 м, почвенные прикопки производились через каждые 1 м по периметру участка и по двум диагоналям внутри участка.

Сравнивая участки континентальной части и прибрежной части заповедника (табл.1), мы находим существенные различия в микрорельефе. В континентальной части он более разнообразен, здесь много микрозападин, в которых скапливается больше опада, вследствие чего мощность гумусового горизонта больше. В напочвенном покрове в континентальной части количество видов растений больше и почвенный покров более неоднороден, в отличие от прибрежной части, где растительность выражена мертвопокровным дубняком. На первом участке (континентальная часть) количество ЭПА и средняя площадь практически одинаковы; второй участок (прибрежная часть) отличается довольно существенно, потому что расположен в прибрежной части (различия в микроклимате, растительности, рельефе). Количество ЭПА второго участка больше в два раза, чем на первом участке, а средняя площадь в два раза меньше. Это объясняется тем, что первый участок однороден по почвенному покрову, в континентальной части более интенсивно проходят микробиологические процессы из-за более разнообразной растительности, состоящей из хвойно-широколиственных пород, в отличие от второго участка, находящегося в прибрежной части, которую занимает в основном мертвопокрытый дубняк (плохо разлагающийся опад). Месторасположение участка на склоне и отсутствия кустарничкового яруса, определяет малую мощность гумусового горизонта.

Коэффициент дробности участка № 2 (прибрежная часть) меньше в два раза по сравнению с участком в континентальной части вследствие меньшей средней площади отдельных ЭПА и их большего количества.

По величине коэффициента расчленения все контуры можно разделить на нерасчленённые ( $KP < 2$ ), слаборасчленённые ( $4 > KP > 2$ ),

среднерасчленённые ( $4 < KP < 6$ ), и сильно расчленённые ( $KP > 6$ ). На этих двух участках коэффициенты расчленения приблизительно равны. Так как значения этого коэффициента варьируют от 0,007- 0,009, то есть относятся к нерасчленённым, то это говорит о том, что исследуемые ареалы почв внутри ключевых участков мало изрезаны.

Таблица 1

Количественные показатели СПП ключевых участков  
Лазовского заповедника

Показатель	Участок	
	Континентальная часть	Прибрежная часть
Количество ЭПА, n	5	9
Средняя площадь (So)	0,05	0,03
Коэф-т расчленения почвенных контуров	0,009	0,007
Коэф-т сложности почвенного покрова	0,18	0,23
Коэф-т контрастности почвенного покрова	по наличию-отсутствию подгоризонта АВ 8,7	по мощности гумусового горизонта 4,15
Индекс неоднородности почвенного покрова	1,5	0,9
КДПП (Коэф-т классификационной дифференциации почвенного покрова)	0,5	0,2
Индекс дробности	20	8,3

Коэффициент сложности участка в прибрежной части почти в два раза превышает показатели второго участка (в континентальной

части), так как он зависит от коэффициента расчленения и средней площади (которая на этом участке минимальна). Следовательно, чем меньше средняя площадь, тем выше коэффициент сложности.

Коэффициент контрастности почвенного покрова по мощности гумусового горизонта в континентальной части выше в 1,5 раза, чем в прибрежной. Так как этот коэффициент зависит от количества и средней площади ЭПА: чем выше коэффициент контрастности, тем меньше количества ЭПА и больше средняя площадь ЭПА.

Коэффициент неоднородности величина производная, то есть она напрямую зависит от коэффициента контрастности и от коэффициента сложности. Для участков континентальной и прибрежной частей этот коэффициент не отличается.

Коэффициент классификационной дифференциации почвенного покрова (КДПП) характеризует степень различия компонентов почвенного покрова участков и зависит от классификационной принадлежности почв, то есть рассматриваются таксономические единицы от типа до разряда (6 таксономических единиц). На уровне типа и подтипа участки одинаковы, на уровне рода мы не смогли определить классификационную принадлежность, на уровне вида есть отличия внутри участка - он делится на крайнемелкий, мелкий и среднемелкий, по разновидности - (по гранулометрическому составу) легкосуглинистые, на уровне разряда - со среднеразвитым профилем. КДПП на первом участке равен 0,6, что говорит о довольно высоком различии компонентов почвенного покрова на данной территории, а вот на втором участке он меньше почти в три раза и равен 0,2, что свидетельствует о слабом различии компонентов участка.

При сравнении участков, расположенных на территориях с отличающимися почвообразующими факторами мы выявили, что в прибрежной части коэффициент дробности, КДПП и средняя площадь в два раза меньше, а коэффициент сложности в два раза больше. Примерно одинаковы коэффициент расчленения и неоднородности.

## **АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У РАЗНЫХ ВИДОВ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИИ ГИПОКСИИ/АНОКСИИ**

Истомина А.А. (аспирант), Довженко Н.В. (н.с.), Бельчева Н.Н. (в.н.с.)  
*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,  
г. Владивосток  
s-istomina1@mail.ru*

Растворенный кислород является одним из важнейших экологических факторов влияющим на распространение и жизнедеятельность морских организмов. Водные беспозвоночные постоянно сталкиваются с условиями недостатка кислорода, вследствие чего им свойственны определенные адаптационные механизмы, позволяющие выжить в этих условиях.

Имеются убедительные данные, свидетельствующие о том, что изменение кислородного режима организма приводит к активации свободно-радикальных процессов: при гипоксии/аноксии – вследствие избытка электронов, при реоксигенации – в результате избытка их акцепторов ( $O_2$ ). По сути, при действии гипоксии/аноксии и последующей реоксигенации возникает одно и тоже явление – усиление продукции активных форм кислорода (АФК) или окислительный стресс.

В результате интенсивной хозяйственной деятельности происходят изменения в гидрохимическом режиме прибрежных вод, что приводит к возникновению таких нежелательных явлений как эвтрофикация и гипоксия. Вследствие этого определенный интерес вызывают биохимические механизмы адаптации морских организмов к бескислородным условиям. Среди них особое внимание уделяется антиоксидантной (АО) защитной системе, представленной ферментами и низкомолекулярными компонентами. Под воздействием неблагоприятных внешних факторов, в том числе и при гипоксии, концентрация АФК возрастает и, при определенных условиях, может превысить способность защитной антиокислительной системы противостоять разрушительному действию этих реактивных молекул.



Поэтому изменения в эндогенном уровне любого звена АО системы принято использовать в качестве удобных индикаторов, указывающих на подверженность организма к окислительному стрессу.

В данной работе на 5 видах моллюсков, которые различаются условиями существования, исследовалась активность трех антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионредуктазы (ГР)) в условии гипоксии/аноксии. Цель данного исследования состояла в выявлении особенностей изменения уровней антиоксидантных ферментов у моллюсков на гипоксию/аноксию.

В работе были использованы двусторчатые моллюски – мактра сахалинская (*Spisula sachalinensis*), мидия Грея (*Crenomytilus grayanus*), приморский гребешок (*Mizuhopecten yessoensis*) и брюхоногие моллюски – литторина маньчжурская (*Littorina mandschurica*), тегула простая (*Tegula rustica*). Экспериментальную аноксию создавали при выдерживании моллюсков *S. sachalinensis* и *C. grayanus* на воздухе с принудительно сомкнутыми створками раковин в течение 24 часов, *M. yessoensis* выдерживали на воздухе в течение 20 часов, *L. mandschurica* и *T. rustica* выдерживали на воздухе в течение 30 часов. Для определения биохимических параметров использовали ткань гепатопанкреаса.

Таблица построена на основе цифровых данных, которые представляли собой среднее значение для четырех серий экспериментов  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm m$ ). О достоверности изменений исследуемых параметров судили по различиям средних значений, используя критерий Стьюдента. В расчетах был принят 5% уровень значимости.

Результаты экспериментов показали, что при гипоксии/аноксии не наблюдалось однотипного изменения активности антиоксидантных ферментов для всех видов моллюсков. Можно выделить 3 способа изменения активности (реагирования) антиоксидантных ферментов при гипоксии/аноксии: 1) активация, 2) нет изменений, 3) ингибирование.

Таблица 1

Достоверные изменения в активности антиоксидантных ферментов при гипоксии/аноксии в тканях гепатопанкреаса моллюсков

Исследуемый вид	Время на воздухе, часы	СОД	КАТ	ГР
<i>Spisula sachalinensis</i>	24	↑	↓	↑
<i>Crenomytilus grayanus</i>	24	↔	↔	↔
<i>Mizuhopecten yessoensis</i>	20	↓	↔	↓
<i>Littorina mandschurica</i>	30	↑	↔	↑
<i>Tegula rustica</i>	30	↔	↔	↑

Примечание: ↑ - увеличение активности фермента, ↓ - снижение активности фермента, ↔ - нет изменений в активности фермента.

Первый способ реагирования (активация) наблюдался у *S. sachalinensis* и *L. mandschurica*. Данные виды отличались от остальных повышением активности СОД (в 3 и 2 раза, соответственно) и ГР (в 2 и 1.5 раза, соответственно). По-видимому, особые условия существования этих видов являются причиной усиления продукции АФК в тканях гепатопанкреаса. Так, мактра сахалинская, закапывается в грунт, для которого характерно более высокое содержание токсических ароматических углеводородов и тяжелых металлов по сравнению с водой. А литторина маньчжурская подвержена постоянному ежедневному изменению условий обитания, что связано с фазами прилива и отлива. Вероятно, процесс активации активности антиоксидантных ферментов при гипоксии/аноксии у данных видов

протекает на основе способности быстро реагировать на повышенную индукцию АФК.

Второй способ реагирования (нет изменений) наблюдался у *S. grayanus* и *T. rustica*, у которых активность ферментов оставалась неизменной при гипоксии/аноксии. По-видимому, мидия Грея и тегула простая эволюционно адаптированы к более постоянным условиям существования и не способны к быстрому изменению уровня антиоксидантных ферментов. Возможно также, что в тканях этих моллюсков при временных стрессовых условиях задействованы, главным образом, низкомолекулярные компоненты антиоксидантной защиты.

Третий способ реагирования (ингибирование) наблюдался у *M. yessoensis* – активность ферментов СОД и ГР была подавлена на 25% и 30%, соответственно. Приморский гребешок является стенооксифильным, чувствительным к недостатку кислорода видом, обитающим в относительно стабильных условиях на сублиторали и в случае пагубных условий, например при гипоксии/аноксии, может уходить в более благоприятные места. Возможно, что у приморского гребешка по сравнению с другими исследованными нами видами антиоксидантные ферменты оказались менее устойчивыми к изменению внутриклеточной среды при гипоксии/аноксии.

В целом наш эксперимент подтвердил возможность использования антиоксидантных ферментов в качестве биохимических маркеров стрессового воздействия, в частности гипоксии/аноксии. Обнаруженные нами видовые различия в реагировании антиоксидантных ферментов на условия гипоксии/аноксии, возможно, связаны с особенностями их условий существования.

## **ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН СИЛИКАТЕИНА МОРСКОЙ РОГОВОЙ ГУБКИ**

### ***LATRUNCULIA OPARINAE***

Каменев Д.Г. (студент)

*Школа естественных наук, ДВФУ*

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток*

*salieri.05@mail.ru*

В последнее время интенсивно изучаются свойства природных нанокремниевых структур, таких как створки диатомовых водорослей и спикулы губок. Это обусловлено тем, что современные способы получения разнообразных кремниевых структур основаны на использовании экстремальных значений pH и температуры. В биологических объектах биосиликаты определенной формы формируются в условиях окружающей среды.

Особый интерес вызывают спикулы губок класса Hexactinellida, обладающие необычными физико-химическими свойствами: спикулы хорошо пропускают свет в видимом и ближнем ИК-диапазоне спектра электромагнитного излучения и, при модуле Юнга материала близким к плавленому кварцу, обладают повышенной гибкостью, в сравнении с промышленными кварцевыми волоконными световодами.

Настоящие спикулы при длине от 5 до 500 мкм представляют собой новый вид природных биоминеральных фотонных кристаллов. В конце XX века было установлено, что процесс биосилификации, ведущий к формированию спикул у губок, контролируют белки-гомологи цистеиновых протеаз, катепсинов, семейства L. Эти белки получили название силикатеины. В каталитическом центре этих белков происходит полимеризация соединений кремния. Было показано, что белок силикатеина, как выделенный из спикулы, так и рекомбинантный, способен конденсировать молекулы предшественника – тетраэтоксисилана (TEOS), с образованием кремниевых наноструктур определенной формы в обычных условиях *in vitro*. На сегодняшний день найдено множество применений кремниевым структурам, которые возможно получить таким способом. Но получение белка силикатеина непосредственно из губок весьма трудоемко и возможно лишь в лабораторных условиях. Кроме того, ткани морских организмов очень требовательны к составу питательных сред, а также плохо переходят в культуру. Использование прокариот для получения рекомбинантных белков неприемлемо, поскольку в клетках бактерий невозможны постраницационные модификации, необходимые для созревания силикатеина. Клетки растений, и в частности табака лишены этих недостатков.

Биотехнологический путь синтеза силикатеина на сегодняшний день является наиболее приемлемым способом получения этого белка. Кроме этого, фундаментальные процессы биосилификации до сих пор не выяснены, и изучение функционирования силикатеина в растениях может быть полезно для понимания механизма образования упорядоченных кремниевых структур *in vivo*.

Целью данной работы являлось получение растений табака *Nicotiana tabacum*, экспрессирующих ген силикатеина LoSilA1 морской роговой губки *Latrunculia oparinae*. В задачи исследования входило: получение трансгенной клеточной культуры табака, селекция этой культуры, регенерация растений, селекция растений и доказательство экспрессии гена силикатеина.

Всего было получено пять клонов растений, содержащих ген силикатеина, клоны растений, содержащих ген силикатеина, слитого с геном GFP и клоны растений, трансформированные только геном GFP. Для селекции все растения были пересажены на среды содержащие антибиотики (рис. 1). Из растений, прошедших селекцию была выделена РНК, для получения кДНК. Электрофорез продуктов полимеразной цепной реакции с праймерами на ген силикатеина, показал, что клоны 1, 3, а так же 4 и 5 являются трансгенными (рис. 2).

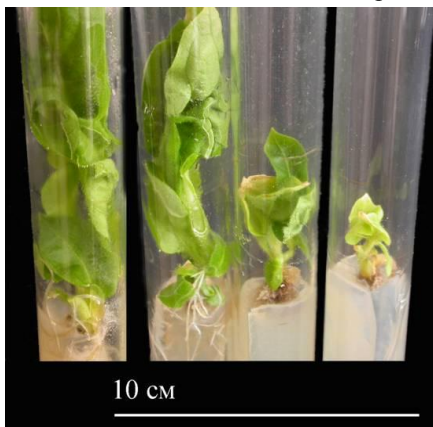


Рисунок 1. Регенеранты. Слева направо: Контроль, Sil, Sil 250 mg/l Km, Sil 500 mg/l Km.

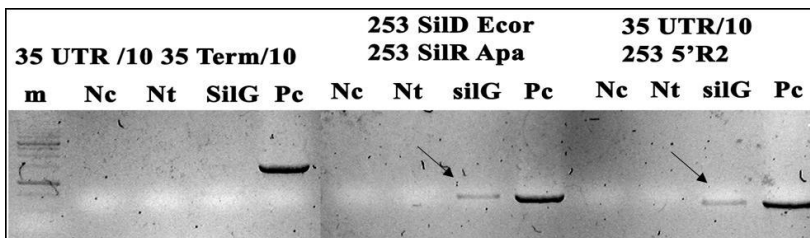


Рисунок 2. Электрофореграмма амплифицированной кДНК, доказывающая трансгенность культур (стрелкой отмечены полосы, свидетельствующие об экспрессии гена силикатеина).

В контрольных культурах сигнал отсутствует. В первой части электрофореграммы сигнал отсутствует, поскольку терминатор не транскрибируется, а значит, не содержится в РНК и кДНК. Кроме того, трансгенность была подтверждена детекцией свечения GFP методом конфокальной микроскопии. Морфологически, трансгенные растения ничем не отличались от контрольных. Не было замечено никаких изменений в скорости роста или корнеобразования. Наибольшая экспрессия гена наблюдалась в первом клоне, который был выбран для исследований. Существует гипотеза, что силикатеин может придавать устойчивость к различным абиотическим факторам, таким как изменение температуры, или повышенное содержание солей в почве. Для выяснения влияния гена необходимы дальнейшие эксперименты на растениях, выращенных в почве, а так же на растениях, выращенных из семян.

## ВЫЯВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА УЧАСТКОВ 12S/16S МТДНК В ВЫБОРКАХ МОРСКИХ ОКУНЕЙ РОДА *SEBASTES: SEBASTES TACZANOWSKII* И *S.OWSTONI*

Катугина А.О. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*a.a.s.b@mail.ru*

Подсемейство Sebastinae (морские окуни и шипошки) включает в себя около 120 видов. Условия обитания морских окуней и шипошечков в Северной Пацифике весьма разнообразны, с чем связаны

различия в распространении, распределении, биологии и промысловой значимости отдельных видов (Снытко, 2001). В последние годы популяционную структуру окуней подробно исследуют с помощью молекулярно-генетических методов. В результате между отдельными видами морских окуней из различных регионов были обнаружены существенные различия. Это позволило сделать ряд важных выводов о популяционной организации некоторых видов и филогенетических отношениях между разными видами морских окуней. Методы молекулярно-генетического анализа позволяют решать такие вопросы, как идентификация видов близнецов, выявление и точное определение видов на ранних онтогенетических стадиях, когда межвидовые морфологические различия не выражены. Большинство молекулярно-генетических работ по морским окуням Северной Пацифики проведено на видах из восточной части Берингова моря и залива Аляска, в то время как морские окуни из северо-западных районов Северной Пацифики в этом отношении практически не изучены.

Целью данной работы было выявление молекулярно-генетической изменчивости и нахождение показателей генетического разнообразия в выборках двух видов морских окуней рода *Sebastes* (*S.taczanowskii* и *S.owstoni*) на основании анализа участков 12s/16s мтДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим выявлением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Было проведено выделение тотальной ДНК у 125 особей пяти видов рода *Sebastes* и одного вида рода *Sebastolobus*. Были подобраны условия и проведена амплификация фрагмента 12s/16s двух видов морских окуней: *S.taczanowskii* и *S.owstoni*. При обработке амплифицированного участка 12s/16s рестриктазами *HhaI* и *Bsu* у *S.owstoni* было выявлено по два гаплотипа для каждой эндонуклеазы. Определены размеры фрагментов для всех четырех выявленных гаплотипов *S.owstoni*. Так же были определены размеры фрагментов у *S.taczanowskii*: для каждой рестриктазы было выявлено по одному гаплотипу. На основе полученных данных выявлена внутривидовая гаплотипическая изменчивость у *S.owstoni*.

## **ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТЬЕВЫХ ВОД Г. УССУРИЙСКА ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ ПОЛНОЦЕННОСТЬ**

Ключников Д.А. (ассистент)

*Уссурийский государственный педагогический институт, г. Уссурийск  
klyuchnikov\_da@mail.ru*

Обеспечение населения России питьевой водой является для многих регионов страны одной из приоритетных проблем, решение которой необходимо для сохранения здоровья, улучшения условий деятельности и повышения уровня жизни населения [7]. Однако крайне сложное социально-экономическое положение ряда регионов не только приводит к ухудшению условий жизни многих категорий населения, но и служит потенциальной причиной отрицательного воздействия на окружающую среду и здоровье населения [4, 7].

К числу важнейших факторов охраны здоровья относится обеспечение населения доброкачественной питьевой водой. Питьевая вода является одним из главных факторов окружающей среды, который может оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на здоровье населения. Определение местных особенностей состава питьевой воды необходимо для разработки профилактических мероприятий [6].

За последние годы ситуация с состоянием поверхностных и подземных источников централизованного и децентрализованного водоснабжения и качеством воды в местах водозабора в г. Уссурийске существенно не изменилась и остается неудовлетворительной.

Хозяйственно-питьевое водоснабжение г. Уссурийска осуществляется в основном по централизованному типу, охвачено 93 % населения, 7 % населения используют воду хозяйственно-питьевого назначения из децентрализованных водоисточников.

Качество водопроводной воды определяется качеством исходной воды источников, эффективностью очистки и обеззараживания, а также степенью износа водопроводных сетей, способствующей вторичному загрязнению. Для определения роли водного фактора в



состоянии здоровья населения г. Уссурийска была проведена оценка качества питьевой воды из водопроводов и источников нецентрализованного водоснабжения.

Оценка состояния источников питьевого водоснабжения проводилась по показателям, характеризующим физиологическую полноценность питьевых вод: общая минерализация, жесткость, калий, магний, сульфаты, хлориды.

Критерий «физиологической полноценности» определяется необходимостью обеспечения организма необходимыми в физиологическом отношении макро- и микроэлементами в оптимальных количествах (то есть не только максимально допустимых, но также минимально необходимых уровней содержания их в питьевой воде). Критерий физиологической полноценности - это своего рода «диапазон полезности».

Для определения степени физиологической полноценности проведена сравнительная оценка минерализации, содержания биогенных макро- и микроэлементов в питьевой воде водопроводов и в воде общественных колодцев города.

Данные представлены в таблице 1. Питьевая вода коммунального водопровода по показателю общей жесткости и минерализации характеризуются как средне жесткая и пресная, что соответствует оптимальному содержанию физиологически полноценной питьевой воды. Высокие значения жесткости и минерализации отмечены в общественных колодцах и скважинных водозаборах. Статистическими исследованиями установлено и экспериментально подтверждено влияние жестких вод на частоту возникновения мочекаменной болезни [2].

Гигиеническая оценка химического состава питьевой воды по содержанию макрокомпонентов показала, что содержание хлоридов в водопроводной воде и скважинных водозаборов находится ниже минимального порога оптимальной нормы.

Таблица 1

## Показатели состава питьевых вод в г. Уссурийске

Показатели	Коммуналь- ный водопровод	Колодец № 1	Скважина №1	Нормативы
Жесткость, мг-экв/л	6,8-7,2	2,8-13,7	4,4-11,8	1,5-7
Общая минерализа ция (сухой остаток), мг/л	154,3-257,7	220,3-1180,5	290,2-1100,0	100-500
Хлориды (CL <sup>-</sup> ), мг/л	39,7-45,6	64,5-83,5	57,7-79,8	70-100
Сульфаты (SO <sub>4</sub> 2 <sup>-</sup> ), мг/л	5,1-24,4	25,7-125,5	9,4-142,5	5-30
Кальций Ca <sup>2+</sup>	28,0-31,0	7,6-42,5	9,8-123,0	25-130
Магний Mg <sup>2+</sup>	9,4-36,3	7,1 -24,9	5,4-24,3	5-65

Концентрация хлоридов в колодцах общего пользования на протяжении всего времени исследования не превышала физиологическую норму. Установлено, что хлориды определяют совокупность находящегося в теле хлора, который способствует поддержанию кислотно-щелочного баланса жидкостей и играет важную роль при производстве желудочной кислоты. По содержанию сульфатов наблюдались кратковременные сезонные превышения нормативов в общественных колодцах и скважинных водозаборах. При повышенном содержании сульфатов в воде, нарушается функция системы пищеварения [5].

Особое значение для организма человека имеют ионы кальция [3], как основной структурный компонент в формировании опорных

тканей. Низкие концентрации кальция отмечены в децентрализованных источниках водоснабжения, что не соответствует физиологической норме. Недостаток в организме кальция ведет к остеопорозу, вызывает учащение сердечного ритма и повышение кровяного давления, а недостаток его в водном обмене ведет к отекам.

Вторыми по значимости для организма человека являются ионы магния [6]. Они активно участвуют в обменных реакциях, в построении ряда ферментных систем, необходимы для осуществления гексокиназной реакции, т.е. для фосфорилирования глюкозы и использования ее клетками организма. Во всех исследованных нами источниках питьевого водоснабжения содержания магния находятся в пределах физиологического оптимума.

Таким образом, установлено, что воды централизованного водоснабжения физиологически полноценнее, чем источники децентрализованного водоснабжения.

Известно, что недостаток поступления необходимых минеральных веществ в организм человека может привести к развитию полигипомакро- и микроэлементозов [2, 8]. Для восполнения дефицита минеральных веществ при употреблении питьевых вод из источников децентрализованного водоснабжения, необходимо потребление питьевых вод расфасованных в емкости: доочищенные из водопроводной сети, кондиционированные, добываемые из подземных водоисточников, а также минеральные питьевые природные столовые воды, реализуемые в розничной торговой сети города.

#### Литература:

1. Вода. Санитарные правила, нормы и методы безопасного водопользования населения. Сборник документов. 2-е издание, переработанное и дополненное. /Составители: Ю.А.Рахманин, З.И.Жолдакова, Г.Н.Красовский. М.: «ИнтерСЭН», 2004. 768 с.
2. Волкотруб Л.П., Андропова Т.В. // Гигиена и санитария. 2001. №3. С. 57-61.
3. Информационное письмо о списке приоритетных веществ, содержащихся в окружающей среде, и их влиянии на здоровье населения. М., 1997.

4. Лопатин С. А. Современные проблемы водоснабжения мегаполисов и некоторые перспективные пути их решения / С. А. Лопатин, В.И. ННарыков, К.К. Раевский и др. //Гигиена и санитария. – 2004. № 3. С. 19–24.
5. Петровский К.С., Ванханен В.Д. Гигиена питания. М., Медицина, 1982.
6. Руководство по контролю качества питьевой воды. Т. 1. Рекомендации Всемирной организации здравоохранения, Женева, 1994, 256 с.
7. Проблемы обеспечения населения Приморского края питьевой водой и пути их решения. Региональная целевая программа «Обеспечение населения Приморского края питьевой водой». Владивосток: Дальнаука, 2000.
8. Эльпинер Л.И. Вода, которую мы пьем. М., Знание, «Человек и природа», 1985. С. 31-50.

**ВИДОВОЙ СОСТАВ, ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ  
И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МОКРИЦ  
(ISOPODA, ONISCIDEA) НА ПОБЕРЕЖЬЕ БУХТЫ КИЕВКА  
ЯПОНСКОГО МОРЯ**

Коленко П.И. (школьник), Петрова Е.А. (аспирант)  
*Средняя общеобразовательная школа №65,  
Школа естественных наук, ДВФУ, г.Владивосток  
crossroads3000@yandex.ru*

Мокрицы (Oniscidea) представляют собой интересный объект исследований в силу ряда причин. Несмотря на то, что они по числу видов составляют около половины всех известных Isopoda (Головань, 2008), не до конца изучены их видовой состав (в частности, в Приморском крае), особенности биологии и экологии, распространение и приуроченность к определенным местообитаниям (Мартыненко, 2008). В то же время, диапазон местообитаний мокриц достаточно широк и включает, например, такую экстремальную зону, как прибрежная полоса (Головань, 2008). Интерес представляет не только изучение морфолого-этологических адаптаций мокриц к данным условиям обитания, но и возможное использование отдельных

видов этих животных в качестве индикаторов определенных зон и подзон побережья (Dahl, 1952), что позволит более точно установить их границы.

Целью данной работы являлось изучение видового разнообразия, приуроченности к определенным местообитаниям и сезонной динамики численности мокриц в различных местообитаниях побережья бухты Киевка Японского моря.

Материалами в данной работе послужили количественные сборы населения прибрежной полосы бухты Киевка Японского моря, сделанные в период с мая по октябрь 2010 года. Сборы проводились на 3 ключевых участках побережья, отличавшихся по типу грунта, растительным сообществам и т.д. и отражающим разнообразие местообитаний побережья в указанной бухте. Первый ключевой участок располагался возле устья реки Киевка; второй – неподалеку от Морской биологической станции ДВФУ «Заповедное», на острове Втором; третий – в 300 м к северо-востоку от озера Чухуненко.

Сборы проводились во всех местообитаниях следующих подзон побережья: верхняя литораль, нижняя супралитораль, верхняя супралитораль, прилегающие наземные местообитания, с площади 1 кв. м, в трех повторностях в пределах одного местообитания. Границы указанных подзон были установлены по критериям, приведенным в работе: Галышева, Коженкова, 2006. Пробы были зафиксированы в 70%-ном спирте. Мокрицы были обнаружены в 150 пробах. Было определено до вида 382 экземпляра мокриц. Была рассчитана средняя численность мокриц в каждом местообитании.

В прибрежной полосе бухты Киевка Японского моря было обнаружено 5 видов мокриц. Можно отметить, что среди них присутствовали как теплолюбивые, так и холодолюбивые виды, что в целом характерно для фауны залива Петра Великого и прилежащих акваторий. Ниже приведен аннотированный список этих видов.

#### 1. Семейство Tylidae, *Tylos granuliferus* Budde-Lund, 1885

Материал: 43 экземпляра.

Распространение в мире: побережье северной части Желтого и

Японского морей (Schmalzfuss, Vergana, 2000). Встречаемость на побережье бухты Киевка: 1 ключевой участок, нижняя супралитораль (со стороны моря и реки), верхняя литораль (со стороны моря).

Сезонная встречаемость: май-сентябрь.

Динамика численности: средняя численность максимальна на верхней литорали со стороны моря в июне (3,33 экз/кв.м), на нижней супралиторали – в июне и августе (3,33 экз/кв.м).

## 2. Семейство Ligiiidae, *Ligia cinerascens* Budde-Lund, 1885

Материал: 102 экземпляра.

Распространение в мире: побережье северной части Желтого и Японского морей, Южно-Курильские острова (Иванова и др., 2006, Brusca et al., 2007). Встречаемость на побережье бухты Киевка: 2 ключевой участок, галечно-песчаная и каменисто-галечная верхняя литораль, галечно-песчаная и каменисто-галечная нижняя супралитораль, галечно-песчаная и каменисто-галечная верхняя супралитораль. 3 ключевой участок, галечно-каменистая нижняя супралитораль.

Сезонная встречаемость: июнь-октябрь (возможно, присутствует в мае, но в связи с условиями сбора в мае не были взяты пробы на втором участке).

Динамика численности: средняя численность максимальна на нижней каменисто-галечной супралиторали в августе (20 экз/кв.м), на нижней песчано-галечной супралиторали – в июле (38,6 экз/кв.м).

## 3. Семейство Porcellionidae, *Porcellio scaber* Latreille 1804

Материал: 232 экземпляра.

Распространение в мире: Всесветное (Slabber, Chown, 2002; Brusca et al., 2007). Встречаемость на побережье бухты Киевка: 3 ключевой участок, галечно-песчаная и каменисто-галечная нижняя супралитораль, галечно-песчаная и каменисто-галечная верхняя супралитораль. Наземные местообитания 1 и 2 типов.

Сезонная встречаемость: май-октябрь

Динамика численности: средняя численность максимальна в наземном местообитании 2 типа (аралиевый лес) в сентябре (30 экз./кв. м).

## 4. Семейство Detonidae, *Detonella papillicornis* (Richardson, 1904)

Материал: 2 экземпляра.

Распространение в мире: побережье Северной Америки, Берингова, Охотского и Японского морей (Иванова и др., 2006; Brusca et al., 2007). Встречаемость на побережье бухты Киевка: 2 ключевой участок, верхняя песчано-галечная литораль, в выбросах.

Сезонная встречаемость: август.

Динамика численности: не выявлена в силу редкой встречаемости вида.

#### 5. Семейство Detonidae, *Armadilloniscus ellipticus* (Harger, 1878)

Материал: 8 экземпляров

Распространение в мире: от Южно-Китайского до Японского моря, Малайзия; Индийский океан; Бермудские острова, Средиземное море, Атлантическое и Тихоокеанское побережья Северной Америки (Иванова и др., 2006; Brusca et al., 2007). Встречаемость на побережье бухты Киевка: 2 ключевой участок, верхняя песчано-галечная литораль, в выбросах.

Сезонная встречаемость: июль-август

Динамика численности: не выявлена в силу редкой встречаемости вида.

Можно отметить, что редкими видами являлись *Armadilloniscus ellipticus* и *Detonella papillicornis*. Остальные три вида являлись массовыми, но лишь для определенных местообитаний.

*Porcellio scaber* встречался только на 3 ключевом участке. Он постоянно присутствовал в зонах верхней супралиторали и прилегающих наземных сообществах. Присутствие и численность мокриц в пределах этого участка не зависит от типа грунта и связано с наличием листового опада. Численность мокриц этого вида больше в том местообитании, где присутствует более мощный слой опада (в частности, наземное местообитание – аралиевый лес и примыкающее к нему местообитание верхней супралиторали). На верхней литорали и нижней супралиторали этот вид присутствовал кратковременно, его присутствие также объясняется наличием листового опада в этих подзонах.

*Ligia cinerascens* являлась массовым видом 2 ключевого участка, но единично присутствовала на 3 участке. В основном обитает в зонах нижней и верхней супралиторали. В целом вид приурочен к твердым грунтам, реже встречается на смешанных. На верхней литорали этот вид присутствовал кратковременно. Приуроченность к местообитанию, предположительно, связана с наличием выбросов

морских трав.

*Tylos granuliferus* является обычным видом на 1 ключевом участке. Этот вид преобладал на верхней литорали и нижней супралиторали со стороны моря. Приурочен к мелкопесчаному типу грунта. На нижней супралиторали со стороны реки этот вид находился кратковременно и встречался единично, предположительно это связано с наличием выбросов – основным питанием *Tylos* – на этом участке.

*Detonella papillicornis* и *Armadilloniscus ellipticus* единично присутствовали на 2 ключевом участке, в местообитаниях нижней супралиторали, в выбросах. Приуроченность к каким либо типам грунта отсутствует.

Таким образом, три указанных вида, в силу их массовости, возможно использовать в качестве видов-индикаторов определенных местообитаний в пределах побережья. Дальнейшие исследования, возможно, позволят выявить дополнительные критерии для границ определенных зон побережья.

#### Выводы

1. В прибрежной полосе бухты Киевка Японского моря было обнаружено 5 видов мокриц. Из них редкими являются *Detonella papillicornis* и *Armadilloniscus ellipticus*, остальные являются массовыми, но для определенных местообитаний.
2. *Tylos granuliferus* приурочен к местообитаниям мелкопесчаной верхней литорали и мелкопесчаной нижней супралиторали. *Ligia cinerascens*, *Detonella papillicornis* и *Armadilloniscus ellipticus* приурочены к местообитаниям с крупными частицами грунта и обильными выбросами. *Porcellio scaber* приурочен к местообитаниям с крупными частицами грунта и обильным листовым опадом.
3. Численность отдельных видов мокриц максимальна в июле-августе.

Работа выполнена при поддержке грантов НШ 64869.2010.4, ГК 02.740.11.0678, МД-7716.2010.4 и 11.G34.31.0010

### **ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ ПУРПУРНОЙ АСЦИДИИ *HALOCYNTHIA AURANTHIUM***

Косьяненко А.А. (аспирант), Слинко Е.Н., Колосова Л.Ф.  
Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева

ДВО РАН, г. Владивосток

*KosyanPOI@inbox.ru*



Среди многих научных проблем, привлекающих внимание ученых, проблема концентрирования элементов морской, океанической воды живыми организмами приобретает исключительно важное значение. Проблема эта впервые была научно поставлена В.И. Вернадским, указавшим на концентрационную функцию организмов, т.е. способность концентрировать элементы из их рассеяния в окружающей среде. Им же было выдвинуто положение о возможности получения химических элементов из океанской воды, которую он назвал “жидкой многоэлементной рудой постоянного состава” [2]. Ткани пурпурной асцидии богаты биологически активными веществами с широким набором уникальных и особо ценных фармакологических свойств. В них содержится 89,2% влаги, 5,2% белка, 3,6% зола, 1,1% углеводов и 0,9% липидов. Белки этой асцидии на 16,6% состоят из коллагена, который играет определенную роль в метаболизме живого организма. По количественному содержанию незаменимых аминокислот и их сбалансированности они превосходят белки кукумарии. В тунике асцидий обнаружено 15 аминокислот, фосфолипиды, жирные кислоты и нейтральные липиды, простагландины, каротиноиды, витамин С, а также йод, марганец, железо, медь, цинк и др. Содержание свободных аминокислот в тканях пурпурной асцидии 60,2 мг%, из них около 40% приходится на незаменимые [1].

Экземпляры пурпурной асцидии были собраны для анализа юго-восточнее острова Рейнеке на глубине 20 м. Животных разделили на три возрастные группы, соответствующие 2, 3 и 4 годам жизни. Анализ микроэлементного состава тканей животных проводили методом атомно-адсорбционной спектроскопии.

В результате анализа данных, был установлен уровень концентрации для таких микроэлементов как Ni, Cd, Zn, Pb, Mn, Fe и Cu в мышце и в тунике пурпурной асцидии в зависимости от возраста животного. Стало известно, что в мышце животных, принадлежащей ко второй возрастной группе, наибольшей концентрации достигает Zn – около 76 %.

Таблица 1

Концентрация микроэлементов в мускуле пурпурной асцидии

*Halocynthia aurantium*

Возраст, лет	Мускул, мКг/г / %						
	Ni	Cd	Zn	Pb	Mn	Fe	Cu
2	1,03 / 1,4	0,01 / 0,01	56,39 / 75,6	0,48 / 0,6	4,39 / 5,9	10,1 / 13,5	2,2 / 2,9
3	1,11 / 1,6	0,05 / 0,1	44,37 / 65,9	0,31 / 0,5	3,63 / 5,4	15,82 / 23,5	2,08 / 3,1

Таблица 2

Концентрация микроэлементов в тунике пурпурной асцидии

*Halocynthia aurantium*

Возраст, лет	Туника, мКг/г / %						
	Ni	Cd	Zn	Pb	Mn	Fe	Cu
2	0,62 / 0,61	0,13 / 0,13	22,76 / 22,5	0 /0	52,73 / 52,13	22,18 / 21,93	2,74 / 2,71
3	0,54 / 0,4	0,22 / 0,2	41,75 / 19,4	0,18 /, 0,1	49,76 / 35,5	47,71 / 35	3,11 / 2,3
4	0,73 / 0,7	0,18 / 0,2	18,66 / 43,2	0,63 / 0,5	45,3 / 46,5	29,12 / 31,3	2,58 / 2,6

После идет Fe – около 14 %. Остальные элементы найдены в меньших концентрациях и составляют всего 10 % от всего содержания микроэлементов. У животных, принадлежащих к третьей возрастной группе, концентрация Zn – около 66 %, Fe – 24 %, а остальных

элементов – 10 %. (табл. 1) В тунике у асцидий второй группы наибольшей концентрации достигал Mn – более 50 %.

#### Литература:

1. Саватеева Л.Ю., Маслова М.Г., Володарская В.Л. Дальневосточные голотурии и асцидии как ценное пищевое сырье. Владивосток: Издательство Дальневост. ун-та. – 1983. С. 184.
2. Саенко Г.Н. Металлы и галогены в морских организмах / М.: Наука, 1992. 200 с.

### **ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ РАКОВ-ОТШЕЛЬНИКОВ РОДА *PAGURUS* ПО ДАННЫМ ЧАСТИЧНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА COI МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК**

Котова В.А. (студентка), Атопкин Д.М. (зав. лабораторией)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*pan2006\_82@mail.ru*

Надсемейство Paguroidea, принадлежащее к инфраотряду Apomiga (среднехвостые раки), является морфологически и экологически разнообразной группой ракообразных. В настоящее время внутри этого надсемейства описано более 800 видов из 127 родов, которые обитают в разнообразных биотопах. Несмотря на имеющиеся результаты исследований эволюционных взаимоотношений на высших таксономических уровнях ракообразных, остается много нерешенных проблем систематики и эволюционной истории многих таксономических групп ракообразных низшего ранга. Использование ряда критериев для описания видов часто приводит либо к переоценке видового разнообразия, либо к необоснованной синонимизации видов и возникновению политипических таксонов, что в большинстве случаев искажает картину разнообразия ракообразных. Одним из примеров является полифилетичный род *Pagurus*, сем. Paguridae в котором описано около 170 видов. Таксономические ревизии видов внутри данного рода проводились неоднократно с применением как морфологических, так и молекулярно-генетических методов. Работы в этом направлении продолжают до настоящего

времени. Например, в 2009 году была проведена ревизия таксономического статуса двух видов раков-отшельников, *P. forceps* и *P. computus*, обитающих на Тихоокеанском и Атлантическом побережье Северной Америки. Примером для Дальнего Востока России является волосатый рак-отшельник *P. brachiomastus*, переописание которого было осуществлено в 2000 г., в результате чего было выделено два морфологически близких вида – *P. proximus* и *P. simulans*, обитающих симпатрично в акватории залива Петра Великого.

В последнее время в качестве молекулярного маркера для идентификации и генетической характеристики видов используется участок гена COI мтДНК. Получаемые данные используются в проекте молекулярного штрихкодирования организмов, включая группу ракообразных. Фауна раков-отшельников на Дальнем Востоке России в этом отношении практически не исследована. Поэтому целью настоящей работы было получение генетической характеристики видов рода *Pagurus*, обитающих на побережье Дальнего Востока России, по данным частичного секвенирования гена COI мтДНК.

Методом ПЦР-секвенирования определены нуклеотидные последовательности участка гена COI у трех видов рода *Pagurus*: *Pagurus ochotensis* (n=2), *P. pectinatus* (n=1), *P. brachiomastus* (n=20), собранных в акватории бухты Киевка Приморского края. Амплифицированный участок составил примерно 650 пар нуклеотидов (п.н.). После выравнивания для анализа был доступен участок размером 577 п.н. Кроме того, для анализа были использованы последовательности гена COI девяти других видов рода *Pagurus*, а также 2 вида рода *Cryptolithodes* семейства Lithodidae, доступных в международном геномном банке.

Генетическая дивергенция между полученными последовательностями исследованных видов рода *Pagurus* варьировала от 10.8 % (*P.pectinatus/P.brachiomastus*) до 13.8% (*P.pectinatus/P.ochotensis*). Диапазон межвидовых значений дивергенции, полученный при анализе всех доступных видов, составлял от 7.6% до 18.7%.

Топология филогенетических деревьев в целом сохраняла

высокую видовую структурированность при использовании разных методов реконструкции (рис. 1). Охотоморский рак, *P. ochotensis*, на всех реконструкциях оказался сестринским по отношению к *P. acadianus* ( $d = 10.4\%$ ), а гребенчатый рак *P. pectinatus* достоверно кластеризовался с *P. arcuatus* ( $d = 7.6\%$ ).

Вид *P. brachiomastus* формировал отдельный статистически достоверный гетерогенный кластер, дифференцирующийся на три основные статистически достоверные группы, содержащие разное число гаплотипов. Дивергенция между полученными группами варьировала от 1.9 до 4.9 %. Базальная гаплогруппа *P. brachiomastus*, включающая две последовательности COI (группа III, рис.2), оказалась сравнительно близкой к *P. pectinatus* ( $d = 7.8\%$ ), что отражало минимальный межвидовой уровень дивергенции.

В целом, полученные по нашим данным филогенетические реконструкции предполагали дифференциацию видов, использованных в анализе, на две основные линии: виды рода *Pagurus* - сем. Paguridae и виды рода *Cryptolithodes* - сем. Lithodidae, что соответствовало литературным данным. Базальную ветвь для этих двух групп формировал вид *Pagurus longicarpus*, являющийся, видимо, наиболее близким видом к предковой форме ракообразных надсемейства Paguroidea. Род *Pagurus* представлял собой монофилетичную группу, дифференциация видов в которой могла происходить по-разному. Некоторые виды дифференцировались независимо друг от друга от общей предковой формы. К таковым, видимо, можно отнести исследованный нами вид *P. brachiomastus*, сформировавший единую независимую ветвь. Часть видов дифференцировалась позже от разных «вторичных» предковых форм. Среди дальневосточных видов раков отшельников поздняя генетическая дифференциация выявлялась для видов *P. ochotensis* и *P. pectinatus*, имеющих близкие филогенетические связи с *P. acadianus* и *P. arcuatus*, соответственно. При этом, *P. pectinatus*, скорее всего, можно считать наиболее молодым видом, так как значение генетической дивергенции этого вида с *P. arcuatus* отражало минимальный межвидовой уровень дифференциации.

Дифференциация *P. brachiomastus* на три достоверные группы,

скорее всего не соответствует трем симпатричным видам, описанным по данным морфологии, так как уровень дивергенции между этими группами значительно ниже по сравнению с межвидовыми значениями. Однако эти данные являются предварительными, так как детального морфологического анализа используемых в анализе образцов *P. brachiomastus* не проводилось. Детальные морфологические и молекулярно-генетические исследования дальневосточных видов *Pagurus*, включая *P. brachiomastus*, являются предметом дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования, договор № 11.G34.31.0010, а также гранта Министерства образования и науки РФ № 02.740.11.0678 «Структура и функционирование прибрежных экосистем российской части Японского моря» в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

### **РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДИФИЛЛОБОТРИОЗА ЛЮДЕЙ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ**

Красноперова Ю.С. (студентка)<sup>2</sup>, Шедько М.Б.<sup>1</sup> (сотрудник)

<sup>1</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

<sup>2</sup>Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

*kas-yuliya\_89@mail.ru*

Дифиллоботриоз — заболевание, вызываемое ленточными червями рода *Diphyllobothrium* (класс Cestoda). Это одни из самых больших гельминтов, паразитирующих у человека, которые могут достигать в длину до 20 м. Дифиллоботриоз сохраняет лидирующее положение в структуре заболеваемости населения Российской Федерации паразитарными болезнями, занимая среди гельминтозов.

Долгое время было распространено мнение, что возбудителем дифиллоботриоза человека на территории Дальнего Востока России

(ДВР) является широкий лентец, *D. latum*. Однако в результате разносторонних многочисленных исследований, проведенных в последние 40 лет, было установлено, что единственным возбудителем дифиллоботриоза человека в этом регионе служит лентец *D. klebanovskii*, а источником заражения являются тихоокеанские лососи (Муратов, Посохов, 1988; Муратов, 1990; Муратов и др., 1992). В связи с этим все профилактические мероприятия, проводимые с целью предупреждения дифиллоботриоза, были связаны только с этими видами рыб.

Для выяснения возможных источников дифиллоботриоза людей в Приморском крае было изучено 28 историй болезни, полученных из УРПК, за период 2006-2008 гг. В результате было выяснено следующее: 26 человек из заболевших дифиллоботриозом употребляли в пищу мясо или икру лососевых рыб, а в оставшихся 2 случаях «местного» дифиллоботриоза причиной заражения было употребление в пищу вяленой малоротой корюшки. В основном заражение происходило при неправильном приготовлении рыбы в домашних условиях.

Одной из главных задач настоящей работы было проведение видовой идентификации дифиллоботриид, полученных от человека, по фрагментам стробил. В результате чего было выявлено два типа лентцев: *D. nihonkaiense* и *D. cf hottai*.

Как указывалось ранее, одним из возможных возбудителей дифиллоботриоза на юге ДВР может являться *D. cf hottai*. Промежуточными хозяевами вида указаны корюшковые рыбы. Поэтому мы сочли целесообразным произвести паразитологическое вскрытие корюшковых родов *Hypomesus* и *Osmerus* из разных локальностей Приморского края. Плероцеркоиды дифиллоботриид обнаружены у всех 3 видов рыб в 5 из 6 мест обследования. Свободными от изучаемых паразитов оказалась только японская малоротая корюшка из р. Аввакумовка. Тем не менее, высокие показатели зараженности именно для этого вида корюшки отмечены в Амурском заливе у берегов о-ва Русский. В связи с этим, корюшки могут рассматриваться основным источником

заражения человека этим видом дифиллоботриид, что должно быть учтено при разработке дополнительных мер профилактики дифиллоботриоза.

Для идентификации найденных паразитов было проведено их сравнение с плероцеркоидами других видов, основанное на литературных данных. Таким образом, по большинству признаков найденные плероцеркоиды четко отличаются от *D. nihonkaiense* и *D. latum*. Наибольшее морфологическое и физиологическое сходство они имеют с плероцеркоидами типа «G» и *D. hottai*, которые отмечены также только у корюшковых рыб на юге ДВ. Наши количественные данные по зараженности корюшковых рыб из водоемов Приморья полностью согласуются с литературными по распространению здесь инвазии дифиллоботриидами среди этих рыб.

Проблема дифиллоботриоза занимает одно из ведущих мест на ДВР. Это обусловлено широтой географического распространения и удельным весом инвазии в структуре заболеваемости гельминтозами населения региона. По данным из УРПК, на сегодняшний день только около 30% населения проходит обследование на наличие различных паразитарных заболеваний. Низкий процент обследуемых обусловлен рядом причин, главным образом, социальных (например, рост числа частных предприятий, сотрудникам которых не требуется обязательное прохождение медицинской комиссии, платная медицина, закрытие поликлиник в ряде мелких населенных пунктах и др.). Симптомы при гельминтозах зачастую носят смешанный характер, сходных, например, с обычным отравлением или другим недомоганием. В результате этого заразившиеся гельминтами люди не всегда обращаются в медицинские учреждения, а занимаются самолечением.

В свете полученных нами новых данных о новом возбудителе и широком распространении дифиллоботриоза среди корюшковых рыб на юге ДВР, рекомендуется предпринять дополнительные меры профилактики, связанные с рыбами именно этого семейства.

Важным мероприятием в профилактике дифиллоботриоза является оповещение потребителей, работников здравоохранения, рыбаков и продавцов, особенно живущих в прибрежной зоне, о



потенциальном риске заболеть гельминтозом при употреблении в пищу неправильно обработанной рыбы из семейств лососевые и корюшковые. Необходим более строгий санитарно-эпидемиологический осмотр рыбы прежде, чем она будет передаваться потребителю или на предприятия по ее переработке. Также очень важно содержать пресные водоемы в чистоте, строить и ставить общественные уборные вдали от воды, чтобы фекалии зараженных людей и животных не стекали в них. Одной из мер профилактики считаются запрет на слив нечистот в реки и озера с судов и барж.

Таким образом, борьба с заболеванием и, как следствие, снижение процента поражённости населения дифиллоботриозом на территории юга ДВР возможно при соблюдении всех профилактических мероприятий, а также знании биологии и экологии возбудителей.

## **ИЗУЧЕНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ГОНАДЫ УЛИТКИ ЯНТАРКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ МЕТОДОВ**

Крылова М.К. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*[www.angelok\\_25.90@list.ru](mailto:www.angelok_25.90@list.ru)*

На кафедре клеточной биологии ДВФУ (ДВГУ) уже несколько десятков лет проводятся исследования по соматической полиплоидии – явлению кратного умножения генома в диплоидном организме. Данный феномен давно является объектом изучения многих ученых, но до сих пор механизмы и значение его не ясны. Показано, что полиплоидия свойственна тканям, как позвоночных, так и беспозвоночных животных. Брюхоногие моллюски являются удобным объектом, т.к. они широко распространены, и у некоторых их представителей уже давно показаны полиплоидные клетки в различных тканях. Для понимания причин и закономерностей развития полиплоидных клеток очень важным этапом служит описание гистологического и цитологического строения исследуемой ткани. Известно, что разные варианты гистологической обработки могут

значительно менять морфологию клеток и тканей в целом. Поэтому целью данной работы было сравнение морфологии клеток некоторых тканей улитки янтарки, обработанных разными гистологическими методами.

Материалом для данной работы послужили пищеварительная железа и гонада улитки янтарки. В ходе выполнения работы была сделана коллекция фотографий срезов пищеварительной железы и гонады, залитых в аралдит/эпон по стандартной методике и полученных с помощью замораживающего ультрамикротомы. В первом случае, срезы толщиной 1 мкм были получены на микротоме НМ 360 (Microm-Zeiss). В дальнейшем их окрашивали метиленовым синим на буре. Во втором случае, материал, фиксированный параформальдегидом, выдерживали в 2,3М сахарозе, замораживали жидким азотом и делали срезы на замораживающем ультрамикротоме EM UC6 – EM FC6 (Leica). Часть полученных срезов была окрашена метиленовым синим на буре, другая половина - гематоксилином с эозином. Препараты заключали в канадский бальзам. Окрашенные препараты просматривали с помощью микроскопа AxioImagerA1 фирмы CarlZeiss.

При анализе срезов, полученных разными методами, в составе железистого эпителия пищеварительной железы улитки янтарки выявляются пищеварительные и базофильные клетки (рис. 1). На срезах пищеварительной железы, залитой в синтетические смолы, выявляются также, экскреторные клетки, которые не отмечены на срезах, полученных с помощью замораживающего микротомы (рис. 1а). Кроме того, на препаратах с замораживающего микротомы отмечена лучшая сохранность элементов соединительной ткани (поэтому ацинарная структура пищеварительной железы более четко выражена), а также внутренних гранул базофильных и пищеварительных клеток (рис. 1б). По всей видимости, большая сохранность морфологии в данном случае связана с меньшим разрушением при заморозке ферментов, находящихся в больших количествах в гранулах, как базофильных, так и пищеварительных клеток.

Гонада улитки янтарки представлена на срезах материала,

залитого в синтетические смолы, как ооцитами, так и сперматогенными клетками. К сожалению, качественных срезов гонады с помощью замораживающего ультрамикротомы получено не было, поэтому сравнение в данном случае провести не удалось.

В базофильных клетках пищеварительной железы и в питающих клетках гонады улитки янтарки отмечаются полиплоидные клетки с уровнями плоидности в базофильных клетках - до 32с, в питающих клетках – до 64 с.

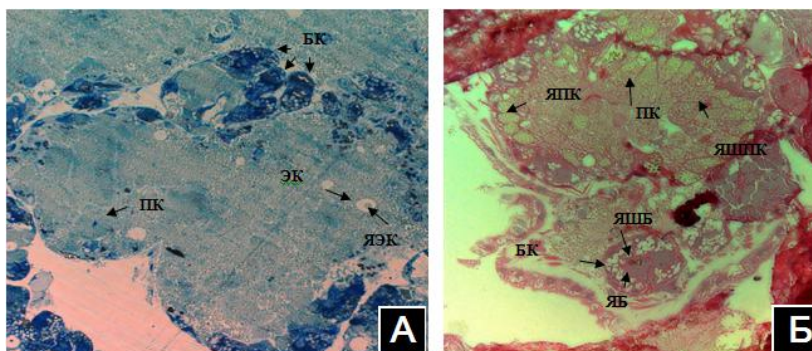


Рисунок 1. Гистологическая организация пищеварительной железы улитки янтарки. Окраска: А– метиленовый синий, Б – гематоксилин – эозин. Увел.: об. 40х, ок. 10х. А – материал, залитый в аралдит/эпон, Б – срез, полученный с помощью замораживающего ультрамикротомы. ЭК-экскреторная клетка, ЯЭК-ядро экскреторной клетки, ПК-пищеварительная клетка, БК-базофильная клетка, ПК - пищеварительная клетка, ЯПК - ядро пищеварительной клетки, ЯШПК - ядрышко пищеварительной клетки, БК - базофильная клетка, ЯБ - ядро базофильной клетки, ЯШБ - ядрышко базофильной клетки.

Таким образом, можно говорить, что более качественная морфология клеток пищеварительной железы улитки янтарки получена с помощью замораживающего ультрамикротомы.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального

образования, договор № 11.G34.31.0010, а также в рамках Государственных контрактов с Министерством образования и науки РФ № 02.740.11.0292 и № 02.740.11.0450.

**ДИНАМИКА ОСЕННЕЙ МИГРАЦИИ ПЕНОЧЕК  
(РОД *PHYLLOSCOPUS*) В ЮЖНОМ ПРИМОРЬЕ  
ПО ДАННЫМ КОЛЬЦЕВАНИЯ**

Лелюхина Е.В. (аспирант)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
storozhevaev@mail.ru*

История изучения миграций воробьиных птиц с помощью кольцевания в мире насчитывает уже более 100 лет, однако на Дальнем Востоке России эти исследования все еще недостаточны и носят накопительный характер. Немногочисленные литературные данные касаются, в основном, сроков и динамики сезонных перемещений отдельных видов в некоторых районах. Всплеск интереса к изучению миграций в регионе наметился в конце прошлого столетия, особенно в связи с проблемами изменения климата, вспышек зоонозных инфекций и отмечаемого снижения численности многих птиц в районах зимовок. Поэтому любые новые сведения об этой части их годового цикла будут полезны для последующих разноплановых обобщений.

Наши исследования проводятся на станции кольцевания «Амуро-Уссурийского центра биоразнообразия птиц», расположенной в окрестностях дачного села Михайловка в долине р. Литовка (Партизанский район) с 1998 года. В настоящем сообщении анализируются данные отловов пеночек (семейство *Sylvidae*, род *Phylloscopus*) в периоды осенней миграции (август-октябрь) 2008-2009 годов.

Пеночки являются ночными мигрантами, совершающими во время перелетов кратковременные миграционные остановки. Эти особенности, а также мелкие размеры многих видов, затрудняют отловы пеночек паутиными сетями вообще и повторные отловы в частности. Поэтому изучение миграционных стратегий группы является непростой задачей. В августе-октябре 2008-2009 годов было отловлено соответственно 98 и 128 особей 7 видов пеночек. Отлов

осуществлялся стандартными японскими паутинными сетями (размером 12 x 2,8 м.), установленными в зарослях сорного разнотравья, по окраинам полей, и в перелесках вдоль дорог и ручьев. Места отловов постоянны из года в год, что позволяет проводить сравнение данных отдельных сезонов. Массовыми в рассматриваемые периоды являлись пеночка-зарничка *Phylloscopus inornatus* (54% и 33% от общего числа отловов пеночек всех видов), пеночка-таловка *Ph. borealis* (14% и 27%) и корольковая пеночка *Ph. proregulus* (18% и 23%). Реже отлавливались светлоголовая *Ph. coronatus*, бледноногая *Ph. tenellipes* и толстоклювая *Ph. schwarzi*, и единично встречалась бурая пеночка *Ph. fuscatus* (рис. 1).

Первыми с мест гнездования в долине р. Литовка улетают светлоголовая (*Ph. coronatus*) и бледноногая (*Ph. tenellipes*) пеночки (табл. 1). Их отлет проходит в сжатые сроки и заканчивается в конце августа - начале сентября, пока среднесуточная температура воздуха выше 15°C. Бурая (*Ph. fuscatus*) и толстоклювая (*Ph. schwarzi*) пеночки встречаются единично в сентябре - октябре. Вероятно, основной маршрут миграций этих видов не проходит через район исследований, и этим объясняется отсутствие здесь четко выраженных сроков их первых и последних появлений. К концу августа в долине реки Литовка начинается пролет массовых видов пеночек. Постепенно возрастает в отловах количество корольковой пеночки, причем вначале это явно особи местной популяции, большинство из которых находятся на завершающих стадиях линьки. В этот же период появляются и первые транзитные мигранты - таловки и зарнички. Осенняя миграция этих трех видов волнообразно продолжается с конца августа до середины октября.

В 2008 году осенняя миграция пеночки-таловки (*Ph. borealis*) происходила равномерно с 1 сентября до 6 октября, птицы отлавливались почти ежедневно в небольшом количестве, один небольшой всплеск численности отмечен 1 октября, что возможно было связано с резким похолоданием в предыдущие дни (рис. 2, 4).

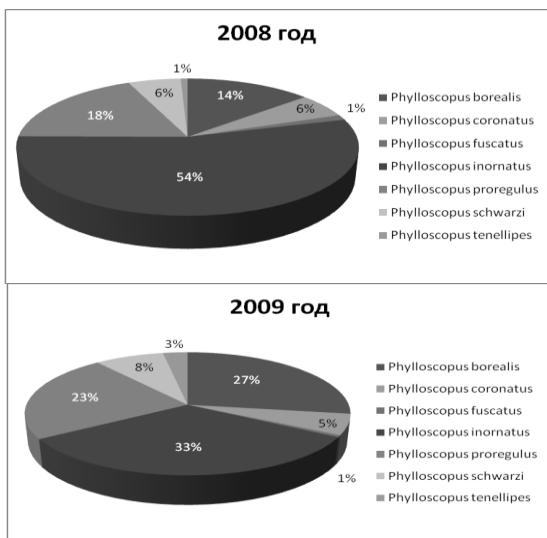


Рисунок 1. Соотношение видов пеночек в отловах (% от числа особей на сеть в день).

В 2009 году наблюдалось 2 пика численности птиц в отловах – 24 августа и 9 сентября, между которыми таловки отлавливались, как и в 2008 году – довольно часто, равномерно и в небольшом количестве. Среди особей отловленных в конце сентября были отмечены птицы более крупных размеров. От основной массы таловок в отловах они отличались также более длинными клювами и большой длиной крыла. Возможно, это отличия подвидового уровня, что предстоит выяснить на следующих этапах исследований.

Рисунок 2. Динамика осенней миграции массовых видов пеночек в долине реки Литовка в 2008 году.

Пеночка-зарничка (*Ph. inornatus*) в 2008 году появилась в отловах с конца августа, численность вида достигла максимальных значений в последних числах сентября-первых числах октября, после чего отдельные особи продолжали встречаться до конца октября. В 2009 году в отловах зарнички наблюдалось два пика - 9 сентября и 1 октября, а последняя особь была поймана 9 октября. Заметные отличия в сроках окончания осенней миграции вида, вероятно, связаны с

погодными условиями. Среднесуточные температуры второй и начала третьей декад октября 2008 года были на 1,5-8,5 градусов выше таковых октября 2009 года (рис. 4).

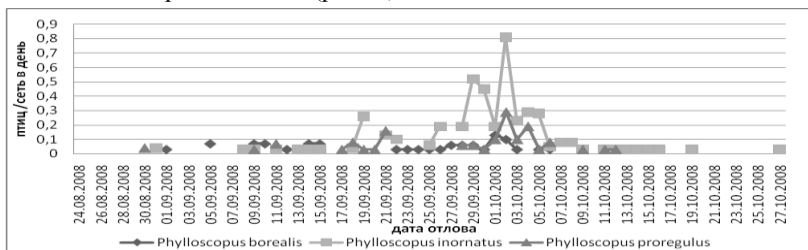


Рисунок 2. Динамика осенней миграции массовых видов пеночек в долине реки Литовка в 2008 году.

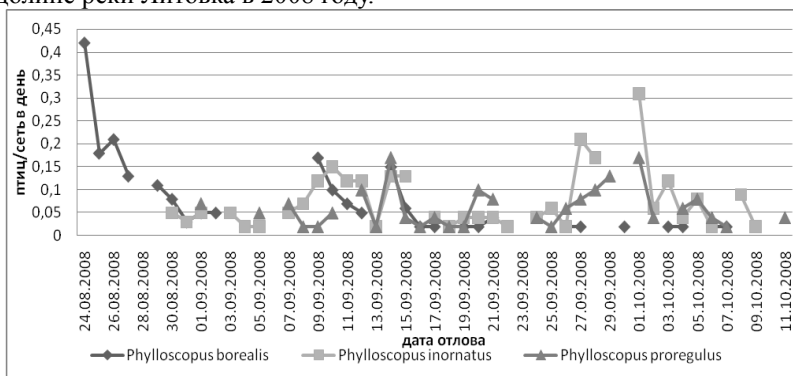


Рисунок 3. Динамика осенней миграции массовых видов пеночек в долине реки Литовка в 2009 году.

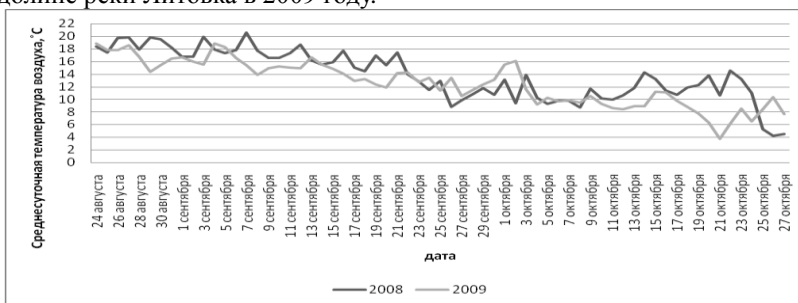


Рисунок 4. Среднесуточная температура воздуха в окрестностях г. Партизанска в августе-октябре 2008-2009 гг (по данным сайта: <http://meteo.infospace.ru>).

Таблица 1

Первые и последние регистрации пеночек по данным отловов и среднесуточная температура воздуха в районе исследований

№	Вид	первая регистрация				последняя регистрация			
		даты		среднесуточная температура воздуха, °С		даты		среднесуточная температура воздуха, °С	
		2008	2009	2008	2009	2008	2009	2008	2009
1	<i>Ph. borealis</i>	01.09	24.08	16,8	18,9	06.10	05.10	9,8	10,2
2	<i>Ph. coronatus</i>	*	24.08		18,9	31.08	09.09	18,2	15
3	<i>Ph. fuscatus</i>	14.09	10.09	15,5	15,2	14.10	26.09	14,3	13,4
4	<i>Ph. inornatus</i>	31.08	30.08	18,2	15,4	27.10	09.10	4,5	10,5
5	<i>Ph. proregulus</i>	30.08	01.09	19,5	16,7	12.10	19.10	10,6	7,7
6	<i>Ph. schwarzi</i>	08.09	04.09	17,7	18,9	05.10	23.10	9,3	8,5
7	<i>Ph. tenellipes</i>	*	*			26.08	09.09	19,7	15

\*- отлет с мест гнездования начинался раньше кольцевания



В 2008 году наблюдалось два периода активного пролета корольковой пеночки: с 17 по 21 сентября и с 28 сентября по 6 октября. Максимальное количество птиц в отловах отмечено 2 октября (рис.2). В 2009 году миграция была более растянутой, но также выделялось 2 волны: с 7 по 21 сентября и с 23 сентября по 7 октября, пики численности отмечались 15 сентября и 1 октября.

Предварительный анализ динамики осенней миграций массовых видов пеночек в зависимости от среднесуточных температур за последние 6 лет показал, что пеночка-галовка исчезает из района исследований в период с 5 по 13 октября, при средней температуре воздуха 10°C. Последние даты регистрации пеночки-зарнички отмечались в период с 9 по 18 октября, при температуре воздуха до 8°C. Корольковая пеночка завершает миграцию в период с 15 по 20 октября, при температуре до 7°C. Единичные особи пеночки-зарнички и корольковой пеночки могут встречаться и позднее, до последних чисел октября.

Миграции одних и тех же видов пеночек в разные годы похожи. Изменение среднесуточной температуры в разные годы на 2-3 градуса не оказывает значительного влияния на их сроки. Резкое похолодание на несколько градусов, может способствовать росту численности мигрантов в последующие теплые дни.

**КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ВОЗРАСТНОЙ  
СОСТАВ МАССОВЫХ ВИДОВ СОРЕРОДА АВАЧИНСКОГО  
ЗАЛИВА (ВОСТОЧНАЯ КАМЧАТКА)  
В ВЕСЕННИЙ И ОСЕННИЙ ПЕРИОД 2009 ГОДА**

Лобанова У.Ю.(младший научный сотрудник),

Минлиятова С.П.(стажер - исследователь)

*Камчатский научно исследовательский институт рыбного хозяйства  
и океанографии (КамчатНИРО) г. Петропавловск-Камчатский  
ulovaa@mail.ru*

Копеподы играют важную роль в водных экосистемах, поскольку потребляют фитопланктон и сами служат пищей рыбам и другим животным. Материал был собран в Авачинском заливе весной и осенью 2009 г. Лов зоопланктона на станциях производили большой

сетью Джеди с диаметром входного отверстия 0,37 м и размером ячеек 0,168 мм, облавливая слой воды 0–50 м или меньше, в зависимости от глубины. Всего было обработано 106 сетных проб (18 – апрель, 30 – май, 29 – сентябрь, 29 – декабрь). Видовой и возрастной состав массовых видов веслоногих рачков приведен в таблице.

*Eucalanus bungii* считается океаническим батипелагическим видом. Наибольшее количество взрослых особей обнаружено в сентябре, максимальное значение биомассы зафиксировано в мае. В мае же отмечено много науплиев этого вида.

*Pseudocalanus minutus* – холодноводный вид поверхностных вод. от апреля к декабрю численность науплиев уменьшается, а обилие старших копеподитов (III–VI) растет.

*Metridia pacifica* – океанический батипелагический тепловодный вид поверхностных горизонтов. В пробах большее количество и биомасса половозрелых метридий обнаружены в весенние месяцы. Особи стадии IV отмечены только в апреле, особи стадии V – в сентябре и декабре.

*Metridia okhotensis* – океанический, батипелагический вид. По литературным данным, встречается в массовых количествах на глубинах от 50 до 200 м. Поскольку в Авачинском заливе лобы производили до 50 м, численность этого вида во все месяцы была незначительной.

*Neocalanus plumchrus* – океанический батипелагический вид. Наибольшее количество встречается весной; с сентября по декабрь идет плавное снижение, как численности, так и биомассы взрослых особей. Отмечено, что в Авачинском заливе, на протяжении всего времени наблюдений встречались копеподитные стадии II–VI.

*Neocalanus cristatus* – холодноводный вид. В пробах из Авачинского залива был представлен взрослыми особями V и VI стадий. Наибольшая численность отмечена в сентябре.

*Calanus glacialis* – океанический вид открытого моря. В Авачинском заливе встречался в каждом из исследованных месяцев, но в небольшом количестве.

Таблица 1

Состав массовых видов Copepoda в Авачинском заливе в 2009 г.

Вид	апрель		май		сентябрь		декабрь	
	экз./м <sup>3</sup>	мг/м <sup>3</sup>	экз./м <sup>3</sup>	мг/м <sup>3</sup>	экз./м <sup>3</sup>	мг/м <sup>3</sup>	экз./м <sup>3</sup>	мг/м <sup>3</sup>
Copepoda gen. Sp. (naupl.)	164,1	0,8	25,9	0,1	0,4	+	–	–
<i>Eucalanus bungii</i> (naupl.)	–	–	598,1	3,1	3,0	+	4,2	+
<i>Eu. bungii</i> (adlt.)	50,4	295,6	123,4	538,7	199,7	124,6	47,1	26,1
<i>Pseudocalanus minutus</i> (naupl.)	542,8	3,3	243,3	1,6	21,4	0,1	2,9	+
<i>P. minutus</i> (VI)	115,6	11,5	237,2	23,2	160,5	16,0	860,6	86,0
<i>P. minutus</i> (III)	–	–	1,0	+	24,2	0,2	969,7	9,7
<i>P. minutus</i> (IV)	14,9	0,9	66,1	1,5	115,8	1,2	1566,2	15,8
<i>P. minutus</i> (V)	18,6	1,5	73,2	5,7	97,7	7,8	1304,6	104,4
<i>Metridia pacifica</i>	6,9	8,1	8,1	7,1	2,0	1,6	0,4	0,3
<i>M. pacifica</i> (IV)	+	+	–	–	–	–	–	–
<i>M. pacifica</i> (V)	–	–	–	–	0,1	+	0,7	0,3
<i>M. okhotensis</i>	0,1	0,2	0,0	0,1	+	+	0,2	0,1
<i>Calanus glacialis</i>	+	+	0,7	1,3	0,6	2,9	0,3	0,5
<i>Neocalanus cristatus</i>	4,6	82,8	1,4	25,4	15,1	154,6	+	0,5
<i>N. plumchrus</i> (VI)	+	0,2	87,0	40,3	0,1	+	–	–
<i>N. plumchrus</i> (II)	524,3	31,4	300,6	17,7	157,1	9,4	130,7	7,8
<i>N. plumchrus</i> (III)	18,0	4,9	73,0	20,5	2,9	0,7	1,8	0,5
<i>N. plumchrus</i> (IV)	9,6	6,4	282,3	189,1	11,1	10,0	2,2	2,0
<i>N. plumchrus</i> (V)	7,2	22,0	76,9	234,4	13,5	40,2	0,6	1,9
<i>Oithona similis</i> (naupl.)	7,4	+	–	–	–	–	–	–
<i>O. similis</i>	3035,2	30,3	2392,7	23,9	2189,8	21,9	2391,8	19,5
<i>Oncaea borealis</i>	0,7	0,1	3,7	0,2	–	–	+	+
Всего	4526,7	499,9	4609,0	1134,1	3031,0	393,3	7513,9	278,2

*Oithona similis* – веслоногий рачок подотряда Cyclopoida. Мелкий массовый рачок в больших количествах отмечен на всех планктонных станциях. Чаше встречались половозрелые особи, максимальное количество науплиев обнаружено в апреле.

Таким образом, в водах Авачинского залива веслоногие рачки представлены, в основном, холодноводными видами. Были обнаружены как половозрелые особи, так и более ранние стадии. Наибольшее количество науплиев у многих видов приходится на весенний период.

**ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ  
МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОДНОЙ ТОЛЩЕ И ДОННЫХ  
ОСАДКАХ ДВУХ РАЙОНОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ  
НЕФТЕПРОЯВЛЕНИЙ НА ОЗЕРЕ БАЙКАЛ ПО ДАННЫМ  
АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ  
ГЕНА 16S рРНК И alk ГЕНОВ**

Ломакина А.В. (м.н.с.), Павлова О.Н. (ст.н.с.), Морозов И.В. (ст.н.с.),  
Земская Т.И. (в.н.с.)

*Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск  
Институт химической биологии и фундаментальной медицины  
СО РАН, г. Новосибирск  
lomakina@lin.irk.ru*

Впервые бактерии, разлагающие углеводороды, были выделены почти столетие назад (Sohngen, 1913). К настоящему моменту опубликовано значительное количество работ, в которых углеводородокисляющие микроорганизмы пресноводных (Бердичевская et al., 1991; Ильинский и др., 1998; Коронелли, 1994) и морских экосистем (Atlas, Bartha, 1972; Dyksterhouse et al., 1995; Head et al., 2006), были объектами многочисленных исследований. Несколько работ было сфокусировано на деградации углеводородов в арктических и антарктических условиях (Eriksson et al. 2001; Delille, Pelletier, 2002; Brakstad, Bonaunet, 2006). Применение молекулярных методов существенно дополнило и расширило представление о микробном разнообразии сообществ бактерий, участвующих в окислении нефти и ее производных.

Известно, что решающую роль в трансформации нефти до

простых соединений выполняют микроорганизмы (Барышникова и др., 2001; Назина и др., 2002; Head et al., 2006; Muyzer et al., 2008). Процесс окисления *n*-алканов и других углеводов с помощью ферментативных систем достаточно изучен. Особенности *alk* генов исследованы у грамотрицательных бактерий родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcanivorax*, *Burkholderia*, и у грамположительных бактерий – *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia* (Smits et al., 2002; Whyte et al., 2002; van Beilen et al., 2002, 2007; Heiss-Blanquet et al., 2005; Kuhn et al., 2009).

Озеро Байкал является крупнейшим в мире пресноводным водоемом. В число уникальных характеристик озера Байкал входят природные выходы нефти, известные с XVIII столетия. Наиболее изучено естественное нефтепроявление, расположенное у устья р. Большая Зеленая. Установлено, что нефть этого района представлена смесью углеводов, подвергшихся глубокой деструкции (Конторович и др., 2007). В 2005 г. в районе м. Горевой Утес вблизи Баргузинского залива (Средний Байкал) впервые был зарегистрирован новый выход нефти. Многочисленные пятна нефти этого района были идентичными по составу и представляли смесь *n*-алканов с нормальным распределением гомологического ряда углеводов, включающего соединения от C11 до C33 с максимумом при C18, что свидетельствует о том, что нефть, поступающая из донных осадков, является «сырой», не биodeградирующей (Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007). Установлено, что из донных осадков в водную толщу этого района поступает до 4 т нефти в год. Несмотря на то, что нефть поступает на поверхность воды непрерывно, нефтяное пятно не увеличивается, что свидетельствует об ее окислении (Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007). Исследования показали, что в этих районах отмечено повышенное содержание микроорганизмов, способных окислять нефть и ее производные (Павлова и др., 2008).

Цель настоящей работы – изучить разнообразие чистых культур и природного микробного сообщества двух районов нефтепроявлений на озере Байкал, а также исследовать у штаммов углеводородокисляющих бактерий

наличие *alk* генов, обеспечивающих окисление углеводов с определенной длиной цепи.

По данным анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК исследованные штаммы культивируемого микробного сообщества углеводородокисляющих бактерий были отнесены к филумам:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, у м. Горевой Утес не обнаружены представители класса  $\beta$ - Proteobacteria (Ломакина и др., 2009). Согласно полученным данным, состав культивируемого углеводородокисляющего сообщества района устья р. Б. Зеленовская отличается большим разнообразием в сравнении с районом м. Горевой Утес. Возможно, это связано с тем, что из донных осадков у м. Горевой Утес поступает значительное количество нефти, а микробное сообщество на данный момент еще находится на стадии формирования. Обнаружено, что большая часть полученных нуклеотидных последовательностей имеет высокий процент сходства с известными последовательностями из международного банка данных (96–100%). Близкородственные байкальским штаммам бактерии обитают в водной толще и донных отложениях морей и в почвах различных регионов мира. Часть исследованных нами культур имела высокий процент сходства с бактериями, участвующими в окислении нефти и других углеводов.

В донных осадках двух районов естественных нефтепроявлений на озере Байкал было исследовано разнообразие природного микробного сообщества по данным анализа структуры нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Показано, что микробное сообщество двух районов отличаются не только по составу нефти, разнообразию культивируемого микробного сообщества, но и по структуре природного микробного сообщества. Так в окисленном слое донных осадков давно известного района нефтепроявления у устья р. Большая Зеленовская детектированы представители следующих филумов: Proteobacteria (классы  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -), Actinobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes и Firmicutes. В окисленном слое донных осадков м. Горевой Утес кроме представителей Proteobacteria (классы  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -), Actinobacteria, Planctomycetes получены нуклеотидные

последовательности, отнесенные к филумам Verrucomicrobia, Acidobacteria, Chloroflexi, Chlorobi, Nitrospirales. С глубиной керна происходит смена видового состава микробного сообщества. Интересно отметить, что, как и для окисленного слоя, наиболее разнообразные последовательности получены для восстановленного слоя донных осадков м. Горевой Утес. Здесь микробное сообщество представлено филумами Proteobacteria (классы  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -), Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria. В восстановленных осадках давно известного нефтепроявления выявлены представители филумов Proteobacteria (класс  $\gamma$ -), Firmicutes, Actinobacteria. Кроме того, как в окисленных, так и в восстановленных слоях донных осадков двух районов нефтепроявлений нами получены нуклеотидные последовательности, для которых не был установлен филогенетический статус, поскольку их ближайшие гомологи отнесены к некультивируемым бактериям, выделенные из осадков, содержащих газовые гидраты Тихого океана, донных осадков различных морей и озер мира. Следует отметить, что в окисленных слоях донных осадков районов естественных нефтепроявлений доминировали представители  $\gamma$ -Proteobacteria, а в восстановленных –  $\alpha$ -Proteobacteria и Actinobacteria, ближайшие родственники, которых участвуют в окислении различных компонентов нефти в природных экосистемах.

Для исследования наличия alk генов у чистых культур аэробных бактерий, выделенных из воды и донных осадков районов естественных нефтепроявлений на озере Байкал, были использованы три группы праймеров, предложенных К. Sei с соавторами (2003). Данные праймеры позволяют амплифицировать alk гены у микроорганизмов, способных окислять алканы с различной длиной цепи. Наибольшее количество штаммов (76%) показали положительную ПЦР-реакцию с праймерами на III группу alk генов. Преобладание этой группы генов отмечено у штаммов, выделенных из двух исследованных районов нефтепроявлений. ДНК 10% штаммов показали положительный результат с праймерами на alk гены I группы. Они детектированы у штаммов *Brevibacillus* sp. (№ 47), *Bosea* sp. (№

7), *Micrococcus* sp. (№ 85), *Paenibacillus* sp. (№ 1), *Acinetobacter* sp. (№ 46). Последние три штамма также показали положительную ПЦР-реакцию с праймерами на III группу *alk* генов. *Alk* гены II группы были детектированы у представителей р. *Acinetobacter* sp. (№№ 2, 31, 44, 46, 57, 59), причем несколько штаммов одновременно давали продукты ПЦР также с праймерами на III группу *alk* генов. Лишь ДНК 14% исследованных штаммов не давала продуктов с праймерами ни на одну группу *alk* генов. Это представители р. *Micromonospora* (№№ 142, 144, 124, 14, 15 19), *Mycobacterium* (№ 20), *Pseudomonas* (№ 21), *Brevibacillus* (№№ 52, 59), *Acinetobacter* (№ 30). Большинство из них были выделены из водной толщи и донных осадков двух районов нефтепроявлений.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей *alk* генов. Для дальнейшего исследования было отобрано 15 чистых культур углеводородокисляющих бактерий, отнесенных к различным филумам: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, классам  $\alpha$ -,  $\gamma$ -*Proteobacteria*. Установлено, что наиболее гетерогенной по нуклеотидным последовательностям *alk* генов группой, как по результатам исследования, так и по литературным данным, является III группа, которая содержит в геноме *alk* гены, принадлежащие к р. *Rhodococcus*. Кроме того, эта группа включает *alk* гены представителей рр. *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*) и *Burkholderia* sp. (Sei et al., 2003). Исследования показали, что представители этой группы участвуют в разрушении *n*-алканов с различной длиной цепи (C6-C30).

Филогенетический анализ исследованных нами штаммов нуклеотидных последовательностей фрагментов *alk* генов III группы показал, что штаммы №№ 16, 18, 48, 1, 20, 19, 13 и 2 имеют наибольший процент сходства с последовательностями *alk* генов вида *Rhodococcus fascians* (AJ301873). Тогда как по структуре нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК данные штаммы имели наибольший процент сходства (99%) с последовательностями *Rhodococcus* sp. (штамм № 16), *Mycobacterium* sp. (штаммы №№ 18, 20). Штамм № 2 наиболее сходен с представителем р. *Pseudomonas*, № 19 — с *Micromonospora*. Нуклеотидные последовательности штаммов



№№ 48, 1 и 13 по структуре нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК имели 98-99% сходства с *Arthobacter*, *Paenibacillus*, *Sphingomonas*, соответственно.

У штаммов, различающихся по нуклеотидным последовательностям гена 16S рРНК, по *alk* генам были одинаковы и наиболее сходны со *alk* генами III группы. Это может свидетельствовать о том, что *alk* гены могли появиться в геноме различных родов бактерий в результате горизонтального межвидового переноса. Подобное предположение было выдвинуто ранее J. V. van Veilen с соавторами (2001) и Т. П. Туровой с соавторами (2008). Известно, что *alk* гены являются адаптивными, то есть связанные с приспособлением к меняющимся условиям среды. Адаптивные гены не являются обязательными для всех представителей бактериальной популяции, они располагаются на плазидах, что значительно повышает возможность их переноса между членами популяции, даже если эти члены не являются близкородственными (Турова, 2009).

Нуклеотидные последовательности, содержащие в геноме *alk* гены II группы детектируются только у представителей р. *Acinetobacter*, что было подтверждено в исследованиях К. Сеи с соавторами (2003). В результате выравнивания четырех нуклеотидных последовательностей фрагментов *alk* генов II группы, выделенных из донных осадков м. Горевой Утес установлено, что все они имеют различный процент сходства с *alk* генами штамма *Acinetobacter* sp. По структуре фрагмента гена 16S рРНК исследованные нами штаммы были отнесены к р. *Acinetobacter*. Полученные результаты по *alk* генам II группы свидетельствуют о том, что эти гены в геноме представителей р. *Acinetobacter* являются собственными и, скорее всего, их перенос возможен только между близкородственными штаммами *Alk* гены II группы были обнаружены только в геноме представителей р. *Acinetobacter*. Таким образом, чистые культуры аэробных бактерий двух районов естественных нефтепроявлений обладают специфической ферментной системой и содержат *alk* гены, которые отвечают за окисление различного спектра *n*-алканов.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН

(проект 20.9), Интеграционного проекта №27, гранта РФФИ 08-05-00709-а, 10-05-00681, гранта Президента РФ МК-1901.2010.5.

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭВФАУЗИИД (CRUSTACEA:  
EURHAUSIACEA) ВБЛИЗИ ЮГО-ВОСТОЧНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ  
КАМЧАТКИ ВЕСНОЙ 2009 г.**

Лосенкова К.В. (студентка), Седова Н.А. (доцент)  
*Камчатский государственный технический университет,  
г. Петропавловск-Камчатский  
sedova67@bk.ru*

Эвфаузиевые рачки являются составной частью океанического зоопланктона. Ими питаются усатые киты, многие промысловые рыбы, тюлени и птицы. Эвфаузииды имеют важнейшее значение в экономике рыбного и китобойного промыслов. В последнее время значение этих ракообразных возрастает в связи с непосредственным использованием их для пищевой промышленности. Приуроченность к определенным широтным зонам позволяет использовать эту группу гидробионтов для целей географического районирования.

Фауна эвфаузиид Мирового океана исследована неравномерно. Наиболее полно она изучена в областях наибольшего рыболовного и китобойного промыслов. Эвфаузииды северо-западной части Тихого океана, особенно виды, населяющие прикамчатские воды, изучены недостаточно.

Материалом для данной работы послужили сборы планктона, выполненные в тихоокеанских водах у восточного побережья Камчатки в марте-апреле 2009 г. между 50°56' и 53°58' с.ш. и 158°39' и 160°17' в.д.) над глубинами 30-1800 м. Использовали ихтиопланктонную коническую сеть с диаметром входного отверстия 80 см и размером ячеи 0.56 мм. Выполняли вертикальный лов в слое 500 – 0 м. Всего было обработано 60 проб. В пробе подсчитывали количество рачков, измеряли их длину, взвешивали на электронных весах, определяли их видовую принадлежность и пол. Район исследований был поделен на 2 части – Авачинский залив и южную часть прикамчатских вод.

Целью работы является изучение качественного и количественного состава эвфаузиид вблизи юго-восточного побережья Камчатки ранней весной 2009 г.

В пробах было обнаружено 4 вида эвфаузиид, принадлежащих к роду *Thysanoessa* Brandt, 1851: *Th. inermis* (Kroyer, 1846), *Th. rashii* (M. Sars, 1864), *Th. longipes* Brandt, 1851 и *Th. inspinata* (Nemoto, 1963). *Th. inermis*, *Th. longipes* и *Th. inspinata* являются характерными представителями открытых вод, *Th. rashii* – типичный надшельфовый вид, проникающий и в неритическую зону. Личинки, как правило, обитают в прибрежной зоне. В наших пробах личинки эвфаузиид не были обнаружены, так как они появляются в планктоне только в начале лета. Взрослые и ювенильные особи были пойманы на глубинах от 29 до 590 м. Максимальное количество эвфаузиид было поймано в ночное время. Днем рачки опускаются в более глубокие слои, поэтому плотность эвфаузиид на глубоководных станциях днем не превышала 0,16 экз./м<sup>3</sup>.

Наиболее массовыми в весенних пробах были представители двух видов – *Th. inermis* и *Th. rashii*. Единично отмечены в нескольких пробах *Th. longipes* и *Th. inspinata*. Первые два вида часто называют в числе первых пяти по биомассе видов. Это связано не столько с высокой плотностью этих рачков, сколько с крупными размерами взрослых особей. В пробах встречались, главным образом, половозрелые особи. Соотношение самцов и самок у всех обнаруженных видов колебалось в широких пределах – от 1:2 до 2:1 – и не зависело от глубины или времени суток. Ювенильные особи отмечены в четверти проб, в которых присутствовали эвфаузииды. В большинстве случаев неполовозрелых особей было мало, лишь на двух станциях их доля составила 30%.

По всей акватории района исследований средняя численность и биомасса эвфаузиид были достаточно высокими и составляли 0,5 экз./м<sup>3</sup> и 10 мг/м<sup>3</sup>, соответственно. Максимальные значения численности и биомассы отмечены в Авачинском заливе на станциях с глубинами от 69 до 590 м., а в южной части района – над глубинами от 57 до 92 м (рисунок).

*Th. inermis* – массовый вид, является важной составной частью пищи сельди, трески, пикши, мойвы, а также тюленей и птиц. Имеются две формы этого вида – *inermis* и *neglecta*. У формы *inermis* округлые глаза и не видоизмененные грудные ноги II пары; у формы *neglecta* глаза вытянуты вверх, верхняя часть значительно уже нижней и отделена более или менее явственной поперечной перетяжкой, II пара ног преобразована в хватательные. В северной части Тихого океана форма *neglecta* ранее не была отмечена. Наряду с формой, имеющей зубец на одном брюшном сегменте (VI), встречается форма с 2 зубцами (на V и VI). Представители *Th. inermis* были обнаружены в 73% обработанных проб. Пойманы на глубинах как над шельфом, так и за его пределами, преимущественно в районе юго-востока Камчатки на глубинах от 45 м до 243 м, а в Авачинском заливе на станциях с глубинами от 29 до 590 м. Максимальное количество *Th. inermis* отмечено на глубинах от 57 до 92 м (рис. 1, А). Биомасса в южной части района исследований была выше, чем в Авачинском заливе, и в среднем составила 20 мг/м<sup>3</sup> и 3 мг/м<sup>3</sup>, соответственно. Средняя плотность по всей акватории района – 0,5 экз./м<sup>3</sup>.

*Th. raschii* – амфибореальный, бореально-арктический вид. По распространению сходен с *Th. inermis*, но приурочен в основном к прибрежным водам. Распространен в шельфовых водах преимущественно до глубины 200 м (рис. 1, Б). В наших пробах отмечен над глубинами от 62 до 243 м на юго-востоке Камчатки и до глубины 590 м в районе Авачинского залива. Относительно глубоководное нахождение данного вида связано, вероятно, с небольшим количеством мелководных станций. Этот вид встретился в 34 % всех проб. Плотность *Th. raschii* составила в среднем 0,1 экз./м<sup>3</sup> в Авачинском заливе и 0,3 экз./м<sup>3</sup> – в юго-восточной части, а биомасса была в среднем 5,0 и 6,0 мг/м<sup>3</sup>, соответственно.

*Th. inspinata* – один из обычных видов эвфаузиид, обитающих в северо-западной части Тихого океана. Ранее этот вид не считался самостоятельным, он фигурировал как бесшипая форма *Th. longipes*. Единичные особи данного вида были обнаружены в 11% исследуемых проб, главным образом, в районе юго-востока Камчатки над глубинами от 77,5 м до 243 м, а в районе Авачинского залива – над глубинами от 123 до 152 м.

Плотность *Th. inspinata* составила в среднем 0,02 экз./м<sup>3</sup> в Авачинском заливе и 0,01 экз./м<sup>3</sup> на юге, биомасса – 0,8 и 0,9 мг/м<sup>3</sup>, соответственно. Распределение данного вида по акватории показано на рисунке 1 (Г).

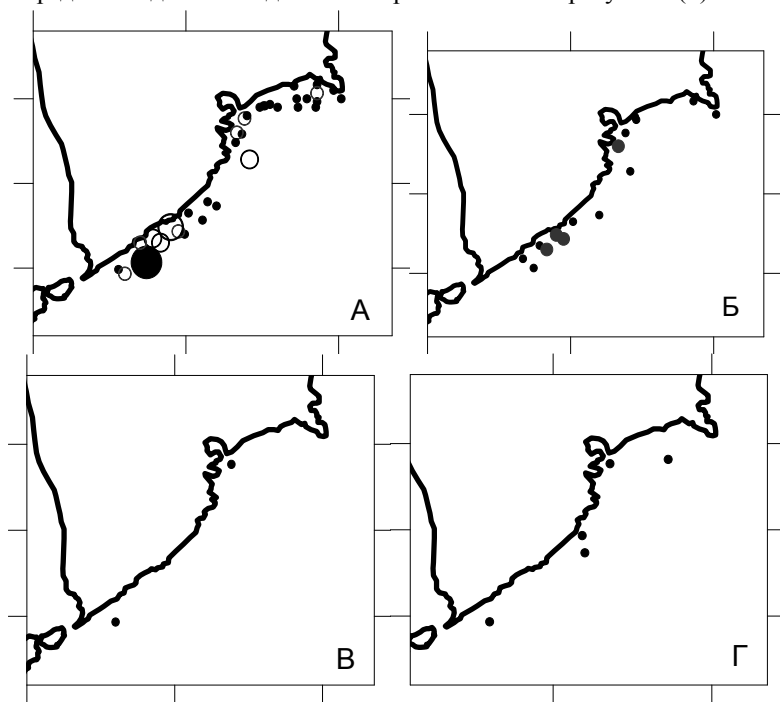


Рисунок 1. Распределение эвфаузиид (экз. в улове) вблизи юго-восточной части Камчатки (март–апрель 2009 г.): А – *Th. inermis*; Б – *Th. raschii*; В – *Th. longipes*; Г – *Th. inspinata*.

Условные обозначения:

- 1–10 экз.; ○ 11–50 экз.; □ 51–100 экз. □ 101–200 экз.; □ 201–400 экз.
- Условные обозначения:
- 1–10 экз.; ○ 11–50 экз.; □ 51–100 экз. □ 101–200 экз.; □ 201–400 экз.

*Th. longipes* – крупные рачки (18–30 мм), со спинными зубцами на брюшных сегментах. Бореальный северо-тихоокеанский вид. Обитает, преимущественно, в поверхностных горизонтах. Отмечен в 5 % всех проб, главным образом на станциях с глубинами до 77,5 м (южный район) и до 590 м (Авачинский залив) (рисунок, В). В

Авачинском заливе плотность *Th.longipes*. составила 0,01 экз./м<sup>3</sup>, а биомасса – 0,4 мг/м<sup>3</sup>. В южной части района эти показатели были выше – 0,07 экз./м<sup>3</sup> и 2 мг/м<sup>3</sup>, соответственно.

## **СПОСОБЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ РНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ**

Ляпун И.Н. (м.н.с., аспирант), Плехова Н.Г.(д.б.н.),

Сомова Л.М. (д.м.н.)

*Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии*

*СО РАМН, г. Владивосток*

*irina-lyapun@liss.ru*

Вирусные болезни составляют многочисленную группу инфекционных заболеваний, возбудители которой относятся к неклеточным формам жизни, паразитирующим на молекулярно-генетическом уровне клетки. Внеклеточно вирион инертен и не способен к репродукции и индукции обменных процессов. В процессе проникновения в клетки вирусы используют их рецепторы, но только в последнее десятилетие начались исследования молекулярных механизмов из поэтапного проникновения в клетки-мишени.

Ранее, относительно механизмов входа вируса в клетку было принято, что отдельный или несколько гетерогенных вирионов могут проникать в клетку с помощью микрофагоцитоза – виропексиса, локального нарушения целостности клеточной плазмалеммы или путем прямого слияния с нею оболочки вируса. По данным современной литературы обозначено 5 регулируемых клетками порталов для проникновения вирусов: фагоцитоз, пиноцитоз, подразделяемый на макропиноцитоз и различные типы эндоцитоза – клатрин-опосредованный (размер образованной вакуоли ~120 нм), кавеолин-опосредованный (~60 нм), кавеолин- и клатрин-независимый эндоцитоз (~90 нм) (Marsh M, Helenius A., 2006).

В современной вирусологии к вирусам Хантаан относят этиологические агенты двух тяжелых заболеваний человека: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) и хантавирусный легочный синдром (ХЛС). Обе болезни распространяются грызунами переносчиками. Вирусы ГЛПС

переносятся грызунами восточного полушария азиатской полосатой полевой мышью - *Apodemus agrarius*, а вирусы ХЛС – грызунами западного полушария (Америка). Хантавирусы являются серологически-родственными членами семейства *Bunyaviridae*. Структура нуклеокапсида этих вирусов имеет спиральную и отрицательную нить РНК, которая разделяется на три сегмента Б, С и М, которые соответствуют вирусной транскриптазе, гликопротеинам и белкам нуклеокапсида. Вирус клещевого энцефалита, относится к семейству *Flaviviridae*, которое включает три рода: *Flavivirus*, *Pestivirus* и *Hepacivirus*. Это вирусы с однонитевой положительной молекулой РНК, заключенной в нуклеокапсид икосаэдрального типа симметрии, снаружи которого находится липопротеиновый суперкапсид, содержащий гликопротеиновые шипы около 10 нм длиной (эктодомены белка Е).

Цель настоящего исследования – изучить способы проникновения вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и вируса Хантаан в эукариотические клетки.

Первичную культуру макрофагов получали путем промывания перитонеальной полости беспородных белых мышей 5 мл холодной среды RPMI, включающей гепарин в концентрации 5 ед/мл. Концентрацию клеток доводили до  $3,5 \times 10^6$  кл/мл в среде 199 с 5% эмбриональной телячьей сыворотки (НПО «Вектор», пос. Кольцово), инактивированной при  $+50^\circ\text{C}$  в течение 30 мин, без добавления антибиотиков, и вносили по 2 мл в пробирки с покровными стеклами. Для адгезии суспензию клеток оставляли в термостате при  $37^\circ\text{C}$  в смешанной атмосфере с присутствием 5%  $\text{CO}_2$ . Через 40 мин неадгезированные клетки отмывали тем же составом среды дважды и монослой макрофагов оставляли в термостате на трое суток при тех же условиях.

Культура эпителиальных клеток перевиваемой линии почек зеленой африканской мартышки Vero-6, чувствительная для вируса Хантаан, была получена из коллекции клеточных культур НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН. Клетки вносили в пробирки с покровными стёклами в пропорции 1:4 (плотность посева  $5 \times 10^4$

кл/см<sup>2</sup>), выращивали в ростовой среде, которая включала среду 199 с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, аминокислот (146,2 мг/л L-глутамина, 3,91 мг/мл L-аланина) и выращивали сутки при 37 °С с присутствием 5% CO<sub>2</sub> до образования рыхлого монослоя. Для поддержания ВКЭ использовали перевиваемую культуру клеток почек эмбриона свиньи (СПЭВ), которую выращивали с использованием питательной среды МЕМ при 37°С с добавлением 8% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамина и антибиотиков (100 ед/мл пенициллин, 10мг/мл стрептомицина).

Для заражения клеток был взят вирулентный для новорожденных белых мышей штамм «Primorye-73» ВКЭ, выделенный из мозга умершего больного КЭ. В экспериментах использовали вирусосодержащую культуральную жидкость клеток СПЭВ, зараженных вирусом, содержащим 2 lg ТЦД50. Время контакта монослоя макрофагов с вирусосодержащей культуральной жидкостью составило 60 мин, после чего клетки дважды отмывались средой 199 от неадгезированных вирусных частиц.

Также, в качестве инфекционного агента использовали выделенный на клетках Vero-6 из суспензии легких инфицированной полевой мыши культуральный штамм ПМ-Г79-95 вируса Хантаан, вирулентный для новорожденных белых мышей. Супернатантную вирусосодержащую культуральную жидкость, содержащую не менее 5 инфекционных единиц на макрофаг, вносили в монослой клеток, исходя из их посадочной концентрации и величины титра вируса, используемого для заражения. Время контакта первичной культуры макрофагов с вирусом Хантаан составило 15 мин, после чего монослой клеток дважды отмывали средой 199 для удаления внеклеточно расположенного антигена.

Время контакта эукариотических клеток с вирусосодержащей жидкостью составило от 5 до 60 мин. Эксперименты проводили трижды. В пробах вирусосодержащей жидкости с помощью метода титрования на перевиваемых культурах клеток после 15, 30 и 60 мин контакта с монослоем макрофагов по цитопатогенному



действию определяли инфекционную активность вирусов.

Предметные стекла с адгезированными на них клетками высушивали на воздухе и фиксировали в течение 30 сек, по собственной модификации, в холодном 96 0 этаноле. Это позволило сохранить вирусный антиген на плазматической мембране клеток. Затем применяли стандартную постановку непрямого МФА. Для определения вирусного антигена обработку монослоя клеток, зараженных ВКЭ, проводили с использованием гомологичной иммуноасцитической жидкости к штамму ВКЭ «Primorye-73» и, к штамму ПМ-Т79-95 вируса Хантаан, в разведении 1:64 и объеме 5-20 мкл. В качестве флуоресцирующей сыворотки для выявления антигена вируса использовали Zenon Labeling Kit Alexa Fluor 546 (Sigma) против иммуноглобулина мыши IgG1 (Sigma).

Для выявления кавеолина 1, монослой клеток, зараженный ВКЭ и ХВ, инкубировали с моноклональной сывороткой против кавеолина 1 мышей (в разведении 1:400). В качестве флуоресцирующей сыворотки использовали Zenon Labeling Kit Alexa Fluor 488 против иммуноглобулина мыши IgG1 (Sigma). Контролем служил монослой клеток без нанесения первичных антител при инкубации в тех же условиях. Готовые препараты просматривали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе (ЛСКМ) - LSM510МЕТА (Carl Zeiss, Германия).

С помощью нМФА установлено, что через 15 мин контакта ВКЭ с макрофагами выявлялось специфическое свечение цитоплазмы, преимущественно диффузного характера, в  $20 \pm 0,9$  % антигенпозитивных клеток. Адгезия и репродукция вируса КЭ в макрофагах была подтверждена методом титрования. Через 60 мин обнаруживалось снижение, относительно начального, титра вируса на 2,0 lg. Эти данные указывают на адсорбцию ВКЭ из вирусосодержащей жидкости на макрофаги.

С помощью ЛСКМ нами установлено, что антиген ВКЭ в макрофагах в начальные сроки заражения (10 мин) локализовался преимущественно на поверхности клеток. Через 45 мин свечение отмечалось в околядерном пространстве цитоплазмы макрофагов.

Тогда как кавеолин 1– меченные пептиды определялись как на поверхности клеток, так и в цитоплазме. При мультисканировании клеток, инфицированных ВКЭ, определялось отсутствие солокализаций сайтов по флуоресцентным красителям Alexa Fluor 546 и Alexa Fluor 488. Подобные данные были получены на клеточной культуре СПЭВ. Результаты исследования, полученные путем спектрофотометрии образцов на ЛКСМ, выявили, что проникновение ВКЭ в эукариотические клетки происходит не зависимым от кавеолина 1 путем.

В наших экспериментах определено, что после 15-мин контакта вируса Хантаан с макрофагами выявлялось 55,5 ± 4,6% антигенпозитивных клеток. Специфическое свечение цитоплазмы клеток диффузного характера определялось на фоне неспецифического окрашивания ядра макрофагов в красный цвет (при микроскопии в возбуждающем светофильтре ДНК способна к свечению в красном спектре). Через 15 мин инкубации инфицированной культуры, свечение отмечалось преимущественно около плазматической мембраны. В околядерном пространстве цитоплазмы макрофагов антиген хантавируса выявлялся после 30 мин, и, с течением времени, характер свечения не изменялся. Адгезия вируса Хантаан на фагоцитах была подтверждена методом титрования надосадочных вирусосодержащих жидкостей на клеточной культуре. Так, через 15 мин контакта было обнаружено снижение титра на 1,0 lg, через 30 мин – на 2,0 lg и через 60 мин – на 2,5 lg, что свидетельствовало об активной адсорбции вируса из вирусосодержащей жидкости на макрофагальные клетки.

С помощью ЛКСМ нами выявлено, что антиген вируса Хантаан в макрофагах в начальные сроки инфекции локализовался преимущественно на поверхности клеток. При мультисканировании клеток, инфицированных вирусом Хантаан, и окрашенным на присутствие кавеолина 1, было обнаружено наличие солокализации сайтов по флуоресцентным красителям Alexa Fluor 546 и Alexa Fluor 488. Причем, необходимо отметить, что в некоторых клетках наряду с солокализацией сайтов по длинам волн 546 и 488 нм,

выявлялось ее отсутствие. Подобные результаты были получены при изучении клеток культуры Vero-6, инфицированных вирусом Хантаан. Это указывает на то, что при проникновении в эукариотические клетки вирус Хантаан может использовать механизм связанный с кавеолином 1. Наряду с этим, помимо кавеолин-опосредованного эндоцитоза вируса Хантаан осуществляет вход в клетки независимо от кавеолина 1. О том, что вирусы способны проникать в клетки, используя различные механизмы, указывалось и другими исследователями (Damm et al., 2005; 2006).

Таким образом, в результате исследований установлено, что ВКЭ способен проникать в эукариотические клетки быстрее, чем вирус Хантаан. Так, ВКЭ проникал в цитоплазму клетки в течение первых 5 мин контакта, тогда как вирус Хантаан через 15 мин после заражения макрофагов. Тем не менее, при выявлении с помощью метода титрования перевиваемых культур количества адсорбированных на поверхности макрофагальных клеток вирусных частиц, установлено, что активность вируса Хантаан была выше, чем ВКЭ. Так, через 60 мин контакта при заражении макрофагов вирусом Хантаан титр снижался на 2,5 lg, а при инфицировании ВКЭ на 2,0 lg.

С помощью метода мультисканального сканирования при использовании ЛСКМ определено, что вирус Хантаан проникает в эукариотическую клетку как при участии кавеолина, так и без него, тогда как ВКЭ осуществляет вход в клетки без использования кавеолин-опосредованного эндоцитоза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт № 16.740.11.0182).

**НОСИТЕЛЬ СУБЪЕДИНИЧНЫХ АНТИГЕНОВ НА ОСНОВЕ  
МОНОГАЛАКТОЗИЛДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛА ИЗ  
*ULVA FENESTRATA* И КУКУМАРИОЗИДА A2-2 ИЗ  
*CUCUMARIA JAPONICA***

Мазейка А.Н. (аспирант),

Костецкий Э.Я., Санина Н.М.,

Цыбульский А.В., Воробьева Н.С.

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*nikandrei@inbox.ru*

Надмолекулярные комплексы сапонинов, холестерина и мембранных липидов широко исследуются в качестве систем доставки и презентации антигенов в субъединичных вакцинах. Иммуностимулирующий комплекс (ИСКОМ) - широко известный адъювант, представляющий собой надмолекулярный комплекс сапонинов *Quillaja saponaria*, холестерина (ХОЛ) и фосфатидилхолина. Было показано, что ИСКОМ обладает высокой адъювантной активностью в отношении широкого круга бактериальных и вирусных антигенов. Однако, у ИСКОМ имеются недостатки: токсичность, обусловленная, наличием гемолитичных сапонинов *Q. saponaria*, не всегда достаточная адъювантная активность, отсутствие удовлетворительного способа получения комплекса, пригодного для промышленного внедрения.

С целью устранения недостатков ИСКОМ нами был разработан тубулярный иммуностимулирующий комплекс (ТИ-комплекс) на основе холестерина, моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) и суммы моносульфатированных тритрепеновых (ТГ) из *Cucumaria japonica*, с весовым соотношением компонентов 2:6:3 соответственно. Было показано, что в данный комплекс эффективно встраивается термоденатурированная форма белка YompF из *Yersinia pseudotuberculosis*. При этом иммуногенность данного антигена повышается. Однако адъювантная активность данного ТИ-комплекса оказалась недостаточно высокой и не воспроизводимой, в препаратах кроме частиц комплекса находилось большое количество исходного материала (аморфная фаза МГДГ+ХОЛ) и промежуточных структур. Цель настоящей работы – получение носителя антигенов на основе

тритерпеновых гликозидов из *Cucumaria japonica*, холестерина и МГДГ из морских макрофитов с высокой адьювантной активностью. Практическая часть работы охраняется заявкой на патент №2010115549.

Для повышения адьювантной активности описанного ранее ТИ-комплекса из суммы тритерпеновых гликозидов *C. japonica*, использованной для его получения, выделили хроматографически чистый кукумариозид А2-2. Данный ТГ обладает максимальной иммуностимулирующей активностью из всех ТГ *C. japonica*, при этом исключается возможность попадания в ТИ-комплекс ди- и трисульфатированных ТГ из *C. japonica*, обладающих иммуносупрессорной активностью. Для получения препаратов ТИ-комплексов, содержащих только тубулярные частицы, и не содержащие исходного материала (МГДГ+ХОЛ) и промежуточных структур мы исследования степень их гомогенности с использованием метода трансмиссионной электронной микроскопии с энергетической фильтрацией (ЕFTEM), параллельно контролировали структуру частиц ТИ-комплекса на негативно контрастированных образцах с помощью обычной трансмиссионной электронной микроскопии. Удаление из препаратов ТИ-комплекса промежуточных структур и исходного материала позволяет повысить их адьювантную активность за счет роста концентрации биологически активных тубулярных частиц.

Нами были исследованы препараты ТИ-комплексов с весовым соотношением компонентов КД:ХОЛ:МГДГ – 3:2:6; 1,5:2:6; 6:2:6; 6:2:4, 6:2:10. В результате было установлено, что соотношение компонентов КД:ХОЛ:МГДГ 6:2:4 (рис. 1), обеспечивает максимально эффективное формирование трубчатых наночастиц, а также исключает образование других частиц и сохранение исходного материала. Необходимое условие для формирования однородных суспензий, содержащих только тубулярные частицы - весовое соотношение КД:ХОЛ равно 3:2, тогда как весовое содержание МГДГ может быть равным 4-6. Исследование устойчивости ТИ-комплекса КД:ХОЛ:МГДГ 6:2:4 показало, что при разбавлении исходных препаратов фосфатно-солевым буфером происходит постепенное

разрушение тубулярных наночастиц и увеличивается количество вещества, не входящего в состав тубул. При разбавлении в 5 раз признаков разрушения структуры исходного комплекса не наблюдается, тогда как при разбавлении в 75 раз наблюдается практически полное разрушение ТИ-комплекса. Это, по-видимому, и являлось причиной низкой адьювантной активности ранее разработанного ТИ-комплекса, когда при введении животным его разбавляли в 75 раз.

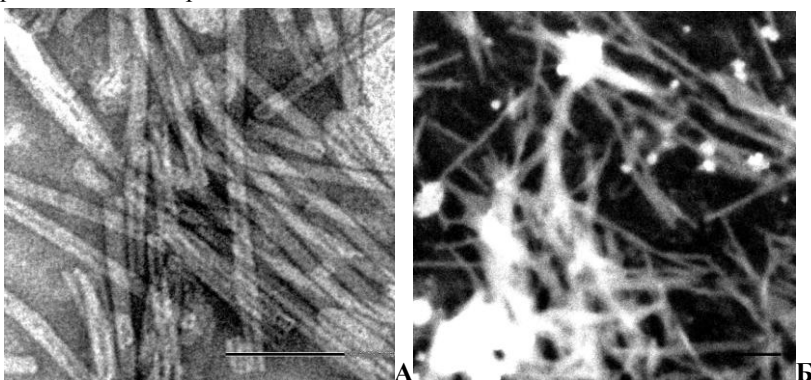


Рисунок 1. Электронные микрофотографии ТИ-комплекса КД:ХОЛ:МГДГ 6:2:4. А – негативно контрастированный образец, масштабная линия 100 нм, Б – не окрашенный образец, снимок EFTEM, масштабная линия 200 нм.

Биологические испытания на мышах показали, что в составе ТИ-комплекса, порообразующий белок YompF из наружной мембраны клеток *Y. pseudotuberculosis* оказался значительно более иммуногенным чем в чистом виде, о чем свидетельствует четырехкратное увеличение оптической плотности в ELISA в случае трименой формы, введенной в составе ТИ-комплекса, и троекратное возрастание оптической плотности в случае ТИ-комплекса, содержащего мономер порина в сравнении со свободным антигеном. Аналогичные результаты были получены с использованием другого антигена - тремостабильного токсина (ТСТ) из *Y. pseudotuberculosis*, при этом оптическая плотность в ELISA увеличивалась в три раза в сравнении со свободным антигеном.

Приведенные данные биоиспытаний свидетельствуют о том, что ТИ-комплекс может служить мощным адъювантом в отношении субъединичных бактериальных антигенов.

**МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
И ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ МАЛОРОТОЙ КОРЮШКИ  
ЛИМАНА Р. АМУР**

Мазникова О.А.  
*ХфТИНРО-Центра, г. Хабаровск*  
*arishka\_20@list.ru*

Малоротая корюшка как промысловый объект в последнее время пользуется высоким потребительским спросом, в связи с этим отмечена большая заинтересованность рыбодобывающих организаций в ее добыче. Ранее возможный вылов устанавливался только для р. Амур и запасы корюшки малых рек лимана оставались невостребованными. В связи с закреплением рыбопромысловых участков за рыбодобывающими организациями ниже г. Николаевск – на – Амуре, где лов может производиться в режиме прибрежного рыболовства в соответствии с типом распределения ресурса, возникла необходимость оценить объем возможного вылова на данной акватории. Целью данной работы является оценка численности и биологического состояния популяции малоротой корюшки в Амурском лимане.

Работы проводили на материковом побережье северной, центральной и южной частей лимана от устья р. Ныгай до устья р. Чомэ, а так же на участках Невельского, Восточного и Хуссинского фарватеров со стороны административных границ Хабаровского края. В работе использованы результаты анализа 1295 особей малоротой корюшки, из которых для 250 особей был выполнен морфометрический анализ по 15 признакам. Морфологическое описание основано на признаках, традиционно используемых в систематике и диагностике малоротых корюшек (Клюканов, 1970, 1975; Черешнев, 1999, 2001). Для рыб из приустьевого лиманного участка р. Чомэ дополнительно проведен остеологический анализ по 6 признакам. Цифровые рентгенограммы были получены на

рентгенаппарате Faxitron MX-20 на базе Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток.

Для рационального хозяйственного использования любых видов рыб нужно иметь представление об их внутривидовой структуре. Имеющиеся к настоящему времени сведения о малоротых корюшках данной акватории носят в основном описательный характер, необходимый на этапе изучения дифференциации видов и их фенотипической изменчивости. Необходимость ревизии фауны малоротых корюшек и полного изучения их внутривидовой структуры и экологии в пределах лимана р. Амур очевидна. В разное время для лимана было описано от одного до трех видов малоротых корюшек (Дыбовский, 1808; Берг, 1909; Таранец, 1938 и др.). Это такие виды как: *Hypomesus olidus* (Pallas, 1814), *H. nipponensis* (McAllister, 1963) и *H. japonicus* (Brevoort, 1856) в качестве *H. pretiosus* (Girard, 1854). Причем, из-за симпатричности (Клюканов, 1970), и как следствие, большой морфологической изменчивости и фенотипическом перекрытии видов *H. olidus* и *H. nipponensis* до сих пор ведутся дискуссии о реальности обитания последнего в малых реках материкового побережья Амурского лимана в пределах Хабаровского края.

Если определение видовой принадлежности рыб из центральной и северной частей лимана не вызвало никаких затруднений, в связи с таксономической идентичностью вида по другим районам ареала, то корюшки из приустьевых участков р. Чомэ были больше похожи на морскую, чем на обыкновенную малоротую корюшку. Так посредством комплекса морфометрических и остеологических признаков для корюшки из южной части лимана выявлены следующие черты: vert. 53-58 (33-34+20-24), а так же помимо больших размеров тела, меньший диаметр глаза, большее заглазничное пространство и широкий лоб, а также более длинный и высокий спинной плавник, меньшая длина основания анального плавника. Таким образом, по данным морфологического и остеологического анализов установлено, что рыбы из приустьевых лиманного участка р. Чомэ действительно относятся к малоопозвоночному типу малоротых корюшек и являются



проходной формой вида *H. olidus* (Pallas, 1814).

В ходе морфологического анализа так же выявлено, что все исследованные корюшки отчетливо разделяются на 2 фенотипа по длине рыла: «длиннорылую» (преимущественно северная часть лимана) и «короткорылую» (южная часть). По этому признаку выделенные группы легко диагностируются визуально.

Во второй декаде сентября отмечен ход корюшки в устья рек на зимовку. В это время половые продукты находятся на II и III стадии зрелости; кишечник у большинства особей пуст. Соотношение полов близко 1:1 с преобладанием самцов. Преднерестовая группировка вида представлена 4 возрастными группами. Доминирующими являются рыбы возраста 2+ и 3+. Размеры исследованной половозрелой корюшки типичны для вида: длина (АС) трехлеток (2+) в среднем составляет 101,6 мм при весе 8,9 г, для 3+ - 105,1 и 10,4 г соответственно. Максимальные показатели отмечены для самки возраста 4+ и составляют 128,0 мм и 15,3 г. Корюшки из южной части лимана представлены идентичными возрастными группами. Рыбы возраста 2+ представлены особями длиной тела в среднем 129,6 мм и весом 15,3 г, показатели для рыб возраста 3+ составляют 130,0 мм и 21,6 г. Максимальная длина тела и вес зафиксированы для самки возраста 4+ и равны 164,0 мм и 42,9 г.

Оценка численности: По данным ихтиологической съемки в Амурском лимане в сентябре 2010 года, основные скопления корюшки приурочены к приустьевым участкам рек. Плотность вида составила от 2 до 7 экз./м<sup>2</sup>. Уловы закидным неводом варьировали от 8 до 250 экз. за один замет. Средние показатели длины и массы тела для промысловых особей равны 10,6 см и 9,9 г соответственно. Промысловый запас оценен в 3,14 млрд. промысловых экземпляров малоротой корюшки, что соответствует 31,1 тыс. т.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОНАД ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CORBICULA JAPONICA* ИЗ УСТЬЯ РЕКИ КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

Майорова М.А. (студентка), Рыбалкина С.М. (доцент),  
Кравченко Д.Н. (начальник МБС ДВФУ «Заповедное»)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*  
*dzyuba@bio.dvfu.ru*

*Corbicula japonica* относится к числу наиболее популярных моллюсков, на которых имеется большой спрос на внешнем рынке. Этот вид добывается во многих акваториях Приморского края, в частности в устье реки Киевка, которая является в настоящее время потенциальным местом добычи этого моллюска. Несмотря на то, что популяционная биология корбикулы достаточно хорошо известна, ее репродуктивный цикл в устье р. Киевка изучен лишь приблизительно. Отсутствие же этих данных, при развитии в этом районе усиленного промысла, может нанести значительный урон сохранению моллюсков в указанной акватории.

Цель работы заключается в изучении сезонного развития гонад самцов и самок *C. japonica* в устье р. Киевка с учетом температурного режима (рис. 1).

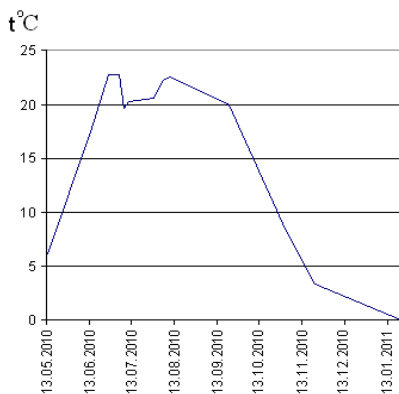


Рисунок 1. Температурный режим в устье реки Киевка в период проведения исследований.

Моллюсков добывали с глубины 0,6 м с мая по декабрь 2010 г. и в январе 2011 г. В холодное время животных добывали один раз в месяц. Для установления четких границ нереста с мая по сентябрь исследование гонад моллюсков проводили 2-3 раза в месяц. Каждая проба соответствовала 12 моллюскам. Гонады фиксировали 4% нейтральным формалином и спирт – уксусной кислотой по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Караччи с докраской эозином. Сезонную изменчивость гонад определяли по процентному соотношению типов (групп) половых клеток в гонадах. У самок эти типы были представлены оогониями (1-я группа); ооцитами раннего троплазматического роста (2-я группа) – поперечный диаметр этих клеток превышает продольный, и ооциты широким основанием располагаются на мембране половых трубочек; ооцитами на первых этапах троплазматического роста (3-я группа) – их продольный диаметр превышает поперечный; ооцитами в завершающей стадии троплазматического роста (4-я группа) - связь ооцита с мембраной половых трубочек обеспечивается через удлинненную «ножку» или «стебелек»; ооцитами, имеющими округлую форму, содержащими в ядре ядрышко или не имеющими его и свободно лежащими в просвете половых трубочек (5-я группа). Мы считаем, что ооциты, содержащие ядрышко или не содержащие его, можно отнести к клеткам готовым к вымету, так как не исключено, что движение клеток к вымету начинается уже на стадии ооцитов, в ядрах которых еще содержится ядрышко, и его исчезновение может протекать в процессе движения клеток по половым протокам наружу.

Для анализа сперматогенеза в гонадах самцов выделяли зону размножения, занятую сперматогониями (зона 1); зону дифференцировки, занятую сперматоцитами (зона 2); зону формирования, занятую сперматидами (зона 3), и зону созревания, занятую спермиями, укомплектованными в сперматофорах (зона 4).

Как показали процентные соотношения групп клеток в женских гонадах корбикулы, с конца сентября по май включительно моллюски находились в состоянии половой инертности, когда в гонадах

практически отсутствовали ооциты даже на начальных этапах роста, однако в начале июня уже начинается активный гаметогенез и к концу месяца появлялись ооциты, готовые к вымету. С июля по сентябрь моллюски находились в состоянии нереста. Однако такая растянутость нереста моллюсков обеспечивалась не одной волной гаметогенеза, а двумя или, возможно, даже тремя. Об этом свидетельствует тот факт, что в полуопустошенных половых трубочках моллюсков содержалось достаточно большое число оогониев, которые после первой волны нереста давали новый запас растущих ооцитов. При этом создавалось впечатление, что одна волна оогенеза накладывалась на предыдущую, в результате чего на протяжении всего теплого сезона (июль- сентябрь) встречались ооциты 5-й группы. К концу нереста (начало сентября) все животные переходили в состояние половой инертности и в половых железах практически отсутствовали оогонии и ооциты, закончившие рост, отмечалось наличие ооцитов в состоянии резорбции.

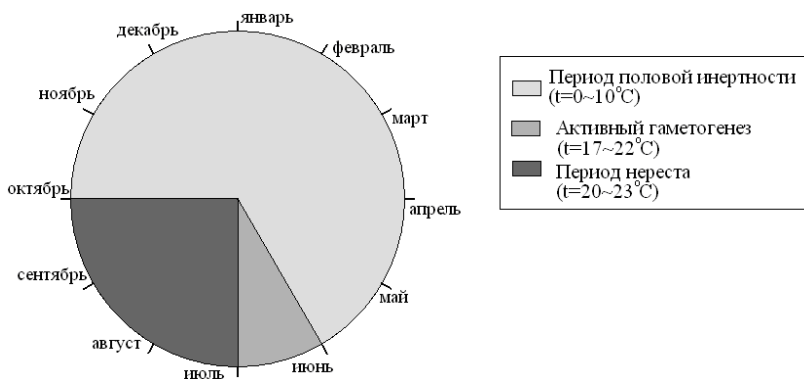


Рисунок 2. Продолжительность фаз репродуктивного цикла *Corbicula japonica* из устья р. Киевка в течение года.

У самцов состояние гонад в период половой инертности характеризуется преобладанием в половых трубочках зоны 1. При этом половые трубочки разветвлены незначительно и их просветы пусты. В период активного гаметогенеза наблюдается увеличение

зоны 2 и уменьшение зоны 1. В конце июня формируются сперматофоры, в которых выявляются сперматозоиды, прикрепленные к их центральному стержню. Начало нереста характеризуется разрывом сперматофоров и выбросом спермиев в просвет половых трубочек. После первой волны нереста четко обозначается увеличение площади зоны размножения — зоны 1.

Как показали сезонные исследования, к началу нереста (в конце июня) 1-я зона представлена единичными сперматогониями, 2-я зона занимает 51 % площади ацинусов, 3-я зона — 19%, 4-я зона - 30 %. Вторая волна гаметогенеза у самцов совпадает с таковой у самок, но она более четко выражена. На гистологических препаратах у самцов более резко обозначены границы зон созревания и синхронный выброс спермиев в просвет половых трубочек во время нереста.

Таким образом, большая часть репродуктивного цикла *Corbicula japonica* приходится на период половой инертности. Процесс гаметогенеза протекает практически за 1 месяц (рис. 2) и вследствие того, что волны гаметогенеза непрерывно сменяют друг друга, нерест моллюсков растягивается на 3 месяца.

## **ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ САПОНИНОВ ИЗ *SAPONARIA OFFICINALIS* НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И НЕЙТРОФИЛОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ**

Максяткина И.В. (аспирант)<sup>1</sup>, Запорожец Т.С. (сотрудник)<sup>1</sup>, Юдина  
Т.П. (сотрудник)<sup>2</sup>, Черевач Е.И. (сотрудник)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*НИИ Эпидемиологии и микробиологии СО РАМН,*

<sup>2</sup>*Тихоокеанский государственный экономический университет,  
г. Владивосток*

*inna.maxatkina@yandex.ru*

Сапонины представляют собой высокомолекулярные сложные органические соединения из группы растительных гликозидов. Широкий спектр биологической активности природных сапонинов, а также доступность источников их получения, определяют перспективность использования соединений этого класса для создания на их основе модифицированных производных и далее лекарственных

препаратов. Источником сапонинов в Приморском крае является *Saponaria officinalis* – многолетнее травянистое растение из семейства Caryophyllaceae.

Сапонины при парентеральном введении вызывают гемолиз эритроцитов. В тоже время, при пероральном введении сапонины оказывают противовоспалительное, противовирусное, адьювантное, а также иммуномодулирующее действие (Francis et al., 2002). Известно, что в зависимости от дозы сапонины способны вызывать либо иммуностимулирующий, либо иммуносупрессирующий эффект (Ода и др., 2000).

Цель настоящего исследования – оценка влияния перорального введения сапонинов из *S. officinalis* на функциональную активность макрофагов и нейтрофилов в зависимости от дозы (0,02, 0,1, 0,5, 1,0 мг/кг).

Экспериментальные исследования выполнены на неинбредных белых мышах массой тела 18-20 г, полученных из питомника Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Работа выполнена с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах. Мыши 1 группы (контроль) содержались на стандартном рационе вивария. Мыши 2, 3, 4 и 5 опытных групп получали сапонины *S.officinalis* перорально в дозах 0,02, 0,1, 0,5 и 1,0 мг/кг соответственно в течение 7 дней. Животных выводили из опыта с использованием эфирного наркоза. Исследовали бактерицидную (НСТ-тест), фагоцитарную (фагоцитарный показатель (ФП) и фагоцитарное число (ФЧ) и адгезивную активность (АК) фагоцитирующих клеток перитонеальной полости животных. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ «Биостат» и MS Excel.

У мышей 2 группы, получавших сапонин в дозе 0,02 мг/кг, значимых изменений показателей функциональной активности фагоцитов (по сравнению с контролем) не выявлено. У мышей 3 группы, получавших сапонин в дозе 0,1 мг/кг наблюдалось значительное увеличение фагоцитарной, бактерицидной и адгезивной

активности по сравнению с показателями у животных контрольной группы. У мышей 4 и 5 групп, получавших сапонин в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг, фагоцитарная активность клеток увеличивалась, тогда как бактерицидная и адгезивная способность фагоцитов не изменялась.

Таким образом, с увеличением дозы сапонина *S.officinalis*, вводимой перорально мышам, способность к усилению функциональной активности КПП снижается, что может быть связано с истощением резервных возможностей фагоцитов в результате чрезмерной стимуляции.

Полученные результаты демонстрируют зависимость иммуномодулирующих свойств сапонинов *S.officinalis* от дозы. Это обстоятельство необходимо учитывать при возможном использовании сапонинов в качестве стимуляторов врожденного иммунитета.

## **ДИНАМИКА АДГЕЗИИ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ И ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В КУЛЬТУРЕ**

Мищенко П.В. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, Владивосток*

*xpolli@mail.ru*

Клеточные культуры находят все более широкое применение в разных областях биологии и медицины. Их используют при решении таких общебиологических проблем, как выяснение механизмов дифференцировки и пролиферации, взаимодействие клеток со средой, адаптация, старение, биологическая подвижность, злокачественная трансформация. Одним из важных для изучения свойств клеток в культуре является исследование их адгезии на различные субстраты. Известно, что именно прикрепление клеток к субстрату является гарантией нормального развития любого типа клеток в культуральных экспериментах. Клетки, в течение определенного времени не сумевшие адгезировать, погибают. Поэтому правильный подбор субстрата, а также детальное исследование динамики адгезии клеток на него, являются необходимыми условиями успешного эксперимента на культуре любых типов клеток.

Целью данной работы стало исследование динамики адгезии

клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц головного мозга крыс в культуре. В связи с этим были определены задачи: посчитать количество клеток, прикрепившихся к субстрату (адгезировавших), на разных сроках после начала культивирования, на основе чего показать динамику адгезии клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц в культуре; сравнить динамику адгезии клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц при использовании различных вариантов оригинальных субстратов (углеводного и белкового).

Для проведения эксперимента от шести взрослых крыс линии Wistar был взят материал: обонятельные луковицы и обонятельный эпителий. Культивирование клеток производили в течение трех недель при 37°C, в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Половину объема среды культивирования меняли на свежую каждые 3-4 суток. При достижении 80% конfluenceности клетки пересевали.

Уже на вторые-третьи сутки после начала культивирования заметно прикрепление некоторого количества клеток. Так же наблюдается распластывание клеток на пластике, их дифференцировка в биполярные нейрональные клетки и клетки глии. Имеется большое количество недифференцированных, округлых, возможно, стволовых клеток. Некоторые из них образуют сферические нейросферы. На более поздних сроках культивирования (две недели), в культуре обонятельного эпителия наблюдается дифференцировка разных типов клеток: биполярные нейроны, глиальные клетки с многочисленными отростками. Значительно меньше становится нейросфер и недифференцированных клеток, по сравнению с более ранними сроками.

Далее клетки были высажены на разные углеводные и белковые субстраты (матрицы). Для белковых матриц использовали следующие растворы белков: амассин на PBS (фосфатном буфере) (в концентрациях 10 и 50 мкг/мл), коллаген IV типа на PBS (концентрация 10 мкг/мл), полилизин на PBS (концентрация 10 мкг/мл). Для углеводных матриц использовали растворы пектинов разной степени этерификации: 0', 20' и 50'. Все компоненты для



белковых и углеводных матриц этого эксперимента были любезно предоставлены сотрудниками Лаборатории фармакологии ИБМ ДВО РАН.

Фиксацию клеток для проверки почасовой адгезии проводили по схеме: 1 час– 3 часа – 6 часов – 12 часов – 24 часов – 48 часов – 3 суток – 7 суток – 10 суток после начала эксперимента. Подсчет клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц в данной работе был проведен на сроках: 1 час, 3 часа, 6 часов, 48 часов. Считали среднее количество клеток на одну лунку с учетом ошибки.

В результате подсчетов было отмечено, что у клеток и обонятельных луковиц, и обонятельного эпителия отмечается положительная динамика адгезии при увеличении срока от начала эксперимента на всех белковых и углеводных субстратах.

У клеток обонятельных луковиц на белковых субстратах: амассине (10 мкг/мл), коллагене IV и полилизине количество осевших клеток примерно одинаковое и статистически достоверно не отличается, в то время как адгезия клеток на амассине в концентрации 50 мкг/мл на сроке 1 час была меньше примерно в два раза. На пектинах 20' и 50' количество адгезировавших клеток обонятельных луковиц на разных сроках существенно не отличалось, и было в два раза меньше, чем на пектине 0' и в контроле. В контроле, на пластике, на сроках 6 и 24 часа адгезия клеток данного типа, по сравнению с ранними сроками, не увеличилась. На пектине 0' через 24 часа после начала эксперимента количество прикрепившихся клеток было больше, чем в контроле на том же сроке.

У клеток обонятельного эпителия на белковых субстратах наибольшие показатели адгезии наблюдались при использовании коллагена IV типа. На остальных белках показатели были примерно одинаковыми, но на амассине в концентрации 50 мкг/мл на раннем сроке (1 час) число адгезировавших клеток было меньше, а на сроке 24 часа - больше, чем на амассине в концентрации 10 мкг/мл и полилизине. При общей положительной динамике адгезии клеток обонятельного эпителия на углеводных субстратах на сроке в 24 часа в контроле адгезия падает. Кроме того, на пектине 0' и на пластике

показатели примерно одинаковы на сроках 1, 3 и 6 часов.

Таким образом, в культуре обоих типов клеток была показана положительная динамика адгезии при увеличении срока от начала эксперимента. Кроме того, показатели адгезии клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц на коллаген IV типа выше, чем на других белковых субстратах, т.е. он стимулирует адгезию. Это коррелирует с литературными данными и косвенно доказывает участие данного субстрата в нейтральной дифференцировке. Показано также влияние на параметры адгезионной активности белка амассина. Предполагается, что данный белок в большой концентрации подавляет адгезию на ранних сроках (1 час). Кроме того, сделано предположение, что этирефикация углеводов, в данном случае пектинов, тормозит адгезию, поскольку в нашем эксперименте количество адгезировавших клеток обонятельных луковиц и обонятельного эпителия в контроле и на пектине 0', больше, чем на пектине 20' и 50', особенно на ранних сроках (1 час, 3 часа, 6 часов).

Работа выполнена в рамках гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования, договор № 11.G34.31.0010, а также в рамках Государственных контрактов с Министерством образования и науки РФ № 02.740.11.0292 и № 02.740.11.0450.

## **ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТВАЛОВ ПАВЛОВСКОГО БУРОУГОЛЬНОГО РАЗРЕЗА**

Мороз К.А. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*kat.10.02@mail.ru*

В настоящее время актуальной становится проблема интенсивного антропогенного воздействия на природные ландшафты. Наиболее характерными представителями техногенных ландшафтов можно считать отвально-карьерные ландшафты, образовавшиеся при разработке месторождений полезных ископаемых открытым способом, данный способ является самым дешевым. Происходит

замена природных ландшафтов техногенными, восстановление которых естественными процессами идет крайне медленно. Очень часто после выработки вскрышные породы остаются без последующей рекультивации. Состав и свойства таких заброшенных вскрышных пород не изучены. Самые распространенные загрязняющие вещества, которые остаются во вскрышных породах – тяжелые металлы.

Целью данной работы является: охарактеризовать отвалы Павловского бурогоугольного карьера по содержанию в них тяжелых металлов. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определение содержания органического вещества.
2. Определение кислотноосновных свойств.
3. Определение гранулометрического состава.
4. Определение содержания тяжелых металлов.

В качестве объектов исследования были выбраны отвалы Павловского бурогоугольного разреза. Согласно физико-географическому районированию оно расположено на территории входящей в область Приханкайской равнины, в Приханкайско-Уссурийской провинции. Находится Павловское бурогоугольное месторождение в лесостепной зоне. Эта зона заходит только на Приханкайскую и Зейско-Буреинскую равнину. Наиболее распространенными ненарушенными почвами, по данным Ознобихина В.И. в районе исследования являются лугово-бурые отбеленные, литоземы и измененные в ходе промышленной деятельности техноземы (отвалы). Всего было заложено 5 разрезов в разных районах Павловского угольного разреза. Из каждого разреза был отобран смешанный образец на глубине от 0 до 30 см, для дальнейшей характеристики. В пробах было определено: содержание органического вещества, методом мокрого сжигания по Тюрину, рН солевой и водной вытяжки, гранулометрический состав, содержание тяжелых металлов (РД 52.18.191-89).

По гранулометрическому составу отвалы относятся к глине средней и глине легкой. Это может являться причиной не благоприятных водно-физических условий, что видно по составу растительного покрова сформированного на данных эмбриоземах. На

глинистых отвалах, возраст которых 3,8 лет проективное покрытие относительно ниже, чем на отвалах более старшего возраста. Состав растительности достаточно разнообразный, а присутствие злаковых характерно только для отвалов возрастом от 13 до 18 лет.

Изученные нами отвалы характеризуются достаточно низким содержанием органического вещества. Поверхностные горизонты отвалов, имеющих возраст от 8 лет и старше, обогащены органическим веществом больше чем нижележащие горизонты, в которых содержание органического вещества составляет десятые доли процента. Отвалы возраст которых 3 года имеют почти одинаковые значения на протяжении всего профиля.

Если охарактеризовать отвалы по кислотноосновным свойствам то можно увидеть, что: у отвалов, возраст которых достигает лишь 3 года и содержание органического вещества имеет почти одинаковое значение, реакция среды очень кислая по всему профилю. В отвалах, с возрастом 8, 12,13 и 18 лет, с уже сформировавшимся органо-аккумулятивным горизонтом, в котором значение по содержанию органического вещества возрастает, по сравнению с нижележащими горизонтами, реакция среды в верхних горизонтах менее кислая, чем в нижележащих. Из этого можно сделать предположение, что кислая реакция среды отвалов Павловского буроугольного разреза может быть связана с химическим составом вскрышных пород этого угольного месторождения.

Если связать содержание тяжелых металлов с кислотноосновными свойствами отвалов, то можно сделать предположение, что Cu, Pb, Cr, Mn присутствуют в отвалах в минимальных количествах, из-за того, что они более подвижны в кислой среде. Прямой зависимости содержания тяжелых металлов с содержанием углерода не прослеживается. Так же можно увидеть зависимость содержания Pb и Cr с гранулометрическим составом. Чем более легкий гранулометрический состав, тем меньше содержание этих элементов.

Из всех отвалов по содержанию тяжелых металлов, выделяется поверхностный горизонт 8-го разреза. Он характеризуется самым

меньшим содержанием всех элементов, что можно связать с хорошо развитым растительным покровом и, скорее всего, с накоплением элементов в растениях. В первую очередь с Cu, Zn, Cr, Mn, которые выполняют важную биологическую роль.

В целом превышений предельно допустимых концентраций, по всем представленным элементам не наблюдается. Тем не менее, по некоторым физико-химическим свойствам, отвалы Павловского бурогоугольного разреза не совсем благоприятны для формирования хорошего растительного покрова. В основном в составе растительного покрова преобладают виды менее требовательные к содержанию органического вещества и реакции среды.

#### Выводы:

1. В целом отвалы характеризуются нарастанием содержания органического вещества с увеличением возраста отвалов.
2. По реакции среды отвалы Павловского бурогоугольного разреза являются сильнокислыми и кислыми.
3. По гранулометрическому составу они преимущественно глинистые.
4. По содержанию тяжелых металлов отвалы Павловского бурогоугольного разреза можно считать безопасными, так как в них не наблюдаются превышения по предельно допустимым концентрациям.

#### Литература:

1. Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 656 с.
2. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Москва ун-та, 1970. 487.
3. Степанько А.А. Агрогеографическая оценка земельных ресурсов и их использование в районах Дальнего Востока. – Владивосток ДВО РАН, 1992. 115с.
4. ГОСТ 17.5.1.01-83 «Охрана природы. Рекультивация земель». Постановление Государственного комитета СССР, 1982. 60 с.
5. РД 52.18.191-89 «Методика выполнения измерений массовой доли кислоторастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия) в пробах почвы атомноадсорбционным анализом». – Москва, Государственный комитет СССР по гидрометеорологии, 1990. 15 с.

**МЕЖГОДОВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ  
ЭМБРИОТЕСТА, ВЫПОЛНЕННОГО В ВОДЕ  
ИЗ ЗАЛИВА НАХОДКА**

Мясникова А.М. (студентка), Журавель Е.В. (доцент)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*zhrvl@rambler.ru*

Зал. Находка является одним из заливов второго порядка, входящих в зал. Петра Великого Японского моря. На его берегах находятся четыре незамерзающих порта: торговый, рыбный, нефтеналивной и самый современный в России - Восточный порт (в б. Врангеля), в составе которого действуют крупнейшие в стране угольный, контейнерный и лесной терминалы. В зал. Находка также впадает относительно крупная р. Партизанская (вторая по величине после р. Раздольной), которая несет сельскохозяйственные стоки и сточные воды г. Партизанска [5]. Кроме того, в декабре 2009 г. был введен в эксплуатацию специализированный морской нефтеналивной порт Козьмино, являющийся конечной точкой трубопроводной системы «Восточная Сибирь – Тихий океан» (ТС ВСТО). Он предназначен для перевалки нефти на современные морские суда. Интенсивная хозяйственная деятельность отрицательно влияет на состояние окружающей среды, и в настоящее время залив Находка наряду с Амурским заливом считается одной из самых загрязненных акваторий Приморья. В связи с этим в зал. Находка регулярно проводятся гидрохимические и гидробиологические наблюдения за состоянием среды и биоты, частью которых является биотестирование вод залива.

Пробы морской воды для биотестирования отбирали в июле 2009 и 2010 гг. в прибрежной части залива (рис. 1) из поверхностного слоя. Параллельно в пробах определяли основные гидрохимические показатели (соленость, содержание растворенного в воде кислорода, минерального и органического фосфора, анионных поверхностно-активных веществ АПАВ, нефтяных углеводородов, БПК<sub>5</sub>).

В качестве тест-организмов использовали плоских морских ежей *Scaphechinus mirabilis*, собранных в зал. Восток. Тестирование

качества воды проводили по методу эмбриотеста [4], прослеживая раннее развитие эмбрионов и личинок в течение двух суток.



Рисунок 1. Схема расположения станций отбора проб.

При оценке результатов тестирования выяснилось, что в 2009-2010 гг. ни на одной станции тест-организмы нормально не развивались (рис. 2), происходило лишь единичное оплодотворение яйцеклеток, но далее эмбрионы гибли, так и не покинув оболочку. В то же время в прежние годы хотя и наблюдались отличия от контроля, но тест-организмы развивались.

В 2007 г. наиболее неблагоприятная ситуация для выживания тест-организмов сложилась в приустьевой зоне р. Партизанская (ст. 3), а также в воде со станций 1 и 2 – м. Шефнера и кут б. Находка, причал Приморского судоремонтного завода (ПСРЗ) (рис. 1, 2). В 2008 г. ситуация немного ухудшилась. Хуже всего шло развитие эмбрионов и личинок на всех стадиях развития в воде со станции в б. Находка (ст. 1). В воде из б. Козьмина (ст. 6) по сравнению с контролем снизился процент оплодотворенных яйцеклеток, а в воде с м. Шефнера (ст. 2) нормально оплодотворились лишь 39% яйцеклеток. Сходные результаты получались и ранее [1, 2, 3].

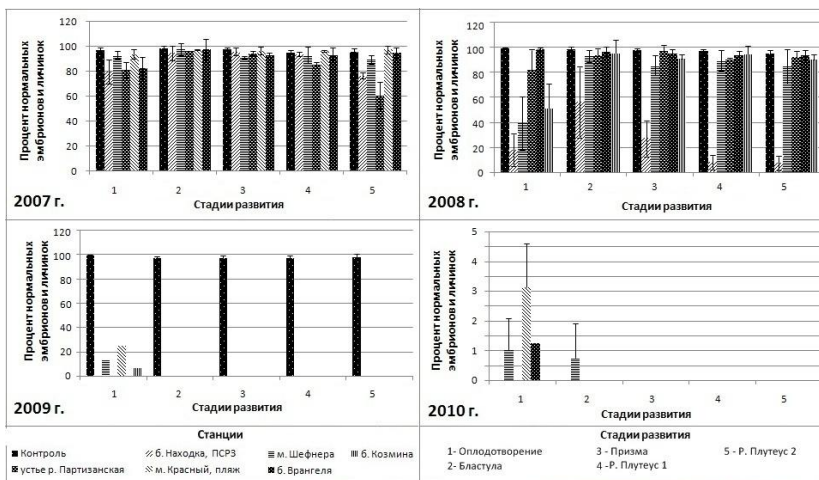


Рисунок 2. Результаты тестирования вод с использованием ранних стадий развития морского ежа *Scaphechinus mirabilis* в 2007 г. (среднее+станд. откл., n=16).

Вероятнее всего, нарушение раннего развития *S. mirabilis* связано с загрязнением зал. Находка. При сравнении средних значений ряда гидрохимических показателей (рис. 3) видно, что в период с 2007 по 2010 гг. наблюдается постепенное снижение насыщения воды кислородом и в то же время повышается содержание легко окисляющихся органических веществ, фосфатов и нефтяных углеводов в водах залива. В 2010 г. даже средний показатель БПК5 превысил уровень ПДК – 3 мг/л.

Содержание фосфора минерального в 2007 и 2008 гг. не превышало норму (50 мкг/л). К 2010 г. оно резко увеличилось и достигло 75 мкг/л. Количество фосфора в воде зависит и от времени года, однако именно такие показатели говорят о возможности переизбытка фосфора, и дальнейшем быстром размножении водорослей, не исключено так же влияние и сильной антропогенной нагрузки на залив. Средняя концентрация фосфора органического в 2009 г достигла 1152 мкг/л. Резкий подъем содержания фосфора в водах залива в летний период 2009 г объясняется погодными



условиями: частыми штормами, сильным волнением и дождями, вызвавшими усиление речного и берегового стока. В 2010 году концентрация фосфора органического упала до 155 мкг/л.

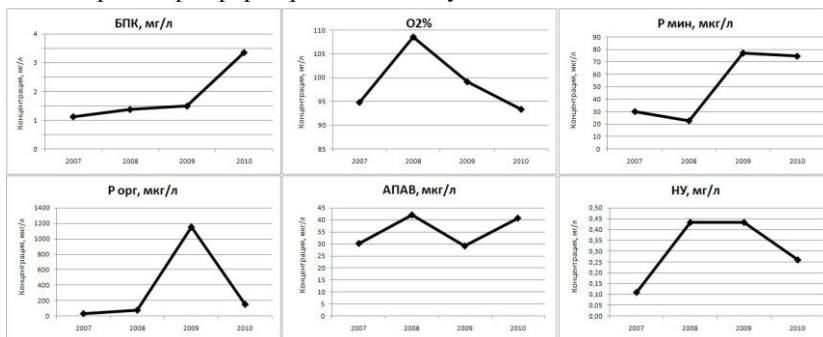


Рисунок 3. Межгодовые изменения средних значений гидрохимических показателей (в конце июля) в зал. Находка (n=5-13).

Среднее содержание анионных ПАВ не превышает ПДК (100 мкг/л), однако периодически наблюдается превышение этого уровня вблизи выпусков коммунально-бытовых сточных вод в б. Находка (ст. 1). Особенно значительно возрос уровень загрязнения нефтяными углеводородами. Если в 2007 г ПДК (0,05 мг/л) было превышено вдвое, то в 2008 и 2009 гг – более чем вчетверо. Это связано как с судами, стоящими на рейде и у причальных стенок портов, так и со строительством нового нефтепорта в б. Козьмина.

Таким образом, биотестирование воды с применением эмбрионов и личинок морского ежа достоверно отражает негативные изменения, происходящие в зал. Находка; нарушение развития *S. mirabilis* обусловлено, прежде всего, ростом уровня загрязнения залива.

Работа выполнена при поддержке гранта НШ-64869.2010.4 «Структура и функционирование прибрежных биоценозов российской части Японского моря».

Литература:

1. Журавель Е.В., Маркина Ж.В., Подгурская О.А. Оценка загрязнения поверхностных вод залива Находка (залив Петра Великого, Японское море) методом биотестирования // Проблемы региональной экологии. 2009. № 2. С. 117 – 122.
2. Журавель Е.В., Маркина Ж.В., Христофорова Н.К., Айздайчер Н.А. Использование микроводоросли *Dunaliella salina*, эмбрионов и личинок плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* как тест-организмов для оценки качества воды в заливе Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2006. Т. 32. № 3. С. 188 – 196.
3. Кашенко С.Д. Влияние воды из залива Находка (залив Петра Великого Японского моря) на раннее развитие морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* // Биол. моря. 2000. Т. 26. № 5. С. 320-323.
4. Кобаяси Н., Найденко Т.Х., Вашенко М. А. Стандартизация биотеста с использованием зародышей морского ежа // Биол. моря, 1994. Т. 20, № 6. С. 457-464.
5. Наумов Ю.А. Антропогенез и экологическое состояние геосистемы прибрежно-шельфовой зоны залива Петра Великого Японского моря. Владивосток: Дальнаука, 2006. 300 с.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИЙ  
ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CORVICULA JAPONICA*  
ЭСТУАРИЯ РЕКИ КИЕВКА ПРИМОРСКОГО КРАЯ ПО  
ДАНЫМ ЧАСТИЧНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА *COI*  
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК**

Никитенко А.Ю., Вороной Н.О., Атопкин Д.М.

<sup>1</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*pan2006\_82@mail.ru*

Двустворчатые моллюски рода *Corbicula*, населяющие пресные и солоноватые водоемы широко распространены по всей Восточной Азии. Эта группа двустворчатых моллюсков является морфологически вариабельной и таксономически запутанной. В настоящее время в Европе, Азии и Америке идут интенсивные исследования видов рода

*Corbicula* с привлечением современных методов генетического анализа для решения существующих таксономических проблем внутри этой группы моллюсков. На этом фоне полностью отсутствуют данные о генетическом разнообразии российских дальневосточных корбикул. Особое значение подобная информация приобретает в свете обширной экспансии некоторых представителей рода *Corbicula* в пресноводные водоемы Европы, Северной и Южной Америки. В попытках идентифицировать виды-вселенцы, сопоставляя их с аборигенными азиатскими видами корбикул, ученые сталкиваются с большим количеством трудностей из-за неполноты и фрагментарности исследования последних.

Юг российского Дальнего Востока составляет значительную (северную) часть ареала рода *Corbicula*. К настоящему времени здесь описано 9 видов корбикул. Наиболее распространенным из них является вид *C. japonica*, образующий значительные промысловые скопления в эстуариях рек, озерах и лагунах Приморского, Хабаровского края и о. Сахалин. Несмотря на имеющуюся информацию о запасах, темпах роста и возраста, экологии и репродуктивной биологии дальневосточных корбикул, многие особенности их биологии и таксономии остаются неисследованными.

В нашей работе мы оценивали степень генетической гетерогенности *C. japonica*, обитающей в эстуарной зоне «старого» и «нового» русла р. Киевка по данным секвенирования митохондриальной ДНК.

Методом автоматического ПЦР – секвенирования определены нуклеотидные последовательности участка гена первой субъединицы цитохром оксидазы (COI) 44 образцов двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* из «старого» и «нового» русла реки Киевка Приморского края. Длина секвенированного участка, использованного для анализа, составила 506 пн. Полученные последовательности имели типичный для гена COI видов рода *Corbicula* состав нуклеотидов.

Изменчивость полученных последовательностей гена COI мтДНК *C. japonica* оказалась довольно низкой, как внутри каждой выборки, так и между ними, о чем свидетельствовали низкие значения

показателей гаплотипического и нуклеотидного разнообразия ( $h = 0.07 - 0.25$ ,  $\pi = 0.005 - 0.018$ ).

Тест AMOVA на глубину дифференциации показал, что значительная часть генетической изменчивости участка гена COI при сравнении моллюсков *C. japonica* с разных устьев, приходится на внутривидовую составляющую (98 %).

Генетическая дивергенция между последовательностями COI *C. japonica* с разных русел составила 0.12%, в то время как значение дивергенции между последовательностями *C. japonica* из р. Киевка и из Южной Кореи и Японии было выше ( $d = 0.4 - 0.6\%$ ). Генетическая дивергенция между разными видами корбикул варьировала от 1% до 10.6%, а дивергенция *C. japonica* с другими видами составляла от 5.7 до 10.6%.

Гаплотипическая сеть, реконструированная для всех выборок *C. japonica* по данным р-дистанций, демонстрировала наличие двух гаплогрупп (рис.1). Первая была более дифференцированной и включала особей как с российского Дальнего Востока (10% всей выборки), так и из Японии и Южной Кореи, представленных 3 разными гаплотипами. Вторая группа включала остальных особей *C. japonica* из эстуария р. Киевка, где также было представлено 3 гаплотипа. Полученные группы были разделены друг от друга двумя мутационными шагами. Гаплотип из Японии также имел альтернативную связь с первой гаплогруппой с дифференциацией в три мутационных шага.

Филогенетические реконструкции сохраняли топологию при использовании различных методов (рис. 2). Виды рода *Corbicula* разделились на два кластера с высокой статистической поддержкой (90%). Первый кластер включал виды *C. japonica* и *C. fluminalis*, второй – остальные виды *Corbicula*, что соответствовало дифференциации на пресноводные и эстуарные виды. Вид *C. japonica* достоверно отличался от других представителей рода *Corbicula* и формировал отдельный кластер, дифференцированный на две группы с высокой статистической поддержкой. Значительная часть *C. japonica* исследуемого географического региона формировала первую группу,

не имеющую строгой филогенетической структуры и характеризующуюся низкой дивергенцией последовательностей. Базальную ветвь в данной группе формировала особь из Японии (данные генного банка). Несколько последовательностей оказались более близкими к гаплотипам *S. japonica* из Южной Кореи, они сформировали вторую группу, причем все особи принадлежали к выборкам из обоих русел реки Киевка. Дивергенция между последовательностями *S. japonica* из эстуария реки Киевка, включенными в разные кластеры, составила 0,4%, а в целом между кластерами с учетом данных генного банка – 0,43%.

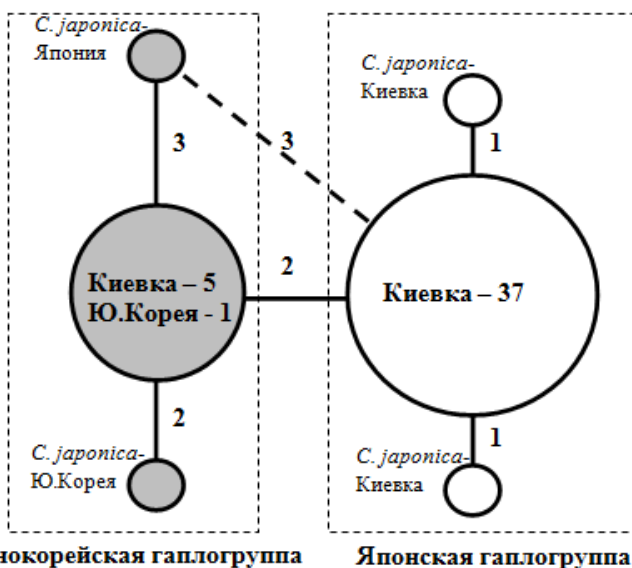


Рисунок 1. Гаплотипическая сеть *S. japonica*, реконструированная по данным частичного секвенирования гена COI.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о существовании в эстуарии реки Киевка одного вида корбикулы – *S. japonica*, характеризующегося низким уровнем изменчивости мтДНК и невыраженной популяционной структурой. Несмотря на дифференциацию исследованных моллюсков на две гаплогруппы,

большинство особей имеет гаплотип, идентичный гаплотипу COI *C. japonica*, описанном в Японии. Тем не менее, несколько исследованных нами особей *C. japonica* (как из «старого», так и из «нового» русла реки Киевка) обладают гаплотипом, характерным для южнокорейских митохондриальных линий этого вида.

Работа выполнена при финансировании гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования, договор № 11.G34.31.0010, а также гранта Министерства образования и науки РФ № 02.740.11.0678 «Структура и функционирование прибрежных экосистем российской части Японского моря» в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

## **АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ВНУТРЕННЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА (ITS) рДНК РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CRASSULACEAE - ТОЛСТЯНКОВЫЕ**

Никулин В.Ю. (студент)<sup>1</sup>, Гончаров А.А. (д.б.н., в.н.с.)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

<sup>2</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток  
*okeanez@mail.ru*

Семейство Crassulaceae (толстянковые) — семейство цветковых растений преимущественно суккулентного облика, включающее около 1400-1500 видов (Eggl, 2003). Семейство имеет почти космополитное распространение. Среди представителей толстянковых есть лекарственные, декоративные, комнатные растения. Значительное морфологическое разнообразие толстянковых и четкая географическая приуроченность большинства родов, допускающая наличие в семействе нескольких эволюционных ветвей, способствовали тому, что классификация внутри семейства остается спорной. Филогенетический анализ молекулярных маркеров помогает решить эту проблему.

Внутренний транскрибируемый спейсер - это унаследованный от обоих родителей некодирующий участок ядерной рибосомной ДНК,

который используется для филогенетической реконструкции на родовом и видовом уровне (Baldwin et al., 1995; Alvarez and Wendel, 2003; Feliner and Rossello, 2007).

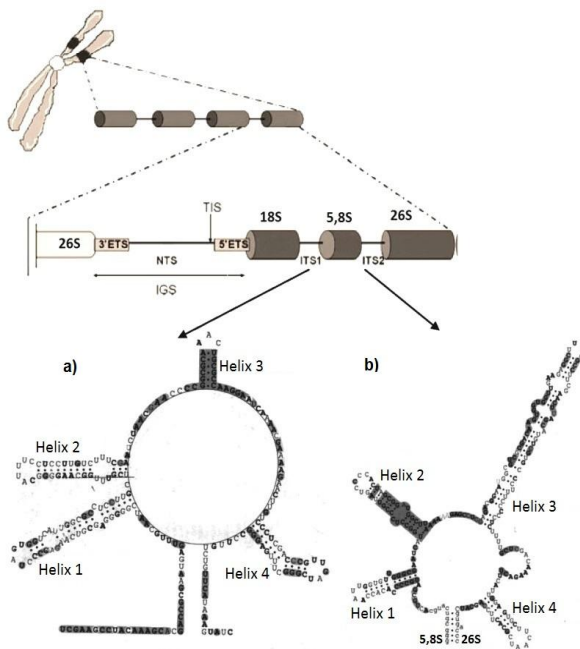


Рисунок 1. Схематическое представление области рДНК растений по Wheeler and Honeycutt, 1988.

Тандемные множества последовательных генных блоков (18S-5.8S-26S) отделены межгенным спейсером (IGS), состоящим из 5' и 3' концов внешнего транскрибируемого спейсера (ETS). Две области ETS разделены нетранскрибируемой областью (NTS). Участок начала транскрипции (TIS). Гены малой субъединицы (18S) и большой субъединицы (5.8S и 26S) отделены внутренним транскрибируемым спейсером 1 (ITS1) и внутренним транскрибируемым спейсером 2 (ITS2). Так же на схеме представлены модели вторичной структуры ITS1 (a) и ITS2 (b) рРНК типowego вида семейства Толстянковых -

*Sedum acre* ITS область состоит из трех компонентов: переменных спейсеров ITS1 и ITS2 и высоко консервативного экзона 5.8S рДНК, расположенного между ними (Wheeler and Honeycutt, 1988; рис.1). Оба спейсера не включены в зрелые рибосомы, так как подвергаются вырезанию во время созревания рибосомальной РНК (Hadijolova et al., 1984; Venema and Tollervey, 1999). Следовательно, их можно рассматривать как почти нейтрально развивающийся маркер. Первичные последовательности ITS1 и ITS2 более переменны по сравнению с геном 5.8S рРНК. Кроме того, ITS2 немного консервативнее ITS1, что облегчает выравнивание последовательностей (Hershkovitz and Lewis 1996).

Результаты сворачивания РНК во вторичную структуру с попарно-соединенными и с несоединенными основаниями, допускают различные эволюционные ограничения, связанные с функционально важными участками. Например, в сигнальных последовательностях в ITS, необходимых для процессинга рРНК, так как этот процесс зависит от вторичной структуры.

Данные о вторичной структуре внутреннего транскрибируемого спейсера облегчают выравнивание дивергентных последовательностей, поскольку позволяют определить участки, формирующие гомологичные стебли (An et al., 1999; Kelchner, 2000; Gottschling et al., 2001; Goertzen et al., 2003).

Важную роль играют компенсаторные мутации. Компенсаторные мутации можно рассматривать как своеобразный механизм репарации нарушений вторичной структуры, обеспечивающий сохранение функционально-активных РНК (Hancock et al, 1988).

На основании изучения последовательностей первичной структуры ITS региона семейства Crassulaceae (Гончарова и Гончаров, 2008), было выбрано 34 представителя из разных клад для построения вторичной структуры и ее анализа. Часть этих последовательностей получена сотрудниками лаборатории низших растений БПИ ДВО РАН, часть взята из базы данных GenBank.

Была создана матрица данных. Нуклеотидные



последовательности выравнивались с помощью программы SeaView (Galtier et al., 1995). Длина последовательностей, содержание ГЦ оснований анализировалось в филогенетической программе RAUP 4.0b10 (Swofford, 2002). Построение моделей вторичной структуры проводилось с помощью сервера MFOLD (Zuker and Markham, 1995-2011).

В наборе данных длина ITS (ITS1 + 5,8S + ITS2) варьирует от 579 нт у *S. surculosum* до 610 нт у *S. bulbiferum*, а в среднем составляет 600 нт. Содержание ГЦ оснований в среднем 55.3%. ITS1 и ITS2 на основании вторичной структуры с минимальной свободной энергией формируют по 4 стебля (спирали (рис.1)). Длина ITS1 в среднем 223 нт, однако, у нескольких образцов (*Aichryson palmense*, *Aeonium undulatum*, *Monanthes subcrassicaulis*, *S. modestum*, *S. surculosum*) длина меньше, и составляет около 210 нт. Содержание ГЦ оснований в среднем равно 55.8%. Первый стебель ITS1 длиной 38-43 нт, за исключением образцов (*A. palmense*, *A. undulatum*, *M. subcrassicaulis*, *S. modestum*, *S. surculosum*), у которых он укорочен и составляет 25 нт. Среднее содержание ГЦ оснований 72%. Второй стебель ITS1 длиной 35 нт, за исключением образцов (*A. palmense*, *A. undulatum*, *M. subcrassicaulis*, *S. modestum*, *S. surculosum*), у которых этот стебель длиннее — 40-43 нт. Среднее содержание ГЦ оснований 60%.

Третий стебель ITS1 очень консервативен по длине 15 нт и по содержанию ГЦ оснований 83%. Четвертый стебель ITS1 длиной в среднем 34 нт. Среднее содержание ГЦ оснований 64%.

По данным заметно, что у стеблей ITS1 наблюдается высокое содержание ГЦ оснований, в среднем 70%, в отличие от межстеблевых зон, где это содержание в среднем 43%. Гуанин и цитозин образуют более стабильные соединения между собой, в отличие от других нуклеотидов. Поэтому гуанин-цитозиновые пары и участвуют в стабилизации стеблей вторичной структуры, отсюда их повышенное содержание в стеблях. Подобная зависимость ожидается и для области ITS2.

Ген 5,8S рДНК консервативен по длине и имеет протяженность 164 нт. Содержание ГЦ оснований в среднем 52.8%. ITS2 короче ITS1,

более вариабелен по длине и составляет в среднем 212 нт. Среднее содержание ГЦ оснований 56.9%.

Результатом моей работы стало построение и анализ модели вторичной структуры внешнего транскрибируемого спейсера 34 представителей семейства Толстянковых.

В дальнейшем планируется более подробно проанализировать строение участка ITS2, сравнить вторичные структуры ITS между обособленными филогенетическими группами внутри семейства, отметить значение компенсаторных мутаций для сохранения вторичной структуры и эволюционные аспекты.

### **МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА trnH-psbA ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК В СЕМЕЙСТВЕ CRASSULACEAE – ТОЛСТЯНКОВЫЕ**

Никулин А.Ю. (студент)<sup>1</sup>, Гончаров А.А. (д.б.н., в.н.с.)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

<sup>2</sup> Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток  
*okeanez@mail.ru*

Семейство Crassulaceae – Толстянковые содержит около 1400 видов, классифицируемых в 33 рода (Egglі, 2003), распространенных очень широко, но главным образом в теплых и засушливых областях. Наиболее богата представителями семейства Африка, к которой приурочено большинство видов таких крупных родов, как толстянка (*Crassula*, более 300 видов), каланхое (*Kalanchoe*, около 200 видов). Богато представлены толстянковые также в сухих областях Америки, от юго-запада США до Мексики и Центральной Америки. Но самый крупный род в семействе – очиток (*Sedum*), насчитывающий, вероятно, до 600 видов, обитающих в основном в умеренной полосе в пределах северного полушария, преимущественно в Евразии.

В большинстве своем Толстянковые это многолетние травянистые растения, реже полукустарнички, кустарнички, кустарники или древовидные формы, приспособленные к сухим теплым условиям – суккуленты. Представители семейства широко известны как лекарственные (*Rhodiola rosea*, *Kalanchoe*, другие),

декоративные садовые и комнатные растения. Фенотипическое разнообразие, большое число видов, небольшое количество молекулярно-генетических исследований Crassulaceae не позволяют вывести единый взгляд на систематику внутри семейства и реконструкцию родственных отношений в нем.

Ранее показано, что функционально менее значимые и, следовательно, менее консервативные – спейсерные области хлоропластного генома являются высокоэффективными филогенетическими маркерами для понимания эволюционных тенденций среди главных линий покрытосемянных растений (Borsch et al., 2003; Lohne and Borsch, 2005). В ряде ключевых работ (Sang et al., 1997; Azuma et al., 2001; Storchova and Olson, 2007; Mayer et al., 2003; Shaw et al., 2005 и др.) описаны универсальные праймеры для ряда некодирующих областей растений, а именно: *trnH-psbA*, *trnL-trnF*, *trnK-matK*, *atpB-rbcL* и др. На примере этих работ видно, что исследуя спейсерные области можно получить важную информацию для понимания родственных отношений в таксонах исследуемых растений, хотя их результативность уменьшается на низких таксономических уровнях.

Межгенный спейсер *trnH-psbA* (рис. 1) находится между последовательностями генов *psbA* (D1 белок фотосистемы II) и *trnH* (ТРНК гистидина). Среди достоинств спейсера можно назвать относительно небольшую длину (<500 нт), вездесущность у растений, высокое межвидовое различие последовательностей, универсальные фланговые праймеры, которые обеспечивают довольно легкую амплификацию и секвенирование. Этот регион является одним из самых переменных межгенных спейсеров хлоропластного генома (Shaw et al. 2007; Timme et al. 2007). Таким образом, данный участок является наиболее перспективным филогенетическим маркером и его было решено использовать в данной работе.

В работе были использованы 98 нуклеотидных последовательностей *trnH-psbA* от представителей сем. Crassulaceae (8 родов, 63 вида), взятых из базы данных Genbank, а также 60 последовательностей полученных в ходе выполнения данной работы и

не депонированных в Genbank (2 рода, 3 вида). Последовательности собирали, используя пакет программ Staden (Bonfield et al., 1995) и выравнивали вручную в программе SeaView (Galtier et al., 1996).

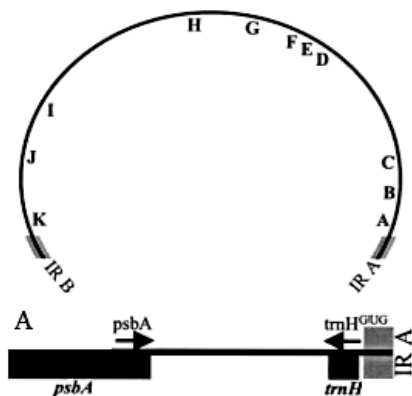


Рисунок 1. Схематическое изображение межгенного спейсера trnH-psbA среди других некодирующих областей ДНК хлоропласта, (основано на геноме хлоропласта *Nicotiana* (Wakasugi et al., 1998)). Местонахождения некодирующих областей помечены заглавными буквами (A-K). Снизу изображен фрагмент участка A. Названия генов приведены снизу курсивом, а названия праймеров для амплификации и секвенирования находятся выше со стрелками - указателями. IR A – область инвертированных повторов.

Расчет длины и содержания ГЦ оснований производился в филогенетической программе PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002).

В наборе данных длина межгенного спейсера trnH-psbA находится в пределах от 140 нт у *Sedum lineare* [GQ435062]; до 297 нт у *Cotyledon papillaris* [AY596351]. В пределах большинства родов она изменяется незначительно (средняя длина равна 243 нт), однако у некоторых представителей рода *Sedum* спейсер намного короче - в среднем 149 нт. Таким образом, высокая вариабельность длины

спейсера усложняет выравнивание и может означать как различие в его строении, так и наличие различных видов микроструктурных мутаций, таких как индели (не учитывая инверсий, которые на длину обычно не влияют). Термин «индель» широко используется для мутаций длины, видимых в выравнивании и иногда даже для мутаций длины в общем. Соответствует ли мутация длины вставке или делеции мотива последовательности, можно оценить только в филогенетическом контексте. Содержание ГЦ оснований у представителей семейства относительно низкое, в среднем равно 23%, однако у рода *Aeonium* оно заметно ниже ( $\leq 22\%$ ).

Результатом работы стало получение 60 последовательностей межгенного спейсера *trnH-psbA* хлоропластной ДНК семейства Толстянковых из нескольких популяций: Хорольского, Михайловского, Ханкайского районов Приморского края, Магаданской области, Республики Алтай. А также их анализ вместе с 98 последовательностями, взятых из базы данных Genbank, что позволит нам далее в данной работе осуществить идентификацию микроструктурных мутаций в последовательностях *trnH-psbA*, рассмотреть эволюционные изменения последовательностей, оценить филогенетическую полезность данного маркера, как на уровне семейства, так и на уровне вида в отдельных популяциях, а также осуществить попытку интерпретировать полученные результаты в филогенетическом отношении.

## **ФЛОРА И РАСТИТЕЛЬНОСТЬ АВАЧИНСКОГО ПЕРЕВАЛА (КАМЧАТСКИЙ П-ОВ) КАК ОСНОВА ДЛЯ БОТАНИКО- ЭКОЛОГИЧЕСКОГО И ПРИРОДООХРАННОГО ПРОСВЕЩЕНИЯ**

Овчаренко М.С. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
bestijaya@inbox.ru*

Нальчевский природный парк расположен на юго-востоке Камчатского полуострова. В 1996 г. он был включен в Список Всемирного Природного и Культурного Наследия ЮНЕСКО. В сентябре 1997 года на выездном семинаре Всемирного фонда дикой

природы (WWF) в г. Петропавловске-Камчатском была разработана программа «Сохранение лесов Камчатки» (руководитель Гелейн Блезингер), которая предусматривала поддержку развития парка «Налычево», а в 1998 г. был разработан «Проект развития парка «Налычево». С 2003 года Природный парк «Налычево» участвует в проекте ПРООН/ГЭФ (Программа развития Организации Объединенных Наций/Глобального экологического фонда.) «Демонстрация устойчивого сохранения биологического разнообразия на примере четырех охраняемых территорий Камчатского края Российской Федерации».

Одно из важных практических направлений - осуществление программы по сохранению биологического разнообразия, включающее работу с населением, его ботанико-экологическое и природоохранное просвещение. Это дает осознание важности сохранения биологического разнообразия, понимание экологических проблем и повышает сознательность населения.

Авачинский вулкан (координаты вершины 53°13' с.ш., 159°00' в.д.) - крупный действующий вулкан, занимающий южную часть Налычского природного парка. На расстоянии 20-30 км у его подножия расположен г. Петропавловск-Камчатский, что делает Авачинский вулкан наиболее удобным местом для знакомства с биологическим разнообразием всех высотных поясов растительности, проведения занятий и экскурсий, нацеленных на ботанико-экологическое и природоохранное просвещение населения. Для осуществления этой деятельности в окрестностях Авачинского перевала была проложена стационарная экскурсионная тропа, проходящая через субальпийский и альпийский пояса. Методическое и информационное сопровождение экскурсионного маршрута в настоящее время находится в стадии разработки. Важной составляющей просветительской работы, проводимой на экскурсионной тропе, является знакомство с морфо-биологическими и экологическими особенностями растений на примере конкретных видов и слагаемой ими растительностью.

Цель данной работы: выявление биологического разнообразия

на уровне видов и растительных сообществ в окрестностях экскурсионной тропы (Авачинский перевал), являющееся основой для ботанико-экологического и природоохранного просвещения.

Авачинский перевал имеет высоту 2742 м над у. м. Для выявления видового состава сосудистых растений окрестностей экскурсионной тропы закладывали геоботанические площадки размером 1x1 м и 10x10 м. Расстояние между площадками варьировало от 3-4 до 50 (100) метров в зависимости от густоты растительного покрова, изменения экологических условий и рельефа. В результате проведенных исследований в окрестностях экскурсионной тропы нами было выявлено 96 видов сосудистых растений, относящихся к 76 родам и 34 семействам. Среди них наибольшее видовое разнообразие имеют 5 семейств: *Ericaceae* (25%), *Asteraceae* (15%), *Scrophulariaceae* и *Rosaceae* (по 13%), и *Caryophyllaceae* (11%). Виды перечисленных семейств являются наиболее характерными для альпийской и субальпийской флоры высокогорных районов Камчатки. Остальные семейства представлены меньшим числом видов, их доля во флоре исследуемой территории составляет 1-5%.

Большинство родов представлено одним видом, четыре рода (*Papaver*, *Salix*, *Rhododendron*, *Oxytropis*) – двумя видами, пять родов (*Minuartia*, *Viola*, *Vaccinium*, *Pedicularis*, *Artemisia*) имеют по три вида, что, с поправкой на небольшую площадь обследуемой территории, свидетельствует о высоком разнообразии родового уровня.

Перечисленные роды обычны в целом во флоре Камчатского полуострова, такие из них как *Papaver*, *Oxytropis*, *Minuartia*, *Saxifraga* приурочены преимущественно к горным и северным районам.

В окрестностях Авачинского перевала нами был выявлен один редкий вид, включенный в Красную книгу Камчатской области (2007) - Венерин башмачок Ятабе (*Cypripedium guttatum* Sw. subsp. *yatabeanum* (Makino) Hult.).

Участок экскурсионной тропы, проложенный по склону Авачинского перевала до высоты 1100 м над у. м., находится в поясе альпийской и субальпийской растительности. Фонowymi здесь являются заросли кедрового стланика и ольховника, которые образуют

сплошные заросли. Выше стланики растут пятнами или полосами, чередуясь с участками кустарничковых тундр. Заросли стлаников встречаются до высоты 1200 м над уровнем моря, а отдельные пятна стлаников - до 1400 м.

Растительность исследуемых поясов представлена в основном кустарничковыми, кустарничково-лишайниковыми, луговыми тундрами, а так же приснежными группировками и сообществами растений шлаковых полей и осыпей. Высота растительного покрова колеблется от 1,5 см у лаузелеурии лежачей (*Loiseleuria procumbens* (L.) Desv.) до 4 м у кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pall.) Regel). Кустарничковые и кустарничково-лишайниковые тундры являются наиболее широко распространенными сообществами. Наиболее обычными здесь видами являются кассиопея плауновидная (*Cassiope lycopodioides* (Pall.) D. Don), вероника крупноцветковая (*Veronica grandiflora* Gaerth.), камнеломки Мерка и пурпурная (*Saxifraga merkii* Fisch. Ex Sternb., *Saxifraga purpurascens* Kom.), родиола цельнолистная (*Rhodiola integrifolia* Raf.), пария голостебельная (*Parrya nudicaulis* (L.) Regel), полынь арктическая (*Artemisia arctica* Less.) и т.д. Как правило, всегда присутствует шикша или водяника черная (*Empetrum nigrum* L. s. l.). Луговинные тундры довольно часто встречаются на пологих южных и восточных склонах, в местах, где зимой накапливается достаточно снега. Характеризуются довольно обильным набором видов, значительно варьирующим в различных местах и играют наибольшую роль в сложении растительного покрова: осока карагинская (*Carex koraginensis* Meinsh.), рододендрон золотистый (*Rhododendron aureum* Georgi), голубика вулканическая (*Vaccinium vulcanorum* Kom.), ива арктическая (*Salix arctica* Pall.), сосюрея ложно-Тилезиева (*Saussurea pseudo-tilesii* Lipsch.), остролодочник камчатский (*Oxytropis kamschatica* Hult.), филлодоце голубая (*Phyllodoce caerulea* (L.) Bab.) и другие.

Проведенные нами исследования флоры и растительности окрестностей экскурсионной тропы легли в основу осуществления проекта «Организация работы визит-центра на Авачинском перевале в летний период», поддержанного в 2009 году грантом в рамках проекта



ПРООН/ГЭФ «Демонстрация устойчивого сохранения биологического разнообразия на примере четырех охраняемых территорий Камчатского края Российской Федерации». В процессе осуществления проекта было разработано информационное наполнение стендов «Растительность Авачинского перевала» для визит-центра, подготовлено информационное наполнение буклета «Альпийская растительность Авачинского перевала», составлены тексты бесед и презентаций по теме «Растительность Авачинского перевала и парка Налычево», собрана «копилка» экологических игр. Аprobация полученных материалов кроме этого проводилась во время специализированных ботанических экскурсий в окрестностях Авачинского перевала, а также во время эколого-просветительских бесед.

**ВНУТРИГОДОВАЯ ДИНАМИКА МАКРОФИТОБЕНТОСА  
В ЭСТУАРИИ РЕКИ СУХОДОЛ  
(УССУРИЙСКИЙ ЗАЛИВ, ЯПОНСКОЕ МОРЕ)**

Ольховик А.В. (инженер 1 категории)

*Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр  
(ТИНРО-Центр), г. Владивосток  
artur-o-k@yandex.ru*

Известно, что донная растительность рек вносит весомый (иногда основной) вклад в поступление первичной продукции и формирование гумусовых отложений. Несмотря на то, что в последнее время исследованиям эстуарной растительности уделяется большое внимание как за рубежом, так и в нашей стране, многие аспекты функционирования этих фитоценозов остаются неизученными. В основу работ положен материал, собранный в 2010 г. по программе комплексных исследований биоресурсов прибрежных и эстуарных вод зал. Петра Великого. Ранее было установлено, что в эстуарии р. Суходол основу первичной продукции формируют водные травы *Zostera japonica* и *Ruppia maritima*, а также зеленые водоросли *Enteromorpha prolifera* и *Cladophora glomerata* [1].

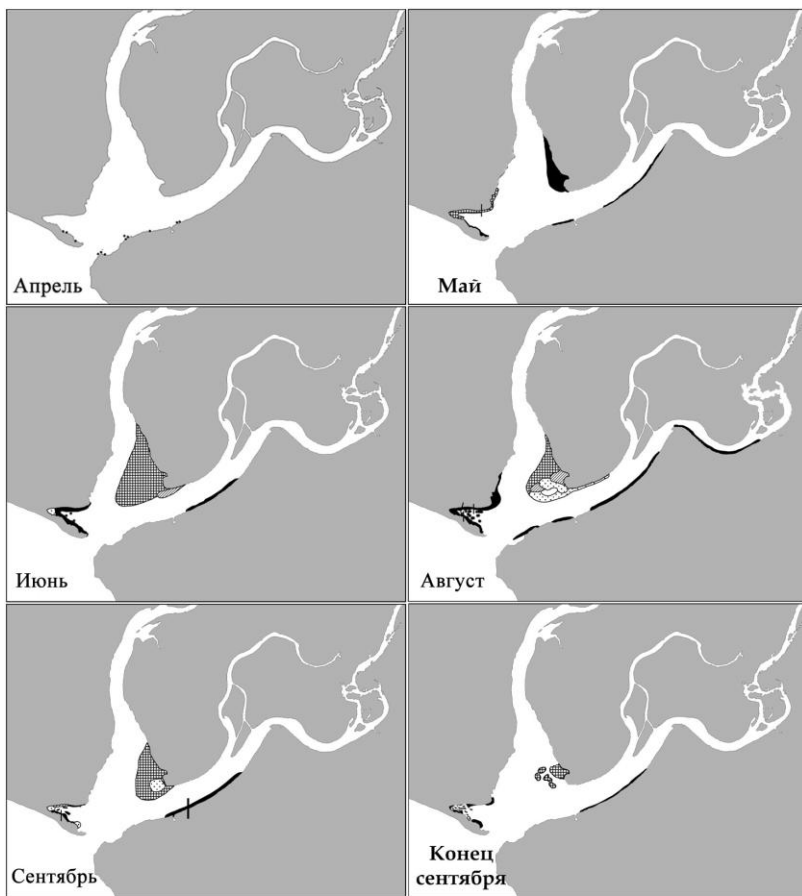
Целью работ стало изучение начального этапа развития и исследование сезонной динамики растительности в эстуарии реки

Суходол.

Сбор информации проводился с апреля по октябрь 2010 г. по стандартным методам альгологических работ. Всего выполнено 236 станций от уреза воды и до глубины 1,5 м. Количественные и качественные пробы собирали с рамки площадью 0,25 м<sup>2</sup>. В эстуарии на основании различий абиотических и биотических условий среды условно было выделено 3 участка: участок I (лагуна); участок II (остров) – средняя часть внутреннего эстуария; участок III (левый берег) (рис. 1).

Лед весной 2010 г. сошел только к середине апреля, что позволяет охарактеризовать этот год как холодный. Было установлено, что первые ростовые процессы появляются в начале апреля, при переходе температуры воды через 0°C, и проявляются в формировании на прибрежных камнях налета, который формируют проростки водорослей *E. prolifera*, *Ulotrix implexa*, редкие нити *C. glomerata*, *Stylonema alsidii*, *Spongomorpha duriuscula*, диатомовые водоросли и колониальные цианобактерии (от 2 до 5 колоний в поле зрения микроскопа при увеличении 16x10).

Наблюдения в лабораторных и природных условиях показали, что молодые растения кладофоры прорастают из частей старых слоевищ. Скорость роста на ранних стадиях – 1-4 мм в день. Удалось рассмотреть последовательные стадии формирования талломов *E. prolifera*, представленных сначала однорядными нитями из 5-8 клеток, затем - двурядными длиной от 0,5 до 3 мм, после чего формировалась многорядная ткань и трубка. При этом скорость роста составляет 1-3 мм в день. Из-за абразивного воздействия льда, а также промерзания донных осадков в зимний период корневища трав (руппия и зостера) в эстуарии зимовку не переживают и их поселения функционируют по типу однолетних, ежегодно восстанавливаясь из семян. В грунте были обнаружены семена двух видов трав.



Условные обозначения





- |   |   |
|---|---|
|  - <i>Enteromorpha prolifera</i> |  - <i>Zostera japonica</i> |
|  - <i>Cladophora glomerata</i>   |  - <i>Ruppia maritima</i>  |

Рисунок 1. Карта-схема распределения доминирующих видов макрофитобентоса в эстуарии р. Суходол.

Первые имели обратнотрушевидную форму, а вторые отличались правильной овальной формой. В лабораторных условиях из

семян первого типа проросла руппия. Средняя скорость роста при комнатной температуре на свету – 2-3 мм в день. Выращивание семян второго типа на протяжении 30 суток не дало результата. Исследование отмерших побегов зостеры показало, что овальные семена относятся именно к этому виду – *Z. japonica*.

В мае в эстуарии реки Суходол растительность была слабо выражена и представлена молодыми растениями (рис. 1). В лагуне обнаружены разреженные пятна *E. prolifera* и *C. glomerata*, Биомасса этих водорослей составляла 34 и 47 г/м<sup>2</sup>, соответственно. Общее проективное покрытие (ОПП) 10-30%.

В районе острова отмечено монодоминантное сообщество проростков *E. prolifera* (27 г/м<sup>2</sup>) при ОПП <10%. На левом берегу основной протоки росла *E. prolifera* при общем проективном покрытии 10-15% и биомассе – 14 г/м<sup>2</sup>. Общая фитомасса в эстуарии в мае составила 1,12 т.

В июле в лагуне при ОПП 15-20 % отмечены смешанные заросли *E. prolifera* (61,5 г/м<sup>2</sup>) и *C. glomerata* (57,5 г/м<sup>2</sup>), а также монодоминантное сообщество *E. prolifera* (30 г/м<sup>2</sup>) и смешанные заросли *Z. japonica* (22,5 г/м<sup>2</sup>), *E. prolifera* (21 г/м<sup>2</sup>), *C. glomerata* (20 г/м<sup>2</sup>) и *R. maritima* (20 г/м<sup>2</sup>). Большая часть острова была занята смешанными зарослями *C. glomerata* (110 г/м<sup>2</sup>), *E. prolifera* (85 г/м<sup>2</sup>) и *Z. japonica* (54 г/м<sup>2</sup>), так же зафиксированы *R. maritima* (80 г/м<sup>2</sup>) совместно с *C. glomerata* (35 г/м<sup>2</sup>). Общее проективное покрытие на этом участке составляло 40-50%. На левом берегу так же, как и в мае отмечено сообщество *Enteromorpha prolifera* (86 г/м<sup>2</sup>). Проективное покрытие от 30 до 40%. Суммарный запас растительности в эстуарии в июле достиг величины 6,78 т.

В августе в лагуне, при ОПП 80%, отмечены смешанные заросли *E. prolifera* (50-450 г/м<sup>2</sup>). Субдоминирующие виды представлены *C. glomerata* (23-312 г/м<sup>2</sup>), *R. maritima* (34-180) и *Z. japonica* (48-173 г/м<sup>2</sup>). В районе острова, при ОПП 70%, отмечены заросли *C. glomerata* (287 г/м<sup>2</sup>), среди которых отмечены: *R. maritima* – 260 г/м<sup>2</sup> и *Z. japonica* – 230 г/м<sup>2</sup>. Так же встречались заросли зостеры (150 г/м<sup>2</sup>), субдоминантами в которых выступали *E. prolifera* – 114 г/м<sup>2</sup>,

*C. glomerata* – 76 г/м<sup>2</sup> и *R. maritima* – 93 г/м<sup>2</sup>. Вдоль левого берега отмечен пояс *E. prolifera* (300 г/м<sup>2</sup>), при ОПП от 30 до 50%. Суммарный запас растительности в эстуарии в августе достиг величины 10,5 т.

В начале сентября в лагуне обнаружены смешанные заросли *E. prolifera* – 298 г/м<sup>2</sup>. Среди субдоминантов отмечены *R. maritima* и *Z. japonica* 90 и 104 г/м<sup>2</sup>, соответственно. ОПП лагуны снизилось до 50-60%. На острове отмечены поселения *C. glomerata* (60 г/м<sup>2</sup>) и смешанные заросли *Z. japonica* (330 г/м<sup>2</sup>), в состав которых входили *E. prolifera* – 62 г/м<sup>2</sup>, *C. glomerata* – 320 г/м<sup>2</sup> и *R. maritima* – 130 г/м<sup>2</sup>. ОПП снизилось до 20 %. На левом берегу было расположено монодоминантное поселение энтероморфы с биомассой 130 г/м<sup>2</sup>. Суммарный запас растительности в эстуарии в начале сентября составил 6,3 т.

В конце сентября в лагуне зафиксированы единичные пятна энтероморфы (75 г/м<sup>2</sup>) среди которых встречается зостера (10 г/м<sup>2</sup>), при ОПП 10%. На острове отмечены пятна *C. glomerata* с биомассой – 20 г/м<sup>2</sup>. Иногда в состав пятен входили *E. prolifera* – 15 г/м<sup>2</sup> и *Z. japonica* – 5-7 г/м<sup>2</sup>. Общее проективное покрытие составляло <10%. На левом берегу отмечен пояс *E. prolifera* (58 г/м<sup>2</sup>). Общий запас растительности в эстуарии в конце сентября составил 0,45 т.

Резкое сокращение зарослей и площадей связано с тем, что, по-видимому, в период высокой воды в реке часть урожая была вынесена в море, а другая часть штормами сорвана и выброшена на берег.

#### Выводы:

1. Впервые показано, что начало ростовых процессов в эстуарии начинается в апреле при переходе температуры воды через 0°C. Начало весеннего роста макрофитов в эстуарии происходит позже, чем в море, из-за более позднего прогревания воды. Выявлено, что молодые растения кладофоры прорастают преимущественно из частей старых слоевищ, а поселения руппии и зостеры восстанавливаются из семян.

2. Выявлена высокая сезонная изменчивость количественного соотношения доминирующих видов макрофитобентоса в эстуарии р.

Суходол. В мае 2010 г. в эстуарии доминировали кладофора и энтероморфа, суммарная фитомасса 1,1 т. В августе отмечен максимум фитомассы (10,2 т) при преобладании почти в равном соотношении энтероморфы, кладофоры, руппии и zostеры. К концу сентября-началу октября произошло резкое снижение фитомассы до 0,5 т, которое связано не только с неблагоприятной гидродинамической обстановкой в эстуарии, но и с завершением периода вегетации.

#### Литература:

1. Гусарова И.С., Колпаков Н.В., Надточий В.А. Распределение растительности, макробентоса и рыб в эстуарии реки Суходол (южное Приморье) // Тез. докл. X Съезда Гидробиологического общества при РАН. - Владивосток, 28 сентября – 2 октября 2009 г. - Владивосток: Дальнаука, 2009. - С. 111-112.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА АКВАПОЧВ ПРИБРЕЖНОЙ ПОЛОСЫ Б. КИЕВКА, КАК СРЕДЫ ОБИТАНИЯ МЕЙОБЕНТОСА**

Орленко В.И. (студентка)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*Vikulka\_18@mail.ru*

Изучение физико-химических свойств аквапочв, как среды обитания мейобентосных организмов, является актуальной задачей. Работа проводилась в прибрежной полосе (сублиторальной каймы и сублиторали) песчаного пляжа бухты Киевка и эстуарной зоны р. Киевка. Целью работы является рассмотрение аквапочв прибрежной части бухты Киевка, как среды обитания бентосных организмов, и проследить влияют ли полученные результаты на численность мейобентоса. Было отобрано 14 образцов. В ходе выполнения исследований были проведены следующие анализы: определение гранулометрического состава [4], определение содержания органического углерода [1], определение подвижных соединений тяжелых металлов и кислоторастворимые соединения тяжелых металлов [3], определение азота нитратного дисульфопениловым

методом [1], определение рН солевого [6], определение хлорофилла [5, 9, 11], определение фосфатов, методом прокаливания Сэндерса и Вильемса (1955), определение содержания ртути [8]. Для определения содержания мейобентоса использовался метод взмучивания осадка, затем пробы мейобентоса промывали через сито с диаметром ячеек 40 мкм. Камеральная количественная обработка проб проводилась с использованием микроскопа МБС–10. Далее была рассчитана корреляция между параметрами среды обитания и численностью мейобентоса.

По данным общей численности мейобентоса видно, что содержание мейобентоса колеблется от 26 экз/10см<sup>2</sup> (образец № 2) до 3860 экз/10см<sup>2</sup> (образец № 12). Так в образце № 2, как уже отмечалось, показатель численности мейобентоса имеет минимальное значение 26 экз/10см<sup>2</sup>, а в образце № 12 этот показатель достиг максимального значения – 3860 экз/10см<sup>2</sup>.

Гранулометрический состав, характеризующий степень дисперсности морских донных осадков, является одной из наиболее важных их характеристик. Он наряду с вещественным (минералогическим, химическим) составом обуславливает накопление и превращение различных химических соединений. Типология осадков в данной работе проведена в соответствии с общепринятой классификацией [2]. Гранулометрический анализ показал, что в составе отобранных образцов, доминируют фракции с диаметром частиц 0,25 – 0,1 мм, что соответствует песку мелкому (образцы № 5, 7, 8, 9, 10, 11 и 19). Также присутствует песок средний, с преобладающей фракцией 0,5 – 0,25 мм (образцы № 4, 6, 17 и 18), песок крупный, с преобладающей фракцией 1 – 0,5 мм (образец № 2), алеврит крупный, с преобладающей фракцией 0,1 – 0,05 мм. (образец № 1) и гравий средний, с преобладающей фракцией 5 – 2,5 мм (образец № 12). Самая высокая численность мейобентоса наблюдается в гравии среднем (3860 экз./10см<sup>2</sup>) и песках мелких (1638 экз./10см<sup>2</sup>). В песках средних численность мейобентоса значительно ниже, здесь средний показатель составляет 1054 экз./10см<sup>2</sup>. И самая маленькая численность мейобентоса наблюдается в песках крупных, где этот показатель

составляет лишь 26 экз./10см<sup>2</sup>.

Кислотность отобранных образцов варьирует в узких пределах, от слабокислой (7,14 – 7,67) до слабощелочной (5,54 – 6,82). Преимущественно реакция среды является слабощелочной, образцы № 5, 6, 11, 12, 17, 18, 19. Слабокислая реакция наблюдается в образцах № 1, 2, 4, 7, 8 и нейтральная реакция среды в образце № 10 где рН = 7,02. Коэффициент корреляции для рН солевого и численности мейобентоса составляет 0,4 что говорит о том что связь между этими показателями слабая.

В ходе выполнения определения было выяснено, что содержание органического углерода в исследуемых аквапочвах очень мало, менее 0,2%, за исключением образца № 11, где содержание углерода составляет 0,329%. Подробно рассмотрев численность мейобентоса и содержание органического углерода в данных образцах, мы выяснили, что коэффициент корреляции для этих показателей имеет средний показатель зависимости, а именно 0,6.

Содержание нитратного азота колеблется от 0,01 мг/100г почвы (образец № 4) до 0,38 мг/100г почвы (образец № 6). В среднем этот показатель составляет 0,19 мг/100г почвы. Коэффициент корреляции для содержания нитратного азота и общей численности мейобентоса составляет 0,06. Что говорит об очень слабой зависимости этих показателей друг от друга, можно сказать, что ее и вовсе нет. Содержание общего фосфора в данных образцах колеблется от 20,6 мг/100г. почвы (образец № 9) до 32,7 мг/100г. почвы (образец № 19). На основании содержания общего фосфора и численности мейобентоса, былл рассчитан коэффициент корреляции, который составил 0,05 что говорит об очень слабой корреляции этих показателей. Содержание минерального фосфора колеблется от 15,9 мг/100г. почвы (образец № 10) до 26,1 мг/100г. почвы (образец № 19). Коэффициент корреляции для показателя минерального фосфора и численности мейобентоса составил –0,02. Отрицательное значение коэффициента корреляции говорит о том, что связь между рассматриваемыми показателями носит обратный характер, но так как этот показатель имеет малое значение, корреляция характеризуется как очень слабая. Содержание



органического фосфора в данных образцах колеблется от 3,1 мг/100г. почвы (образец № 9) до 8,8 мг/100г. почвы (образец № 10). Коэффициент корреляции равен 0,1 что говорит об очень слабой зависимости этих показателей.

Содержание тяжелых металлов в данных образцах не превышает ПДК и это означает, что прибрежная полоса бухты Киевка не загрязнена тяжелыми металлами.

Содержание хлорофилла а колеблется от 0,13 мкг/г сух. грунта (образец № 17) до 2,76 мкг/г сух. грунта (образец № 2). Коэффициент корреляции равен 0,3, что говорит о слабой зависимости содержания хлорофилла а и численностью мейобентоса.

Рассмотрев корреляционные коэффициенты для исследуемых показателей среды обитания мейобентоса, было установлено, что связь между выбранными показателями и численностью мейобентоса в основном слабо выражена. Так для таких показателей, как содержание фосфатов ( $P_{\text{общ}}$  и  $P_{\text{орг}}$ ), нитратного азота, подвижных форм никеля, хрома, кобальта, железа, а так же ртути было выяснено, что коэффициент корреляции  $< 0,2$ . Что говорит об очень слабой корреляции. Так же для исследуемых показателей среды характерна очень слабая обратная зависимость от численности мейобентоса. А именно для минеральных соединений фосфора, подвижных форм меди, марганца и цинка, а так же для кислоторастворимых форм марганца, никеля и хрома. Для данных показателей коэффициент корреляции колеблется от  $-0,02$  до  $-0,2$ . В исследуемых образцах так же присутствуют показатели, которые характеризуются слабой корреляцией. Это взаимосвязь между численностью мейобентоса и  $pH_{\text{сол}}$ , подвижными формами свинца и кадмия, кислоторастворимыми формами свинца и меди, а так же между численностью мейобентоса и такими показателями как подвижные соединения хрома, кислоторастворимые соединения кадмия, кобальта и железа установлена слабая противоположная зависимость. Коэффициент корреляции для этих показателей составляет от  $-0,2$  до  $-0,5$ . Средняя корреляция установлена между численностью мейобентоса и содержанием органического углерода, а так же между численностью

мейобентоса и содержанием подвижных форм цинка. Коэффициент корреляции для показателя содержания органического углерода составил 0,6 и для показателя содержания подвижного цинка 0,8.

#### Литература:

1. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. – М.: изд-во МГУ, 1970. 488 с.
2. Безруков П.Л., Лисицин А.П. Классификация осадков современных водоемов// Тр. Ин-та океанологии АН СССР. т. 32. 1960. с. 3–15.
3. Воробьева Л.А. Теория и практика химического анализа почв. – М.: изд-во ГЕОС, 2006. 400 с.
4. ГОСТ 12536–79 Грунты. Методы лабораторного определения гранулометрического (зернового) и микроагрегатного состава. – М. 1980.
5. ГОСТ 17.1.4.02.–90 Вода. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла – а. М. 1999. 12 с.
6. ГОСТ 26483–85 Приготовление солевой вытяжки и определение ее рН по методу ЦИНАО. – М. 1985.
7. Данькова Н.П. Мейобентос Новороссийской бухты // Естественные науки. 2004. №2. с. 64 – 67.
8. ПНД Ф 16.1:2.3:3.10 –98 Методика выполнения измерений содержания ртути в твердых объектах методом атомно–абсорбционной спектрофотометрии. – М. 1998.
9. Alain Aminot Francisco Rey Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, ISSN 0903–2606. 2000. 17 p.
10. Pavlyuk O.N., Trebukhova J.A. The structure of meiobenthos community of Amursky Bay, Sea of Japan, Workshop of the APN Project 2004–18–NMY: Nanjing Univ., 2004, pp. 119–125.
11. SCOR–UNESCO, Determination of photosynthetic pigments in sea–water, Monogr. Oceanogr. Methodol., 1, 1966. 69 p.

## ВЛИЯНИЕ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Остапенко Е.А. (м.н.с.)

НИИ Эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток  
angel.8807@bk.ru

Тяжелые металлы играют важную роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов. Некоторые из них – Мо, Cu, Mn, Zn, Ni, Co являются жизненнонеобходимыми в небольших количествах. Другие – Cd, Pb, Sn, Hg, Ag – не выполняют биологических функций, однако при высоких концентрациях являются чрезвычайно токсичными для микробов [1].

Целью нашей работы является исследование влияния тяжёлых металлов (Cu, Pb, Cd, Zn, Co) на размножение патогенных бактерий: *Listeria Monocytogenes* (1/2а, 1/2в, 4в), *Yersinia pseudotuberculosis* (2781, 3515, 907), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Для удобства сравнения полученных результатов определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК – минимальная концентрация, при которой рост популяции снижается на 50%).

На первом этапе исследования роста бактерий с солями тяжёлых металлов в питательных средах использовали одни и те же минимальные концентрации солей для *Y. pseudotuberculosis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* и *St. aureus*. Патогенные бактерии добавляли в питательные среды с солями тяжелых металлов в заражающей дозе – 103 КОЕ/мл. Предварительно штаммы культивировали на плотных питательных средах, содержащих те же концентрации тяжёлых металлов, что и в жидкой среде, в течение одних суток.

Динамику роста патогенных бактерий в среде с тяжёлыми металлами наблюдали в течение 7 дней при 20°C. Анализ результатов показал, что только для *Y. pseudotuberculosis* (шт. 3515) минимальные ингибирующие концентрации находились в пределах близких к 50%, для *Y. pseudotuberculosis* (шт. 907) минимальные ингибирующие концентрации находились так же в этих пределах для всех металлов, кроме Cu. Для *Y. pseudotuberculosis* (шт.2781) эти условия ингибирования роста бактерий оказались достаточными для

уксуснокислого свинца ( $C=98,2$  мг/л среды) и для уксуснокислого цинка ( $C= 5,36$  мг/л среды).

Для хлоридов Cu, Co и Cd взятые исходные маточные концентрации оказались недостаточными, ингибирование роста *Y. pseudotuberculosis* (шт. 2781) происходило лишь на 20 – 37 %. Определение МИК у *L. monocytogenes* (шт. 1/2a, 1/2b, 4b) протекало также, как и у *Y. pseudotuberculosis*, однако динамику роста *L. monocytogenes* в питательной среде с солями тяжёлых металлов при 20°C наблюдали в течение 13 дней.

Продление времени наблюдения за ростом патогенных бактерий в средах с солями не даёт дополнительной информации о значительном ингибировании роста. Процент ингибирования становится небольшим, что говорит об адаптации бактерий к тяжёлым металлам в среде, а иногда и о стимуляции роста бактерий *L. monocytogenes*.

Для *L. monocytogenes* (шт. 1/2b) взятые концентрации всех солей тяжёлых металлов оказались достаточными, чтобы ингибировать рост бактерий в значениях, близких к 50%. Для *L. monocytogenes* (шт. 1/2a) только для двух металлов (Cu, Cd) была подобрана МИК. Для *L. monocytogenes* (шт. 4b) взятые концентрации всех солей тяжёлых металлов оказались совершенно неподходящими. Даже в стадии лаг-фазы и стадии экспоненциального роста бактерий в среде с солями тяжёлых металлов был выше контроля. Взятые МИК для *St. aureus* подошли для солей Cu, Pb и Co. Для *E. coli* - только для соли Pb.

Таким образом, на первом этапе исследования ингибирования патогенных бактерий солями тяжёлых металлов подобраны следующие МИК в питательных средах:

$CuCl_2 \cdot 2H_2O$  – 6 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 3515, *L. monocytogenes* 1/2b, *St. aureus*);

$Zn (C_2H_3O_2)_2$  - 5, 36 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 3515, 907, 2781; *L. monocytogenes* 1/2b);

$CdCl_2$  – 0,8 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 3515, 907, 2781; *L. monocytogenes* 1/2b, 1/2a);

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$  – 2 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 3515, 907; *L. monocytogenes* 1/2b; *St. aureus*);

Pb (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> – 98,2 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 3515,907,2781; *L. monocytogenes* 1/2b; *St. aureus*; *E. coli*).

На втором этапе подбирали МИК солей тяжёлых металлов для различных патогенных бактерий и их штаммов, учитывая результаты, полученные ранее. Для тех бактерий, рост которых слабо ингибировался минимальными концентрациями маточных растворов солей тяжёлых металлов, концентрацию последних увеличивали в прямой пропорциональной зависимости (в 1,5 – 2 раза) или уменьшали в той же пропорции. Подобраны недостающие МИК:

CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O – 12 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 907, 2781; *L. monocytogenes* 4b; *E. coli*);

Zn (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> – 8,06 мг/л среды (для *L. monocytogenes* 1/2a, 4b; *St. aureus*; *E. coli*);

CdCl<sub>2</sub> – 1,6 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 2781; *L. monocytogenes* 4b; *St. aureus*; *E. coli*);

CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 3 мг/л среды (для *Y. pseudotuberculosis* 2781; *L. monocytogenes* 1/2a, 4b; *E. coli*);

Pb (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub> – 1,96 г/л среды – (для *L. monocytogenes* 1/2a).

Сравнивая найденные минимальные ингибирующие концентрации тяжёлых металлов в средах для культивирования разных патогенных бактерий можно сделать вывод, что эти концентрации не одинаковы не только для одного вида, но и для их штаммов.

#### Литература:

1. Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance / D. H. Nies // Appl.Microbiol. Biotechnol. – 1999. – Vol. 51. P. 730-750.

### **МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ИЗ МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ**

Павленко Н.Б. (аспирант), Орлова Т.Ю. (сотрудник, ст.н.с.)  
Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток  
pavlenkina@mail.ru, torlova06@mail.ru

В настоящее время известно около 300 видов микроводорослей,

вызывающих цветение воды, из которых более 40 видов способны продуцировать токсины. Случаи вредоносного цветения водорослей (ВЦВ), сопровождающиеся отравлениями и гибелью людей и морских животных, зарегистрированы и на Дальнем Востоке России.

Изменение климата и антропогенное воздействие привели к тому, что вредоносное цветение водорослей, часто называемое красным приливом, приобрело глобальный характер. Массовое размножение микроводорослей в морских и опресненных водах представляет опасность для здоровья людей, снижает продуктивность хозяйств марикультуры и наносит значительный ущерб туризму и рекреационным системам. Микроводоросли, включая токсические виды являются начальным звеном пищевой цепи. Морские беспозвоночные, в основном моллюски – фильтраторы (мидии, устрицы, гребешки), а так же крабы, креветки и другие организмы могут аккумулировать токсины микроводорослей до концентраций летальных для человека. Несмотря на активные исследования микроводорослей зарубежом отечественная литература, посвященная этой тематике, ограничена.

В связи с опасностью для морских организмов и человека в настоящее время ведется активный мониторинг фитопланктона. С 1980 года сотрудниками группы фитопланктона Лаборатории экологии шельфовых сообществ ИБМ ДВО РАН проводятся фундаментальные и прикладные исследования по проблеме ВЦВ. С 1990 ведется мониторинг ВЦВ в районах хозяйств марикультуры Приморья. Для понимания причин обуславливающих ВЦВ необходимы молекулярно - генетические исследования. На первом этапе таких исследований важно подобрать адекватный метод выделения ДНК из культур микроводорослей. Нами был опробирован метод выделения суммарной геномной ДНК из вегетативных клуток с применением СТАВ (Cetyltrimethylammonium Bromide, цетилтриметиламмоний бромид) буфера. Клетки центрифугировали при 10000g в течении 15 минут и собирали осадок в 1.5 mL пробирки. Затем клетки суспендировали в 150-200  $\mu$ L СТАВ буфера и разрушали клеточную стенку добавлением 1  $\mu$ L меркаптоэтанола с последующим инкубированием в термостате

при 60°C в течении 30-40 минут. От органических соединений ДНК очищали добавлением смеси хлороформ:изоамиловый спирт в соотношении 24:1, затем тщательно взбалтывали и центрифугировали 10 минут при 13000g. Из полученного двухфазного раствора верхнюю фазу отбирали в новую пробирку, снова добавляли смесь хлороформ:изоамиловый спирт, взбалтывали, центрифугировали и отбирали верхнюю фазу в новые пробирки. Затем ДНК осаждали путем добавления ацетата натрия и 96% спирта при охлаждении до -20°C (на ночь). На следующий день суспензию размораживали, центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость (ДНК в осадке). Осадок промывали 2 – 3 раза в 80% этаноле (100 – 150 мкл), центрифугировали и затем удаляли супернатант для высушивания осадка (при комнатной температуре 30 – 40 минут). ДНК растворяли в 30 – 50 мкл ТЕ-буфера и хранили при -20°C. Данный метод был с успехом использован для амплификации генов, кодирующих большую (LSU) и малую (SSU) субъединицы рибосомальной ДНК у *Alexandrium tamarense*. С использованием данного метода ДНК так же была выделена у микроводорослей *Ditylum*, *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Amphidinium*, *Scropsiella*, *Attheya*, *Heterosigma* и *Protoceracium*.

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ НА  
ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ (НА ПРИМЕРЕ  
ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ  
ЕВРЕЙСКОЙ АВТОНОМНОЙ ОБЛАСТИ)**

Панина О.Ю. (студентка), Коган Р.М. (доцент)

*Дальневосточная государственная социально-гуманитарная академия,  
г. Биробиджан  
dniamura@yandex.ru*

Пирогенный фактор играет важную роль в почвообразовании в лесных областях и почва, как главный компонент биогеоценоза, является наиболее чувствительной к воздействию пожаров. Повторное горение на одних и тех же участках уничтожает растительный покров и сжигает полностью или частично гумусовый горизонт почв, что снижает почвенное плодородие и биологическую продуктивность растительности.

Актуальность этой проблемы особенно проявляется в районах со значительной лесистостью и плотностью пожаров, например, на Дальнем Востоке России, где нарушенность лесного покрова затрагивает большие территории. В среднем она составляет 30%, изменяясь в следующих пределах: Еврейская автономная область (ЕАО) – 57%, Амурская область – 42,2%; Сахалинская область – 38,6%; Хабаровский край – 36%; Приморский край – 30,9%; Чукотский автономный округ – 29,6%; Республика Саха – 26,8%; Камчатская область – 9%; Магаданская область – 24,6% [7, 8].

Последствия лесных пожаров на почву и рост растительности хорошо наблюдать с помощью фитотоксичности (способность почв оказывать угнетающее действие на растения, приводящее к ухудшению качества растительной продукции и снижению её выхода).

Целью работы является исследование влияния пожаров на фитотоксичность почв горельников в ЕАО, поскольку здесь каждый год, с началом пожароопасного периода начинаются лесные пожары, основными причинами которых являются антропогенные, трудно управляемые факторы.

Район исследований: дубово-широколиственные леса на территории городского участкового лесничества ЕАО, почвы – подзолисто-буроземные, глинистые и суглинистые [2,4]. Площадка № 1: фоновый образец (не подвергался горению); площадка № 2: однократно нарушенный образец (горельник 2007 г.); площадка №3: многократно подвергался пожарам.

Для анализа методом конверта отбирались по 5 образцов верхнего слоя почв массой по 200-300 г каждый, перемешивались, высушивались до воздушно-сухого состояния, измельчались и просеивались через сито с диаметром пор 1 мм [1].

Исследование биотестирования почвенных проб методом проростков кресс-салата проводилось в трехкратной повторяемости и показало, что сумма длин, средняя длина ростков, масса ростков и средняя масса одного ростка в образце, не подвергавшемся лесным пожарам, намного больше, чем в двух других, горевших образцах (табл. 1).



Таблица 1

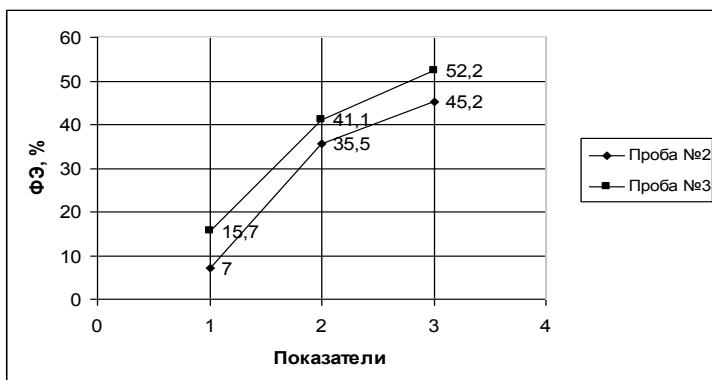
Результаты определения средней длины и массы  
ростков кресс-салата

Показатель	Образец №1	Образец № 2	Образец № 3
Средняя сумма длин ростков, см	170,7	110,5	98
Средняя длина одного ростка, см	15,1	10,5	9,9
Средняя масса длин ростков, г	1,2	0,6	0,5
Средняя масса одного ростка, г	0,2	0,1	0,05

Фитотоксический эффект (ФЭ) рассчитывался по разным показателям. Например, по массе растений ФЭ (%) рассчитывался по формуле:

$$\Phi Э = \frac{M_k - M_x}{M_k} \cdot 100 \quad (\%), \text{ где}$$

$M_k$  — масса контрольного растения (растений);  $M_x$  - масса растения (растений), выращенного на предположительно фитотоксичной среде. ФЭ проб почв № 2 и № 3 по разным показателям превышает допустимую норму (20%) (рис. 1). Как видно из рисунка, загрязнение почв продуктами горения влияет на массу и размер проростков. Значение фитоэффекта, вычисленного по этим показателям, имеет разную величину, но всегда оно больше в почвах, которые подвергались многократному горению.



1 - количество ростков, 2- сумма длин ростков, 3 – масса ростков.

Рисунок 1. Фитотоксический эффект проб почв горельников.

На массу и размер проростков могли повлиять как физические свойства, так и механический и химический состав почв, поэтому по стандартным методикам были определены гигроскопическая влажность, содержание хлоридов, нитратов, сульфатов, железа общего, меди, никеля, марганца, гумуса, зольной части, обменная кислотность [5, 8, 12, 13]. Концентрации железа общего, меди, никеля, марганца измерены методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре Solaar 6M. Для извлечения наиболее подвижных форм тяжелых металлов, применяли водную и кислотную вытяжки (0,1 н. раствор  $H_2SO_4$ ). Для приготовления водной вытяжки использовалась дистиллированная вода в соотношении почвы к воде 1:5, а для кислотной – 0,1 н. раствор  $H_2SO_4$  в соотношении почвы к кислоте 1:10 [1, 3, 6].

Во всех исследованных почвах не обнаружены хлориды, сульфаты и нитраты, которые попадают в почвы, в основном, с атмосферными осадками и являются показателями антропогенного загрязнения. Следовательно, почвы и растительность находятся здесь в естественных условиях, и изменения в них могут быть вызваны, в основном, лесными пожарами. Так, в почвах, испытавших влияние лесных пожаров, уменьшается гигроскопическая влажность (на 2 - 3 %

по сравнению с ненарушенным образцом), т. е. увеличивается плотность, уменьшается пористость.

Лесные пожары приводят к уменьшению количества органических и увеличению содержания неорганических веществ, а также изменяют кислотность почв (табл. 2).

Таблица 2

Содержание органических и неорганических веществ  
и кислотность проб почв

№ пробной площадки	Содержание органических веществ, %	Содержание неорганических веществ, %	pH
1	35,26	64,74	6,32
2	24,4	70,6	5,01
3	31,78	68,22	5,06

Поскольку кислотность влияет на подвижность тяжелых металлов (ТМ), что оказывает влияние на легкость их вымывания из почв, особенно в период муссонных дождей, определено их содержание в водной и кислотной вытяжках. Как видно из данных табл. 3, по содержанию в пробах почв металлы располагаются в следующем порядке убывания: марганец, железо, никель, медь. В водной вытяжке из почв горельников количество марганца и никеля, меди уменьшается, а железа при однократном горении увеличивается, при многократном уменьшается. В кислотной вытяжке содержание меди, железа и никеля в почвах горельников увеличивается, а марганца при однократном горении уменьшается, при многократном увеличивается. Причем во всех пробах содержание тяжелых металлов в кислотной вытяжке намного выше, чем в водной, хотя водная вытяжка оказывает непосредственное воздействие их на растения.

Таблица 3

## Концентрация тяжелых металлов в пробах почвы

ТМ	ПДК, мг/ кг	Вытяжка	Образец № 1		Образец № 2		Образец № 3	
			мг/дм <sup>3</sup> вытяж- ки	мг/кг почвы	мг/дм <sup>3</sup> вытяж- ки	мг/кг почвы	мг/дм <sup>3</sup> вытяж- ки	мг/кг почвы
Mn	1500	Водная	2,62	13,08	3,50	17,48	6,22	31,09
		Кислот- ная	389,24	3892,36	388,25	3882,45	464,05	4640,49
Cu	3,0	Водная	0,24	1,20	0,19	0,94	0,15	0,75
		Кислот- ная	0,73	7,30	0,88	8,82	1,10	11,01
Fe	*	Водная	5,60	28,01	7,52	37,61	4,99	24,99
		Кислот- ная	15,41	154,14	63,31	633,09	141,58	1415,79
Ni	4,0	Водная	0,39	1,43	1,54	1,54	0,56	2,80
		Кислот- ная	1,73	17,25	2,83	28,32	2,78	278,40

Примечание: \*содержание железа в почвах не нормируется.

Таким образом, воздействие пожаров проявляется не только в изменении содержания тяжелых металлов, но и на соотношение в виде растворимых соединений и связанных в почвенные комплексы. Влияние пожаров растительности на почвы проявляется в уменьшении гигроскопической влажности и содержания органических веществ, увеличении зольной части и повышении кислотности, последнее может быть связано с разложением органического вещества, потерей

питательных элементов, развитием оглеения. Кроме того, пожары изменяют содержание и форму нахождения в почвах тяжелых металлов: если почва горела каждый год, происходит увеличение содержания марганца в водной вытяжке, никеля в водной и кислотной вытяжках и железа в кислотной вытяжке, что связано с переходом этих элементов из органических веществ в зольные. Почвы, подвергавшиеся воздействию пожаров, оказывают значительный фитотоксический эффект на растения (уменьшается их длина, масса и количество), т.е. в результате лесных пожаров в почвах накапливаются токсичные вещества, отрицательно влияющие на рост и развитие растительности и, следовательно, они не могут быть использованы для возделывания сельскохозяйственных и лесных культур без предварительной рекультивации.

#### Литература:

1. Гречин И.П., Кауричев И.С., Никольский Н.Н., Панов Н.П., Поддубный Н.Н. Практикум по почвоведению. М.: «Колос», 1964. 422 с.
2. Гуревич В. С., Рянский Ф. Н. Еврейская автономная область: энциклопедический словарь. Хабаровск: «РИОТИП» краевой типографии, 1999. 368 с.
3. Кауричев И.С. Практикум по почвоведению. М.: «Колос», 1973. 279 с.
4. Комарова Т., М., Рубцова Т. А., Ахмадулин В. А. Природные ресурсы ЕАО. Хабаровск: Хабар. кн. изд-во, 2004. 112 с.
5. Методы контроля за состоянием почвы // [http://garbageinfo.ru/catalog/zagreznenie\\_okryg\\_sr/metod\\_kontrolya\\_po\\_chva.html](http://garbageinfo.ru/catalog/zagreznenie_okryg_sr/metod_kontrolya_po_chva.html)
6. Никольский Н.Н. Практикум по почвоведению. М.: «Просвещение», 1965. 200 с.
7. Христофорова Н.К. Экологические проблемы региона: Дальний Восток – Приморье: Учебное пособие. Владивосток; Хабаровск: Хабаровск. кн. изд-во, 2005. 304.
8. Шейнгауз А.С. Природопользование российского Дальнего Востока и Северо-Восточная Азия. Хабаровск: Риотип, 1997. 224 с.

## СРАВНЕНИЕ ДИВЕРГЕНЦИИ ИНТРОНОВ И ЭКЗОНОВ ГЕНА ГОРМОНА РОСТА У ЛОСОСЕВИДНЫХ РЫБ

Панькова М.В. (аспирант)

Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

*pamarine@gmail.com*

В настоящее время для решения проблем эволюции видов и многих таксономических проблем широко используется молекулярно-генетический подход, основывающийся на определении и сравнении нуклеотидного состава полных последовательностей индивидуальных генов или их участков, а также некодирующих участков ДНК.

Целью нашей работы было определить и сравнить нуклеотидный состав гена гормона роста (GH1) у двух подвидов гольцов *Salvelinus malma malma* и *S. malma krascheninnikovi*, а также провести сравнительный анализ дивергенции экзонов и интронов этого гена у лососевидных рыб в целом. Ген гормона роста весьма консервативен и характеризуется низкой внутривидовой изменчивостью. Ген гормона роста у исследованных видов рыб содержит 6 экзонов и 5 интронов (у карпа 5 экзонов и 4 интрона) и варьирует в длине за счёт длины интронов. Длина третьего экзона является консервативной между рыбами и млекопитающими – 117 пн (только у человека – 120 пн). Пятый экзон консервативен у всех рыб, которые его содержат – 147 пн (у камбалы – 105 пн). Сравнительное изучение последовательностей гена гормона роста позволит выяснить некоторые закономерности эволюции самого гена, а также с высоким уровнем достоверности идентифицировать изученные виды, что может помочь при решении спорных вопросов систематики и биогеографии в этой таксономически сложной группе лососёвых рыб.

Методами полимеразной цепной реакции, клонирования и секвенирования впервые получена нуклеотидная последовательность участка гена GH1 у двух подвидов мальмы - *S.m. krascheninnikovi* (2875 пн) и *S.m. malma* (2882 пн), который включает в себя полных 3 экзона (со второго по четвертый), неполные 1-й и 5-й экзоны и 4 интрона. Сравнительное исследование нуклеотидного состава этого фрагмента гена GH1 северной и южной форм мальмы выявил

незначительные генетические различия между ними, при этом последовательности экзонов оказались полностью идентичны, а различия обнаруживаются только в интронном участке. Проведен сравнительный анализ экзонов и интронов полученных нами последовательностей и известных последовательностей гена GH1 представителей семейства Salmonidae (*Oncorhynchus nerka*, *O. tshawytscha*, *Salmo salar*, *Coregonus lavaretus*), взятых в базе данных GenBank. Анализ показал, что скорость дивергенции нуклеотидных последовательностей в интронах выше скорости дивергенции в экзонах. На основании данных были реконструированы филогенетические связи между видами. Филогенетические картины эволюции гена гормона роста отдельно по интронам и экзонам в целом совпадают. В то же время, полученные данные дают основания полагать, что для анализа систематических и филогенетических отношений у близкородственных видов лучше использовать сравнение интронных участков генов, а для далёких видов - экзонные.

**ЧИСЛЕННОСТЬ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ NEOCALANUS  
CRISTATUS (COPEPODA, CALANOIDA)  
В ПРИКАМЧАТСКИХ ВОДАХ ВЕСНОЙ 2001, 2002 гг.**

Пономарева К. А (студент), Седова Н.А. (доцент)  
*Камчатский государственные технический университет,  
г. Петропавловск-камчатский.  
sedova67@bk.ru*

*Neocalanus cristatus* Kreyer 1848 является одним из наиболее массовых видов веслоногих рачков, типичным для открытых (океанических) вод. Из массовых видов копепод *N. cristatus* является самым крупным, поэтому данный вид часто присутствует в числе первых десяти видов по биомассе. Размножение *N. cristatus* начинается в феврале-марте. Эти рачки совершают относительно слабые суточные миграции при большом размахе сезонных миграций. Их ранние стадии поднимаются в эпипелагиаль только весной (в апреле-мае). По этой причине в наших пробах данный вид представлен, практически только 5-6 копеподитными стадиями, т.е.

старшим возрастом. *N. cristatus* – один из важных кормовых организмов. Им питаются многие морские рыбы: сельдь, мойва, южный одноперый терпуг, минтай, молодь дальневосточных лососей.

Целью работы является изучение биомассы и распределения *N. cristatus* весной 2001, 2002 гг. в восточной части Охотского моря и северо-западной части Тихого океана.

Материалом послужили планктонные сборы, выполненные по программе КамчатНИРО в восточной части Охотского моря в апреле 2001 г. между 51° и 58° с.ш. над глубинами от 30 до 200 м. и в тихоокеанских водах у восточного побережья Камчатки в апреле 2002 г. между 49° и 54° с.ш. в диапазоне глубин от 20 до 900 м. Планктон ловили ихтиопланктонной конической сетью (ИКС-80) с диаметром входного отверстия 80 см и размером ячеек 0,56 мм. Выполняли тотальный вертикальный лов. Рачков рассматривали фиксированными в 4%-ном формалине. При пересчете численности на 1 м<sup>3</sup> была введена поправка на уловистость, принятая в ТИНРО: для копепод крупнее 5 мм – 3,0. Район исследований был разделен на 2 зоны – надшельфовую (глубины от 30 до 200 м) и океаническую (свыше 200 м).

Весной 2001 г в восточной части Охотского моря *N. cristatus* встречался в 90% всех проб, взятых над шельфом, и в 100 % проб в океанической зоне. Плотность в среднем составляла 3,44 экз/м<sup>3</sup> в надшельфовой зоне и 4,5 экз/м<sup>3</sup> в глубоководной части района. Средняя биомасса над шельфом составляла 90,3 мг/м<sup>3</sup>, в южной части – 116,8 мг/м<sup>3</sup> (табл.1). Минимальные глубины, над которыми был пойман данный вид – 30 м. Количество *N. cristatus* в одной пробе над шельфом Западной Камчатки в 2001 г. обычно не превышало 185 экземпляров. В 2002 г. в этой зоне количество особей, пойманных на одной станции, было чуть больше - до 287 экземпляров. В светлое время суток было поймано наибольшее количество. Только в одной пробе, взятой в ночное время, была обнаружена представительница самка *N. cristatus*. Над глубинами от 200 до 500 м вид встречен в 91,6 % проб, над глубинами более 500 м – в 100% проб. Максимальная плотность составила 1,27 экз./м<sup>3</sup> в 2001 г.

В северо-восточной части Тихого океана над глубинами 300 м



и более (в том числе более 1000 м) вид был встречен, практически, во всех пробах, над глубинами 100-300 м – в 94,4 % проб. Наибольшие скопления наблюдались над глубиной 500 м у восточного побережья Камчатки, у Западной Камчатки – над глубинами 125 - 220 м. Максимальное количество рачков в одной пробе – 310 экземпляров. Средняя численность рачков в надшельфовой зоне составила 0,3 экз/м<sup>3</sup>, средняя биомасса – 9,27 мг/м<sup>3</sup>; в океанической зоне эти показатели составляли 5,16 экз/м<sup>3</sup> и 32,28 мг/м<sup>3</sup>, соответственно.

Распределение рачков по акватории района исследований показано на рисунке 1.

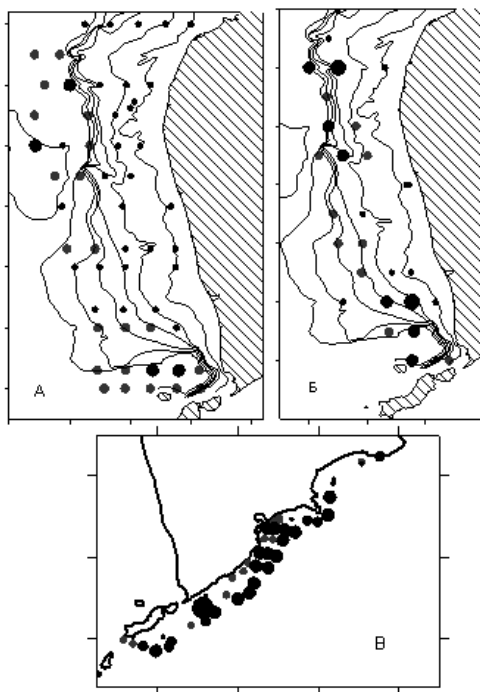


Рисунок 1. Карты распределения биомассы *N. cristatus* весной 2001, 2002 гг. А - Восточная часть Охотского моря, апрель 2001 г; Б - Восточная часть Охотского моря, апрель 2002 г; В - Северо-восточная часть Тихого океана, апрель 2002 г.

Обозначения: • 0,1-10 мг/м<sup>3</sup>; ● 10,1-50 мг/м<sup>3</sup>; □ 50,1 – 200 мг/м<sup>3</sup>; ● 200,1- 600 мг/м<sup>3</sup>; □ 600,1 - 1300 мг/м<sup>3</sup>.

Таблица 1

Средние значения численности и биомассы *N. cristatus* в  
прикамчатских вода весной 2001-2002 гг.

Район и период проведения исследований	Численность, экз/м <sup>3</sup>	Биомасса, мг/м <sup>3</sup>
Восточная часть Охотского моря, апрель 2001 г		
Весь район	0,60 ± 0,09	18,00 ± 1,80
Надшельфовая зона	0,90 ± 0,12	9,27 ± 2,10
Океаническая зона	15,48 ± 0,15	32,28 ± 3,40
Восточная часть Охотского моря, апрель 2002 г		
Весь район	2,13 ± 0,60	15,87 ± 1,44
Надшельфовая зона	2,28 ± 1,08	19,39 ± 2,70
Океаническая зона	2,79 ± 0,81	21,76 ± 1,50
Северо-восточная часть Тихого океана, апрель 2002 г		
Весь район	3,96 ± 0,90	33,83 ± 2,70
Надшельфовая зона	3,51 ± 1,80	30,10 ± 5,74
Океаническая зона	4,50 ± 0,60	38,08 ± 1,53

**ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ РАЗНЫХ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ  
МАССЕ И КАЧЕСТВЕННОМУ СОСТАВУ ПРОИЗВОДНЫХ  
НИЗКОЭТЕРИФИЦИРОВАННОГО ПЕКТИНА ЦИТРУСОВЫХ**

Попкова П.А. (студентка)<sup>1</sup>, Кумейко В.В. (н.с.)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Школа естественных наук, ДВФУ

<sup>2</sup>Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,

г. Владивосток

popkova@mail.ru

Данная работа посвящена изучению низкоэтерифицированного

пектина citrusовых, вещества относящегося к классу полисахаридов и распространенного преимущественно во внеклеточном матриксе высших растений. В пектиновой молекуле можно выделить три участка: гомогалактуроновый участок, состоящий из последовательно соединенных остатков галактуроновой кислоты, участок рамногалактуроновый I, который представлен повторяющимися остатками L-рамнозы и D-галактуроновой кислоты, и участок рамногалактуроновый II. Эти фрагменты представлены в различных соотношениях у разных видов растений. Большой интерес вызывают результаты экспериментальных исследований пектина, свидетельствующие о том, что данное вещество способно влиять на пролиферативную активность клеток, причем для низкомолекулярных и высокомолекулярных производных пектина показан различный эффект. В соответствии с этим, целью работы стало получение низкомолекулярных производных пектина citrusовых с различной массой и качественным составом для дальнейшего изучения их действия на клетки.

Для получения различных по массе и качественному составу низкомолекулярных производных пектина citrusовых исходный образец пектина был подвергнут ограниченному гетерофазному кислотному гидролизу. В ходе которого при температуре 80°C под воздействием 0,1 М соляной кислоты происходило контролируемое разрушение молекулы полисахарида с образованием олигосахаридных фрагментов. По окончании процесса было получено 12 проб, которые соответствовали разному времени проведения гидролиза. В каждой из проб с помощью фенол-сернокислого метода определения сахаров и метода определения уроновых кислот с помощью метагидроксидифенила (МГДФ) было установлено наличие низкомолекулярных производных, состоящих из нейтральных и заряженных остатков моносахаридов.

На рисунке 1 отражена динамика содержания сахаров в пробах гидролиза: в процессе гидролиза происходит постепенное накопление низкомолекулярных продуктов в системе.

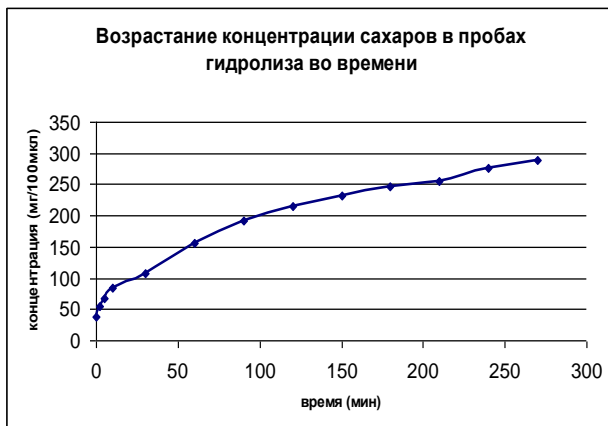


Рисунок 1. Динамика возрастания содержания сахаров в пробах гидролиза.

Распределение различных по массе олигосахаридов в каждом из полученных препаратов проверялось посредством гелепроникающей хроматографии на носители Sephadex G-50 superfine. Анализ профилей элюции каждой из проб показал, что во всех точках, начиная со второй (5 минут после начала гидролиза) наблюдается наличие производных имеющих массу около 12 кДа (рис 2, первый пик). Эти производные содержат в своем составе, как уруновые кислоты, так и нейтральные сахара в соотношении 1:3. Можно сделать предположение, что данные фрагменты образовались из основной цепи рамногалактуронового I участка, поскольку в его строение наблюдается чередование L-рамнозы и D-галактуроновой кислоты. Однако, это так же может быть разветвленный фрагмент рамногалактуронового II участка, который в качестве основной цепи имеет гомогалактуроновую основу, к которой присоединены боковые цепи из нейтральных сахаров.

Каждая из проб гидролиза содержит производные, состоящие только из нейтральных сахаров и имеющие массу 0,342 кДа (рис.2, последний пик), предположительно данные производные образовались во время подготовки пектина к гидролизу.

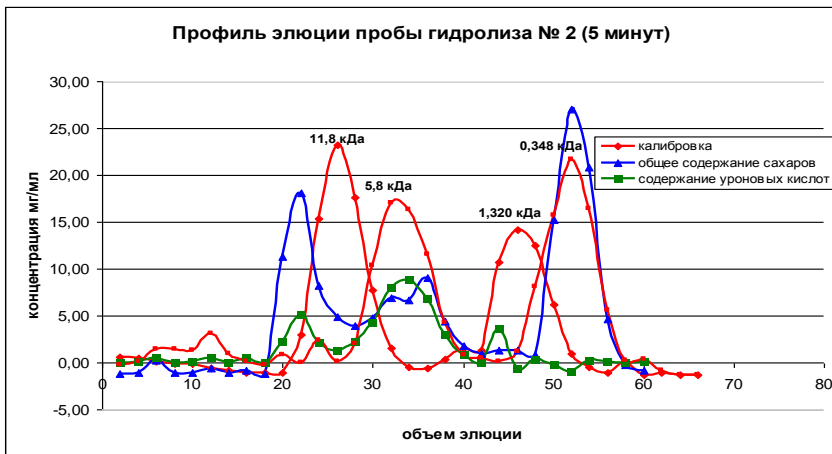


Рисунок 2. Профиль элюции второй пробы гидролиза, отобранной через 5 минут.

Во всех пробах гидролиза присутствуют и другие олигосахариды, имеющие массу 5,5 кДа в пробах №3 и №4, 2 кДа в пробах № 6 и №7, 7 кДа в пробах №8-№12. Мы предполагаем, что эти производные так же могут иметь различный качественный состав, который будет установлен с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В итоге, по результатам проведенной работы можно сделать вывод, что подобранная методика ограниченного гетерофазного кислотного гидролиза оказалась эффективной для получения низкомолекулярных производных пектина цитрусовых и с ее помощью были получены производные, различающиеся по массе и качественному составу. Наиболее перспективными для дальнейшей работы являются производные с массой 12 кДа, состоящие из уоновых кислот и нейтральных сахаров в соотношении 1:3, поскольку они повторяют структуру гликозаминогликанов соединительной ткани человека, для низкомолекулярных производных которых был показан антипролиферативный эффект, оказываемый на опухолевые клетки.

## **ЭРОЗИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ РАЗВИТИЕ ОВРАГОВ**

Припадова Е.А. (студентка), Дербенцева А.М. (профессор)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*Samira\_e95@mail.ru*

На поверхности суши первой предпосылкой образования оврагов является нарушение или полное сведение растительного покрова. Наиболее интенсивно такое нарушение происходит при выпадении жидких осадков ливневого характера. Однако, подчеркнём, что развитие линейной эрозии как процесса (или оврагообразования) возможно лишь при обязательном наличии и определённом сочетании таких факторов как рельеф, осадки, рыхлое состояние почв. Если два первых фактора являются природными, то последний, как правило, обусловлен деятельностью человека (распашка почв, строительство дорог, рубка леса и проч.)

В связи с этим решались задачи: по литературным источникам проследить появление и дальнейшее развитие линейной формы эрозии.

Овраг – это крутосклонная долина, созданная деятельностью временных, реже постоянных водотоков (Геологический словарь, 1978). Оврагами считаются современные линейные формирования, образующиеся на крутых склонах сопок, на склонах балок, террас (Рожков, 1981). Начинаясь линейный размыв проходит несколько этапов развития, прежде чем сформируется овраг. С.С. Соболев (1948) выделил четыре стадии развития оврага: 1) промоины или рытвины; 2) врезание висячего оврага вершиной; 3) выработки профиля равновесия; 4) затухания. В настоящее время выделяют два типа оврагов: склоновые и донные (Рожков, 1981). Донные – современные формы размыва без отвешков, размещающиеся по днищам древних линейных форм (лощины, ложбины, балки). Склоновые – современные формы размыва, образующиеся на крутых склонах лощин, балок и речных террас.

Линейные формы эрозии встречаются во всех освоенных районах, но наиболее сильно размывы проявляются в бассейнах рек. В условиях Приморского края – это бассейны рек Усури, Раздольная, Артёмовка, Спасовка с преобладанием почв агрозёмов текстурно-

дифференцированных, агротёмногумусовых подбелов глеевых, где расчленённость поверхности оврагами и промоинами составляет 0,6 – 1,7 км/км<sup>2</sup> (Ивлев, Дербенцева, Любич, Морякова, 1990). Практически все крупные ложбины, балки размывы или полностью по всему ложу, или в отдельных их частях. Линейные размывы формируются по дорогам, на контакте леса и пашни, на крутых склонах сопок с бурозёмами. Основная часть растущих оврагов расположена на склонах, нижние части которых распаханы, а верхние заняты лесом с кустарником (рис. 1).

Приведем пример наблюдений за развитием оврагов на территории Приханкайской равнины Приморского края, на почве: агрозём текстурно-дифференцированный. Ландшафт изрезан серией оврагов антропогенного происхождения. На данной территории глубина местных базисов эрозии составляет от 25 до 50 м. Возникновение новых эрозионных форм в виде незаравниваемых промоин и неглубоких оврагов происходит наиболее часто при выпадении значительных и сильных ливней при интенсивности 5-7 мм/мин и при слое осадков более 40 мм.

Наиболее продолжительные наблюдения за мутность твердого стока и наносами осуществлялись в овраге № 4 – типичном для большой серии оврагов изученной территории (Ивлев, Дербенцева, Ознобихин, 2007). Овраг расположен на прямом распаханном склоне северо-западной экспозиции, со средним уклоном 50. Длина оврага около 210 м, профиль тальвега слабовыпуклый, что является следствием геологического строения: элювиально-делювиальные отложения имеют мощность по всей длине склона 3-4 м и подстилаются гранитами. Граниты вскрываются овражным врезом на средней части оврага. Конус выноса оврага подрезается рекой.

Для наблюдения за формированием твердого стока и морфологическими характеристиками русла по длине оврага выбрано 3 экспериментальных участка. Участок (А) длиной 5 м расположен в верхней части оврага, где он прорезает подстилающую породу.

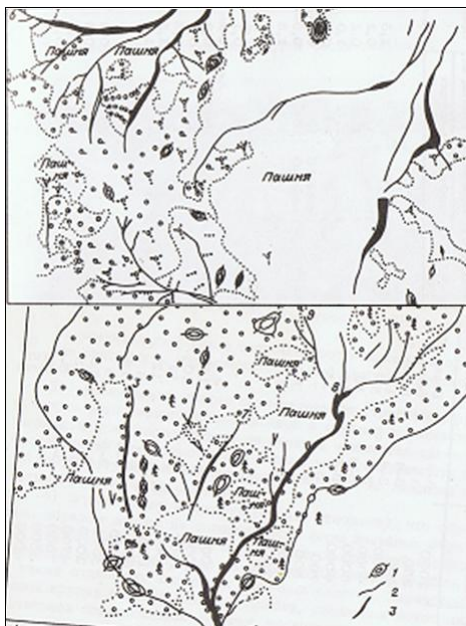


Рис. 1. Схема овражно-промоинной сети с преобладанием леса и пашни. Условные обозначения: 1 – вершины сопок; 2 – длинные узкие овраги и промоины; 3 – широкие овраги и размывы.

В пределах этого участка происходят ежегодные переформирования русла оврага, его углубление и изменение в плане. Участок (Б) расположен в центральной части оврага, имеет длину 3 м и представляет собой углубление до 3 м, созданное основанием отвершка, с шириной по дну около 1 м. Участок (В) расположен в приустьевой части оврага, но выше зоны подтопления рекой. Длина участка около 7 м, ширина по дну 4 -5 м.

Наблюдения за твердым стоком на трёх участках начинались с появлением воды в вершинной части оврага, а заканчивались с прекращением поступления поверхностного стока. Измерения величин мутности и стока в разные сезона теплого периода года (табл. 1) показали, что мутность потока – не стабильная величина по всему руслу оврага. Основная часть взвеси мелкозёма, транспортируемая овражными потоками, откладывается на конусе выноса.



Таблица 1

Средние значения мутности твердого стока  
в разных частях оврага

Участок оврага	Сезон	Глубина потока, м / мутность потока, г/л		
		А - верхний	весна	0,01 / 0,47
	лето	0,07 / 2,61	0,05/3,01	0,07/2,54
	осень	0,09 / 1,86	0,09/2,93	0,08/2,12
Б – средний	весна	0,02/1,10	0,04/2,54	0,06/2,24
	лето	0,07/3,02	0,09/6,33	0,06/4,07
	осень	0,08/4,61	0,09/4,16	0,10/5,28
В - нижний	весна	0,05/1,18	0,07/2,23	0,08/3,20
	лето	0,10/1,52	0,11/3,07	0,12/3,12
	осень	0,12/3,18	0,14/4,96	0,16/5,02

Таблица 2

## Гранулометрический состав

Гори зонт /нан ос, см	Глубина взятия образца, см	Гранулометрический состав почв (в %), величина фракций, мм							
		1- 0,25	0,25- 0,05	0,05 - 0,01	0,01- 0,005	0,005- 0,001	< 0,001	< 0,01	> 0,01
Агрзём текстурно-дифференцированный									
Р Elm	0-24	3	17	24	10	7	39	56	44
	24-42	4	23	26	8	14	25	47	53
Наносы в конусе выноса оврага									
Нанос 0 – 20		2	26	13	14	12	33	59	41

Проведенный анализ гранулометрического состава почв водосбора оврага и материала конуса выноса (табл. 2) выявил следующее. В профиле почв водосбора преобладают фракции ила, средней и мелкой пыли. В почвенном материале конуса выноса преобладает фракция ила и среднего песка. Это указывает на то, что конус выноса состоит из материала горизонтов Р и С.

Часть мелкозёма, продолжая транспортироваться во взвешенном состоянии, вместе с поверхностными водами следует в гидрографическую сеть ручья, продолжая оседать как на пути к нему, так и в самой гидрографической сети.

Таким образом, самым сильным фактором, вызывающим развитие процессов эрозии почв, а затем оврагообразование, — является антропогенный, в любой форме его проявления.

## **ВИДОВОЙ СОСТАВ И ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УХОВЕРТОК В ПРИБРЕЖНОЙ ПОЛОСЕ БУХТЫ КИЕВКА**

Прокопенко О.Д. (школьник), Петрова Е.А. (аспирант),  
Гончаров Н.В. (студент)

*Средняя общеобразовательная школа №60  
Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
ocean\_95@mail.ru*

В Приморском крае одной из актуальных проблем является сохранение экосистем побережий. Они нуждаются в особых природоохранных мерах (Мартыненко и др., 2006). Первым шагом к их сохранению является изучение их населения. Кроме этого, изучение локальных фаун в Приморье представляет большой теоретический и практический интерес. Полученные данные могут не только расширить сведения о биоразнообразии и экологических особенностях ряда групп, но могут быть использованы для дальнейшего мониторинга состояния отдельных экосистем.

В этой работе объектом исследования являются уховертки (Insecta-Ectognatha, Dermaptera). Это слабоизученная группа в классе открыточелюстных насекомых встречается, в том числе, в прибрежной полосе Приморья, но здесь она изучена только по эпизодическим

сборам. В силу довольно простой видовой идентификации и крупных размеров этих животных, они могут быть использованы в качестве так называемой модельной группы при оценке состояния прибрежной полосы. Изучение видового состава и особенностей распределения уховерток в прибрежной полосе бухты Киевка Японского моря являлось целью данной работы.

**Материалы и методы.** Сбор уховерток был проведен в прибрежной зоне бухты Киевка Японского моря с мая по октябрь 2010 года. Сбор производится в местообитаниях следующих подзон побережья: верхней литорали, нижней и верхней супралиторали, а также в прилегающих наземных сообществах. Границы указанных зон выделены по работе: Галышева, Коженкова, 2006.

Сбор организмов проводился на 3 ключевых участках, выделенных на береговой полосе бухты Киевка. Первый ключевой участок располагался на юго-западном побережье, возле устья реки Киевка. Второй ключевой участок располагался возле Морской биологической станции ДВФУ «Заповедное». Третий ключевой участок располагался в северной части острова Второй.

Поскольку уховертки проявляют активность в темное время суток, для полного выявления видового разнообразия были применены методы ручного сбора и почвенных ловушек. Они были установлены в местообитаниях, лежащих выше верхней литорали, рядами по 4-5 в каждом местообитании. При дальнейшей обработке проб уховертки этикетированы и определены до вида при помощи ключей С. Ю. Стороженко (Определитель насекомых Дальнего востока СССР, 1982). Всего было обработано 9 количественных проб, 17 качественных проб и 150 экземпляров уховерток.

**Результаты и обсуждение.** На побережье бухты Киевка было обнаружено 150 уховерток, принадлежащих к 5 видам. Видовая идентификация одного из них - *Anechura cf. harmondi* — сомнительна. Возможно, что при дальнейшем изучении удастся уточнить видовую принадлежность этого вида. Тогда существующий список видов для Дальнего Востока и России, возможно, будет дополнен. Ниже приведен аннотированный список обнаруженных видов.

1. Сем. Anisolabiidae, *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847). Материалы из прибрежной полосы бухты Киевка: 81 особь. Встречается на полях, в лесу, у берегов водоемов. Космополит.
2. Сем. Anisolabiidae, *Anisolabis maritima* (Genee, 1832). Материалы из прибрежной полосы бухты Киевка: 7 особей. Встречается у моря на галечниковых пляжах среди гниющей растительности. Космополит.
3. Сем. Labiduridae, *Labidura riparia* (Pallas, 1773). Материалы из прибрежной полосы бухты Киевка: 21 особь. Обитает возле рек на песчаных грунтах. Космополит.
4. Сем. Forficulidae, *Anechura* cf. *harmondi* (Burr., 1904). Материалы из прибрежной полосы бухты Киевка: 22 особи. Встречается в лесах, лугах и возле морских побережий.
5. Сем. Forficulidae, *A. japonica* (Burmans, 1880). Материалы из прибрежной полосы бухты Киевка: 19 особи. Встречается у берегов морей и рек на песчаных грунтах.

В силу того, что уховертки ведут преимущественно ночной образ жизни, они крайне редко встречаются в количественных сборах. Кроме этого, они активно перемещаются в поисках пищи. В связи с этим, для выявления истинных значений численности уховерток требуются особые методы сборов. В работе учитывались только качественные показатели.

На первом ключевом участке обитают 4 вида уховерток. Здесь не встречалась *Anisolabis maritima*. На втором ключевом участке также отмечено 4 вида, но здесь отсутствовала *Labidura riparia*. На третьем ключевом участке отмечено только два вида уховерток — *Euborellia annulipes* и *A. maritima*. Таким образом, наибольшее видовое разнообразие отмечено на первом участке. Это может быть связано с преобладанием мелкопесчаного грунта, в который зарываются уховертки, и наличием определенных растительных сообществ на данном участке. Кроме этого, к участку примыкает пресный водоем, который оказывает влияние на соленость почв на данном участке. Видимо, уховертки восприимчивы к степени засоления почв. В пользу этого говорит также тот факт, что уховертки на данном участке не

встречались на верхней литорали и нижней супралиторали.

На втором участке уховертки были собраны только в сообществе мертензии на верхней и нижней супралиторали. Это показывает, что сообщество мертензии является комфортным биотопом для уховерток. Мертензия является хорошим естественным укрытием и способствует удержанию влаги в почве, здесь интенсивны процессы гниения, что создает кормовую базу для уховерток. Остальные местообитания этого участка менее пригодны для уховерток.

Третий участок отличается бедным видовым составом уховерток. Это связано с его островным положением. Он отделен от остальной суши и, следовательно, не происходит вселения новых видов уховерток.

Уховертки приурочены к местообитаниям с песчаным и песчано-галечным грунтами, кроме *E. annulipes*, встречающейся на всех трех ключевых участках. Он распространен во всех зонах побережья и является эврибионтным видом.

*A. maritima* встречался на втором и третьем участках на песчано-галечном грунте. Вид явно выбирает переувлажненные местообитания (верхняя литораль и сообщества мертензии на верхней супралиторали). В последнем он обитает более-менее длительное время, на верхнюю литораль мигрирует — возможно, в поисках пищи.

*Labidura riparia* приурочена к мелкопесчаному грунту первого ключевого участка. Данный вид может мигрировать на верхнюю литораль, но более-менее длительно присутствует в местообитаниях верхней супралиторали. Вид тяготеет к растительным сообществам колосняка, которые распространены на верхней супралиторали и примыкающей суше. Видимо, уховертки этого вида питаются растительными остатками этого растения.

*Anechura cf. harmondi* чаще встречалась на мелкопесчаных грунтах, но также может встречаться в сообществе мертензии на верхней песчано-галечной супралиторали. То же самое можно сказать о другом виде этого рода, *A. japonica*. Таким образом, четкая приуроченность к местообитаниям у данных видов отсутствует.

В прибрежной полосе бухты Киевка уховертки часто

присутствуют в местообитаниях верхней супралиторали. Эти местообитания отличаются достаточной увлажненностью, но менее засолены, чем в ниже лежащих подзонах. Кроме этого, здесь присутствует растительность и, как следствие, детрит.

Наибольшее количество видов уховерток было отмечено в прибрежной полосе в августе. Это может быть связано с тем, что сезон откладки яиц уховерток приходится на вторую половину лета (Стороженко, 1986). Возможно, именно в прибрежной полосе (в частности, в верхней супралиторали) уховертки откладывают яйца. Это предположение также объясняет появление уховерток видов *Anechura cf. harmondi* и *A. japonica* в несвойственном им местообитании — мертензиевом сообществе верхней супралиторали. Это новые сведения о биологии двух указанных видов.

#### Выводы:

1. На побережье бухты Киевка было обнаружено 5 видов уховерток.
2. *Labidura riparia* приурочена к песчаным грунтам. Виды *Anechura cf. harmondi* и *A. japonica* наиболее часто присутствуют на песчаных грунтах, но могут также встречаться на песчано-галечном грунте. *Anisolabis maritima* встречался на втором и третьем участках на песчано-галечном грунте. *Euborellia annulipes* встречается повсеместно, без приуроченности к определенному типу грунта. На каменистых грунтах уховертки отсутствуют.
3. Наибольшее видовое разнообразие уховерток на побережье бухты Киевка наблюдается на верхней супралиторали. Это объясняется наличием характерной растительности и детрита-источника питания этих животных.
4. Уховертки предпочитают переувлажненные, слабо засоленные местообитания с наличием растительности. В остальных они либо отсутствуют, либо находятся временно (в поисках пищи или для откладки яиц).
5. Наибольшее количество видов уховерток было отмечено в прибрежной полосе в августе, что, возможно, связано с откладкой яиц.

## **СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МОРСКИХ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ К ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРИЯ**

Пушкарева В.С. (студентка), Журавель Е.В. (доцент)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*zhryvl@rambler.ru*

Анионные поверхностно-активные вещества (АПАВ) вследствие их широкого применения в промышленности и быту являются одними из распространенных токсических агентов в морских водах. В числе широко используемых АПАВ – додецилсульфат натрия (ДСН), занимающий второе место по объему производства в мире. Он входит в состав шампуней, пен для ванн, зубных паст, моющих средств для посуды и т.д., вследствие этого присутствует в канализационных стоках и прибрежно-морских водах.

Наиболее специфические особенности ПАВ, определяющие их гигиенические свойства, являются выраженная способность изменять физическое состояние и стабильность в водоемах других загрязняющих веществ, которые способны существенно изменять условия обитания в водной среде различных организмов, в частности микрофлоры, а также влиять на характер действия различных веществ в организме теплокровных животных и человека. Известно, что ПАВ в первую очередь влияют на состояние клеточных мембран, встраиваясь в них и растворяя и замещая липиды и белки, а также ухудшая ионный обмен клетки, в особенности, кальциевый [4]; ДСН нарушает работу ферментов, например, дегидрогеназ и нитрогеназ [5]. Физиологическое действие АПАВ на гидробионтов хорошо изучено, поэтому один из представителей этой группы веществ – ДСН -- применяется как стандартный токсикант для сравнения чувствительности морских тест-организмов к загрязнению водной среды.

В методиках биотестирования используются различные организмы, разного систематического положения и с разными адаптивными способностями. В связи с этим необходимо проводить исследования, которые помогают сравнивать организмы по чувствительности. Целью нашей работы было сравнение реакций различных гидробионтов на воздействие ДСН и выбор наиболее

чувствительных к нему тест-организмов.

В качестве тест-организмов использовали плоских морских ежей *Scaphechinus mirabilis*, собранных в зал. Восток. Тестирование растворов ДСН проводили по методу эмбриотеста [1], прослеживая раннее развитие эмбрионов и личинок в течение двух суток. Кроме того, оценивали влияние ДСН на выживание жаброногого ракообразного *Artemia salina* [3]. Эффективные концентрации токсиканта рассчитывали с помощью пробит-метода.

Под действием ДСН в концентрации 1 мг/л оплодотворение яйцеклеток *S. mirabilis* незначительно нарушалось (рис. 1), однако при увеличении его содержания до 2,5 мг/л процент нормально оплодотворенных яйцеклеток уменьшался до 47. Сходное явление наблюдали и на стадии первого деления дробления. При внесении 4-7 мг/л ДСН развитие нарушалось на всех этапах, тогда как при 2,5 мг/л немногочисленные зиготы далее развивались практически аналогично контролю.

Результаты тестирования с *A. salina* показали, что чувствительность данного организма значительно ниже, чем у эмбрионов и личинок морского ежа.

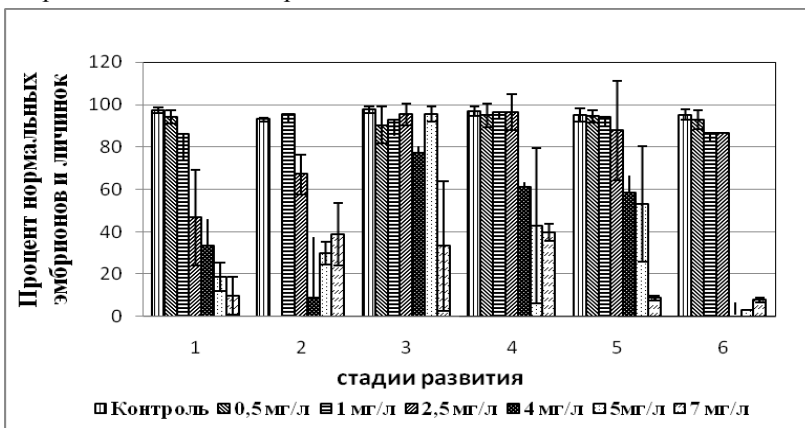


Рисунок 1. Воздействие ДСН на разных этапах развития *S. mirabilis* (1 – оплодотворение, 2 – 2 бластомера, 3 – бластула, 4 – гастрюла, 5 – ранний плутеус 1 стадии (24 ч), 6 – ранний плутеус 2 стадии (48 ч).



Расчетная концентрация ДСН, при которой гибли ракообразные в остром эксперименте, составила 22,35 мг/л через 48 ч и 9,6 мг/л через 72 ч.

Сравнение чувствительности к ДСН представителей различных систематических групп (табл.) показывает, что ДСН оказывает острое токсическое действие на все виды, представляющие различные трофические уровни. Наиболее чувствительными к действию ДСН оказались бактерии *Vibrio fischeri* и морские ежи *Scaphechinus mirabilis* и *Paracentrotus lividus*; именно их предпочтительнее использовать для контроля качества природных вод.

Таблица 1

Эффективные концентрации (ЕС50) додецилсульфата натрия для различных тест-организмов

Виды	Концентрации, мг/л	Продолжительность эксперимента	Тест-реакция	Источник
<i>Scaphechinus mirabilis</i>	1,72	10 мин	Оплодотворение яйцеклеток	Собственные данные
	1,32	24 ч	Раннее развитие	
<i>Artemia salina</i>	22,35	48 ч	Гибель	Собственные данные
	9,6	72 ч		
<i>Vibrio fischeri</i>	2,6	5-15 мин	Снижение биOLUMИнесценции, тест «Microtox»	Mariani et al., 2006
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	4,8	72 ч	Подавление роста культуры	Mariani et al., 2006
<i>Tigriopus fulvus</i>	7,4	96 ч	Гибель	Mariani et al., 2006
<i>Paracentrotus lividus</i>	3,2	10 мин	Оплодотворение яйцеклеток	Mariani et al., 2006
<i>Dicentrarchus labrax</i>	7,3	96 ч	Гибель	Mariani et al., 2006

Известно, что наибольшую чувствительность к загрязняющим веществам проявляют гидробионты на ранних стадиях развития (по сравнению с взрослыми особями). При сравнении чувствительности

рыб и ракообразных к действию ПАВ наименее устойчивыми являются рыбы, так как ПАВ затрудняют проникновение кислорода в жабры, и рыбы погибают от асфиксии, тогда как плотные покровы ракообразных делают их более устойчивыми [6].

Микроводоросли, составляющие первый трофический уровень морских экосистем, проявляют различную чувствительность к ДСН в зависимости от строения оболочек их клеток, ультраструктуры и функциональной активности органоидов. Так, у зеленой микроводоросли *Dunaliella salina* только концентрация 10 мг/л вызвала подавление роста культуры и физиологических процессов, тогда как у *Attheya ussurensis* подобная реакция возникла уже при 0,1 и 1 мг/л ДСН. Низкие концентрации ДСН (0,1 и 1 мг/л) у большинства микроводорослей стимулирует рост численности культуры и физиологических процессов [2].

Согласно протоколам контроля качества среды, разработанным в зарубежных странах, для биотестирования должны быть выбраны тест-организмы, представляющие различные трофические уровни. В Российской Федерации для биотестирования морских вод предлагается использовать лишь два объекта – диатомовую водоросль *Phaeodactylum tricorutum* и эвригалинное ракообразное *A. salina*. Однако из таблицы видно, что микроводоросли и ракообразные обладают самой низкой чувствительностью к ДСН и не могут достоверно отражать состояние среды.

Даже максимальное содержание АПАВ в прибрежно-морских водах зал. Петра Великого (до 5 ПДК – 0,5 мг/л) не достигает уровня, который мог бы повлиять на перечисленных выше самых чувствительных гидробионтов, поэтому нельзя считать АПАВ наиболее опасными поллютантами, загрязняющими прибрежно-морские воды Приморья.

Работа выполнена при поддержке грантов НШ-64869.2010.4, 11.G34.31.0010 и ГК02.740.11.0678.

Литература:

1. Кобаяси Н., Найденко Т.Х., Ващенко М. А. Стандартизация биотеста с использованием зародышей морского ежа // Биол. моря, 1994. Т. 20, № 6. С. 457-464.
2. Маркина Ж.В. Применение микроводорослей для оценки качества морской воды и действия детергентов. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2008. 21 с.
3. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М: РЭФИА, НИА – Природа, 2002. 118 с.
4. Hansen B., Fotel F.L., Jensen N.J., Wittrup L. Physiological effects of the detergent linear alkylbenzene sulfonate on blue mussel larvae (*Mytilus edulis*) in laboratory and mesocosm experiments // Mar. Biol. 1997. Vol. 128. P. 627-637.
5. Mariani L., Pascale D., Faraponova O., Tornambe A., Sarni A., Giulian S., Ruggiero G., Onorati F., Magaletti E. The acute toxicity of sodium dodecyl sulfate // Environmental toxicology. 2006. www.interscience.wiley.com. DOI 10.1002/tox.20204
6. Swedmark M., Braaten B., Emanuelson E., Granmo A. Biological effects of surface active agents on marine animals // Mar. Biol. 1971. № 3. P. 183-201.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ  
ЛИКОДА ТАНАКИ *LYCODES TANAKAE* (PISCES: ZOARCIDAE)  
В ВОДАХ ПРИМОРЬЯ (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)**

Савельев П. А. (аспирант), Баланов А. А. (ст.н.с.)

*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток  
tomthumb@mail.ru*

В донных ихтиоценозах дальневосточных морей Zoarcidae вместе с Cottidae и Liparidae по количеству видов занимают лидирующее положение среди рыб других семейств (Борец, 1997, 2000; Anderson, Fedorov, 2004). Отдельные представители семейства, достигая высокой численности, являются важной составляющей рыбных сообществ северо-западной части Тихого океана (Борец, 1985; Дудник, Долганов,

1992; Орлов, 1998; Иванов, 2002; Токранов, Орлов, 2002; Баланов и др., 2004; Калчугин и др., 2006). Труды по япономорским представителям Zoarcidae содержат в основном информацию о таксономическом составе и встречаемости видов в разных районах (Ueno, 1971; Линдберг, Красюкова, 1975; Toyoshima, 1984, 1985; Amaoka et al., 1995; Борец, 1997, 2000; Okiyama, 2004). Известно лишь несколько работ, в которых отражены общие черты распределения бельдюговых рыб российских вод Японского моря с краткими замечаниями по биологии видов (Антоненко и др., 2005; Баланов, Соломатов, 2008). Подробных объектно-ориентированных данных по распределению и биологии рыб рода *Lycodes* (сем. Zoarcidae) в Японском море нет.

Ликод Танаки *Lycodes tanakae* является широко распространенным япономорским видом и наравне с чешуйчатым аллолеписом *Bothrocara hollandi* лидирует по встречаемости и биомассе среди Zoarcidae Японского моря (Okiyama, 2004; Баланов, Соломатов, 2008; Баланов и др., 2011). В настоящей работе впервые обсуждается сезонное пространственное распределение разных размерных групп этого вида в водах Приморья.

Материалом для работы послужили сборы, выполненные в водах Приморья (от зал. Петра Великого до Советской Гавани) экспедициями ТИНРО-Центра: РКМРТ “Бухоро” в июле-августе 2004 г. (коллектор С.Ф. Соломатов) – 195 тралений; РКМРТ “Бухоро” в июне-августе 2005 г. (коллектор С.Ф. Соломатов) – 202 траления; МРС “5005” в июне-августе 2005 г. (коллектор Д.В. Антоненко) – 135 тралений; РКМРТ “Бухоро” в июне-августе 2007 г. (коллектор Д. В. Антоненко) – 214 тралений; НИС “Профессор Кизеветтер” в марте-мае 2009 г. (коллектор Д.В. Антоненко) – 251 траление. Кроме того, использованы данные, полученные в рейсе на НИС «Академик А.М. Лаврентьев» в августе-сентябре 2010 г (проект SoJaBio – Sea of Japan Biodiversity studies).

Данные по распределению и температурным условиям обитания *L. tanakae* были разделены на две группы: весенние (март-май) и летние (июнь-август).

В результате исследований установлено, что разноразмерные

особи *L. tanakae* встречались на протяжении всего района исследований вдоль берегов Приморья от 42° до 49° с.ш. Единственная область, где концентрация особей была очень низкой вплоть до отсутствия в уловах – акватория, прилегающая к территории Ольгинского района в пределах от 43° до 44° с. ш. В целом же географическое распределение *L. tanakae* в водах Приморья в весенние и летние месяцы относительно равномерно. Особи всех размерных классов равновероятно встречаются как на севере, так и на юге изучаемого района. Каких-либо четких мест скоплений у данного вида не выявлено.

Батиметрический диапазон обитания *L. tanakae* имеет широкие границы. По данным, полученным в экспедициях на судах ТИНРО-центра, в водах Приморья этот вид был распространен на глубинах 87-935 м, однако преобладающее количество особей (90%) предпочитало глубины 200-700 м. Глубже 800 м было встречено всего 4 особи. Максимальная глубина обнаружения вида в исследованном районе – 1034 м. Характер весеннего и летнего батиметрического распределения *L. tanakae* различается. В марте-мае наблюдалось смещение средне- и крупноразмерных особей (>30 см) к нижней границе батиметрического диапазона обитания вида на глубины более 400 м, в то время как наиболее мелкие особи (<30 см) ловились, как правило, на глубине 200-350 метров. В июне-августе средне- и крупноразмерные особи рассматриваемого вида были широко представлены во всех диапазонах глубин его обитания, а молодь, как и весной, концентрировалась на глубинах 200-300 м.

Температурный режим обитания. С марта по август наиболее мелкие особи *L. tanakae* (<30 см) обитают в одном и том же диапазоне температур – от 0.8 до 1.6°C. Наибольшая частота встречаемости и максимальные уловы особей данной размерной группы наблюдались при температуре 1.0-1.2°C в марте-мае и 1.2-1.6°C в июне-августе. Средне- и крупноразмерные рыбы (>30 см) более толерантны к температурным условиям, чем молодь. Термический диапазон их обитания несколько шире – от 0.2 до 1.5°C в марте-мае и 0.2-2.1°C в июне-августе. Наибольшая встречаемость особей длиной свыше 30 см

в марте-мае наблюдается при более низких температурах, чем в июне-августе — 0.3-1.1°C и 0.5-1.6°C соответственно. В ходе исследования нами также была обнаружена отрицательная зависимость между размерами рыб и средней температурой придонных вод:  $r=-0.42$ ,  $p<0.001$ . В целом можно отметить, что в оба исследованных сезона мелкоразмерные рыбы (<30 см) предпочитают температуры выше 1°C, в то время как крупноразмерные (>60 см) – менее 1°C.

*L. tanakae* обитает на шельфе и верхней части материкового склона Японского и Охотского морей на глубинах 30-1130 м (Линдберг, Красюкова, 1975; Toyoshima, 1983, 1985; Борец, 1997; Федоров, 2000; Оkiyama, 2004; Баланов, Соломатов, 2008). По предпочитаемым глубинам обитания (200-700 м), согласно классификации Шейко и Федорова (2000), *L. tanakae* относится к мезобентальной экологической группировке рыб (Дударев и др., 2000; Соломатов, 2002; Баланов, Соломатов, 2008). До настоящего времени нижней границей его обитания в водах Приморья считалась глубина 700 м, что связано в первую очередь с отсутствием тралений на больших глубинах в предыдущие годы (Дударев и др., 2000; Баланов, Соломатов, 2008). Наши данные существенно расширяют представления о батиметрической диапозоне обитания изучаемого вида, нижний предел распространения которого в Японском море достигает 1034 м. Следует отметить, что данная находка является самым глубоким обнаружением *L. tanakae* в Японском море, и эти данные близки к нижнему пределу обитания этого вида в Охотском море – 1130 м (Toyoshima, 1983).

Сравнительный анализ данных и карт пространственного распределения видов, приведенных в работах по рыбам Приморья, показал, что в районе между 43° и 44° с. ш. низкая плотность уловов характерна не только для *L. tanakae*, но и для многих других обитающих здесь рыб (Калчугин, 1998; Калчугин, Вдовин, 2000; Соломатов, 2002), в том числе бельдюговых (Антоненко и др., 2005; Баланов, Соломатов, 2008).

Описанный характер распределения *L. tanakae*, по-видимому, зависит от гидрологического режима вод и особенностей рельефа дна в области между 43° и 44° с. ш. вблизи берегов Приморья. Зимой в

северной части Японского моря толщина верхнего перемешанного слоя составляет около 50 м. Однако у берегов северного Приморья есть район (приблизительно между 43 и 44° с. ш.), в котором зимняя конвекция (вертикальное перемешивание вод, возникающее вследствие разницы в плотности соседних водных масс) проникает до глубин 400-600 м, а температура воды в холодный период года достигает отрицательных значений (Таранова, Жабин, 2010). Высокие показатели солености вод в этой области показывают, что процесс перемешивания происходит в зоне влияния трансформированных вод Цусимского течения, западная ветвь которого контактирует с водами Приморского течения, что и обуславливает высокую активность перемешивания водной толщи в данном районе. В результате при смешивании разнородных водных масс происходит уплотнение и погружение вод (Основные черты..., 1961). Кроме того, гидрологическая обстановка в рассматриваемом районе дестабилизируется из-за наличия зоны дивергенции, которая круглогодично наблюдается в северо-восточном направлении в районе между Приморьем и о. Хоккайдо и, приобретая широтную ориентацию, на 43°15' с. ш. вплотную подходит к материковому склону Приморья (Юрасов, Яричин, 1991).

Учитывая стеномертность *L. tanakae* (Баланов, Соломатов, 2008; Баланов и др., 2011), мы полагаем, что именно описанные особенности гидрологического режима вод объясняют его минимальную численность в данном районе, характеризующемся значительной сезонной нестабильностью гидрологических условий и существенным охлаждением глубинных вод в зимний период. Кроме того, на распределение рыб, вероятно, также влияет уменьшение ширины шельфа с одновременным увеличением крутизны свала глубин приблизительно между 43° и 44° с. ш. (Основные черты..., 1961). Этот лимитирующий фактор ранее был отмечен Калчугиным (1998) для Cottidae, обитающих в этом районе.

Ранее сообщалось о наличии сезонного вертикального перераспределения бельдюговых северной части Японского моря и *L. tanakae*, в частности, с глубин 200-500 м в летний период на глубины более 400 м в зимний (Баланов, Соломатов, 2008). Наши данные

показывают, что в миграции участвуют не все размерные группы *L. tanakaе*. В водах Приморья молодь этого вида круглогодично обитает на глубинах 200-350 м. Минимальное количество средне- и крупноразмерных особей (30-90 см) в диапазоне глубин 100-400 м в марте-мае и их широкое распространение по глубинам в июне-августе свидетельствует о том, что именно эти размерные группы *L. tanakaе* совершают сезонные вертикальные миграции, характерные для большинства донных и придонных рыб Японского моря (Борец, 1997; Ким Сен Ток, 2001, 2004; Соломатов, 2002).

В апреле-мае у бельдюговых (Баланов, Соломатов, 2008) и некоторых других донных рыб северной части Японского моря (Ким Сен Ток, 2001) еще сохраняется зимний характер распределения. Соответственно, в исследованном материале по *L. tanakaе* мы имеем два основных типа вертикального распространения рыб: “зимний” (март-май) и летний (июнь-август). Исходя из анализа всех имеющихся данных, можно предположить, что, начиная с конца весны и до середины лета, средне- и крупноразмерные особи перемещаются вверх по материковому склону с выходом на шельф. Осенью, очевидно, происходит обратный процесс – миграция к местам зимовки. Наибольшей миграционной активностью обладают более крупные рыбы. Диапазон вертикальных перемещений молоди расширяется постепенно.

Обнаружено, что температурные предпочтения особей разных размерных групп несколько отличаются. Практически круглогодично мелкоразмерные особи *L. tanakaе* (<30 см) в водах Приморья наиболее часто встречаются при температуре придонных вод 1.0-1.6°C. Очевидно, данный температурный режим является оптимальным для существования молоди *L. tanakaе* и сохраняется в течение года именно на глубинах 200-350 м, где наблюдаются наибольшие её концентрации. Средне- и крупноразмерные рыбы (>30 см) более толерантны к температурным условиям, чем молодь, и обитают в более широком диапазоне температур 0.2-2.1°C. В япономорских водах Корейского полуострова молодь (<30 см) *L. tanakaе* встречается на глубинах 120-150 м при сходных температурах придонных вод 1.5-1.9°C (Баланов и



др., 2011).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов Дальневосточного отделения Российской Академии наук № 09-III-A-06-193 и № 11-III-B-06-028.

**ОРГАНЫ РАЗМНОЖЕНИЯ АППЕНДИКУЛЯРИИ *OIKOPLEURA GRACILIS* (TUNICATA, CHORDATA): ФОРМИРОВАНИЕ ГОНАД, ИХ РАЗВИТИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРА**

Савельева А.В. (аспирант, м.н.с.), Даутов С.Ш. (ст.н.с.)

*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,*

*г. Владивосток*

*an.bystrova@mail.ru*

На сегодняшний день известно около 70 видов аппендикулярий. Однако половая система изучена недостаточно, лишь у нескольких гермафродитных видов и одного раздельнополого *Oikopleura dioica* Fol. Информации о закладке и развитии гонад нет совсем.

Аппендикулярия *Oikopleura gracilis* Lohmann является доминирующим видом в водах Японского моря. Гонады локализованы в расширенной задней части туловища рядом с пищеварительным трактом. На ранних стадиях созревания гонад у ювенильных особей мужская и женская гонады выглядят как один прозрачный компартмент продолговатой формы, располагающийся базо-латерально в репродуктивном отделе туловища и занимающий незначительную часть гонадной полости. По мере созревания гонад, их размер увеличивается, гонады постепенно дифференцируются на две доли семенника и непарный яичник (рис. 1А, Б, В). Доли семенника соединяются в апикальной области суженными частями и формируют спермодукт. По мере развития, гонады темнеют, однако изначально они совершенно прозрачны. У половозрелых особей *O. gracilis* гонады становятся темно-коричневыми и занимают всю гонадную полость, заметно увеличиваясь в размере (рис. 1 В).

В экспериментах высвобождение спермы происходило через спермодукт, который открывался при нересте на апикальной стороне семенников (рис. 2).

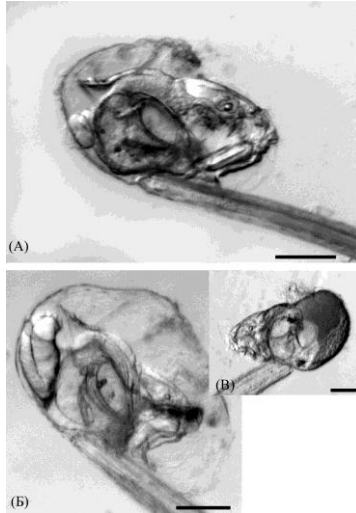


Рисунок 1. Развитие гонад *O. gracilis*. Шкала 1 мкм. А – зачаточный прозрачный компартмент будущих мужской и женской гонад, занимающий базо-латеральное положение в гонадной полости. Б – дифференцировка и увеличение гонадного компартмента, занимающего больший объем гонадной полости. В – окончательно сформированные мужская и женская гонады, приобретшие темный цвет.

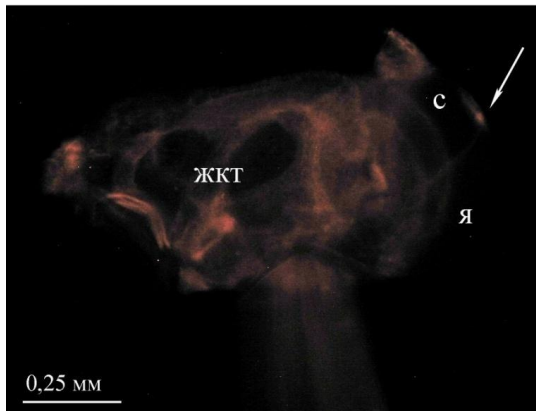


Рисунок 2. Спермодукт *O. gracilis*. Окраска фаллоидином. ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, с – семенник, я – яичник, белой стрелкой указан спермодукт.

Ооциты постепенно выходили из яичника через разрыв однослойного покровного эпителия тела и фолликулярного эпителия яичника. Наблюдалась асинхронность выделения половых продуктов – первыми высвобождались сперматозоиды, а затем – зрелые ооциты яичника.

Семенники *O. gracilis* состоят из популяции пролиферирующих гоноцитов, находящихся на одинаковой стадии зрелости, которые объединены парами цитоплазматическими мостиками, формирующими синцитий. Каждый семенник с внутренней и наружной сторонами покрыт одним слоем фолликулярного эпителия. Наружный фолликулярный слой лежит прямо под внутренней фолликулярной оболочкой яичника, а внутренний – над пищеварительным эпителием. Клетки фолликулярного эпителия имеют крупные, вытянутые ядра и пристеночный слой цитоплазмы, содержащий небольшие вакуоли с электронно-светлым содержимым.

Яичник *O. gracilis* также имеет синцитиальную организацию (ценоциста) и сходен по строению с яичниками других видов. В ценоцисте можно выявить мейотические ядра оогониев, которые тесно примыкают к общей цитоплазме полиплоидных вспомогательных клеток.

Ценоциста ойкоплеурид вероятнее всего служит для производства максимального числа синхронно созревающих ооцитов, что является фундаментальной стратегией этих короткоживущих животных. Аппендикулярии не имеют повторяющихся репродуктивных циклов: в течение 6-8 дней они развиваются из зиготы до личинки, «созревают», нерестятся и умирают (Nishida, 2008). Несомненно, это обстоятельство наложило отпечаток на развитие, организацию и тонкое строение их репродуктивных органов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Гранта ДВО РАН. Номер проекта 11-III-B-06-063

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСКРЕБОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕОПАРДА, КАК ОСНОВНОГО СПОСОБА МАРКИРОВКИ

Салманова Е.И. (аспирант)

Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

salmanova@mail.ru

Дальневосточный леопард (*Panthera pardus orientalis* Schlegel) исторически происходит из популяции подвида, ареал которого в XIX веке располагался в восточной Азии, охватывая юго-восток России, Корейский полуостров и северо-восточный Китай. В настоящее время дальневосточные леопарды представлены единственной сохранившейся на юго-западе Приморского края (Дальний Восток России) популяцией. По данным последнего учета дальневосточного леопарда в 2007 г. Численность его составляет 25-34 особи. Для сохранения популяции от вымирания очень важно знать особенности биологии и экологии данного вида, в частности поведенческие. Леопард – вид территориальный и одной из функций маркировочной деятельности является обозначение животным своего присутствия на индивидуальном участке обитания. Для внутривидовой коммуникации леопард использует в основном визуальные и ольфакторные сигналы, среди которых выделяются поскребы, мочевые метки, и задиры когтями (редко). Животные оставляют сигналы на сухой листве, почве, снежном покрове, камнях, деревьях и других субстратах, в местах наиболее посещаемых особями данного вида.

Наиболее частый визуальный сигнал присутствия дальневосточного леопарда – это поскреб. Поскрёбы производятся путем резких копательных движений задними лапами животного по субстрату. Часто леопард оставляет в поскребе мочу и экскременты.

Биологическое значение маркировочного поведения леопарда многосторонне и его изучение имеет большое значение в понимании внутривидовых коммуникативных систем данного вида.

Для данного исследования было проанализировано 269 поскреба, описанных в рамках проекта по изучению дальневосточного леопарда в разные сезоны в период с февраля 2008 г. по октябрь 2010 г.

При описании поскреба измерялась его длина, ширина,

дистанция от тропы (дороги), есть ли в поскребе моча или экскремент, а так же при возможности производился замер отпечатка пястного мякиша (лапы) с целью идентификации пола особи, оставившей поскрёб. Так же фиксировался тип рельефа где был найден поскрёб: пойма, склон или рязь. Для

Таким образом, из 269 описанных поскребов- 78,8% было оставлено самцами, 1,9% самками, и 19,3% остались неопределенны. Из всех найденных поскрёбов 75,84% были оставлены на рьяжах, 19,33% на склонах и лишь 4,83% в пойме.

В результате исследования выявлено, что средняя длина изученных поскрёбов составила  $28,01 \pm 5.76$  см (при max значении=42см и min=10 см), средняя ширина  $18,44 \pm 3.66$  см (max=32 см, min=10 см). Средняя дистанция поскрёбов от троп составила  $9,65 \pm 41.23$  см (max=142 см, min=0 см), большая часть поскребов (47,2 %) располагались непосредственно на тропе. При этом 32,56% всех описанных поскребов были пустые, 64,75% содержали мочу, и лишь 5,2% содержали экскременты.

## **РАЗРАБОТКА ИММОБИЛИЗОВАННОГО РЕАГЕНТА НА ОСНОВЕ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ИЗ ЯЙЦЕКЛЕТОК МОРСКОГО ЕЖА *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS***

Сейткалиева А.В. (магистрант)<sup>1</sup>, Мензорова Н.И. (ст.н.с.)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

<sup>2</sup>*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,*

*г. Владивосток*

*sasha0788@inbox.ru*

Ранее в лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН было показано, что щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* обладает уникальным свойством сохранять ферментативную активность и гидролизовать субстрат в растворах с высокой ионной силой, в частности, в морской воде. С использованием фосфатазы из гомогената яйцеклеток морского ежа нами была разработана ферментативная тест-система для оценки качества морских и пресных вод [1].

Иммобилизация фермента на различных носителях позволяет

разработать стабильный и удобный для работы дозированный реагент. Однако успех получения такого препарата определяется как выбором подходящего носителя, так и методом иммобилизации. В связи с этим, актуальным является поиск методов и условий иммобилизации, обеспечивающих каталитическую активность фермента при максимальной чувствительности его к поллютантам. Целью данной работы является исследование взаимодействия щелочной фосфатазы из яйцеклеток морского ежа (ЩФ) с субстратом в зависимости от условий иммобилизации. Иммобилизацию проводили для создания реагента, используемого в тест-системе при проведении экологического мониторинга водных систем.

Щелочные фосфатазы (КФ 3.1.3.1) широко распространены в природе. Они являются Zn-содержащими металлоферментами, относятся к классу гидролаз и катализируют реакцию щелочного гидролиза эфирных связей большого числа различных фосфомоноэфиров. Нами в лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН был получен препарат ЩФ и изучены ее основные свойства. Показано, что фермент стабилен в диапазоне pH от 6,5 до 9, а его оптимум pH находится в интервале от 8,2 до 9,5. ЩФ является термолабильным белком, так как полное ингибирование фермента происходит уже при 45°C (15 мин), а температурный оптимум составляет 30°C. Катионы Mg<sup>2+</sup> и Ca<sup>2+</sup> увеличивают стабильность и активность фосфатазы, то есть исследуемый фермент является металлотермостабильным. Показано, что в присутствии катионов одновалентных металлов (NaCl) в концентрациях от 0,05 до 0,6 М активность фермента увеличивается. Природная и искусственная морская вода с соленостью от 16‰ до 32‰ (0,45 М NaCl) не влияют на максимальный уровень активности, а добавление дитиотрейтола в исходный гомогенат яйцеклеток увеличивает активность ЩФ в несколько раз.

Было проведено сравнение активностей растворимой ЩФ (5, 7,5 и 10 мкл) и адсорбированной на диализные мембраны из микропористого капрона, ацетата целлюлозы, нитрата целлюлозы и на хроматографическую бумагу 3ММ (квадраты 0,5 x 0,5 см). Для

контроля каталитической активности ЩФ использовали п-нитрофенилфосфат, который в результате гидролиза образует окрашенный продукт, поглощающий при длине волны 400 нм. Стандартная инкубационная смесь содержала 2 мМ п-нитрофенилфосфат, 25 мМ трис-НСl буфер, рН 8,3, 150 мМ NaCl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub> или природную морскую воду с рН 8,2, реакцию проводили при 37°C в течение 30 – 60 мин. Наименьшей адсорбционной способностью обладали мембраны из микропористого капрона и нитрата целлюлозы. Выход фосфатазной активности с хроматографической бумаги 3ММ в процессе реакции составил 15%, а с мембраны из ацетата целлюлозы – 60-70%, в последнем случае имело место как частичное ингибирование ЩФ самой мембраной, так и неспецифическая сорбция фермента. Таким образом, из всех исследованных носителей наилучшей оказалась мембрана из ацетата целлюлозы фирмы “Sartorius”, Германия.

Для иммобилизации ЩФ нами был также выбран метод включения фермента в пространственную сетку гелей природных полисахаридов, поскольку в этом случае в меньшей степени нарушается структура ферментов, сохраняется высокая каталитическая активность, а их свойства мало отличаются от свойств нативных ферментов в растворе. Для этой цели были выбраны наиболее распространенные и доступные полимеры: картофельный крахмал (2,5, 3,5 и 4,5% гель), агароза (0,2, 0,45 и 0,85% гель) и каррагинан (0,45 и 0,85% гель). Ценность этих полимерных носителей заключается в их нетоксичности и легкости биodeградации, что дает возможность применять их также в фармацевтической и пищевой промышленности.

Исходные гели разной концентрации получали путем нагревания полисахаридов в воде, стандартном буфере и морской воде. Иммобилизацию ЩФ проводили добавлением в гель раствора фермента и дитиотрейтола до конечной концентрации 1 мМ. Затем растворы гелей (50 мкл) высушивали на гидрофобных пленках при 40°C и получали в виде прозрачных дисков (диаметр 7-8 мм). Выход активности ЩФ, иммобилизованной в различные гели, рассчитывали

как %-ное отношение поглощения при 400 нм инкубационной смеси (буфер, субстрат, диски с ферментом) к поглощению фермента в растворе. Показано, что активность иммобилизованного реагента зависит от условий его приготовления: природы выбранного носителя, концентрации гелей, фермента и субстрата, состава буфера, а также времени и режима высушивания. Максимальный выход активности ЦФ, иммобилизованной в 2,5% крахмальный гель, составил 100%, иммобилизованной в каррагинан и агарозу значительно меньше. Такой результат объясняется различным влиянием носителя на фермент. В случае иммобилизации в крахмальный гель не происходит ковалентного взаимодействия с активными группами фермента и полностью сохраняется его активность.

При иммобилизации фермента в агарозу, 0,85% гель обладает большой хрупкостью, а 0,2% гель при высыхании образует очень тонкую пленку, в обоих случаях выход активности из геля чрезвычайно низок. Известно, что каррагинан является сульфатированным полисахаридом, возможно с этим фактом связано частичное ингибирование (до 35%) ЦФ в растворе самим носителем, выход активности из геля также был мал. Таким образом, для дальнейшей работы был выбран 2,5% крахмальный гель, растворенный при нагревании в морской воде (0,1 М по NaCl) с последующим добавлением дитиотрейтола.

Таблица 1

Выход активности ЦФ, иммобилизованной в гели

Носитель для иммобилизации	Концентрация геля, %					
	0,2	0,45	0,85	2,5	3,5	4,5
	Выход активности ЦФ, %					
Картофельный крахмал	-	-	-	100	73	42
Каррагинан	-	-	3	-	-	-
Агароза	8	3	2	-	-	-



Необходимым этапом для разработки высокочувствительного реагента, является поиск условий, определяющих чувствительность фосфатазной тест-системы. Известно, что чувствительность ферментативных реагентов к действию поллютантов уменьшается при увеличении концентрации фермента, так как от количества фермента зависит его активность. Поскольку ЩФ, иммобилизованная в крахмальный гель, имеет достаточно высокую активность, то одним из путей для обеспечения высокой чувствительности к действию поллютантов является уменьшение количества фермента в диске, а также подбор оптимальной концентрации субстрата в реакционной смеси. Показано, что чувствительность фосфатазной тест-системы увеличивается с уменьшением количеств как ЩФ, так и субстрата. Максимальная чувствительность иммобилизованного фермента в инкубационной смеси достигалась при количестве ЩФ – 25 мкг/диск и 2 мМ субстрата. Иммобилизованная ЩФ не требует специальных условий хранения для обеспечения поддержания высокой активности фермента: при иммобилизации в крахмальный гель максимальная активность сохраняется более длительное время, чем в растворе.

Также был исследован иммобилизованный реагент, содержащий фермент и субстрат в ранее подобранных количествах. Однако, реагент, содержащий одновременно все компоненты реакционной смеси давал более высокий контрольный фон за счет частичного гидролиза субстрата в процессе высушивания геля. Вследствие этого такой реагент оказался непригодным для фосфатазной тест-системы.

Таким образом, были разработаны условия получения иммобилизованного ферментативного реагента на основе щелочной фосфатазы для его использования в экологическом мониторинге водных систем.

Патент № 2396353. Мензорова Н.И., Сейткалиева А.В., Рассказов В.А. Способ интегральной оценки состояния загрязнения морской и пресной воды. 2010 г.

Данная работа проводилась при финансовой поддержке гранта Президиума ДВО РАН 09-III-A-05-140.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРСКИХ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПРИ ЛИКВИДАЦИИ НЕФТЯНЫХ РОЗЛИВОВ**

Сигида Е.А. (аспирант), Мусько С.С. (студент)

*Дальневосточный федеральный государственный университет, ДВФУ,*

*г. Владивосток*

*el-lobo@yandex.ru*

Загрязнение акватории Мирового Океана продуктами нефтедобычи и нефтепереработки – одна из важнейших экологических проблем нашего времени. Одним из наиболее перспективных способов признана биоремедиация - комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием метаболического потенциала биологических объектов, в том числе морских и пластовых микроорганизмов. При этом целесообразно выявление эндемичных форм микроорганизмов для каждой нефтегазоносной провинции. Реализация такого метода очистки требует выделения специфических штаммов микроорганизмов, а также определение их редуccionной активности в процессах биодegradации нефтяных углеводородов (НУ) различных классов.

Познание роли морской биоты в этом процессе открывает пути целенаправленного использования морских организмов и их сообществ в биомониторинге и в борьбе с загрязнением, в частности при разработке гидробиологических систем очистки морских вод.

Целью настоящей работы являлось исследование способности морских микроорганизмов, выделенных из прибрежных вод о. Сахалин (Японское море), к биодegradации нефтяных загрязнений и выявление наиболее перспективных штаммов.

В качестве модельного загрязнения использовали различные фракции нефти (бензиновая, остаточная, УВ с длинной цепью), которые являются реальными поллютантами морской среды.

Для дифференцированного определения летучих УВ использовали метод ГЖХ-МС согласно РД 52.24.473–95. Для подготовки к анализу образцов использовался метод парофазного анализа. ГЖХ-МС анализ проводили на газовом хроматографе «GC 6890 Plus» («Agilent Technologies», USA) с масс-селективным детектором 5973N («Agilent Technologies», USA) на капиллярной

колонке HP5-MS (30 м x 0,25 мм x 0,25 мкм).

Идентификацию хроматографических пиков проводили по временам удерживания и масс-спектрам (электронная библиотека масс-спектров NIST 98). Количество УВ оценивали по площади пика методом калибровочного графика. Результаты интерпретировали относительно пробы, не содержащей микроорганизмы.

При исследовании бензиновой фракции нефти установили, что наибольшей деструкционной способностью обладают штаммы Ps. Citrea и № 410 (по внутренней нумерации), степень деградации  $88 \pm 15\%$  и  $97\%$  соответственно. Поведение УВ при этом было различным.

В отношении тяжелых УВ активность проявили микроорганизмы № 65 и № 59. Наибольшую опасность представляют асфальто-смолистые компоненты нефти, как установлено, основным составляющим которых является нафталин.

В связи с аварийными разливами нефти интерес представляют УВ с длинной углеводородной цепью, которые распределяются по поверхности воды. На данную модель загрязнения высадили штаммы № 59 и № 65 для исследования динамики изменения УВ. Результаты показали, что процесс деструкции протекает в пределах 10 суток, пиком активности являются 6 сутки. Наблюдения за качественным составом показали полную утилизацию некоторых углеводородов.

Таким образом, в ходе эксперимента подтверждена возможность использования углеводородокисляющих микроорганизмов в процессе биоремедиации нефтяных загрязнений. Наиболее перспективные штаммы-деструкторы в дальнейшем будут использованы для создания консорции с максимальной эффективностью по отношению к широкому классу нефтяных УВ.

## **МОНИТОРИНГ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД УССУРИЙСКОГО ЗАЛИВА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ МИКРОБНОЙ ИНДИКАЦИИ**

Симоненко З.Ю. (студент), Дроздовская О.А. (доцент)

*Дальневосточный федеральный университет, 690091, Владивосток  
zinaidasim@mail.ru*

Проведена оценка состояния поверхностных вод Уссурийского залива с использованием методов микробной индикации. Установлено,

что в условиях загрязнения прибрежной морской среды происходит быстрая реакция микробных биоценозов, которая выражается в изменении количественного состава сообществ.

Экологическая система Уссурийского залива начала испытывать антропогенное воздействие еще в начале XX века в связи со строительством транссибирской магистрали и разработкой угля в районе г. Артем. Наиболее сильно это воздействие стало сказываться после постройки на его побережье города Большой Камень и ввода в эксплуатацию военного завода «Звезда». В бухте Горнотай была устроена свалка твердых бытовых отходов г. Владивостока. На акватории Уссурийского залива проводились военные учения, на берегах строились базы отдыха. Для оценки качества состояния морской среды используется преимущественно химический контроль. Однако эти методы довольно трудоемки и требуют значительных финансовых затрат. Методы микробной индикации, в отличие от химических, более дешевые, просты в исполнении, кроме того, они позволяют получить «сиюминутную» картину состояния морских вод.

Целью данной работы являлась оценка состояния поверхностных вод Уссурийского залива с помощью методов микробной индикации.

Исследования проводили в Уссурийском заливе в октябре 2009 года. Для исследования были выбраны районы, испытывающие наибольший антропогенный пресс. Расположение станций отбора проб указано на карте – схеме (рис. 1).

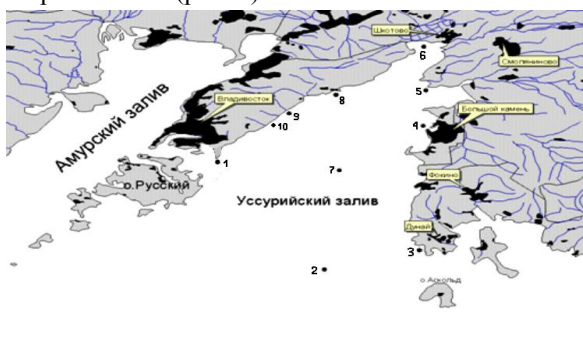


Рисунок 1. Карта - схема станций отбора проб в Уссурийском заливе.

Пробы морской воды отбирали пластиковыми шприцами объемом 20 мл из поверхностного горизонта с глубины 0,5 м. Для микробиологического анализа образцы транспортировали в береговую лабораторию и анализировались в день отбора. Для определения общей численности гетеротрофов использовали агаризованную питательную среду СММ [3]. Для выделения углеводородоустойчивых и фенолрезистентных микроорганизмов использовали обедненную среду, содержащую в качестве источника углерода мазут и дизельное топливо в концентрации 10 г/л и фенол в концентрации 1г/л. Санитарно-бактериологический анализ морской воды на содержание в воде энтеробактерий проводили с использованием селективной среды Эндо. Численность микроорганизмов определяли в пересчете на 1 мл морской воды с помощью чашечного метода Коха [ 2 ].

Были исследованы: общее число колониеобразующих гетеротрофных микроорганизмов (КГМ), число колоний бактерий группы кишечной палочки (БГКП), численность углеводородоустойчивых (ДМ, ДТ) и фенолрезистентных (ФД) бактерий.

Поступающие в воду органические вещества служат пищей микроорганизмам, и поэтому обогащение воды органикой непременно влечет за собой вспышку развития микрофлоры. Анализ численности планктонных гетеротрофных микробных комплексов позволил выявить в Уссурийском заливе зоны с повышенным содержанием легкоокисляемых органических веществ. К ним относились м. Азарьева ( $2,25 \cdot 10^3$ ) КОЕ/мл, бухты Горностай ( $1,27 \cdot 10^3$  КОЕ/мл), Промежуточная ( $2,97 \cdot 10^3$  КОЕ/мл) и Муравьиная ( $1,84 \cdot 10^4$  КОЕ/мл). Такие показатели численности гетеротрофных бактерий по принятым микробиологическим критериям соответствуют мезосапробному типу вод (табл. 1, рис. 2А).

Наиболее высокие показатели численности гетеротрофов были зарегистрированы в б. Муравьиной, принимающей стоки, поступающие с водами р. Кневичанка, Шкотовка, Артемовка. Повышенные концентрации гетеротрофных микроорганизмов в приустьевых зонах рек являются характерной чертой как для морских,

так и для пресноводных экосистем [1], поскольку речной сток выносит сюда значительные количества органических веществ, биогенных элементов и аллохтонных микроорганизмов.

Таблица 1  
Численность гетеротрофных микроорганизмов в поверхностных водах  
Уссурийского залива

Станции	Эколого-трофические группы микроорганизмов (КОЕ/мл)				
	КГМ	ДМ	ДТ	ФД	БГКП
1. Мыс Басаргина	$(3,90 \pm 0,98) \times 10^2$	$(3,85 \pm 0,05) \times 10^4$	$(3,30 \pm 0,18) \times 10^1$	0	0
2. Центр залива	$(4,05 \pm 1,81) \times 10^2$	$(7,45 \times 0,61) \times 10^2$	$(4,05 \pm 0,12) \times 10^2$	0	0
3. Поселок Дунай	$(2,40 \pm 0,72) \times 10^1$	$(1,80 \pm 1,28) \times 10^2$	$(3,40 \pm 0,08) \times 10^1$	$(2,6 \pm 0,32) \times 10^1$	0
4. Бухта Большой Камень	$(4,76 \pm 0,003) \times 10^2$	$(3,00 \pm 0,08) \times 10^2$	$(1,45 \pm 0,25) \times 10^3$	0	0
5. Мыс Азарьева	$(2,25 \pm 0,41) \times 10^3$	$(3,80 \pm 1,28) \times 10^2$	$(0,85 \pm 0,05) \times 10^2$	0	0
6. Бухта. Муравьиная	$(1,84 \pm 0,05) \times 10^4$	$(3,40 \pm 0,12) \times 10^3$	$(3,10 \pm 0,25) \times 10^3$	$(1,82 \pm 0,61) \times 10^1$	$(9,00 \pm 0,00) \times 10^1$
7. Середина залива	$(6,55 \pm 0,40) \times 10^1$	$(0,72 \pm 0,01) \times 10^2$	$(5,65 \pm 0,25) \times 10^2$	0	0
8. Бухта Емар	$(4,17 \pm 0,92) \times 10^2$	$(2,26 \pm 0,23) \times 10^3$	$(1,60 \pm 0,32) \times 10^1$	0	0
9. Бухта Горностай	$(1,27 \pm 0,15) \times 10^3$	$(1,72 \pm 0,01) \times 10^3$	$(1,16 \pm 0,04) \times 10^3$	0	0
10. Бухта Промежуточная	$(2,97 \pm 0,07) \times 10^3$	$(1,08 \pm 0,03) \times 10^3$	$(1,85 \pm 0,13) \times 10^3$	$(2,20 \pm 0,02) \times 10^1$	0

Примечание: КГМ – колониеобразующие гетеротрофные микроорганизмы; ФД – фенолдеструкторы; ДМ – деструкторы мазута; ДТ – деструкторы дизельного топлива; БГКП – бактерии группы кишечной палочки.

Остальные исследованные станции, где численность микроорганизмов составляла 10<sup>1</sup> – 10<sup>2</sup> КОЕ/мл, соответствовали олигосапробному типу вод. Наименьшие показатели численности КГМ регистрировались в районах п. Дунай и середины залива, что можно объяснить значительной удаленностью от берега.

В результате спуска хозяйственно – бытовых и

канализационных сточных вод прибрежные воды подвергаются биологическому загрязнению. Это означает, что в экосистему поступают несвойственные ей организмы, в том числе и патогенные. Биоиндикация морской среды по содержанию бактерий группы кишечной палочки позволяет оперативно оценить санитарное состояние поверхностных вод.

Микробная индикация по санитарно-показательным микроорганизмам показала, что вся акватория залива на период исследования соответствовала «чистым» водам, за исключением бухты Муравьиной, где в незначительных количествах выделялись бактерии группы кишечной палочки (табл. 1, рис. 2Б).

Уссурийский залив относится к зоне активного судоходства, что является одной из основных причин нефтяного загрязнения акватории. Диапазон значений численности углеводородокисляющих микроорганизмов изменялся в пределах от  $1,6 \cdot 10^1$  КОЕ/мл (б. Емар) до  $3,1 \cdot 10^3$  КОЕ/мл (б. Муравьиная) – деструкторы дизельного топлива (рис. 3А) и от  $7,2 \cdot 10^1$  КОЕ/мл (середина залива) до  $3,85 \cdot 10^4$  КОЕ/мл (м. Басаргина) – деструкторы мазута (рис. 3Б).

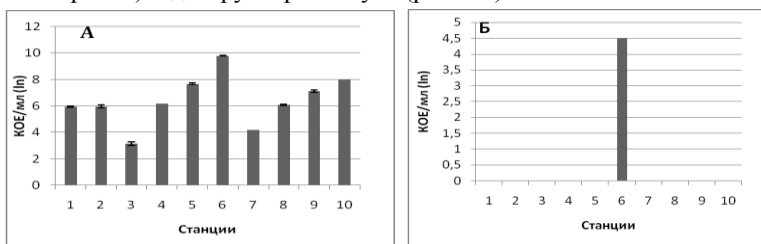


Рисунок 2. Численность гетеротрофных микроорганизмов (А) и численность бактерий группы кишечной палочки (Б) в поверхностных водах Уссурийского залива.

Аналогичная численность углеводородокисляющих микроорганизмов обычно регистрируется в прибрежных водах при относительно низких концентрациях нефтеуглеводородов в воде [1] и такие воды относятся к категории «малозагрязненные». Однако, учитывая тот факт, что микробные индексы углеводородокисляющих микроорганизмов были сопоставимы и даже в ряде случаев превышали

показатели общей численности гетеротрофов, в данном случае можно говорить о значительном нефтяном загрязнении водного бассейна.

Помимо морского транспорта источниками загрязнения залива нефтепродуктами может быть и поверхностный сток с военных баз (б. Большой Камень, п. Дунай и др.) и стоки из-под золоотвала ТЭЦ – 2 (б. Промежуточная).

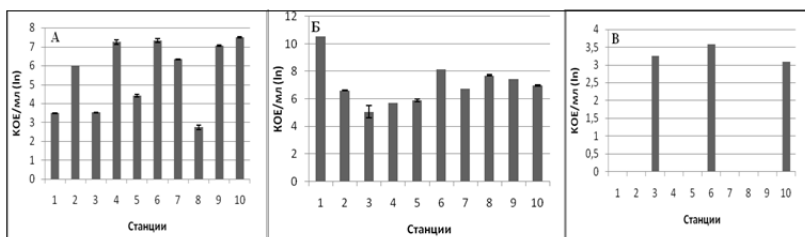


Рисунок 3. Численность бактерий, устойчивых к дизельному топливу (А), мазуту (Б) и фенолу (В) в поверхностных водах Уссурийского залива.

Среди веществ загрязняющих морскую среду, фенолы являются одними из наиболее опасных, что объясняется их высокой токсичностью и широким распространением. В структуре планктонных микробных комплексов залива были выявлены фенолрезистентные бактерии в районах б. Муравьиная ( $1,82 \cdot 10^1$  КОЕ/мл), б. Промежуточная ( $2,2 \cdot 10^1$  КОЕ/мл) и п. Дунай ( $2,6 \cdot 10^1$  КОЕ/мл) (табл. 1, рис. 3В).

Присутствие бактерий, устойчивых к фенолу в водах этих акваторий вполне закономерно, так как здесь существуют предпосылки образования фенольных соединений: в бухту Промежуточную поступают стоки из-под золоотвала ТЭЦ-2, бухта Муравьиная принимает на себя огромное количество загрязняющих веществ, в том числе и фенольной природы, поступающих с водами р. Артемовка и Шкотовка. Наличие фенолрезистентных микроорганизмов может отражать в данном случае загрязнение пестицидами, поступающими с сельхозугодий, а также фекальное загрязнение. В районе п. Дунай потенциальными предшественниками фенольных соединений, по-видимому, являются нефтепродукты и бытовые стоки.



Таким образом, с помощью методов микробной индикации установлено, что акватория Уссурийского залива испытывает значительную антропогенную нагрузку. На состояние залива оказывает влияние как техногенное, так и хозяйственно-бытовое загрязнение. Исходя из полученных результатов, мы имеем доказательства, подтверждающие реальность индивидуального отклика микроорганизмов на загрязнение морской среды, что позволяет использовать их для оценки качества состояния водных объектов.

Литература:

1. Полтева А.В. Микробиологическая оценка экологического состояния заливов острова Сахалин с различной антропогенной нагрузкой. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Хабаровск, 2009. 23 с.
2. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практик. Пособие / Под ред. Н. С. Егорова. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. 215 с.
3. Joushimizu M., Kimura T. Study of intestinal microflora of Salmonids // Fish. Pathol. 1976. V.10. № 2. P. 243-259.

### **СЕЗОННАЯ ОЦЕНКА САНИТАРНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИБРЕЖНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ПЛЯЖНЫХ ЗОН ГОРОДА ВЛАДИВОСТОКА**

Соболева Е.Г. (студентка), Дроздовская О.А. (доцент),  
Гальшева Ю.А. (доцент)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
soboleva.eg@gmail.com*

Ежегодно с началом рекреационного сезона для города Владивостока все более актуальной становится проблема загрязнения прибрежной акватории химическими и бактериологическими компонентами. Рекреационный пресс способствует поступлению бактерий группы кишечной палочки потенциально опасных в санитарно-эпидемиологическом отношении. Поэтому мониторинг (т.е. регулярная оценка) экологического состояния социально-значимых объектов имеет неоспоримую важность. Цель настоящего исследования состояла в оценке санитарно-бактериологического состояния прибрежных поверхностных вод пляжей города Владивостока и его пригорода в рекреационный сезон 2010 года.

В задачи исследования входило:

оценить уровень сезонной единовременной рекреационной нагрузки на пляжные зоны города Владивостока и его пригорода;

охарактеризовать сезонное микробиологическое состояние пляжей по контаминированию прибрежных поверхностных вод энтеробактериями.

Исследование проводилось с 23.05.10 г. по 19.09.10 г. в шести пляжных зонах, составляющих основную часть прибрежных рекреационных морских ресурсов Владивостока: 1 - пляж «Набережная» (б. Федорова, Амурский залив), 2 - пляж «ст. Санаторная» (западное побережье Амурского залива), 3 - пляж «Змеинка» (б. Анна), 4 - пляж «Улисс» (б. Большой Улисс), 5 - пляж «Щитовая» (б. Горностай, Уссурийский залив), 6 - пляж «Шамора» (б. Лазурная, Уссурийский залив) (рис. 1).



Рисунок 1. Карта-схема расположения полигонов исследования.

Оценка единовременной рекреационной нагрузки проводилась на учетных отрезках равных 200 метрам пляжной зоны путем подсчета количества отдыхающих в выходные дни (суббота, воскресенье) в период с 12 до 15 часов. Оценка санитарно-бактериологического состояния поверхностных прибрежных вод проводилась с использованием селективной среды Эндо. Численность

микроорганизмов определяли в пересчете на 1мл морской воды с помощью чашечного метода Коха.

Абсолютная единовременная рекреационная нагрузка (АЕРН) – это количество отдыхающих, находящихся в данный момент времени на всей площади пляжа [3]. По результатам учетов 2010 г. фактическая АЕРН для всех исследуемых пляжей не превышала расчетной вместимости только в начале рекреационного сезона. Но уже в июне 2010 г. наблюдалось превышение расчетной вместимости на пляжах «Набережная», «Змеинка», «Улисс», «Щитовая». В июле на всех исследуемых пляжах количество рекреантов превысило расчетную вместимость: для пляжных зон «Шамора» и «Змеинка» почти в 2 раза, для «Набережной» и «Улисса» - в 2,5, для «Щитовой» и «Санаторной» - в 4 раза (рис. 2.). Максимальная рекреационная нагрузка на все пляжи, за исключением пляжа «Щитовая» отмечена в августе 2010 г. Так, например, на одном из самых протяженных пляжей города – «Шамора» в середине августа единовременно находилось более 11,5 тыс. чел, что в 2,5 раз больше расчетной вместимости этой зоны. Для «Санаторной» этот показатель в августе был превышен в 5 раз, для «Набережной» - в 4, для «Улисса» - в 3. В конце рекреационного сезона 2010 г. нагрузка на пляжи была намного меньше их расчетной вместимости за исключением пляжей «Набережная» и «Улисс», где число рекреантов было близко расчетной вместимости пляжа (рис.2).

Санитарное качество вод является важнейшим параметром экологической и социальной безопасности пляжной зоны и зависит как от наличия и количества отдыхающих, сконцентрированных в прибрежной зоне на текущий момент, так и от общего органического фона, формирующегося, в том числе, поступлением фекальной органики с коммунально-бытовыми стоками. Индикаторами биологического загрязнения служат бактерии группы кишечной палочки (БГКП). При этом численность клеток в 1 мл морских вод более 30 уже соответствует сильному микробиологическому загрязнению [1].

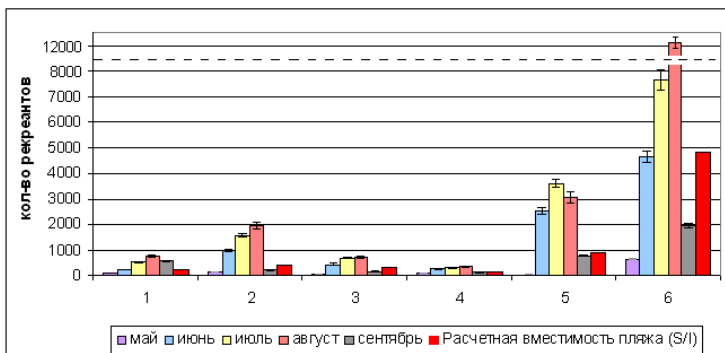


Рисунок 2. Сезонная динамика абсолютной единовременной рекреационной нагрузки (АЕРН) на пляжах Владивостока и его пригородной зоны и ее сравнение с расчетной вместимостью (S/I). Примечание: 1,2,3,4,5,6 – полигоны исследования (см. рис.1).

Проведенное санитарно-бактериологическое обследование пляжных зон города показало, что в мае на пляжах пригорода БГКП отсутствовали или не превышали санитарных норм, в то время как на пляжах, расположенных в городской зоне – «Набережная» и «Санаторная» - их количество превышало норму в 3 и 6 раз соответственно. В летние месяцы поверхностные воды исследуемых пляжей характеризуются высокими показателями БГКП, максимальное количество БГКП приходится на август и может превышать санитарные нормативы в сотни раз. В сентябре количество БГКП уменьшается, но, тем не менее, превышает нормируемый показатель в десятки раз (рис. 3).

Более того, в водах некоторых пляжей в разные сезоны высевалась кишечная палочка, *Escherichia coli*, указывающая на фекальное загрязнение акватории. Так в июле и августе на пляжах «Санаторная» и «Улисс» число *E.coli* достигало 230-300 КОЕ/мл. В сентябре максимальной численностью *E.coli* характеризовались воды пляжа «Щитовая» (105 КОЕ/мл), минимальной - пляжа «Змеинка» (30 КОЕ/мл) (рис.4).

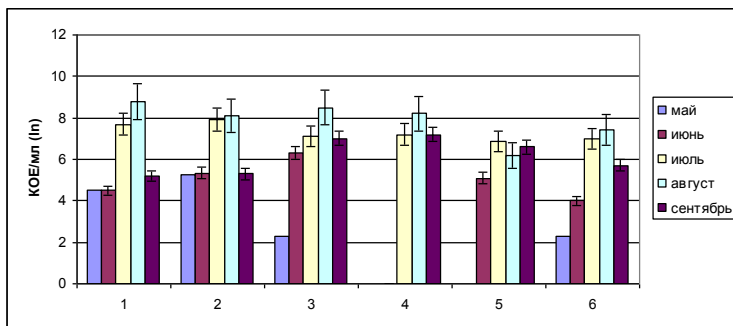


Рисунок 3. Сезонная динамика численности бактерий группы кишечной палочки в водах пляжных зон Владивостока и его пригорода.

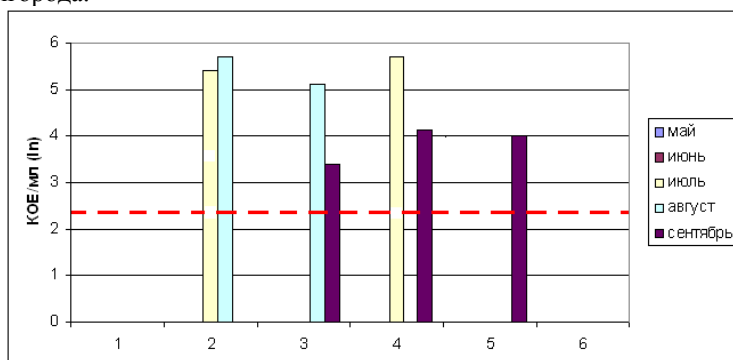


Рисунок 4. Численность *E.coli* в пробах воды пляжей города Владивостока и его пригорода (пунктирной линией обозначено значение логарифма нормируемой величины численности *E. coli* в морской воде - 10 клеток/мл по Лоранскому).

По санитарным нормам, принятым в разных странах, морские акватории подразделяют на 2 класса: «А» - воды, пригодные для купания; «В» - воды, купание в которых вызывает инфекционные заболевания. Воды класса «А» подразделяются на 2 подгруппы:

I подгруппа - воды безопасные для купания - количество *Escherichia coli* в 1 мл не должно превышать 10 клеток;

II подгруппа - воды, пригодные для купания, но подвергающиеся прогрессирующему загрязнению. В 1 мл таких вод

содержится примерно от 10 до 24 кишечных палочек. В водах класса «В» содержится более 24 кишечных палочек в 1мл [4].

В результате проделанной работы выявлено, что прибрежные поверхностные воды пляжей «Санаторная», «Змеинка», «Улисс», «Щитовая» относятся к классу «В», т.е. купание на этих пляжах в санитарно-эпидемиологическом отношении опасно, на других станциях *E.coli* не была выявлена. Наибольшая численность БГКП отмечена в августе, что связано с повышением рекреационной нагрузки на пляжи.

#### Литература:

1. Бабич Т.В., Косынкина Е.С. Эколого-микробиологическая оценка состояния прибрежных вод Амурского залива // Географические и геоэкологические исследования на Дальнем Востоке. Владивосток; изд-во Дальневосточного университета, 2009. Вып.5.С 46-50.
2. Бойченко Т.В., Христофорова Н.К., Бузолева Л.С. Микробная индикация прибрежных вод вершинной части Амурского залива // Известия ТИНРО, 2009. Т. 158. С. 324-332.
3. Кононова Н.Н. Рекреационные ресурсы побережья Уссурийского залива (состояние, перспективы использования) // Первая Всероссийская конференция «Рекреационная география Азиатской России: современное состояние и перспективы развития». Мат. конф. 5-7 сентября 2000 г., г. Иркутск. Иркутск: Институт географии СО РАН, 2000. С.73-75.
4. Лоранский Д.Н., Роскин Б.М. Санитарная охрана моря. М.: Медицина,1975. 167 с.
5. Преловский В.И. Оценка рекреационной пригодности и живописности лесных ландшафтов юга Дальнего Востока. Владивосток: изд-во «Дальнаука», 1995. 140 с.
6. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: изд-во МГУ. 1983. 215 с.

## **ОЦЕНКА ФАГОЦИТАРНОГО СТАТУСА ГЕМОЦИТОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ MODIOLUS KURILENSIS ИЗ ФОНОВОЙ И ИМПАКТНОЙ АКВАТОРИИ ЯПОНСКОГО МОРЯ**

Сокольникова Ю. Н. (аспирант)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*Yulia.sn@mail.ru*

Данное исследование выполнено с целью оценки показателей фагоцитоза гемоцитов моллюсков из фоновых и импактных акваторий Японского моря как метода исследования активности клеточного иммунитета этих животных, а также оценки физиологического состояния двустворчатых моллюсков *M. kurilensis*. *M. kurilensis*, ввиду своей широкой видовой распространенности в природе может являться удобным модельным объектом для проведения мониторинговых исследований морских экосистем.

Для исследования параметров фагоцитоза определяли два показателя: фагоцитарную активность (Ф.А.) – количество фагоцитирующих клеток и фагоцитарный индекс (Ф.И.) – среднее количество бактерий в клетке. Для этой цели клеточные суспензии гемолимфы инкубировали с заранее термически убитыми и мечеными флуоресцирующим красителем FITC бактериями *Staphylococcus* sp. Затем препараты заключали в гидрофильную среду Mowiol 4.88 и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss Axioimager.

Известно, что фагоцитарной активностью обладают не все типы гемоцитов моллюсков (Cheng et al., 1981; Russell-Pinto et al., 1994). По нашим данным у животных, собранных в 2006 году со станции Троицы в фагоцитозе участвуют до 90% клеток, с Востока-80%, с Киевки-60%. Средние значения фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса незначительно дифференцируют три исследованные выборки по фоновым акваториям и составляют 51-58% и 2,25-3 соответственно. Таким образом, данное исследование позволило оценить норму реакции иммунного статуса для фоновых акваторий, обеспечиваемого клеточными факторами иммунной защиты. Однако, основываясь на результатах нашей работы и литературных данных по исследованию фагоцитарного статуса животных из благополучных акваторий, мы не можем однозначно достоверно оценить норму реакции иммунного

статуса, поскольку для этого необходимы сопоставления с данными из акваторий, подверженных антропогенным или иного вида изменениям - импактным.

В качестве фоновой акватории в 2009 году мы использовали одну из ранее уже задействованных в нашем исследовании - залив Восток. По последним оценкам специалистов экологического мониторинга, любезно предоставленных Е.В.Журавель, залив Восток признан одной из чистых бухт Приморского края. Средние значения фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса гемоцитов у моллюсков *M. kurilensis*, собранных на этой станции в июне 2009 года составили  $51 \pm 0,11$  и  $1,47 \pm 0,36$ , соответственно. Также мы установили, что до 65% гемоцитов *M. kurilensis* из зал. Восток проявляют фагоцитарную активность.

Для исследования клеточных реакций иммунитета двусторчатых моллюсков *M.kurilensis* в условиях импактной акватории были выбраны представители данного вида из гавани Спортивной. По экологическим оценкам, проведенным с 2005 по 2009 года, данная бухта не отвечает санитарно-эпидемиологическим нормам и естественным показателям среды по ряду различных параметров, которые существенно варьируют из года в год. Ряд авторов, среди которых особо следует отметить М.А.Вашенко, Т.Н.Альмяшову, П.М.Жадана, И.Г. Сясину, ранее проводившие исследования по изучению влияния антропогенных факторов на морскую экосистему гавани Спортивной установили, что загрязнения в донных отложениях вызывают нарушения физиологических функций придонных животных. Перечисленные характеристики водной среды свидетельствуют о том, что данную акваторию следует относить к рангу импактных.

Оценивая фагоцитарный статус моллюсков из Амурского залива, установили, что особи из Спортивной гавани по сравнению с фоновой акваторией, имеют наиболее сниженные, приблизительно в два раза, значения фагоцитарной активности  $38 \pm 0,12$  и фагоцитарного индекса  $0,80 \pm 0,31$ . Лишь у половины особей из выборки более 40% гемоцитов проявляют фагоцитарную активность, тогда как из залива Восток эти показатели значительно выше – лишь 10% выборки имеют значения менее 40%, причем именно для этих единичных экземпляров



была установлена микрофитобионтная инвазия в гемолимфе.

Как было отмечено выше, у ряда особей *M.kurilensis* была обнаружена микрофитобионтная инвазия в гемолимфе. Такие сведения были приведены ранее в некоторых литературных источниках, где сообщалось о том, что зеленые водоросли могут проникать в ткани митилид и придавать частям их тела интенсивную зеленую окраску (Рыбаков и др., 2005; Mortensen and et., 2005; Meixner, 1984; Naidu, 1971). При проведении исследования в 2006 году у ряда представителей, также была обнаружена инвазивность тканей микроводорослями. У модиолусов с интенсивной тканевой инвазивностью микроводорослями (заражением охвачены гонада, мантия, ПВЖ) фагоцитарные показатели максимальны или приближаются к таковым. Моллюски, у которых подобное отклонение выявлялось только в гемолимфе, имели различные фагоцитарные значения.

Таким образом, выраженной корреляции между показателями фагоцитоза и обнаруженной микрофитобионтной инвазией не выявлено, что, вероятно, может быть связано с необходимостью регистрировать степень выраженности и время развития инвазии. Все данные указывают на то, что микрофитобионты могут являться факультативными симбионтами, и лишь в отдельных случаях, сопровождающихся значительной псевдогипертрофией внутренних органов и тканей, способны угнетать иммунный статус животных, однако возможно допустить и обратную причинно-следственную связь. По этой причине можно сказать, что чаще всего не наблюдается зависимости между инвазивностью и фагоцитарными показателями.

Результаты работы являются шагом к разработке метода диагностики физиологического состояния двустворчатых моллюсков в природе и аквакультуре, кроме того, позволяют оценить естественную вариативность показателей состояния этих животных и установить в дальнейшем границы нормы и патологии для исследованных морфофункциональных изменений.

**ВИД-ДВОЙНИК МОРСКИХ БЛЮДЕЧЕК РОДА  
*LOTTIA* (GASTROPODA, MOLLUSCA), ВЫЯВЛЕННЫЙ С  
ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ФЕРМЕНТОВ**

Способ М.В. (студентка)

Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

*mashasposob@mail.ru*

Морские блюдечки являются трудной группой для изучения, вследствие их достаточно запутанной и неустойчивой систематики, связанной с вариабельностью форм и окраски раковины. Для того, чтобы разобраться с систематическим положением ряда видов морских блюдечек уже на протяжении многих лет успешно используется электрофорез ферментов [1, 2, 3]. В заливе Петра Великого обитает довольно изменчивый морфологически вид *Lottia tenuisculpta*. В результате исследования генетической изменчивости этого вида, обитающего в заливе Восток, было показано, что данный вид достаточно близок к *L. persona*: генетическое сходство между этими видами составило 0,676. Когда же провели сравнение данного вида, обитающего в Амурском заливе и *L. persona* из Уссурийского залива, то оказалось, что генетическое сходство между ними существенно ниже, чем между блюдечками из залива Восток (0,121). Этот факт заставил предположить, что в Амурском заливе обитает другой, отличный от *L. tenuisculpta*, вид. Чтобы выяснить это, были исследованы блюдечки из Амурского залива, залива Восток и б. Троицы, относящиеся по морфологическим признакам к *L. tenuisculpta*, в сравнении с *L. persona* из Уссурийского залива и залива Восток по 19 аллозимным локусам. Для оценки степени генетического сходства и расстояния на основании частот аллелей были рассчитаны индексы генетического сходства и генетического расстояния между всеми исследованными выборками морских блюдечек, которые приведены в таблице 1.

Для наглядного представления генетического сходства была построена фенограмма, с использованием невзвешенного парногруппового метода кластеризации (UPGMA) (рис. 1).

Таблица 1

Значения генетического расстояния – D (Nei, 1978) (ниже диагонали) и генетического сходства – I (Nei, 1978) (выше диагонали) между исследованными видами рода *Lottia*

Выборки	<i>L.tenuisculpta</i>			<i>L. persona</i>	
	б. Троицы	зал. Восток	Амурский зал.	зал. Восток	Уссурийский зал.
<i>L.tenuisculpta</i> б. Троицы	*****	0.976	0.095	0.181	0.182
<i>L.tenuisculpta</i> зал. Восток	0.025	*****	0.088	0.241	0.246
<i>L.tenuisculpta</i> Амурский зал.	2.356	2.430	*****	1.946	1.906
<i>L. persona</i> зал. Восток	1.708	1.421	0.143	*****	0.995
<i>L.persona</i> Уссурийский зал.	1.705	1.403	0.149	0.005	*****

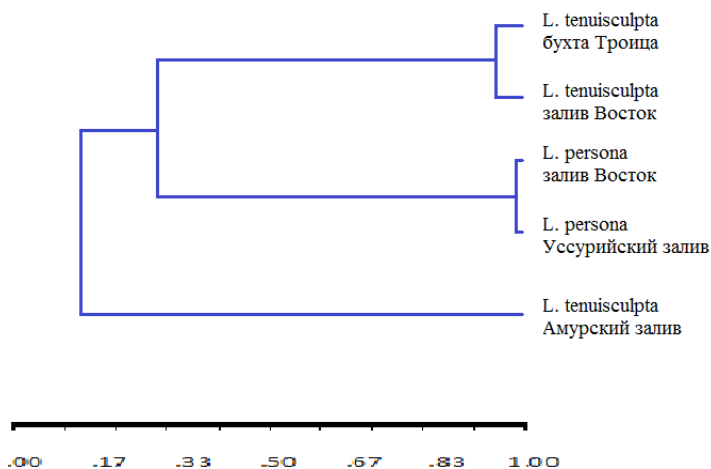


Рисунок 1. Фенограмма, отражающая генетическое сходство (I) (Nei, 1978) между всеми исследуемыми выборками морских блюдечек рода *Lottia* (UPGMA)

По полученным данным, в заливе Восток и б. Троицы обитает вид *L. tenuisculpta*. Величина генетического сходства между этими двумя популяциями очень высока (0,976), также как и между двумя популяциями *L. persona* (0,995), в то время как в Амурском заливе обитает совершенно отличный от *L. tenuisculpta* вид, так как величины генетического сходства между этой популяцией и двумя другими очень малы и составляют 0,088 (залив Восток) и 0,095 (б. Троица). Такие низкие значения характерны для видов морских беспозвоночных, принадлежащих к разным родам [4].

#### Литература:

1. Badino G., Sella G. Phosphoglucose Isomerase Variability in Sympatric Populations of Mediterranean Species of *Patella* (Gastropoda, Prosobranchiata) // *Mar. Ecol.* 1980. N. 2. P. 315-320.
2. Sella G., Robotti C.A., Biglione V. Genetic divergence among three sympatric species of Mediterranean *Patella* (Archaeogastropoda) // *Marine Biology.* 1993. V. 115. P. 401-405.
3. Côrte-Real, H.B.S.M., Hawkins S.J., Thorpe J.P. Population differentiation and taxonomic status of the exploited limpet *Patella candei* in the Macaronesian island (Azores, Madeira, Canaries) // *Marine Biology.* 1996. V. 125. P. 141-152.
4. Thorpe J.P., Sole-Cava A.M. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics // *Zoologica Scripta.* 1994. Vol. 23, N. 1. P. 3-18.

#### **СТРУКТУРА И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА PGCDPK1A В КОРНЯХ, ЛИСТЬЯХ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ЖЕНЬШЕНЯ**

Турленко А.В. (аспирант, м.н.с.), Киселев К.В. (ст.н.с.)  
*Биолого-почвенный Институт ДВО РАН, г. Владивосток*  
*anna.turlenko@gmail.com*

Гены CDPK женьшеня не изучены в такой степени, как гены CDPK *O. sativa* и *A. thaliana*. Наши первые попытки изучения экспрессии генов CDPK женьшеня, с использованием дегенеративных праймеров показали, что в культурах женьшеня экспрессируется от 17 до 20 различных транскриптов CDPK (Киселев и др, 2008; Kiselev et

al., 2009).

Мы произвели полное секвенирование кДНК первой формы CDPK - PgCDPK1a. С помощью методов ПЦР и ПЦР в реальном времени мы проанализировали экспрессию PgCDPK1a в листьях, корнях и клеточных культурах женьшеня с различным уровнем синтеза гинзенозидов, экспрессии патоген-связанных генов и разной устойчивостью к солевому стрессу (Kiselev et al. 2006, 2010; Персиянова и др., 2008).

С помощью метода ПЦР в реальном времени мы проанализировали экспрессию PgCDPK1a в листьях, корнях и клеточных культурах женьшеня с разным уровнем синтеза гинзенозидов и разным уровнем экспрессии патоген-связанных генов и устойчивости к солевому стрессу (Kiselev et al. 2006, 2010; Персиянова и др., 2008). Таким образом, была получена информация, которая в дальнейшем может быть успешно использована в разведении женьшеня, регуляции его устойчивости к солевому стрессу и содержания гинзенозидов в *P. ginseng*.

Мы выявили твердую позитивную корреляцию между приростом сырой биомассы в клеточных культурах женьшеня и экспрессией гена PgCDPK1a. Также, просматривается чуть менее явная негативная корреляция между экспрессией патоген-связанных генов и содержанием гинзенозидов с экспрессией PgCDPK1a.

Возможно, белковый продукт PgCDPK1a вовлечен в ростовые процессы женьшеня и является позитивным регулятором клеточного роста. Недавние исследования (Lee et al., 2003) связанные с вирус-индуцируемым замолканием гена NtCDPK1 растения табака показали, что существует корреляция между степенью ингибирования экспрессии данного гена и степенью индукции генов, ответственных за механизмы защиты данного растения. Так, чем сильнее степень ингибирования гена NtCDPK1, тем выше экспрессия генов ответственных за механизмы защиты (Lee et al. 2003).

Похожая корреляция наблюдалась в нашем случае, когда уровень содержания мРНК гена PgCDPK1a негативно коррелировал с экспрессией защитных генов, таких как PAL, ген бета-1,3-глюканазы в

культуре 2с2 и 2сR2, а также с количеством соматических эмбрионов в культуре 2с3 (Kiselev et al. 2006; Gorgenchenko et al. 2006; Персиянова и др., 2008).

Несмотря на то, что гены CDPK вовлечены в механизмы защиты растений от биотического и абиотического стресса, они зачастую признаны как индуцибельные гены (Ludwig et al., 2004). Имеется несколько примеров, когда ингибирование генов CDPK ассоциировано с активацией защитных реакций в растении. Кроме генов NtCDPK1 и PgCDPK1a также имеются гены MsCK2 (у растения люцерны), которые также принадлежат к группе сходных генов. Растение люцерны содержит гены MsCK1, экспрессия которых взаимосвязано регулируется низкотемпературным стрессом и генами MsCK2 (Monroy, Dhindsa, 1995).

Учитывая высокую гомологию генов NtCDPK1, PgCDPK1 и MsCK2, можно предположить существование высококонсервативной группы CDPK, которые выполняют сходные функции в растении. Их функционирование может служить связующим звеном между клеточным ростом и защитным контролем в клетке.

## **БИОСИНТЕЗ РЕЗВЕРАТРОЛА И ЭКСПРЕССИЯ МЕТИЛАЗ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ВИНОГРАДА АМУРСКОГО VITIS AMURENSIS В УСЛОВИЯХ СНИЖЕНИЯ ОБЩЕГО СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК**

Тюнин А.П. (студент)<sup>2</sup>, К.В. Киселев (ст.н.с.)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Биолого-почвенный институт Дальневосточного  
отделения Российской академии наук ДВО РАН, г. Владивосток*

<sup>2</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток  
mattbraun45@yandex.ru*

Метилирование ДНК – важнейшая эпигенетическая модификация, приводящая к появлению в составе полинуклеотидной цепи минорных оснований 5-метилцитозина и 6-метиладенина. Ковалентное присоединение метильной группы, нарушает распознавание метилированных нуклеотидов для ферментов транскрипции, репарации и рестрикции ДНК, таким образом, являясь важнейшим фактором контроля экспрессии генов и поддержания

стабильности генома. In vivo весь процесс метилирования ДНК осуществляется энзиматически классом ферментов – метилтрансферазами (метилазами). Для высших растений характерно метилирование ДНК исключительно по цитозиновым основаниям. В растительном геноме метилировано приблизительно от 6% до 33% всех цитозиновых нуклеотидов. Содержание и положение метилированных нуклеотидов в молекуле видо- и тканеспецифично и в норме отражает физиологический паттерн метилирования необходимый для нормального развития и функционирования клетки. На данный момент описаны представители трех семейств растительных метилаз: Met, CMT (Chromomethylases) и DRM (Domain Reorganised Methylases) – все они мономерные белки, имеющие весьма вариабельный N-конец (отвечающий за распознавание метилируемой последовательности) и консервативный C- каталитический домен (при помощи которого осуществляется сам процесс трансфера метильной группы). Несомненным остается факт, что метилирование ДНК играет значительную роль в процессе онтогенеза растений на всех этапах развития. Так, нарушение нормальной функции одного из ферментов семейства метилаз, приводит к серьезным отклонениям в онтогенезе растений, но чаще всего к летальному исходу. На данный момент есть основания предполагать, что метилирование ДНК играет существенную роль в процессах вторичного метаболизма растений, однако исходя из литературных источников, механизм этого влияния мало изучен.

В приведенном нами исследовании трансгенная и не модифицированная клеточные культуры винограда амурского **Vitis amurensis** Rupr. культивировались в средах с добавлением различных концентраций деметилирующего агента 5A (5-азациитидин), что привело к неспецифическому падению общего статуса метилирования ДНК. Результатом этого процесса явилось увеличение продукции исследуемыми каллусами фармакологически ценного фитоалексина – резвератрола. Таким образом, содержание резвератрола в исследуемых каллусах увеличилось в два раза при обработке 5A, в сравнении с контрольной группой. Кроме того, добавление деметилирующего

агента вызвало изменения в экспрессии метилаз по сравнению с нормой, как качественно, так и количественно, по мере повышения дозы 5A. Было отмечено увеличение экспрессии некоторых генов семейства стильбенсинтаз (STS), кодирующих ферменты конечной стадии биосинтеза резвератрола. При этом в наибольшей степени увеличилась экспрессия генов STS, которые в норме имеют сравнительно малую долю в общей экспрессии среди представителей этого мультигенного семейства. На основании полученных результатов, можно утверждать, что метилирование основных генов биосинтеза играет определенную роль во вторичном метаболизме растений, но, несомненно, механизм этого влияния нуждается в дальнейшем изучении.

**ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ САМЦОВ АЯНО-  
ШАНТАРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КАМЧАТСКОГО КРАБА  
*PARALITHODES CAMTSCHATICA* (TILESIUS, 1885)  
ОХОТСКОГО МОРЯ (ХАБАРОВСКИЙ КРАЙ)**

Хлопова А. В. (ст.н.с.), Черниенко И. С. (н.с., аспирант)  
*Хабаровский филиал Тихоокеанского научно-исследовательского  
рыбохозяйственного центра, (Хф ТИНРО-центр), г. Хабаровск  
chernienko.igor@gmail.com, khlopova82@mail.ru*

Широко распространенный в дальневосточных морях камчатский краб *Paralithodes camtschatica* (Tilesius, 1885) (Lithodidae) является объектом интенсивного промысла. Регулирование промысла и рекомендации мер по восстановлению численности требуют всестороннего изучения репродуктивной биологии камчатского краба. Для воспроизводства, акклиматизации, сохранения и увеличения численности камчатского краба очень важны полные сведения о характере развития половых мужских клеток. Не смотря на это, в литературе такие сведения практически отсутствуют. Цикл развития половых клеток в семенниках камчатского краба так же, как и у крабов многих других видов, сопровождается образованием сперматофоров. В настоящее время довольно широко обсуждаются вопросы, связанные с темпом созревания самцов камчатского краба, оценкой репродуктивного статуса мелких самцов, имеющих сперматофоры



(Powell et al., 1974; Paul J., Paul A., 1990). Это связано с тем, что необходимо уточнение размеров, при которых самцы камчатского краба становятся половозрелыми, а также необходима более полная информация о репродуктивном потенциале промысловой популяции этого вида краба. Цель данной работы заключалась в установлении особенностей размножения самцов аяно–шантарской популяции камчатского краба в Охотском море в связи с проблемой рационального использования его запаса.

На гистологический анализ были взяты гонады 77 самцов камчатского краба, отловленных в северо-западной части Охотского моря в июле-сентябре 2009 г и в аналогичный период 2010 г. Ширина карапакса варьировала от 39 до 178.36 мм. В данной работе применяется разделение крабов размерно-возрастных групп по продуктивности сперматогенеза, аналогичное приведенному в работе Федосеева и Родина (1986). Выделялись три группы: молодые – с шириной карапакса до 8 см; маломерные – с шириной карапакса до 13 см; крупные – ширина карапакса более 13 см. Для гистологического анализа половую систему самцов фиксировали в жидкости Буэна (Ромейс, 1954). Материал обезвоживали в этаноле возрастающих концентраций и заливали в парафин. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином по Эрлиху с докрасчиванием эозином (Меркулов, 1969). При исследовании состояния сперматогенеза были выделены три зоны: размножения – сперматогонии, развития – сперматоциты I порядка, зона зрелых половых клеток – сперматозоиды. О состоянии сперматогенеза судили по наличию и смене разных форм половых клеток, а динамику сперматогенеза изучали по соотношению зон на поперечном срезе семенника. Затем определяли площадь каждой зоны и выражали ее в процентах к общей площади поперечного сечения семенника (Федосеев, 1982).

Диаметр сперматофоров, высоту и диаметр ядер эпителиоцитов, диаметр половых клеток измеряли на гистологических препаратах с помощью окулярного микрометра МОБ–1–16х. Препараты просматривали на световом тринокулярном микроскопе Opitech XSP–128–301, оборудованном цифровой камерой. Статистическая обработка

данных проведена с использованием программ Microsoft Excel 2000, Statistica 6.0 и R 2.12.1 по общепринятым методикам (Боровиков, 2001; R Development Core Team, 2010). Для определения размеров наступления половой зрелости разделяли регрессии высоты клешни на ширину карапакса при помощи ЕМ-алгоритма (Benaglia et. al., 2009).

Половая система самцов представлена парными органами и состоит из семенников, секреторных канальцев и семяпроводов. Внешне они сильно отличаются друг от друга и имеют вид тонких трубок, переходящих одна в другую. Каждый семенник сверху покрыт серозной оболочкой, под ней располагается слой рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани с отдельными, редко встречающимися тонкими мышечными волокнами. Развивающиеся генерации половых клеток лежат в семеннике группами, каждая из которых ограничена от соединительнотканного слоя, эллиптической формы эпителиоцитами с крупными ядрами. Таким образом, семенник разделен внутри на камеры, в полости которых происходит развитие половых клеток от сперматогониев до сперматозоидов. На поперечных срезах семенника в данный период сбора отмечены три формы половых клеток: сперматогонии, сперматоциты I порядка, сперматозоиды, четвертая форма – сперматиды – отсутствуют. Из семенника сперматозоиды поступают в сперматофорогенный участок секреторного канальца. Именно в этом отделе, согласно работам Сапелкина и Федосеева (1978, 1986), происходит образование сперматофоров и сперматофорной нити (ленты).

Минимальная ширина (диаметр) карапакса самца камчатского краба, у которого удалось обнаружить сперматофоры, составила 39 мм. При ширине карапакса более 59.48 мм готовые сперматофоры обнаружены у 100% особей (табл. 1). Минимальный диаметр карапакса у самцов камчатского краба из Баренцева моря, у которого были обнаружены готовые сперматофоры, составлял 65 мм (Филина, 2003). Ранее формирование сперматофоров обнаружено у этого краба и в Беринговом море. Среди крабов с шириной карапакса 40–49 мм таковыми оказались 20% особей, а в размерной группе 50–59 мм более 50% (Paul, 1992).

Таблица 1

Наличие сперматофоров в гонадах самцов аяно-шантарской популяции камчатского краба

Ширина карапакса, мм	Количество крабов		
	Общее, экз.	Со сперматофорами (сф)	
		Экз.	%
39–49	5	5	100
50–59.8	11	3	33
65.5–80	10	10	100
81.8–98.5	19	19	100
100–113.6	13	13	100
114.5–131.1	11	11	100
142.2–178.3	8	8	100

Судить о наступлении функциональной зрелости самок камчатских крабов можно по присутствию икринок или их остатков на плеоподах, поэтому определить размеры, при которых она наступает, не составляет особого труда. Сложнее обстоит дело с определением размеров наступления функциональной зрелости самцов камчатских крабов, поскольку у них отсутствуют внешние признаки, по которым можно с достаточной степенью достоверности ее определить. Ранее выяснено, что физиологическая (созревание гонад – оогенез и сперматогенез) и истинная (функциональная зрелость – способность к спариванию) не совпадают по времени (Ivanov, Sokolov, 1997 – цит. по: Шапоров, Степанов, 2002) и при наступлении функциональной зрелости меняются ростовые соотношения между высотой клешни и длиной карапакса (Somerton, Macintosh, 1983 – цит. по: Шапоров, Степанов, 2002).

У исследуемых нами самцов, выявлена достоверная корреляционная связь между шириной карапакса и диаметром сперматофора. Коэффициент корреляции составил 0.48 (умеренная зависимость по шкале Чеддока) при уровне значимости  $p=0.0008$ . Более подробный анализ позволяет обнаружить асимптотический характер зависимости между линейными размерами и диаметром сперматофоров (рис. 1). Эту зависимость аппроксимировали уравнением вида  $D = L [1 - \exp(-aW)]$ , где  $D$  и  $W$ , соответственно, диаметр

сперматофора и ширина карапакса,  $L$  – асимптотический средний диаметр сперматофора,  $a$  – коэффициент, характеризующий скорость достижения постоянного значения. Тогда предельное среднее для диаметра сперматофора оценивается величиной 114 мкм. Теоретическое среднее значение для наименьших по ширине карапакса самцов со сперматофорами (39 мм) составит 58 мкм.

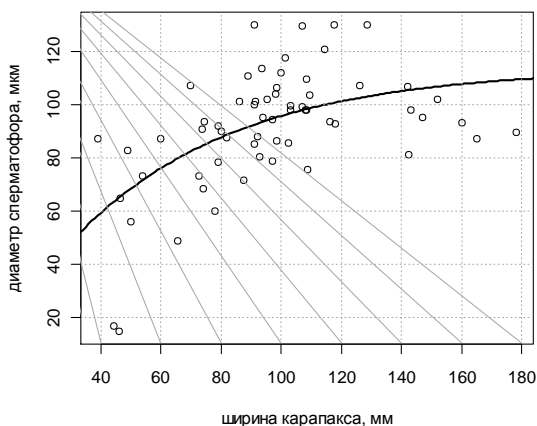


Рисунок 1. Связь между диаметром сперматофоров и шириной карапакса у самцов аяно–шантарской популяции камчатского краба

Нами выяснено, что большинство крабов в течение всего периода исследований содержали в семяпроводе сперматофоры. У самого маленького краба (ширина карапакса 39 мм) сперматофоры удалось отметить только в секреторном канальце. Таким образом, применение гистологического метода для выявления критериев участия мелких самцов в нересте не принесло ожидаемых результатов. Однако Федосеев и Родин (1986) полагают, что маломерные самцы (ширина карапакса 80–130 мм) активно участвуют в размножении, при этом крабы старшей возрастной группы имеют половую продуктивность в 3–4 раза больше. Это указывает на то, что они несут основную нагрузку по воспроизводству. Для баренцевоморской популяции поиск гистологических критериев, с помощью которых

можно было установить участие в нересте мелких самцов, также не дал положительных результатов (Филина, 2003).

При исследовании репродуктивной системы краба-стригуна опилю *Chionoecetes opilio* (Majidae) также не обнаружены гистологические признаки, указывающие на функциональную зрелость мелких самцов (Mallet, Moriyasu, Lacroix, 1987). Авторы пришли к мнению, что преимущество в конкуренции между самцами обеспечивают размеры карапакса и клешни, поскольку только физически развитые самцы способны длительно удерживать самку в период размножения. Непропорциональное увеличение ширины клешни также используют для определения размера наступления половой зрелости дальневосточных крабоидов (Somerton, 1980; Jewlett et al., 1985; Blau, 1989; Клитин, 2003). При помощи ЕМ-алгоритма удалось выделить две регрессии, удовлетворительно, на наш взгляд, описывающие зависимости высоты клешни от ширины карапакса для узкопалых и широкопалых самцов. Точка пересечения линий регрессии оценивается величиной 70 мм. Таким образом, можно допустить, что способными к оплодотворению самцы становятся при достижении более чем 70 мм по ширине карапакса.

### **СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК, КАК АДАПТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ *LISTERIA* *MONOCYTOGENES* ВО ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ**

Цветкова Н.Б. (аспирант), Бузолева Л.С. (профессор, зав. лаб.)  
*НИИ Эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток*  
*nat19101976@mail.ru*

Важнейшим механизмом адаптации *L. monocytogenes* является их способность к существованию и размножению в составе биопленок, образуемых на твердых поверхностях и контактирующих с пищевым сырьем на производстве, что способствует их распространению. Формирующийся полисахаридный слой (гликокаликс), содержащий различные изомеры галактозы, глюкозы и маннозы, в совокупности с другими продуктами жизнедеятельности листерий, образует матрикс биопленки (Ильина и др., 2004). Полисахаридные и пептидные компоненты матрикса включают в себя ряд криопротекторов и

термопротекторов. (Cooksey, 1992). В матрикс выделяются и по нему распространяются экзометаболиты и продукты автолиза клеток. Согласно современным данным, листерии в составе биопленок обладают кооперативной чувствительностью. Взаимодействуя друг с другом, клетки передают генетическую информацию и плазмиды, а также химические сигнальные вещества, в том числе, служащие для оценки плотности собственной популяции (Ильина и др., 2004; Davis, Parsek et al., 1998; O'Tool, Kaplan, Kolter, 2000; Ghannoum, O'Tool, 2004).

Бактерии в составе биопленки фенотипически отличаются от планктонных форм. Они медленнее растут, вероятно, из-за меньшей обеспеченности питанием и кислородом, что приводит к снижению уровня метболизма (Ильина и др., 2004; Tetz et al., 2004). Активирование большого количества генов приводит к видоизменениям клеточной стенки и молекулярных мишеней действия, изменяя чувствительность к антимикробным средствам (Заславская, Артеменко, 2000). Установлено, что клетки *L. monocytogenes*, входящие в биопленку, более устойчивы к воздействию дезинфектантов, применяемых в пищевой индустрии, таким как: хлориндиоксид, пероксиды, йодофор, нейтрализующие аммонийные соединения и др. (Lopes, 1986; Mustapha, Liewen, 1989; Frank, Koffi, 1990; Kryszynski, et al., 1992; Fatemi, Frank, 1999; Norwood, Gilmour, 2001; Block, 2001; Somers, Wong, 2004).

Скорость формирования биопленки зависит от адгезируемой поверхности, мишеней на ней и факторов окружающей среды, таких как, температура и pH. Установлено, что листерии способны адгезироваться на гидрофильных поверхностях, таких как тефлон, нейлон и различные полимеры (Mafu et al., 1990; Blakman, Frank, 1996; Hyde et al., 1997; Sinda, Carballo, 2000). Однако более интенсивная колонизация наблюдается на гидрофобных материалах, к которым можно отнести нержавеющую сталь и стекло (Mafu et al., 1990; Norwood, Gilmour, 1999; Berestord et al., 2001; Djordjevic et al., 2002; Mai, Conner, 2007). Так исследования L. M. Smoot и M. D. Pierson (1998) продемонстрировали, что адгезия на стальной поверхности

происходила быстрее, чем на резиновом покрытии, но прикрепление при этом было менее стойким. Формирование биопленки, наблюдаемое на поверхности стальных покрытий, происходило быстрее, чем на гидрофобном политетрафлюорэтилене (Briandet et al., 1999; Chavant et al., 2002). Немногочисленные исследования сообщают, что снижению адгезивности листерий к силиконовым поверхностям способствует присутствие альбумина, казеина и  $\beta$  – лактоглобулина (Helke et al., 1993; Al – Makhafi et al., 1995; Barnes, Lo, Adams, 1999). Обработка поверхности из нержавеющей стали куриным белком стимулировала адсорбцию листерий (Hassan, Birt, Frank, 2004).

Установлено, что температура является определяющим фактором, влияющим на способность к прикреплению и формированию биопленки (Mai, Conner, 2007). Так, штамм *L. monocytogenes* серотипа 4b образовывал большее количество полимерных мостиков и фимбрий, обеспечивающих контакт с колонизируемой поверхностью при 20°C, чем при 37°C (Peel et al., 1988). Продemonстрировано, что при температуре 18°C, штаммы *L. monocytogenes* Scott A и *L. monocytogenes* FM 876 адгезировались в большем количестве на стальной поверхности, чем при 4°C или 30°C (Norwood, Gilmour, 2001). Облегчение адгезии клеток листерий на поверхность и преодоление сил электростатического отталкивания может происходить при содействии жгутиков, хотя их вращательная деятельность несколько препятствует прикреплению, продлевая период наступления адсорбции (Vantanyoopaissarn et al., 2000). Процесс образования жгутиков, как известно, так же коррелирует с температурным фактором (Herald, Zottola, 1988). Некоторые исследования показали, что клетки *L. monocytogenes* быстрее образовывали полисахаридный матрикс при 21°C, чем при 10°C или 35°C (Heraid, Zottola, 1988-b; Chavant et al., 2002).

Известно, что модификационные изменения в строении клеточной стенки у листерий коррелируют с изменением текучести липидов мембран зависящим от температуры и фазы роста клеток (Mastronicolis et al., 2005; Hebraud, Poiter, 1999; Tetz et al., 2004). Клеточная стенка листерий гидрофильна и заряжена отрицательно, что

играет определенную роль при колонизации поверхностей. Так установлено, что при температурах 18 - 21°C, гидрофильность клеточной поверхности листерий более высока в логарифмической стадии роста, а при 37°C - в стационарной фазе роста (Chavant et al., 2002; Gianotti et al., 2008).

Немногочисленны данные о влиянии значений pH, на способность листериями формировать биопленки. Большинство исследователей сообщают, что оптимальными для образования биопленки являются pH 7 - 8 (Herald, Zottola, 1988-b; Smooth, Pierson, 1998; Hill et al., 2002). Однако известно, что *L. monocytogenes* толерантна к воздействию кислот за счет существования глутамат - декарбоксилазной системы (GAD) и F0F1 - аденазинтрифосфатазного оперона (Dashper, Reynolds, 1992; Cotter et al., 2000, 2001). Эти два важных механизма способствуют образованию биопленок листериям в кислых условиях среды.

К неспецифическим факторам, стимулирующим скорость адсорбции на поверхность можно отнести воздействие сублетальных концентраций спиртов при низких температурах (Gravesen et al., 2005). Взаимодействие с желчными кислотами и их солями так же способствовало усилению адгезивности при образовании биопленок (Begley, Kerr, Hill, 2009).

Ряд авторов сообщает (Kalmokoff et al., 2001; Keskinen, Todd, Ryser, 2008), что большинство штаммов листерий не формируют биопленки в монокультуре, а адгезия листерий на колонизируемые поверхности происходит в момент наибольшей метаболической активности (Smoot, Pierson, 1998; Harvey, Keenan, Gilmour, 2007). Обнаружена значительная разница в способности различных штаммов *L. monocytogenes* прикрепляться к поверхности из нержавеющей стали и пластиковых материалов (Norwood, Gilmour, 1999; Briandet et al., 1999; Djordjevic et al., 2002; Chavant et al., 2002; Milanov et al., 2009). При этом наблюдали различия в структуре матрикса и площади образуемой биопленки.

Исследования D. M. Djordjevic с соавторами (2002) показали, что штаммы, относящиеся к I линии (серотипы 1/2a, 1/2c, 3a и 3c)



активнее образовывали биопленки, чем штаммы относящиеся ко II линии (серотипы 1/2b, 3b, 7, 4b, 4d, 4e). В противоположность этим фактам М. К. Vorucki (2003) показал преимущественное формирование биопленок серовариантами II линии. При этом, способность к формированию биопленок, не коррелировала между серотипами внутри филогенетических групп, однако штаммы, выделенные из пищевых продуктов, образовывали биопленки быстрее, чем клинические изоляты (Djordjevic et al., 2002; Vorucki et al., 2003; Harvey et al., 2007). Взаимосвязь между способностью к формированию биопленки и вирулентностью у *L. monocytogenes* остается не выясненной (Roberts, Wiedmann, 2003).

Многочисленные литературные источники сообщают, что листерии плохо прикрепляются к выступам на поверхностях и могут использовать первично колонизирующих бактерий различных видов, формируя биопленки в консорциуме (Barnes et al., 1999; Hassan et al., 2004; Moltz, Martin, 2005). Некоторые исследования показали, что культивирование *L. monocytogenes* с *Flavobacterium* spp. и *Pseudomonas* spp. способствовало колонизации на стальной поверхности и стимулировало продуцирование полисахаридного матрикса (Sasahara, Zottola, 1993; Jeong, Frank, 1994; Cheng et al., 1995; Fatemi, Frank, 1999; Bremer et al., 2001; Hassan, Frank, 2004). Однако, результаты таких исследований неоднозначны. Так, было обнаружено, что изоляты *Pseudomonas fluorescens* стимулировали рост и образование биопленок у *L. monocytogenes* (Farrag, Marth, 1989; Marshall, Schmidt, 1989; Marshall et al., 1992). Однако другие авторы сообщили, что штаммы *Pseudomonas fluorescens* либо ингибировали образование биопленок листериями, либо вообще не влияли на этот процесс (Freedman et al., 1989; Cheng et al., 1995). Установлен факт образования биопленок с *E. coli* (Jeong, Frank, 1994 a, b). Совместное культивирование *L. monocytogenes* с сопутствующей микрофлорой мясных продуктов показало, что метаболиты и антимикробные агенты *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* и *Staphylococcus sciuri* при температурах 4°C и 37°C ингибировали скорость адсорбции и образование биопленок листериями (Tagg, 1976; Leriche, Carpentier,

2000; Zhao et al., 2004).

Таким образом, биопленка представляет собой совершенно особую экологическую нишу, являющуюся чрезвычайно благоприятной средой для размножения листерий. Формирующийся матрикс биопленки обеспечивает бактериям защиту от неблагоприятных факторов среды, таких как высыхание, нагревание, охлаждение, действие гидролитических ферментов, дезинфектантов и антимикробных средств. (Заславская, Артеменко, 2000; Ильина, Романова, Гинцбург, 2004). Изучение экологических аспектов формирования биопленок дает возможность выявить роль абиотических и биотических факторов в реализации данной стратегии существования, что особенно важно для возбудителей сапрозоонозных инфекций, и листерий в частности.

#### **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕМЕРСАЛЬНЫХ РЫБ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТАТАРСКОГО ПРОЛИВА ВЕСНОЙ 2010 ГОДА**

Черниенко Э.П. (м.н.с., аспирант)

*Хабаровский филиал Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра, (Хф ТИНРО-центр), г. Хабаровск  
emilya.petrovna@gmail.com*

Многие из видов донных рыб Татарского пролива являются традиционными промысловыми объектами российских рыбаков. Ресурсы донных рыб Татарского пролива хотя и заметно уступают по биомассе ресурсам донных рыб основных рыбопромысловых районов шельфа дальневосточных морей (Дулепова, 2002), но для местных прибрежных промыслов они имеют первостепенное значение. Качество же управления биоресурсами напрямую зависит от уровня экосистемных исследований, поскольку долгосрочное прогнозирование сырьевой базы рыбной промышленности не возможно без детального представления об отношениях и связях морских организмов внутри сообществ и экосистем. Для таких прогнозов очень важно оценить особенности функционирования и состояние эксплуатируемых сообществ и экосистем в целом. Кроме того, в настоящее время весьма актуальны идеи многовидового

рыболовства. Их разработка позволит снизить пресс на традиционные объекты промысла и вовлечь в промысел новые объекты (неиспользуемых и малоиспользуемых). Следует добавить, что такие исследования по восточной части Татарского пролива проводит СахНИРО (Ким Сен Ток, 2007), а по западной части пролива ощущается дефицит исследований и публикаций (Борец, 1990).

Работа выполнена на основе материала, траловой съемки в северо-западной части Татарского пролива в 2010 г. Съемка выполнялась 23 апреля – 7 июня в водах Хабаровского края, относящихся к подзоне Приморье, и охватила диапазон глубин от 15 до 780 м. Всего было выполнено 143 учетных траления. За период работ в северо-западной части Татарского пролива было отмечено 82 вида рыб, относящихся к 18 семействам.

Для анализа пространственной структуры сезонных группировок и изучения биоразнообразия, в качестве показателя обилия использовалась биомасса, отнесенная к площади траления. Для того, чтобы снизить асимметрию распределений обилий, представленных в уловах видов и привести их к нормальному, они преобразовывались в соответствии с выражением  $Vn = \ln(B+1)$ , где  $Vn$  – преобразованное значение биомассы,  $B$  – фактическая биомасса вида в  $\text{кг}/\text{км}^2$ , а 1 – служит для учёта нулевых биомасс (Василевич, 1969). Для выделения группировок рыб рассчитывалась матрица различий станций по видовому составу. Метрикой различия служил индекс Брея-Кертиса

$$d_{j,k} = \frac{A + B - 2J}{A + B}, A = \sum_{i=1}^N x_{ij}, B = \sum_{i=1}^N x_{ik}, J = \sum_{i=1}^N \min(x_{ij}, x_{i,k}),$$

где  $i$  – вид,  $j, k$  – станции,  $x$  – биомасса вида на станции,  $N$  – количество видов на обследованной площади,  $A$  – суммарная биомасса всех видов встреченных на станции  $j$ ,  $B$  – то же самое на станции  $k$ ,  $J$  – сумма минимумов биомасс видов, встреченных на обеих станциях (Шитиков и др., 2002). Совокупность станций разделялась робастной модификацией метода  $K$ -средних (Struyf et. al, 1996).

Пространственная локализация кластеров сопоставлялась с глубинами и характером донных отложений в обследованном районе –

анализировалась средняя глубина в кластере методом однофакторного дисперсионного анализа с последующим попарным сравнением тестом Тьюки, анализировалась таблица сопряженности грунтов и кластеров (Тюрин, Макаров, 1998). Для анализа зависимости распределения кластеров и типов грунтов была использована схема распределения донных отложений, предложенная Скорняковой Н.С. (Скорнякова, 1961).



Рисунок 1. Карта-схема пространственного распределения кластеров и типов донных отложений.

В качестве ядра выделялись виды рыб, биомасса которых составляет более 6% от общей биомассы (Песенко, 1982). Расчеты производились в пакете статистического анализа R 2.12.0 с пакетами BiodiversityR, vegan, cluster. Карты строились в ГИС QuantumGIS 1.6.

По результатам кластерного анализа выделено четыре группы станций со схожим видовым составом. При нанесении на карту выделенные кластеры обнаруживают приуроченность к глубинам. Так, первый и второй кластеры в расположены преимущественно до стометровой изобаты, третий находится в изобатном коридоре 200—

500 м, а четвертый, самый глубоководный, расположен глубже 500 м.

При попарном сравнении уровень значимости для различия по средней глубине между первым и вторым кластерами равен 0,87 что свидетельствует о его недостоверности. Во всех других парах имеется достоверное различие ( $p=0,00$ ). Таким образом, выделение двух кластеров до стометровой изобаты обусловлено не глубиной, а чем-то иным. Построив таблицу сопряженности распределения типов донных отложений в двух первых кластерах, было получено следующее соотношение: первый кластер располагается на песках (60%) и крупных алевритах (31%), в то время как второй практически полностью приурочен к песчаным грунтам (83%), которые тянутся вдоль побережья.

Полученные результаты согласуются с результатами предыдущих работ: по данным 2003 и 2009 гг. также было отмечено статистическое разделение совокупности видов, обусловленное абиотическими факторами среды (Черниенко, 2010 а, б).

Следует отметить, что выделение всего 2 кластеров по данным 2003 г связано с небольшим количеством станций, выполненных в исследуемом районе и более репрезентативными следует считать данные 2009 и 2010 г, в связи с более равномерно выполненной сеткой станций. В таблице 1 представлены виды, образующие ядро выделенных групп.

Обобщая вышесказанное, можно заключить, что пространственное распределение выделенных сообществ имеют горизонтальную и вертикальную зональность. Горизонтальную зональность обуславливает приуроченность ихтиоценов к различным типам грунта, а вертикальную – к глубинам. Эти данные подтверждают полученные ранее результаты. Изучение состава, структуры и динамики ихтиоценов является важной задачей рыбохозяйственных исследований, так как позволит сориентировать рыбную промышленность на освоение практически не используемых в настоящее время рыбных ресурсов Татарского пролива.

Таблица 1

Общее число видов и виды рыб, составляющих ядро  
выделенных кластеров

Кластер	Количество видов	Ядро
1	50	<i>Limanda sakhalinensis</i> – сахалинская лиманда <i>Myoxocephalus jaok</i> – керчак-яок <i>Osmerus mordax dentex</i> – зубастая корюшка <i>Platichthys stellatus</i> - звездчатая камбала <i>Eleginus gracilis</i> – тихоокеанская навага <i>Clupea pallasii</i> – тихоокеанская сельдь <i>Pleuronectes quadrituberculatus</i> – желтобрюхая камбала <i>Myoxocephalus brandti</i> – снежный керчак
2	54	<i>Myoxocephalus polyacanthocephalus</i> – многоиглый керчак <i>Myoxocephalus brandti</i> – снежный керчак <i>Aptocyclus ventricosus</i> – рыба-лягушка <i>Hippoglossoides dubius</i> – палтусовидная камбала <i>Eleginus gracilis</i> – тихоокеанская навага
3	49	<i>Acanthopsetta nadeshnyi</i> – колючая камбала <i>Gadus macrocephalus</i> – тихоокеанская треска
4	22	<i>Acanthopsetta nadeshnyi</i> – колючая камбала <i>Bathyraja parmifera</i> – щитоносный скат <i>Lycodes tanakai</i> – ликод Танаки <i>Allolepis hollandi</i> – чешуйчатый слизеголов <i>Aptocyclus ventricosus</i> – рыба-лягушка

### ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕОЛОГИЧЕСКИХ КОНСТАНТ БУРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ ДОЛИНЫ РЕКИ АМУР С ИХ ПРОТИВОЭРОЗИОННЫМИ СВОЙСТВАМИ

Черновалова А.В. (студентка 4 курса),

Черновалова А.В. (студентка 2 курса)

Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток

*Anastasyach7@mail.ru*

Одна и та же почва в зависимости от влажности может проявлять свойства текучести, упругости, пластичности. Известны два критических состояния в реологическом поведении почв (Шеин, 2005):

а) «предел Шведова» - предельное напряжение, после которого почва начинает течь с эффективной вязкостью; б) наступление упруго-вязкого состояния. Поэтому важно знать диапазон влажности, в котором почва течет, то есть - когда начинают проявляться пластические деформации. Для нахождения влажности, при которой начинают проявляться те или иные физико-механические свойства, Аттерберг предложил почвенно-механические константы: верхняя граница текучести - смесь глины с водой течет как вода; нижняя граница текучести - тесто почвы, помещенное в фарфоровую чашку и разделенное на две половины шпателем, при ударе о внешнюю поверхность чашки рукой вновь сливается в единую массу; граница клейкости - влажность, при которой почва перестает прилипать к другим предметам; граница скатывания в шнур - при скатывании почва распадается на отдельные кусочки.

Объектом исследования явились бурые лесные почвы, развитые в естественных ландшафтах долины реки Амур. Решались задачи: выявить особенности реологических состояний бурых лесных почв по наиболее характерным для них физико-механическим свойствам, способным изменяться под влиянием эрозионных процессов. Верхним пределом пластического состояния почвы служит влажность нижней границы текучести. Нижним пределом пластического состояния почвы является влажность границы скатывания почвы в шнур. Величина пластичности измеряется числом пластичности, которое представляет собой разницу в содержании воды в весовых процентах при нижней границе текучести и границе скатывания в шнур.

В интервале увлажнения от нижней до верхней границы пластичности почва деформируется с сохранением приданной ей формы, максимально набухает, обладает слабым сопротивлением при внешнем механическом воздействии. Механические воздействия могут быть различными: удары капель дождя, движение водных дождевых или талоснеговых потоков (при этом возникают эрозионные процессы - и наступает механическая деградация почв); уплотнение почвенной массы под воздействием различных механизмов (при этом почва подвергается физической деградации). Верхний предел пластичности

максимально связан с гранулометрическим составом почв. В тяжелой по гранулометрическому составу изученной бурой лесной почве среднее значение влажности, при котором частицы почвы начинают двигаться, составляет 62 %. Такая влажность обусловлена иловато-пылеватой фракцией гранулометрического состава. При дальнейшем увлажнении почвы приобретают способность течь.

Весьма ценным показателем при рассмотрении эрозионных процессов является величина влажности на границе скатывания почвы в шнур, которая характеризует нижний предел пластичности. Почвы обнаруживают аналогичную закономерность, которая характерна для верхнего предела пластичности. Однако значения влажности, соответствующие нижнему пределу пластичности, во всех исследованных почвах находятся в интервале 22—31 %. Значения влажности, соответствующие верхнему пределу пластичности, более индивидуальны для каждого типа почв. Полученные данные позволяют определить диапазон влажности, в котором проявляются пластические свойства почвы. Сопоставление пределов пластичности и естественной влажности почв позволяет косвенно сделать вывод о том, в каком состоянии находится почва в естественных условиях - в твердом, пластичном или текучем. Определение консистенции почвы важно при определении спелости почвы для обработки и предотвращении эрозионных процессов. В этом случае учитывается влажность, соответствующая границе клейкости.

Граница клейкости у бурых лесных почв практически совпадает с верхним пределом пластичности и соответствует влажности около 62 %. В изученных почвах значения влажности, соответствующие границе клейкости, на 3—4 % ниже, чем значения, характерные для верхнего предела пластичности. Такая закономерность связана с особенностями гранулометрического состава и степенью агрегированности почв.

Таким образом, реологические константы, характеризующие состояние и поведение системы «почва - вода», косвенно показывают способность почвы противостоять эрозионному разрушению вызванному природным или антропогенным фактором.



**КАРТОГРАФИРОВАНИЕ ПОЧВ, ПОДВЕРЖЕННЫХ  
ЭРОЗИОННЫМ ПРОЦЕССАМ  
(НА ПРИМЕРЕ ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРЬЯ)**

Черновалова А.В. (студентка 4 курса),

Черновалова А.В. (студентка 2 курса)

*Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток*

*sashanewave@mail.ru*

Существует несколько классификаций эродированных почв (Соболев, 1948, Заславский, 1979), в том числе и региональных (например, для почв Приморского края классификация Дербенцевой А.М., Ивлева А.М. (1986)). Отсутствие общепринятой классификации позволило использовать различные критерии:

- по мощности оставшейся после смыва части генетических горизонтов, то есть морфологический принцип,
- по залеганию почвенных разновидностей на склонах разной крутизны,
- по потере почвой гумуса в верхних горизонтах.

Главным принципом классификации эродированных почв является степень нарушенности почвенного профиля: смыта ли часть верхнего горизонта, или он смыт полностью, или смыто несколько горизонтов.

К диагностическим морфологическим признакам отнесены: строение почвенного профиля, отсутствие определенных горизонтов, наличие диагностических горизонтов (их начало и мощность). Карта эродированности почвенного покрова составляется по результатам полевого почвенного картирования. Причем за основу берется почвенная карта территории с нанесением на нее обозначений, соответствующим той или иной степени эродированности почвы.

Таблица 1

## Полевая классификация эродированных почв территорий Приморья

		Морфологические изменения в почвенном профиле		Генет-е типы
Степень эродированности	Слабая	Смыто не более половины серогумусового горизонта, пахется серогумусовый горизонт		Буроземы
		Смыто не более половины серогумусового горизонта, после дождя на поверхности видны струйчатые бороздки		Текстурно-метаморф-е
		Смыто не более половины тёмногумусового горизонта, у маломощных разновидностей припахивается верхняя часть плотного элювиально-метаморфического горизонт, отчего цвет пашни приобретает белесобурый оттенок		Темногумусовые подбелы глеевые
	Средняя	Смыт серогумусовый горизонт и не более половины структурно-метаморфического, распахивается оставшаяся часть структурно-метаморфического горизонта; пашня отличается буроватым оттенком и наличием хряща		Буроземы
		Смыт серогумусовый горизонт более половины или полностью, возможен частичный смыв нижележащего элювиально-метаморфического. Распахивается (припахивается) верхняя часть элювиально-метаморфического. Пашня отличается белесым оттенком и на ее поверхности нередко встречаются рывины		Текстурно-метаморф-е
		Смыт тёмногумусовый горизонт, затронут процессом и элювиально-метаморфический у мощных и среднечемощных разновидностей, а для маломощных характерен смыв элювиально-метаморфического горизонта почти на половину. При интенсивном использовании возникают мелкие размывы		Темногумусовые подбелы глеевые
	Сильная	Смыт серогумусовый, часть нижележащего структурно-метаморфического, а также припахивается почвообразующая порода; пашня отличается бурых цветом и сильно выраженной хрящеватостью; по краям полей часты глубокие промоины		Буроземы
		Смыты полностью серогумусовый и элювиально-метаморфический горизонты. У маломощных и среднечемощных разновидностей затронут смывом текстурный горизонт ВТ; поверхность покрыт глубокими промоинами, иногда и оврагами. Массивы с такими почвами, как правило, не распахиваются. Их залужают и используют под выпас		Текстурно-метаморф-е
		Смыт тёмногумусовый горизонт и около половины элювиально-метаморфического. Пахотный слой приобретает белесый цвет, а в период муссонных дождей часто заплывет. При интенсивном использовании на поверхности образуются крупные промоины, вдоль дорог – овраги.		Темногумусовые подбелы глеевые

## **МАЛАКОФАУНА ИЗ ПОЗДНЕГОЛОЦЕНОВЫХ МОРСКИХ ОТЛОЖЕНИЙ БУХТЫ НАРВА (АМУРСКИЙ ЗАЛИВ)**

Шарова О.А. (сотрудник), Раков В.А. (сотрудник)

*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева*

*ДВО РАН, г. Владивосток*

*olesya-sharova@mail.ru*

Бухта Нарва (Сидими) расположена в юго-западной части Амурского залива между полуостровами Янковского и Ломоносова, соединенными с материком узкими и низкими перешейками. Поэтому, около 5,5-6,5 тыс. лет назад, в период климатического оптимума голоцена, когда уровень моря был на 3-4 м выше современного, акватория бухты находилась в центральной части большого залива, отделенного от открытой части моря двумя большими островами (Янковского и Ломоносова). В южной части б. Сидими была соединена с зал. Славянским (б. Северная), а на юге – с б. Перевозной. Остатками морских проливов между этими островами являются современные лагуны Лебяжья и Цапличья, расположенные соответственно в южной и северной частях б. Нарва. По мере понижения уровня моря после достижения максимального подъема около 6,1 тыс. лет назад в этом районе Амурского залива происходило интенсивное накопление песков, выносимых крупными реками Нарва (Сидими), Брусья и Кедровая с западных склонов хребта Черные горы.

На обширных песчаных мелководьях бухты в этот период голоцена сформировались хорошие условия для развития псаммофильной малакофауны. Хорошо прогреваемая, чистая и слабо опресненная морская вода создавала отличные условия для активного размножения планктонных микроводорослей, которые служили пищей для двустворчатых моллюсков.

Материалом для настоящей работы послужили сборы большого числа раковин моллюсков из песчаных морских отложений б. Нарва, где в 50-80-е годы XX в. разрабатывалось месторождение строительного песка. Площадь песчаных карьеров на побережье бухты составляет несколько квадратных километров и часть песка изъятая с большой глубины сохранилась до настоящего времени. В основном здесь собраны раковины двустворчатых моллюсков, из которых было идентифицировано 32 вида, включая один вид, вымерший к

настоящему времени в зал. Петра Великого.

Кроме того, часть материала для работы была собрана из раковинных куч, относящихся к периоду раннего железного века (2-2,5 тыс. лет назад) из древнего поселения Безверхово (Сидими), расположенного на п-ове Янковского, на северном склоне перешейка между б. Гека и лагуной Лебяжьей (мыс Бринера). Это самое первое древнее поселение с раковинными кучами, обнаруженное еще в XIX в. М.И. Янковским, который вместе с В.П. Маргаритовым проводил первые раскопки и опубликовал фотографии нескольких видов моллюсков (Янковский, 1881; Маргаритов, 1887). Вблизи от этого поселения на мысе Бринера находится также стоянка с раковинными кучами этого же периода. В настоящее время эти два археологических памятника сильно разрушены и на побережье б. Нарва находятся только их остатки, где и был собран нами материал для работы.

Для стоянки мыс Бринера по раковинам устрицы *Crassostrea gigas*, отобраным с глубины 25, 40 и 70 см было получено три соответствующих радиоуглеродные даты -  $1490 \pm 120$ ,  $1887 \pm 160$  и  $2197 \pm 180$  лет назад (индексы: ДВГУ-80, 81, 82).

Морские отложения в б. Нарва, вскрытые на глубину до -5-6 м относятся ко второй половине Атлантика и к суббореалу. Они содержат *A. inaequalvis*, *A. subcrenata*, *A. broughtoni*, *G. yessoensis*, *C. gigas*, *M. yessoensis*, *R. philippinarum*, *D. japonica*, *P. adamsi*, *M. stimpsoni*, *S. sachalinensis*, *M. chinensis*, *S. krusensterni*, *M. arenaria*, *Megangulus venulosa*, *M. incongrua*, *F. usta*, *N. olivacea*, *P. amurensis* и др. Моллюски, в основном, субтропического происхождения, но есть тропические и бореальные виды. Список видов и их встречаемость в песчаном карьере и раковинных кучах древнего поселения на побережье б. Нарва показаны в таблице.

Из таблицы видно, что в б. Нарва ранее доминировали закапывающиеся морские виды, такие как *A. subcrenata*. Вблизи центральной части бухты находился район с сильным опреснением воды от р. Нарва. Поэтому в песках найдены моллюски, характерные для районов устьев рек – *P. amurensis*, *L. limicola*, *C. japonica*.

Таблица 1

Двустворчатые моллюски из голоценовых отложений  
и раковинных куч б. Нарва

№ п/п.	Виды	Песчаный карьер	Поселение Безверхово
1.	<i>Crenomytilus grayanus</i>	.	++
2.	<i>Mytilus trossulus</i>	.	
3.	<i>Glycymeris yessoensis</i>	++	.
4.	<i>Anadara broughtonii</i>	++	
5.	<i>Anadara subcrenata</i>	+++	
6.	<i>Crassostrea gigas</i>	+	+++
7.	<i>Mizuhopecten yessoensis</i>	+	.
8.	<i>Chlamys farreri nipponensis</i>	.	+
9.	<i>Laternula limicola</i>	.	
10.	<i>Entodesma naviculoides</i>	.	
11.	<i>Hiatella arctica</i>	.	
12.	<i>Panopea japonica</i>	.	
13.	<i>Corbicula japonica</i>		+
14.	<i>Ruditapes philippinarum</i>	+++	++
15.	<i>Dosinia japonica</i>	++	
16.	<i>Mercenaria stimpsoni</i>	+	
17.	<i>Protothaca jedoensis</i>	.	
18.	<i>Protothaca adamsi</i>	+	
19.	<i>Felaniella usta</i>	+	
20.	<i>Keenocardium californiense</i>	.	
21.	<i>Maetra chinensis</i>	++	
22.	<i>Maetra veneriformis</i>	.	
23.	<i>Spisula sachalinensis</i>	+++	++
24.	<i>Macoma incongrua</i>	+	
25.	<i>Macoma tokyoensis</i>	.	
26.	<i>Peronidia venulosa</i>	+++	
27.	<i>Nuttallia olivacea</i>	+++	
28.	<i>Solen krusensterni</i>	+	
29.	<i>Solen strictus</i>	.	
30.	<i>Siliqua alta</i>	.	
31.	<i>Mya arenaria</i>	+++	.
32.	<i>Mya priapus</i>	.	
33.	<i>Potamocorbula amurensis</i>	+	

Примечание: встречаемость: - +++ - часто; ++ - обычно; + - редко; . - единично.

Один тропический по происхождению вид анадары - *A.subcrenata* в настоящее время не обитает в зал. Петра Великого, и

вымер, во время сильного похолодания или «малого ледникового периода», который наблюдался в XVI-XVIII вв. Остальные виды двустворчатых моллюсков и в настоящее время обитают в б. Нарва.

Количество раковин брюхоногих моллюсков, собранных как в песчаном карьере, так и в раковинных кучах, было относительно небольшим – всего 8 видов. В раковинных кучах раннего железного века обнаружены *Littorina mandshurica*, *Boreotrophon candelabrum*, *Rapana venosa*, *Neptunea* sp. В морских песках найдены *L. mandshurica*, *Tegula rustica*, *Batillaria cumingi*, *Cryptonatica janthostoma*, *Rapana venosa*, *Umbonium costatum*.

Кроме раковин моллюсков в песчаном карьере и в раковинных кучах обнаружены редкие фрагменты домиков усонюгих раков *Balanus* sp.

В отличие от древних раковинных куч, где доминируют раковины устрицы и мидии Грея, а также часто встречаются другие крупные и промысловые виды, в том числе обитающие на скалистом или каменистом грунте, в песчаных отложениях эти виды встречаются заметно реже. Отдельные находки парных створок свидетельствуют также о возможном прижизненном захоронении моллюсков в песчаных отложениях.

Судя по составу малакофауны б. Нарва, в период Атлантика и начала суббореала при снижении уровня моря происходило и похолодание климата. Поэтому тропические виды встречались очень редко, а количество субтропических видов моллюсков постепенно снижалось. Пополнения малакофауны новыми видами практически не происходило. Только к середине суббореала с небольшим очередным повышением уровня моря и потеплением в бухте могли появиться новые виды, такие как, например, *M. chinensis*, *P. jedoensis*, *M. veneriformis*.

На рубеже суббореала-субатлантика малакофауна пополняется, в основном, бореальными видами – *S. krusensterni*, *M. priapus*. И, наконец, в начале субатлантика к ним добавляются *Siliqua alta*, *Mytilus trossulus*, *Gari cazusensis* и некоторые другие виды бореального происхождения. В современный период (в последние десятилетия) в б.

Нарва появилась средиземноморская мидия *Mytilus galloprovincialis*. Относительно небольшое потепление в последние десятилетия привели к появлению в б. Нарва (лагуна Лебязья) такого тропическо-субтропического вида как *Trapezium liratum*.

Таким образом, на примере малакофауны из морских голоценовых отложений б. Нарва можно видеть, что как в бухте, так и в Амурском заливе в течение последних 5-6 тысяч лет происходили и продолжают происходить изменения как видового состава, так количественных характеристик моллюсков. Это связано как с большими климатическими изменениями, так и с антропогенным воздействием.

### **MALDI-TOF АНАЛИЗ ПОЛИПЕПТИДОВ ВИТЕЛЛОГЕНИНА ПОЛОСАТОЙ КАМБАЛЫ *LIOPSETTA PINNIFASCIATA***

Швед Н.А. (аспирант), Сяпина И.Г. (ст.н.с.), Кумейко В.В. (н.с.)

*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,*

*г. Владивосток*

*Nikita85\_2001@mail.ru*

Вителлогенин (Vtg) – фосфолипогликопротеид, предшественник яичного желтка, молекулярная масса варьирует от 200 до 600 кДа в зависимости от вида рыб. У половозрелых самок Vtg синтезируется в печени под воздействием эстрогенных гормонов, транспортируется с кровью в гонады, где поглощается ооцитами посредством эндоцитоза. Самцы и ювенильные особи не синтезируют Vtg в нормальных условиях, т.к. имеют очень низкий или вообще необнаруживаемый уровень необходимых гормонов в плазме. Однако они действительно могут синтезировать вителлогенин в той же степени, что и самки, как следствие воздействия чужеродных эстрогенов или веществ сходных по действию с эстрогенами, поскольку тоже обладают геном Vtg. У самцов и ювенильных особей рыб Vtg длительное время циркулирует в крови, вызывая повреждения почек, печени и гонад при высоких концентрациях. Выявление Vtg у самцов и ювенильных особей является надежным биомаркером воздействия веществ, обладающих эстрогенной активностью. Основная цель настоящего исследования – это разработка иммуноферментной тест-системы для определения

вителлогенина в плазме местного индикаторного вида рыб – полосатой камбалы *Liopsetta pinnifasciata* и проведение мониторинга эстрогенных эффектов загрязнения в зал. Петра Великого. Вителлогенины рыб различаются между собой молекулярной массой и аминокислотным составом, поэтому основная задача, которая решалась на первом этапе исследования, – это выделение, очистка и получение доказательств того, что полученный белок относится к вителлогенинам.

Из плазмы эстроген-стимулированных камбал фракцию вителлогенинов выделили методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации. При электрофоретическом разделении в 7.5% полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии ДДС и 2-меркаптоэтанола (денатурирующие условия) вителлогенин распался на несколько полипептидов. Молекулярная масса преобладающих полипептидов соответствует 180, 98, 70, 52, 41 и 37 кДа. В условиях нативного электрофореза в 4.5% ПААГ Vtg выявляется в виде одной полосы белка в верхней части геля, что свидетельствует о том, что полипептиды, выявленные методом денатурирующего электрофореза по Лэммли, являются составными частями единого белкового комплекса.

Два самых крупных полипептида вителлогенина с молекулярными массами 180 (Vtg 180 кДа) и 98 кДа (Vtg 98 кДа) были вырезаны из геля и обработаны трипсином для проведения масс-спектрометрического анализа (MALDI TOF MS). В результате анализа трипсинизированных пептидов получены величины отношений массы этих пептидов к заряду ( $m/z$ ), которые представлены на рисунке. Величины  $m/z$  были использованы для идентификации пептидов и поиска их первичных аминокислотных последовательностей посредством поискового сервиса Mascot Search. Проведя поиск в базе данных NCBI, установлено, что наибольшим сходством с Vtg полосатой камбалы обладает Vtg белокорого палтуса *Hippoglossus hippoglossus*. В составе вителлогенина *H. hippoglossus* присутствуют 17 пептидов с величинами  $m/z$  близкими к таковым, полученным для Vtg 180 кДа и 15 пептидов с  $m/z$  величинами, полученным для Vtg 98 кДа *L. pinnifasciata* (Таблица). В целом, в составе вителлогенинов



белокорого палтуса и полосатой камбалы обнаружено 32 пептида со сходными  $m/z$  величинами, из них 8 (K.ALSDWR.A, K.ALHPELR.M, R.AEGVQEAILK.I, K.LQLLPVQGID K.I, K.IASAIVETYAVAR.N, K.LENQMTLLGQESK.C, K.MIQDIAIQLF MGK.A, K.YEAVLMGGLPEEGLAR.A) неспецифические, у полосатой камбалы они характерны для обоих полипептидов массами 180 и 98 кДа. Другие

9 пептидов (K.VVDWMR.G, K.THYVISEDVK.A, K.VQGYQIAAYFDK.A, R.DQSQEQNEINVK.I, R.ANPTSQPLGSLYVK.F, R.TYLAGAYADVL EVGVR.A, K.STDVQEEAEANLACR.C, R.LQVIVANLAENDHYR.I, K.TQNVYELQEPGVQIGICK.T) являются специфичными для Vtg 180 кДа, и 7 пептидов (K.IPVEPIK.A, R.VHTIVPGK.I, K.DIGLAYTEK.C, K.DCPLYAIPGK.H, K.LLPGFGSAAAANLPLR.V, K.LVDPEIFEYSGIWPK.D, K.DEGIALHAPNHGLQEVFLDLNALK.V) характерны только для Vtg 98 кДа *L. pinnifasciata*.

На втором месте по сходству с вителлогенином *L. pinnifasciata* располагаются вителлогенины вераспера Мозера *Verasper moseri*. В базе данных NCBI выявлены 26 пептидов вителлогенинов вераспера Мозера, значения  $m/z$  которых близки с полученными нами в результате MALDI TOF MS для полосатой камбалы. Пептиды, идентифицированные для Vtg 180 кДа *L. pinnifasciata* (K.ALSDWR.A, K.VVDWMR.G, K.ALHPELR.M, R.AEGVQEAILK.I, K.LQLLPVQGID K.V, K.IANLDVDMYPR.D, K.VQGYQIAAYFDK.A, R.DQSQEQNEINV K.I, R.ANPTSQPLGSLYVK.F, K.MIQDIAIQLFMGK.A, R.TYLAGAYA DVLEVGVR.A, K.YEAVLMGGLPEEGLAR.A, K.TQNVYELQEPGVQIGICK.T) соответствуют таковым вителлогенина типа В вераспера Мозера (Vtg B V. *moseri*).

Пептиды, идентифицированные для Vtg 98 кДа *L. pinnifasciata* (K.ALHPELR.M, R.IVPLIPAK.L, K.ILNPVLGR.L, K.DIGLAYTEK.C, R.TEGLQEALLK.N, K.FLELIQVLR.A, R.IMQALSHWR.S, K.LEMEIQVGP K.A, K.TLYAITEDEK.A, K.SSNQLSATLIATSDR.E, K.AGAFLAGAAA DVVEVGVR.T, K.YEALLSGLPEEGLAR.A, K.LVEPELFEYSGVWPK.D), характерны для вителлогенина типа А у того же вида (Vtg A V. *moseri*). При этом, один из пептидов K.ALHPELR.M является

неспецифическим, он выявлен в обоих исследованных полипептидах Vtg *L. pinnifascita* и в вителлогенинах типов А и В *V. moseri*.

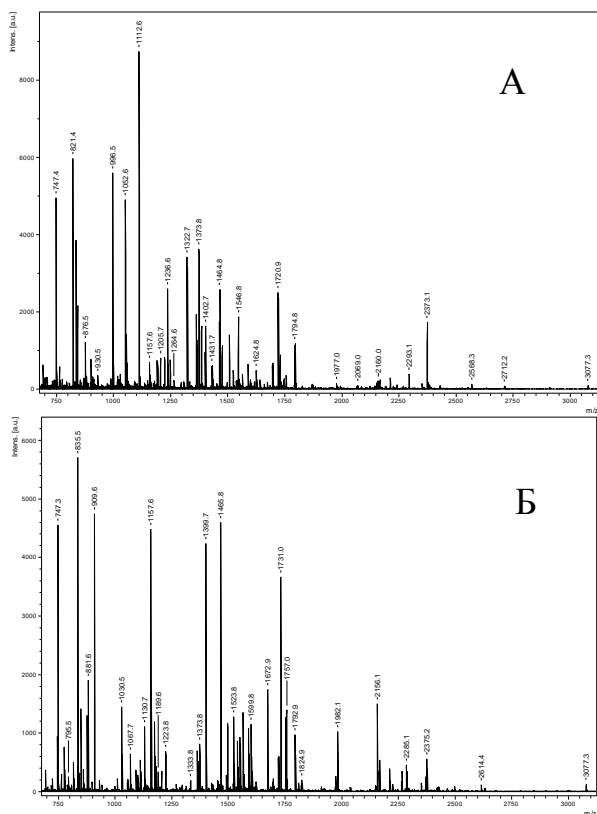


Рисунок 1. Спектры m/z величин трипсинизированных пептидов Vtg 180 кДа (А) и Vtg 98 кДа (Б)

Некоторые из выявленных пептидов, такие как K.IASAVETYAVAR.N, R.LQVIVANLAENDHYR.I, K.DEGIALHAP NHGLQEVFLDLNALK.V, K.LENQMTLLGQESK.C, K.STDVQEEAEANLACR. С обнаруживаются только у небольшого числа видов, в частности, в вителлогенине *H. hippoglossus*. Другой пептид, K.THYVISEDVK.A, часто представлен в вителлогенинах рыб, он обнаружен у *H. hippoglossus*, *Platichthys flesus*, *Pleuronectes platessa*

и *Melanogrammus aeglefinus*, но не выявляется у *V. moseri*. Пептид K.IANLDVDMYPR.D характерен только для Vtg *V. moseri* и не обнаруживается со 100% идентичностью в вителлогенинах других видов рыб.

У костистых рыб существуют несколько типов вителлогенинов, каждый из них играет свою уникальную роль в процессах роста и созревания ооцитов и развитии эмбрионов. Разные типы вителлогенинов отличаются по строению, следовательно, они обладают различными молекулярными массами при электрофоретическом разделении в денатурирующих условиях. В настоящей работе установлено, что два самых крупных полипептида с высокими молекулярными массами, полученные при электрофоретическом разделении вителлогениновой фракции полосатой камбалы, относятся к вителлогенинам разных типов, тогда как минорные полипептиды являются, вероятно, продуктами деградации данного белка.

В результате MALDI-TOF анализа полипептидов 180 и 98 кДа Vtg полосатой камбалы выявлены  $m/z$  величины пептидов, которые ранее были установлены для вителлогенинов белокорого палтуса и вераспера Мозера, таким образом, получено доказательство, что выделенный белок является вителлогенином. Поскольку аминокислотные последовательности Vtg 180 кДа *L. pinnifasciata* совпадают с сиквенсами Vtg B *V. moseri*, а последовательности Vtg 98 кДа *L. pinnifasciata* совпадают с сиквенсами Vtg A *V. moseri*, можно заключить, что у *L. pinnifasciata* синтезируется, по меньшей мере, два типа вителлогенина.

Таблица 1

Сравнительный анализ величины m/z пептидов вителлогенинов белокорого палтуса (Vtg *H. hippoglossus*) и полосатой камбалы (Vtg 180 кДа и Vtg 98 кДа *L. pinnifasciata*)

m/z (эксп) Vtg 180 кДа <i>L. pinnifasciata</i>	m/z (эксп) Vtg <i>H. hippoglossus</i>	пептиды Vtg <i>H. hippoglossus</i>	m/z (эксп) Vtg 98 кДа <i>L. pinnifasciata</i>	m/z (эксп) Vtg <i>H. hippoglossus</i>	пептиды Vtg <i>H. hippoglossus</i>
747.4091	746.4018	<b>K.ALSDWR.A</b>	747.3497	746.3425	<b>K.ALSDWR.A</b>
821.4510	820.4437	K.VVDWMR.G	795.4910	794.4838	K.IPVEPIK.A
835.5339	834.5266	<b>K.ALHPELR.M</b>	835.4720	834.4647	<b>K.ALHPELR.M</b>
1057.6847	1056.6774	<b>R.AEGVQEAILK.I</b>	850.5750	849.5677	R.VHTIVPGK.I
1190.7181	1189.7108	K.THYVISEDVK.A	1009.5527	1008.5455	K.DIGLAYTEK.C
1223.8428	1222.8355	<b>K.LQLLPVQGIDK.I</b>	1057.6053	1056.5980	<b>R.AEGVQEAILK.I</b>
1363.8797	1362.8724	<b>K.IASAIVETYAVAR.N</b>	1092.5239	1091.5166	K.DCPLYAIIIGK.H
1402.8160	1401.8087	K.VQGYQIAAYFDK.A	1223.7768	1222.7696	<b>K.LQLLPVQGIDK.I</b>
1431.7882	1430.7809	R.DQSSEQNEINVK.I	1363.8040	1362.7967	<b>K.IASAIVETYAVAR.N</b>
1474.8932	1473.8859	R.ANPTSQPLGSLYVK.F	1490.7239	1489.7166	<b>K.LENQMTLLGQESK.C</b>
1506.8564	1505.8491	<b>K.LENQMTLLGQESK.C</b>	1496.8911	1495.8838	K.LLPGFGSAAANLPLR.V
1523.8785	1522.8712	<b>K.MIQDIAIQLFMGK.A</b>	1523.7984	1522.7911	<b>K.MIQDIAIQLFMGK.A</b>
1697.0050	1695.9977	R.TYLAGAYADVLEVGV.R.A	1720.8843	1719.8771	<b>K.YEAVLMGGLPEEGLA R.A</b>
1720.9711	1719.9639	<b>K.YEAVLMGGLPEEGLAR.A</b>	1792.9485	1791.9412	K.LVDPEIFEYSGIWPK.D
1729.8981	1728.8909	K.STDVQEEAEHLACR.C	2614.3777	2613.3704	K.DEGIALHAPNHGLQEVF LDLNALK.V
1755.0312	1754.0239	R.LQVIVANLAENDHYR.I			
1977.0663	1976.0590	K.TQNVYELQEPGVQGICK.T			

Примечание: пептиды, присутствующие в обоих полипептидах полосатой камбалы, выделены жирным шрифтом.

# АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ВНЕШНЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА ЯДЕРНОГО РИБОСОМНОГО ОПЕРОНА (ETS RDNA) В СЕМ. CRASSULACEAE DC

Шохрина В.В. (студентка)<sup>1</sup>, Гончаров А.А. (в.н.с.)

<sup>1</sup>Школа естественных наук, ДВФУ, г. Владивосток;

<sup>2</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток  
valya.shokhrina@yandex.ru

Рибосома является важнейшим немембранным органоидом живой клетки, состоящим из большой и малой субъединиц. Основу рибосом составляют рибосомные рибонуклеиновые кислоты (рРНК), главной функцией которых является трансляция — считывания информации с мРНК, при помощи адапторных молекул тРНК и катализ образования пептидных связей между присоединёнными к тРНК аминокислотами. Как правило, у эукариот рРНК гены организованы в tandemно повторяющиеся опероны, насчитывающие несколько сотен копий, нередко локализованных в нескольких хромосомах.

Типичный рибосомный оперон состоит из трех генов, кодирующих рРНК (18S, 5.8S и 26S) и двух спейсерных участков, разделяющих гены внутри оперона (ITS1 и ITS2); еще один спейсер - межгенный спейсерный регион (IGS), разделяет опероны между собой.

Этот регион содержит несколько видов повторяющихся элементов (субповторов), различные типы энхансеров и промоутерные регионы, которые часто так же дублированы. Эти элементы играют важную роль в контроле транскрипции и процессинге рРНК.

Внешний транскрибируемый спейсер (ETS) является частью IGS. Различают 2 типа ETS: 3'- и 5'-, которые ограничивают 26S и 18S экзоны, соответственно. Недавно было установлено, что этот регион играет важную роль в регуляции транскрипции рибосом.

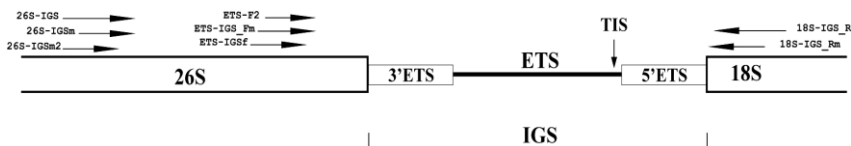


Рисунок 1. Схематическое изображение межгенного спейсерного региона рДНК и положение используемых в исследовании праймеров.

Хотя внешний транскрибируемый спейсер и не является классическим филогенетическим маркером, было показано, что этот регион быстрее накапливает мутации, чем ITS и поэтому может быть более информативен на уровне видов и популяций. Следует отметить, что изучение ETS сопряжено с трудностями из-за сложности амплификации и выравнивания последовательностей и, нередко, гипервариабельности этого участка. Как правило, амплификацию полного IGS региона проводят с помощью универсальных праймеров, комплементарных фланкирующим участкам генов 26S и 18S. Учитывая, что при этом, как правило, получают длинные ПЦР продукты, для их секвенирования необходим дизайн внутренних праймеров, специфичных для конкретного таксона.

Целью нашего исследования было оценить вариабельность и информативность для изучения филогении и филогеографии толстянковых (*Crassulaceae* DC.) внешнего транскрибируемого спейсера рибосомного оперона (ETS rDNA). Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи: 1) Создать праймеры для амплификации IGS и ETS rDNA у представителей семейства, 2) получить последовательности этого участка для модельных популяций, 3) провести сравнительный анализ основных характеристик IGS и ETS rDNA и определить параметры эволюции их нуклеотидных последовательностей.

При проведении исследования использовали пробы ДНК толстянковых, хранящиеся в банке ДНК лаб. низших растений БПИ ДВО РАН и выделенные самостоятельно с использованием QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit (“Qiagen”, Hilden, Germany). Для амплификации IGS региона использовали различные комбинации праймеров (табл. 1).

Учитывая известные сложности в амплификации рибосомной ДНК, дизайн праймеров был нацелен на возможность реамплификации продуктов первичной ПЦР. Однако, несмотря на большое число возможных комбинаций праймеров, успех ПЦР был не высоким (как правило, < 50% в популяции). Поскольку наши праймеры комплементарны кодирующим участкам рРНК генов, консервативных у широкого спектра растений, можно предположить, что проблемы с

амплификацией IGS обусловлены особенностями последнего, возможно, его сложной вторичной структурой.

Таблица 1

Праймеры, разработанные для амплификации IGS участка в семействе толстянковых, на основе имеющихся в Генбанке последовательностей 18S, 26S и IGS

Название	5'-3' последовательность
ETS-IGSf	AGTTCACGTACGGCGGCSTTTTA
ETS-IGS_Fm	TTCACGTACGGCGGCSTTTTAGCC
ETS-F2	CGTACGGCGGCSTTTTAGCC
26S-IGS	GATTGTTTACCCACCAATAGGGAACGTGAGCTG
26S-IGSm	CACCCACCAATAGGGAACGTGAGCTG
26S-IGSm2	GGATTGTTTACCCACCAATAGGGAACG
18S-IGS_R	GAGACAAGCATATGACTACTGGCAGGATCAACCAG
18S-IGS_Rm	TGACTACTGGCAGGATCAACCAGG

Всего нами было получено 25 продуктов амплификации IGS для 5 популяций толстянковых (*Orostachys* sp., *O. spinosa*, *O. iwarengii* и *Hylotelephium purpureum*). Примечательно, что ПЦР продукты, полученные для растений из одной популяции, существенно различались по длине. Как правило, в одной популяции присутствовали «короткие» (300-500 пн) и «длинные» (600-1200 пн) варианты ампликонов IGS. Эти различия были обусловлены делецией значительной части (G и/или H доменов 26S), а так же 3'-ETS. При этом сохранились типичные для остальных растений последовательности 5'-ETS и 5'конца 18S, но у некоторых продуктов отсутствовал предваряющий их сайт инициации транскрипции (TIS). В целом IGS участок характеризовался повышенным содержанием ГЦ оснований ( $52,7 \pm 0,3\%$ ), что характерно для рДНК.

Секвенирование IGS региона толстянковых выявило необычно высокую вариабельность этого участка в пределах популяций, выражающуюся не только в заменах отдельных нуклеотидов, но и в

существенных перестройках общей структуры региона (отсутствие некоторых доменов 26S, 3'-ETS, TIS) у отдельных индивидуумов. Можно предположить, что короткие ПЦР продукты являются псевдогенами рРНК, однако у них сохранились типичные для большинства растений 5'-ETS и 5' конец 18S, что не характерно для псевдогенов. Необходимы дальнейшие исследования для изучения данного феномена.

**ВОЗДЕЙСТВИЕ АКТИВАТОРА КАЛЬЦИЕВЫХ  
КАНАЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ РЕЗВЕРАТРОЛА,  
ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ SA2+-ЗАВИСИМЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ  
И СТИЛЬБЕН-СИНТАЗ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ВИНОГРАДА  
*VITIS AMURENSIS***

Шумакова О.А. (студентка)<sup>1,2</sup>, Киселев К.В. (ст.н.с.)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Школа естественных наук, ДВФУ*

<sup>2</sup>*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток  
shumakova\_olga91@mail.ru*

Резвератрол выделяется среди полифенолов растений тем, что он мощный антиоксидант, активность которого превосходит активность витамина Е (de la Lastra and Villegas, 2007). Резвератрол имеет большой потенциал для применения в фитотерапии и фармакологии (Shankar et al., 2007). К основным источникам резвератрола относят виноград, в том числе и дикий виноград *Vitis amurensis* Rupr. В растениях содержание этого вещества невелико, и необходимо довольно долгое время для их выращивания, поэтому получать резвератрол таким способом невыгодно. Клеточные культуры винограда, при условии их высокой целевой продуктивности, могли бы стать альтернативным источником резвератрола. Однако известно, что содержание резвератрола в клеточных культурах растений обычно ниже необходимого для использования этих культур в промышленном производстве стильбенов (Donnez et al., 2009), поэтому следует индуцировать биосинтез резвератрола с помощью методов биотехнологии.

Биосинтез стильбенов, в том числе и резвератрола, идет фенилпропаноидным путем (Langcake and Pryce, 1977). Стильбен-синтаза (STS, EC 2.3.1.95) – это фермент, который непосредственно



синтезирует резвератрол. Известно, что у растений семейства Vitaceae STS представлены мультигенным семейством. Однако, на сегодняшний день сигнальные пути, регулирующие биосинтез стильбенов, полностью не изучены. Но установлено, что несколько вторичных мессенджеров, особенно  $Ca^{2+}$ , активно вовлечены в регуляцию биосинтеза стильбенов (Aziz et al., 2003b; Poinssot et al., 2003; Vandelle et al., 2006; Kiselev et al., 2007). К группе регуляторных белков растений, связывающих  $Ca^{2+}$ , относятся  $Ca^{2+}$ -зависимые протеинкиназы (CDPK) (Roberts and Harmon, 1992). Показано, что увеличение накопления фитоалексинов коррелирует с повышением активности CDPK, при этом наблюдали индуцибельные и конститутивные формы CDPK (Ramani and Chelliah, 2007).

Мы исследовали влияние разных концентраций (0, 1, 10 mM) активатора кальциевых каналов Calcium Ionophore (CI, A23187), а также влияние избыточной концентрации кальция в питательной среде на продукцию резвератрола и экспрессию генов STS и CDPK в культуре клеток винограда *V. amurensis*. В работе мы использовали культуру клеток *V. amurensis* V2, которая была получена сотрудниками лаборатории биотехнологии БПИ ДВО РАН в 2004 году. Содержание резвератрола определяли с помощью ТСХ и ВЭЖХ (Kiselev et al., 2007). Экспрессию генов STS и CDPK анализировали с помощью ПЦР в реальном времени по ранее описанной методике (Kiselev et al., 2009). Подтверждали полученные результаты по экспрессии генов CDPK с помощью анализа частоты встречаемости клонированных ПЦР продуктов (Kiselev and Dubrovina, 2010).

Нами показано, что содержание резвератрола достоверно увеличивалось в 3 раза при добавлении 1 mM CI, в то время как 10 mM CI значительно ингибировало прирост клеток, и как следствие, продукция резвератрола уменьшалась в 2 раза. Повышение содержания резвератрола сопровождалось увеличением экспрессии генов STS1, STS2, STS5, STS6. Добавление CI в питательные среды по-разному влияло на экспрессию генов CDPK: 10 mM концентрация CI достоверно ингибировала в 2 раза экспрессию транскриптов CDPK1a и CDPK3a, но достоверно активировала экспрессию транскриптов

CDPK1b, CDPK1e, CDPK2a. Экспрессии транскриптов CDPK1e, CDPK1L и CDPK2a были достоверно выше при добавлении 1 mM Cl. Избыточная концентрация ионов кальция в питательной среде увеличивало экспрессию генов CDPK1L и CDPK2a, но существенно не влияла на содержание резвератрола и экспрессию генов STS.

Полученные результаты демонстрируют, что с помощью активатора кальциевой сигнальной системы можно увеличить содержание резвератрола в клетках винограда до 3 раз (до 0.03% от сухой массы клеток). Активация кальциевых каналов сопровождается изменением экспрессии генов: как ингибированием, так и увеличением экспрессии разных форм CDPK, и увеличением экспрессии STS. Таким образом, наше исследование показывает, что активация кальциевой сигнальной системы приводит к увеличению биосинтеза резвератрола.

#### **ХИРОНОМИДЫ (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ПИТАНИИ РЫБ**

Яворская Н.М. (н.с.)

*Хабаровский филиал Тихоокеанского научно-исследовательского  
рыбохозяйственного центра (Хф ТИНРО), г. Хабаровск  
yavorskaya-tinro@mail.ru*

Семейство хирономид (Chironomidae) относится к отряду Diptera, подотряду Nematosea – длинноусых двукрылых насекомых, инфраотряду Culicomorpha, надсемейству Chironomoidea. По числу видов семейств, входящих в инфраотряд Culicomorpha выводит Chironomidae на первое место [5]. В настоящее время для мировой фауны хирономид известно не менее 5000 видов из 440 родов [8].

Изучение хирономид имеет большое практическое значение для человека, так как в рыбоводстве всегда предпочтительнее использовать для подращивания молоди рыб живой корм в виде личинок хирономид, который является для них изысканным и приоритетным. По данным А.С. Константинова [2], активная избираемость рыбами личинок хирономид объясняется тем, что последние обладают высокой пищевой ценностью по содержанию белка (66 %), жира (8 %), и золы (10 %) в сухом веществе и занимают первое место среди других гидробионтов, а их калорийность составляет 2,34 кал/г, что в несколько раз превышает калорийность моллюсков (0,63 кал/г). В пищевом коме

личинки хирономид составляют до 100 % по частоте встречаемости и 99 % по массе. По сравнению с личинками, куколки хирономид играют меньшую роль, достигая в желудках до 18,6 % по массе.

В настоящее время существует большое количество научной литературы, посвящённой изучению питания рыб. Проанализировав 59 литературных источников, представляющие для нас наибольший интерес и используя наши данные, мы увидели, что в пище 68 видов рыб, относящихся к 15 семействам встречаются личинки и куколки хирономид, в том числе: Acipenseridae (2 вида), Bagridae (4 вида), Channidae (1 вид), Coregonidae (2 вида), Cottidae (5 видов), Cyprinidae (25 видов), Eleotrididae (1 вид), Gasterosteidae (4 вида), Lotidae (1 вид), Osmeridae (5 видов), Percidae (1 вид), Pleuronectidae (1 вид), Salmonidae (13 видов), Siluridae (1 вид), Thymallidae (2 вида).

В рационе 68 видов рыб встречаются 328 видов и форм личинок и куколок хирономид относящихся к 5 подсемействам: Orthoclaadiinae (36 родов), Chironominae (29 родов), Diamesinae (9 родов), Prodiamesinae (3 рода), Tanypodinae (9 родов); не определённые таксоны. Основная роль в питании принадлежит видам из подсем. Chironominae (42 %) и Orthoclaadiinae (29 %), второстепенная – Diamesinae (10 %), Tanypodinae (7 %) и Prodiamesinae (3 %). Не определённые виды хирономид составили 8 %.

Личинки Orthoclaadiinae, Diamesinae, Prodiamesinae обитают преимущественно на каменистых и гравийно-галечниковых грунтах. Представители Chironominae и Tanypodinae могут обитать на различных биотопах.

Температура имеет наиважнейшее значение в функционировании водных экосистем и оказывает прямое и опосредованное воздействие на все жизненные стадии хирономид. Холодные и тёплые озёра имеют специфические сообщества хирономид: обычно крупные Chironomini и Tanypodinae адаптированы к тепловодным условиям, в то время как мелкие Orthoclaadiinae, Tanytarsini, Diamesinae и Podonominae более холодоустойчивы. Chironomini начинают доминировать в фауне при росте температуры и трофности и, соответственно, снижением уровня растворённого

кислорода. При низких температурах личинки крупных теплолюбивых таксонов не способны завершать цикл развития вследствие снижения уровня метаболизма. Другим лимитирующим фактором может служить недостаток пищи в холодных олиготрофных озёрах. В литорали этих озёр начинают доминировать холодноводно стенотермные виды, включая профундальные виды более теплых озёр, а так же виды, типичные для речных условий (например, *Diamesa* Meigen, 1835, *Heterotrissocladius* Spdrck, 1923, *Tanytarsus* gr. *lugens*). И, наоборот, при повышении температуры, может наблюдаться перемещение холодноводных видов в профундальную зону [4].

Все указанные пять подсемейств хирономид обнаружены в рационе молоди кеты (*Oncorhynchus keta*). Среди них преобладают ортокладинины (44 %), потом следуют хирономины (27 %), диамезины (15 %), таниподины (7 %) и продиамезины (3 %). Не определённые виды составили 4 %. Помимо этого, молодь кеты, из всех видов рыб, всегда доминировала по числу употребляемых таксонов хирономид.

Представители подсем. Chironominae отмечены в питании 43 видов рыб, относящихся к 12 семействам. Больше всего в пищу используются виды из родов *Endochironomus*, *Cryptochironomus*, *Polypedilum*, *Chironomus*, *Tanytarsus* и *Stictochironomus*. Длина их личинок достигает до 30 мм [7]. Из *Polypedilum* чаще всего встречается в пищевом рационе рыб вид *P. (T.) scalaenum*; из *Endochironomus* и *Cryptochironomus* – *E. tendens* и *C. (C.) defectus*. Больше всего таксонов из подсем. Chironominae используют пёстрый конь (*Hemibarbus maculatus*), косатка Бражникова (*Pelteobagrus nitidus*), косатка-скрипун (*Pseudobagrus fulvidraco*), амурский чебачок (*Pseudorasbora parva*), конь-губарь (*Hemibarbus labeo*), амурский сазан (*Cyprinus rubrofuscus*), сибирский пескарь (*Gobio cynocephalus*), длиннохвостный пескарь (*Saurogobio dabryi*), пескарь-лень (*Sarcocheilichthys sinensis*), пескарь Солдатова (*Gobio soldatovi*), мальма (*Salvelinus malma*), китайский карась (*Carassius auratus*), молодь горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*), острорылый ленок (*Brachymystax lenok*) и амурский хариус (*Thymallus* sp.1). В питании остальных видов рыб личинки хирономин упоминаются единично.

Виды подсем. Orthocladiinae обнаружены в пищеварительном тракте у 37 видов рыб из 6 семейств. Наиболее часто используются *Orthocladius*, *Cricotopus* и *Eukiefferiella*. Личинки их достигают в длину 12 мм (Определитель..., 2006). Предпочитают потреблять представителей подсем. Orthocladiinae молодь горбуши, амурский чебачок, мальма, амурский хариус, конь-губарь, косатка Бражникова, острорылый ленок и пескарь Солдатова. В пищевом рационе остальных рыб ортокладиины представлены единично.

Представители подсем. Tanypodinae найдены в питании 30 видов рыб из 8 семейств. Личинки таниподин достигают в длину 10 мм [6]. Чаще всего встречаются *Ablabesmyia* и *Procladius* и именно их предпочитают использовать в пищу косатка-скрипун, косатка Бражникова, острорылый ленок, пёстрый конь, конь-губарь, амурский сазан и амурский хариус.

Представители подсем. Prodiamesinae указываются в питании 21 вида рыб из 5 семейств. По встречаемости в пище рыб преобладают виды из рода *Prodiamesa*. Их личинки вырастают в длину до 13 мм [6]. В большей степени предпочитают употреблять продиамезин амурский чебачок и косатка Бражникова, в меньшей – амурский сазан и конь-губарь. В питании остальных видов рыб личинки хириноmid данного подсемейства упоминаются единично.

Виды подсем. Diamesinae найдены в пищевом рационе 15 видов рыб из 5 семейств. Пользуются «популярностью» у рыб крупные личинки *Syndiamesa* и *Diamesa*. Достигают они в длину 12 мм и, благодаря этому, создавая огромную биомассу в водотоках, служат излюбленной пищей для молоди кеты [3]. Больше всего диамезин употребляет в пищу амурский хариус, потом следуют острорылый ленок, горбуша и мальма. В пищевом рационе остальных видов рыб личинки Diamesinae используются единично.

Личинки и куколки хириноmid определённые только до группы видов обнаружены в питании 53 видов рыб из 14 семейств, среди которых, по количеству таксонов, доминирует сем. Salmonidae.

Таким образом, 68 видов рыб на определённой стадии своего жизненного цикла (в большинстве – молодь), употребляют в пищу

хириноид, при колебаниях от 0,1 % до 37 %. В большей степени питаются ими только 18 видов рыб относящихся к 4 семействам (Cyprinidae, Salmonidae, Bagridae, Thymallidae).

По данным Е.Д. Васильевой [1], семейство Cyprinidae включает более 270 родов и 1500 видов пресноводных и проходных рыб, которые широко распространены и отсутствуют только в Южной Америке и на о. Мадагаскар. Биологически карповые очень разнообразны. Сильно отличаются они и по характеру питания, и по морфологии аппарата захватывания и освоения пищи, в связи с этим, среди карповых есть виды, фито- и зоопланктофаги, полифаги, фитофаги, зоофаги, бентофаги. Семейство Salmonidae включает 9 родов проходных и пресноводных рыб Северного полушария, распространённых, преимущественно, в бассейнах рек Северного Ледовитого и северных частей Тихого и Атлантического океанов в пределах всех материков. В России обитает более семнадцати видов лососевых рыб. Семейство Bagridae включает 15 родов пресноводных рыб отряда сомообразных. Населяют они самые различные стации, и по типам питания являются бентофагами, зоофагами и полифагами. Семейство Thymallidae включает 1 род и 7 видов пресноводных рыб отряда лососеобразных. Хариусы обитают в реках с быстрым течением и каменистым дном и питаются личинками и имаго насекомых, ракообразными, моллюсками, мелкой рыбой.

Меньше всего употребляют в пищу хириноид представители семейств Channidae и Lotidae, так как они очень быстро растут и практически сразу становятся хищниками.

Таким образом, больше всего питаются личинками и куколками хириноид молодь кеты. Следовательно, их пищевой рацион определяется его доступностью по размерам, образом жизни и его сезонной динамикой. Другие бентосоядные рыбы употребляют, помимо хириноид, и других доступных им личинок амфибиотических насекомых, однако, хириноиды, всё равно остаются неотъемлемой составной частью их пищевого рациона.

#### Литература:

1. Васильева Е.Д. Популярный атлас-определитель. Рыбы. М.: Дрофа, 2004. 400 с.
2. Константинов А.С. Хирономиды бассейна р. Амур и их роль в питании амурских рыб / Труды АИЭ 1945–1949 гг. Т. 1. 1950. С. 147–286.
3. Макаренко Е.А. Хирономиды Дальнего Востока СССР. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1985. 200 с.
4. Назарова Л.Б., Брукс С.Д. Хирономиды (Diptera, Chironomidae) в палеоклиматических исследованиях // Евразийский энтомологический журнал. 3 (4). 2004. С. 300–306.
5. Нарчук Э.П. Комары семейства Chironomidae – наиболее адаптированные к водной среде двукрылые насекомые (Diptera) // Евразийский энтомологический журнал. Новосибирск-Москва, Т. 3, Вып. 4. 2004. С. 259–264.
6. Определитель насекомых Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука. Т. 6, ч. 4. 2006. 936 с.
7. Панкратова В.Я. Личинки и куколки комаров подсемейства Chironominae фауны СССР (Diptera, Chironomidae=Tendipedidae) // Определители по фауне СССР, издаваемые Зоологическим институтом АН СССР. 1983. Вып. 134. 296 с.
8. Oliver D.R., Dillon M.E., Cranston P.S. A catalog of Nearctic Chironomidae // Res. Branch Agric. Canada. 1990. P. 1–89.

# АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИИ, МОРСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Материалы X Региональной конференции студентов,  
аспирантов вузов и научных организаций  
Дальнего Востока России

Отпечатано с оригинал-макета,  
предоставленного заказчиком,  
минуя редподготовку

Формат 60x84\16, объем 19,5 печ. Л.  
Печать – ризограф, бумага офсетная.  
Гарнитура Times. Тираж 150 экз.  
Заказ № 700 от 25.04.2011 г. тираж 150 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Рея»  
Г. Владивосток, ул. Днепровская, 42б  
тел. (4232) 333-117, 40-99-38  
e-mail: reya@raya.ru