

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
Taras Shevchenko National University of Kyiv
Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины
O.V. Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine
Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
V.I. Vernadsky Taurida National University
Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
Institute of Bioorganic and Oil Chemistry National Academy of Sciences of Ukraine
Российский государственный гидрометеорологический университет
Russian State Hydrometeorological University
Украинское биофизическое общество
Ukrainian Biophysical Society
Украинское биохимическое общество
Ukrainian Biochemical Society
Украинское физиологическое общество
Ukrainian Physiological Society

Междисциплинарная научная конференция

АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ

**Новый Свет, Крым, Украина
11–16 июня 2012**

Тезисы докладов

Interdisciplinary Scientific Conference ADAPTIVE STRATEGIES OF LIVING SYSTEMS

**Novy Svet, AR Crimea, Ukraine
June 11–16, 2012**

Abstracts



**Киев
2012**

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели:

Д.б.н., профессор **Остапченко Л.И.**

Члены программного комитета:

Академик НАН Украины, д.б.н., проф.

Комисаренко С.В.

Академик НАН Украины, д.б.н., проф.

Крышталь О.А.

Академик НАН Украины, д.х.н., проф.

Кухарь В.П.

Чл.-кор. НАН Украины, д.б.н., проф.

Костерин С.А.

Д.б.н., проф. **Береговая Т.В.**

Д.б.н., проф. **Макарчук М.Ю.**

Д.б.н., проф. **Чуян Е.Н.**

Д.б.н., проф. **Кравец В.С.**

PROGRAM COMMITTEE

Co-Chairs:

prof. **Ostapchenko L.I.**

Members of Program Committee:

Academician of NAS of Ukraine, prof.

Komisarenko S.V.

Academician of NAS of Ukraine, prof.

Kryshtal O.A.

Academician of NAS of Ukraine, prof.

Kukhar V.P.

member of NASU, prof. **Kosterin S.O.**

prof. **Chuyan E.N.**

prof. **Beregova T.V.**

prof. **Kravets**

prof. **Makarchuk M.Yu.**

ОРГКОМИТЕТ

Д.б.н., проф. **Мартынюк В.С.**

(председатель)

Д.б.н., проф. **Мирошниченко Н.С.**

Д.б.н., проф. **Темурьянц Н.А.**

К.г.н. **Трубина М.А.**

К.б.н. **Цейслер Ю.В.**

К.б.н. **Шелюк О.В.**

ORGANIZING COMMITTEE

prof. **Martynyuk V.S.** (chair)

prof. **Miroshnichenko V.S.**

prof. **Temuryants N.A.**

PhD **Shelyuk O.V.**

PhD **Trubina M.A.**

PhD **Tseyslyer Yu.V.**

УДК 57.01/.08

ББК 28 Е

Тезисы докладов Научно-практической конференции «Адаптационные стратегии живых систем», 11 - 16 июня, 2012, Новый Свет, Украина. – Киев: Издатель В.С. Мартынюк, 2012. – 530 с.

ISBN 978-966-96879-8-2

Сборник тезисов докладов Научно-практической конференции «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения». Рассмотрен широкий круг междисциплинарных вопросов по проблеме получения и применения биологически активных веществ.

Рассчитан на участников конференции и широкий круг читателей, работающих в сфере получения и применения биологически активных веществ.

ISBN 978-966-96879-8-2

ББК 28 Е

© Авторы тезисов, 2012

© В.С. Мартынюк, 2012, дизайн, обложка

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, КЛЕТОЧНЫЕ И
СИСТЕМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ**

**MOLECULAR, CELL AND SYSTEM
MECHANISMS OF ONTOGENETIC
ADAPTATIONS**

ЗОНА ОПТИМАЛЬНОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА КАК КРИТЕРИЙ АДАПТАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ПОПУЛЯЦИИ НА ПРИМЕРЕ РАЗВИТИЯ КУКОЛОК ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBIX MORI*

Алексеева Т.А.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия
e-mail: taalexeeva@mail.ru

В начале прошлого века была выдвинута гипотеза о постоянстве суммарного потребления кислорода на единицу массы организма (СПК) за всю жизнь у представителей одного и того же вида животных. Дальнейшие исследования, однако, показали, что это не так, и СПК существенно зависит от условий среды (1-3). Эта зависимость выражается кривой параболического типа, минимум которой приходится на оптимальное для популяции значение параметра среды обитания. Более того, зависимость параболического типа от того или иного внешнего фактора наблюдается для СПК, измеренного не только за всю жизнь, но и за определенную стадию развития животного.

Вблизи от точки оптимума СПК изменяется незначительно и существует некоторый интервал значений изучаемого фактора, в пределах которого изменением СПК можно пренебречь. А.И. Зотин (3) обозначил величину такого интервала, значения СПК для которого различаются не более чем на 10%, термином "зоной оптимальности" и предположил, что величина зоны оптимальности является критерием устойчивости развития (гомеореза). Чем больше зона оптимальности, тем легче организм переносит изменения условий среды обитания. То есть, зона оптимальности тесно связана с адаптационными способностями представителей той или иной популяции животных.

С другой стороны, по мнению большинства исследователей (4) способность к адаптации тем лучше, чем больше степень гетерозиготности популяции. Таким образом, если гипотеза А.И. Зотина верна, то должна наблюдаться положительная корреляция между величиной зоны оптимальности и степенью гетерозиготности. Изучению этого вопроса на примере развития куколок тутового шелкопряда посвящена данная работа.

В работе использованы три линии тутового шелкопряда *Bombix mori*, L. (Insecta, Lepidoptera), выведенные в группе цитологии развития и регуляции пола ИБР РАН: 1. Высокогетерозиготный партеноклон с относительной гетерозиготностью 100%. 2. Гибрид (партеноклон с обоеполой гомозиготной линией) с относительной гетерозиготностью 50%. 3. Обоеполая гомозиготная линия (относительная гетерозиготность 0%) очищенная в значительной степени от полуплеталей и леталей.

Скорость потребления кислорода куколками определяли методом Варбурга при разных температурных условиях. На основании полученных данных рассчитывали СПК за период развития куколок по формуле $СПК = qT$, где q - средняя интенсивность потребления кислорода (скорость потребления кислорода, отнесенная к единице массы куколки); T - время развития куколок.

Зависимость СПК от температуры аппроксимировали уравнением параболы $СПК = at^2 + bt + c$, где t - температура; a , b , c - коэффициенты. Оптимальную температуру ($t_{опт}$) рассчитывали по формуле $t_{опт} = -b/2a$; величину зоны оптимальности (Z) - по формуле $Z = (0.4/a)^{0.5}$ (5).

Полученные результаты показывают, что величина оптимальной для развития куколок температуры приблизительно одинакова для всех исследованных линий тутового шелкопряда и составляет около 24°C. Зона оптимальности увеличивается с увеличением степени гетерозиготности популяции. Для гомозиготной линии зона оптимальности равна 7.6° (от 19.8°C до 27.4°C); для клона с относительной гетерозиготностью 50% - 9.2° (от 19.3°C до 28.5°C); для клона с относительной гетерозиготностью 50% - 11.2° (от 18.4°C до 29.6°C).

Таким образом, величина зоны оптимальности положительно коррелирует со степенью гетерозиготности и может служить в качестве критерия адаптационных способностей представителей популяции.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-04-00397-а) и Президиума РАН (программа "Живая природа: современное состояние и проблемы развития").

Литература

1. Зотин А.И. и Алексеева Т.А. (1984). Надежность и устойчивость онтогенезов // Термодинамика и регуляция биологических процессов. М.: Наука. С. 288-294.
2. Зотин А.И., Алексеева Т.А. и Озернюк Н.Д. (1989). Метод определения оптимальных условий развития по суммарному потреблению кислорода // Онтогенез. Т. 20. № 1. С. 103-107.
3. Зотин А. И. (1988). Термодинамическая основа реакции организмов на внешние и внутренние факторы. М.: Наука. 272 с.
4. Frankel O.H. and Soule M.E. (1981). Conservation and evolution. London & NY: Cambridge Univ. Press. 185 p.
5. Зотин А. И. и Зотин А.А. (1999). Направление, скорость и механизмы прогрессивной эволюции. Термодинамические и экспериментальные основы. М.: Наука. 320 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

OPTIMAL ZONE OF METABOLISM AS A CRITERION FOR ADAPTIVE CAPACITY OF POPULATION FOR DEVELOPMENT OF SILKWORM *BOMBIX MORI* PUPAE AS EXAMPLE

Alekseeva T.A.

N.K. Koltsov's Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia
e-mail: taalexeeva@mail.ru

At the beginning of last century one proposed that the total oxygen consumption per unit of body weight (TOC) over the life of specimens is constant. Further studies, however, have shown that it is not a true. The TOC strongly depends on environmental conditions (1-3). This dependence is expressed by a curve of parabolic type. The minimum of the curve coincide with the optimal for the population value of the environmental factor. Moreover, the dependence of the parabolic is observed for the TOC for entire life, but also for a certain stage of development of the animal.

Near the optimum point the TOC varies slightly, and there is a certain range of values of the factor, within which one can neglects by the change in TOC. A.I. Zotin (3) denoted the range, values of TOC within which are not differ by more than 10% by the term "optimal zone". He suggested that the range of the optimal zone can serve as criterion of developmental sustainability (homeorhesis). The larger the range of the optimal zone, the easier organism endures changes in environment. That is, the optimal zone is closely related to the adaptation abilities of representatives of animal populations.

On the other hand, most researchers (4) believe that the ability to adaptation is the better the greater the degree of heterozygosity of the population is. Thus, if the hypothesis of A.I. Zotin is true, we should observe a positive correlation between the size of the optimal zone and the degree of heterozygosity. To solve this problem we study the temperature dependence of TOC for the pupae of silkworm.

We used three lines of silkworm *Bombix mori*, L. (Insecta, Lepidoptera) bred in the group of developmental cytology and sex regulation of Institute of Developmental Biology RAS: 1. Partenogenetic line with relative heterozygosity of 100%. 2. The hybrid between lines 1 and 3 with the relative heterozygosity of 50%. 3. Bisexual homozygous line (relative heterozygosity of 0%), purified to a considerable extent from semi-lethal genes.

The rate of oxygen consumption by pupae at different temperatures was determined by Warburg's method. Based on these data TOC for the period of pupae according were calculated by the formula $TOC = qT$, where q is the average mass specific rate of oxygen consumption; T is time of pupal development.

Dependence TOC on temperature was approximated by the equation of a parabola $TOC = at^2 + bt + c$, where t is a temperature; a , b , c are coefficients. The optimum temperature (t_{opt}) was calculated by the formula $t_{opt} = -b/2a$; optimal value zone (Z) - according to the formula $Z = (0.4/a)^{0.5}$ (5).

The results show that the value of the optimum temperature for development of pupae is approximately the same for all the lines of the silkworm (about 24°C). The optimal zone increases with the degree of heterozygosity of the population. The homozygous line (relative heterozygosity of 0%) has optimal zone of 7.6° (from 19.8°C to 27.4°C); the line with the relative heterozygosity of 50% - 9.2°C (from 19.3°C to 28.5°C); the line with the relative heterozygosity of 100% - 11.2°C (from 18.4°C to 29.6°C).

Thus, the value of the optimal zone is positively correlated with the degree of heterozygosity and can serve as a criterion of adaptation abilities for the animal population.

The work was carried out with financial support from RFFI (grant № 12-04-00397-a) and the Presidium of RAS (program "Wildlife: Current Status and Problems of Development").

References

1. Zotin A.I. and Alekseeva T.A. (1984). Reliability and stability of ontogenesis // Thermodynamics and regulation of biological processes. Moscow: Nauka, S.288-294 [in Russian].
2. Zotin A.I. Alekseeva T.A., and Ozernyuk N.D. (1989). Determination of optimal conditions for the development of the total oxygen consumption // Ontogenesis. V. 20. N 1. P. 103-107 [in Russian].
3. Zotin A.I. (1988). The thermodynamic basis of the reaction of organisms to external and internal factors. Moscow: Nauka. 272 p.
4. Frankel O.H. and Soule M.E. (1981). Conservation and evolution. London & NY: Cambridge Univ. Press. 185 p.
5. Zotin A.I. and Zotin A.A. (1999). The direction, rate, and mechanisms of progressive evolution. Thermodynamic and experimental basis. Moscow: Nauka. 320 p.

МОДУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ цАМФ В СВЕТОВОЙ И ТЕМНОВОЙ АДАПТАЦИИ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ СЕТЧАТКИ ПОЗВОНОЧНЫХ

Астахова Л.А., Самойлюк Е.В., Говардовский В.И., Фирсов М.Л.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия
e-mail: lubkins@yandex.ru

Зрительная система позвоночных работает в очень широком диапазоне освещенностей, перекрывающем более 10 порядков. Такой широкий диапазон в значительной степени обеспечивается адаптационными механизмами фоторецепторных клеток - палочек и колбочек. По современным представлениям единственным внутриклеточным посредником в каскаде зрительной трансдукции позвоночных является цГМФ (циклический гуанозинмонофосфат), а Ca^{2+} регулирует каскад по типу отрицательной обратной связи. Существующие знания о работе данного каскада не способны объяснить всех процессов, происходящих в фоторецепторе при адаптации к свету или темноте. Накапливаются данные, что цАМФ (циклический аденозинмонофосфат) может регулировать различные функции в фоторецепторных клетках, связанные с циркадными ритмами (1, 2), а также ретиномоторные явления (3). Также были показаны выраженные колебания уровня цАМФ в фоторецепторах при переходах ночь/день (4). Кроме того, показано существование потенциальных мишеней цАМФ-регуляции в каскаде фототрансдукции (5-8). Все эти факты указывают на возможность модуляции каскада фототрансдукции цАМФ, но такая модуляция до сих пор не была показана.

Методы: Исследование проводили на сетчатках лягушки *R. ridibunda*. Свойства каскада фототрансдукции изучали путем регистрации тока одиночных палочек при помощи всасывающей микропипетки. Повышение внутриклеточного уровня цАМФ в палочках создавали путем аппликации активатора АЦ (аденилатциклазы) – форсколина (2 мкМ). Эффект 2 мкМ форсколина на внутриклеточный уровень цАМФ оценивали в дополнительных экспериментах методом мгновенного замораживания сетчатки (после инкубации с форсколином) и получения слоя наружных сегментов фоторецепторов.

Результаты: Измерение цАМФ в слое наружных сегментов фоторецепторных клеток показало, что инкубация сетчатки в растворе Рингера + 2 мкМ форсколина в течение 15 минут повышает уровень цАМФ в 2,5 раза. Воздействие той же концентрации форсколина на одиночные палочки вызывает повышение их чувствительности к свету в среднем в 2,13 раза, которое обусловлено замедлением выключения фототовета. Для выяснения механизмов эффекта цАМФ на чувствительность палочек дополнительно оценивалась базовая и светоиндуцированная активность ФДЭ-6 (фосфодиэстеразы 6 типа) в норме и при повышенном уровне цАМФ. Аппликация 2 мкМ форсколина приводит к понижению базовой активности ФДЭ-6 в 1,6 раз. Светоиндуцированная активность ФДЭ-6 определялась при разных фоновых засветках, в норме и при действии форсколина. При высоких интенсивностях фонового света форсколин повышает активность ФДЭ-6 до 2 раз. Также оценивалось влияние повышенного уровня цАМФ на активность гуанилатциклазы (ГЦ); наблюдаемый эффект выглядит как сдвиг чувствительности ГЦ к цитоплазматическому $[Ca^{2+}]_{int}$. Анализ начальной фазы насыщенных фототетов выявил рост кальциевого обменного тока в 1,6 раза при действии форсколина, что говорит о росте $[Ca^{2+}]_{int}$.

Выводы: Повышение уровня цАМФ в наружных сегментах палочек приводит к росту их чувствительности к свету. Частично рост чувствительности обусловлен повышением темнового $[Ca^{2+}]_{int}$: он объясняет замедление выключения фототовета и кажущийся сдвиг чувствительности ГЦ к Ca^{2+} . Механизм влияния уровня цАМФ на темновую активность ФДЭ-6 остается невыясненным. Мы предполагаем, что выявленные нами эффекты на чувствительность палочек могут возникать и в физиологических условиях и производить подстройку чувствительности в диапазоне суточных колебаний.

Исследование поддержано грантами РФФИ 08-04-01638 и 11-04-00892 для Фирсова М.Л. и субсидией для молодых кандидатов наук Правительства Санкт-Петербурга 2011 г. для Астаховой Л.А.

Литература

1. Iuvone PM. (1986) Evidence for a D2 dopamine receptor in frog retina that decreases cyclic AMP accumulation and serotonin N-acetyltransferase activity. *Life Sci.* 38(4):331-342.
2. Tosini G, Chaurasia SS, Iuvone MP. (2006) Regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase (AANAT) in the retina. *Chronobiol Int.*; 23(1-2):381-391.
3. Burnside B, Basinger S. (1983) Retinomotor pigment migration in the teleost retinal pigment epithelium. II. Cyclic-3',5'-adenosine monophosphate induction of dark-adaptive movement in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 24(1):16-23.
4. Chaurasia SS, Haque R, Pozdeyev N, Jackson CR, Iuvone PM. Temporal coupling of cyclic AMP and Ca/calmodulin-stimulated adenylyl cyclase to the circadian clock in chick retinal photoreceptor cells. *J Neurochem.* (2006) 99(4):1142-1150.
5. Horner TJ, Osawa S, Schaller MD, Weiss ER. (2005) Phosphorylation of GRK1 and GRK7 by cAMP-dependent protein kinase attenuates their enzymatic activities. *J Biol Chem.* 280(31):28241-50.
6. Willardson BM, Wilkins JF, Yoshida T, Bitensky MW. (1996) Regulation of phosphodiesterase phosphorylation in retinal rods by Ca^{2+} /calmodulin-dependent adenylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(4):1475-9.
7. Wolbring G, Schnetkamp PP. (1996) Modulation of the calcium sensitivity of bovine retinal rod outer segment guanylyl cyclase by sodium ions and protein kinase A. *Biochemistry.* 35(34):11013-8.
8. Peshenko IV, Olshevskaya EV, Dizhoor AM. (2004) Ca^{2+} -dependent conformational changes in guanylyl cyclase-activating protein 2 (GCAP-2) revealed by site-specific phosphorylation and partial proteolysis. *J Biol Chem.* 279(48):50342-9.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MODULATING ROLE OF cAMP IN THE DARK AND LIGHT ADAPTATION OF VERTEBRATE RETINAL PHOTORECEPTORS

Astakhova L.A., Samoiljiuk E.V., Govardovskii V. I., Firsov M.L.

Sechenov Institute RAS, St.-Petersburg, Russia
e-mail: lubkins@yandex.ru

Vertebrate visual system operates in a wide range of ambient illumination covering over 10 orders. This range is mostly due to adaptive mechanisms of photoreceptor cells - rods and cones. Now it is generally accepted that visual transduction is based on cGMP pathway with modulating calcium feedbacks. However current model could not explain all phenomena of phototransduction. Evidences accumulates that cAMP may control important functions in photoreceptors, such as retina circadian rhythms and photomechanical movement (1, 2, 3). cAMP undergo significant daily variations in total retinal content in vertebrate species (4). Additionally, cAMP has multiple putative targets for regulation within the phototransduction cascade (5-8). These facts points to cAMP as a putative cascade regulator.

Methods: *R. ridibunda* rod photocurrent was recorded using suction pipette technique with addition of fast solution change feature. Increasing intracellular levels of cAMP inside the rods were created by application of the adenylate cyclase activator - forskolin (2 μ M). cAMP level was measured using standard IFA technique.

Results: Application of 2 μ M of forskolin to frog retina for 15 minutes increased photoreceptors intracellular cAMP 2.5 fold. Elevation of intracellular cAMP evokes 2.13-times increase of rod sensitivity to weak flashes due to a progressive delay of the photoresponse turn-off. To clarify a target of the cAMP action in the phototransduction cascade, effects of cAMP on guanylyl cyclase (GC) and phosphodiesterase (PDE) were analyzed. It was found, that forskolin (high cAMP) decreases basal (dark) PDE activity 1.6 times and increase steady light-induced PDE activity up to 2 times at high background intensities. Additionally, it shifts regulation of guanylate cyclase (GC) activity toward smaller fraction of open channels. Forskolin also increases a size of calcium "exchange" current, which points to elevation of intracellular calcium concentration approximately 1.6 times.

Conclusions: Analysis shows that retardation of the cascade turn-off(s) and shift of the GC activity towards lower fraction of open channels could be due to elevated dark concentration of the cytoplasmic Ca^{2+} . Possible mechanism(s) of dark PDE activity control by cAMP remain unclear. We suggest that these regulations may have adaptive significance and improve the visual system performance when the latter switches between day and night light conditions.

Supported by RFBR grants 08-04-01638 and 11-04-00892 to Firsov ML and St. Petersburg Government's grant for the young investigators (to Astakhova LA).

References

1. Iuvone PM. (1986) Evidence for a D2 dopamine receptor in frog retina that decreases cyclic AMP accumulation and serotonin N-acetyltransferase activity. *Life Sci.* 38(4):331-342.
2. Tosini G, Chaurasia SS, Iuvone MP. (2006) Regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase (AANAT) in the retina. *Chronobiol Int.*; 23(1-2):381-391.
3. Burnside B, Basinger S. (1983) Retinomotor pigment migration in the teleost retinal pigment epithelium. II. Cyclic-3',5'-adenosine monophosphate induction of dark-adaptive movement in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 24(1):16-23.
4. Chaurasia SS, Haque R, Pozdeyev N, Jackson CR, Iuvone PM. Temporal coupling of cyclic AMP and Ca/calmodulin-stimulated adenylyl cyclase to the circadian clock in chick retinal photoreceptor cells. *J Neurochem.* (2006) 99(4):1142-1150.
5. Horner TJ, Osawa S, Schaller MD, Weiss ER. (2005) Phosphorylation of GRK1 and GRK7 by cAMP-dependent protein kinase attenuates their enzymatic activities. *J Biol Chem.* 280(31):28241-50.
6. Willardson BM, Wilkins JF, Yoshida T, Bitensky MW. (1996) Regulation of phosducin phosphorylation in retinal rods by Ca^{2+} /calmodulin-dependent adenylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(4):1475-9.
7. Wolbring G, Schnetkamp PP. (1996) Modulation of the calcium sensitivity of bovine retinal rod outer segment guanylyl cyclase by sodium ions and protein kinase A. *Biochemistry.* 35(34):11013-8.
8. Peshenko IV, Olshevskaya EV, Dizhoor AM. (2004) Ca^{2+} -dependent conformational changes in guanylyl cyclase-activating protein 2 (GCAP-2) revealed by site-specific phosphorylation and partial proteolysis. *J Biol Chem.* 279(48):50342-9.

ГИПОКСИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОЕ СОСТОЯНИЕ В МОДЕЛИ НА КРЫСАХ: РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ МОЗГА

Баранова К.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: ksentiappa@mail.ru.

Цель данного исследования состояла в анализе роли транскрипционных факторов (ТФ) мозга из различных семейств в механизмах адаптивного и патологического ответа на тяжелый травматический стресс. В гиппокампе, неокортексе и гипоталамусе крыс изучали динамику активации ТФ, относящихся к разным семействам: 1) при развитии тревожно-депрессивного состояния в модели посттравматического стрессового расстройства (ПТСР); 2) после применения гипоксического preconditionирования (ГП), предотвращающего развитие экспериментального ПТСР. Для гипоксия-индуцибельного ТФ HIF-1 α методом количественной иммуноцитохимии показано, что развитие тревожной патологии в модели ПТСР у крыс сопровождалось значительной и пролонгированной апрегуляцией HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе. У ГП (360 Торр, 2 ч, трехкратно с интервалом 24 ч) животных, не развивающих ПТСР, выявлено частичное либо полное нивелирование этих нарушений. Индукция экспериментального ПТСР сопровождалась также устойчивым повышением содержания во всех исследованных областях мозга продукта раннего гена - ТФ c-Fos. При этом максимальные изменения обнаруживались в верхних слоях неокортекса и достигали 2300% от контрольных значений. У ГП крыс в модели ПТСР сверхэкспрессия c-Fos предотвращалась полностью или в значительной степени, причем как в ранний, так и в отсроченный период после рестресса. Для активационных ТФ CREB и NF- κ B показана необходимость их пролонгированной активации в гипоталамусе для запуска адапционных процессов и повышения толерантности мозга к неблагоприятным стрессирующим воздействиям.

Результаты свидетельствуют о том, что сверхэкспрессия ТФ HIF-1 α и c-Fos, и недостаточная активация факторов CREB и NF- κ B в нейронах мозга связаны с развитием стресс-индуцированных патологий, в то время как модификации динамики их экспрессии после ГП, вероятно, необходимы для реализации нейропротективных эффектов.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

HYPOXIC PRECONDITIONING PREVENT ANXIETY DISORDER IN THE RAT MODEL: ROLE OF BRAIN TRANSCRIPTION FACTORS

Baranova K.A.

Pavlov Institute of Physiology RAS, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia.
e-mail: ksentippa@mail.ru.

The purpose of this study was to analyze the role of various brain transcription factors (TF) families in mechanisms of the adaptive and pathological response to severe traumatic stress. In the hippocampus, neocortex and hypothalamus of rats the dynamics of the activation of TF belonging to different families was studied: 1) in development of anxiety in a model of post-traumatic stress disorder (PTSD), 2) after hypoxic preconditioning (HP), which prevents development of experimental PTSD. For the hypoxia-inducible HIF-1 α by quantitative immunocytochemistry showed that the development of anxious pathology in a model of PTSD in rats was accompanied by a significant and prolonged upregulation of HIF-1 α in the hippocampus and neocortex. In HP (360 Torr, 2 h, three times at intervals of 24 h) animals, did not developing PTSD, revealed a partial or complete leveling of these disturbances. Experimental Induction of PTSD was accompanied by a steady increase in content of early gene product - c-Fos in all investigated brain areas. In this case the maximum changes were observed in the upper layers of the neocortex and reached 2300% of control values. In HP rats in a model of PTSD overexpression of c-Fos prevented entirely or substantially, both in early and delayed post-restress period. For activation of TF CREB and NF- κ B is shown the necessity of prolonged activation in hypothalamus to start the adaptation process and increase the tolerance of the brain to the adverse effects of stress.

The results indicate that overexpression of TF HIF-1 α and c-Fos, and lack of activation of CREB, and NF- κ B factors in neurons of the brain associated with the development of stress-induced abnormalities, while the modification of the dynamics of their expression after the HP is probably necessary to implement the neuroprotective effects.

ГИПЕРАДАПТАЦИИ К ВНУТРЕННИМ МЕХАНИЧЕСКИМ НАПРЯЖЕНИЯМ КАК ДВИЖУЩАЯ СИЛА МОРФОГЕНЕЗА

Белоусов Л.В.

Лаборатория биофизики развития, Биологический факультет,
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
e-mail: morphogenesis@yandex.ru

Выдвигается гипотеза, что движущей силой морфогенеза многоклеточных животных являются обратные связи между механическими силами, действующими на данную часть зародыша извне (при нормальном развитии – со стороны соседних частей) и активными механохимическими ответами этой части. Эти ответы имеют свойства адаптаций, поскольку они связаны с генерацией противоположно направленных сил, которые не только уменьшают, но и перекрывают внешнюю силу. Приводятся экспериментальные данные, демонстрирующие наличие и морфогенетическую роль подобных гипердаптивных ответов на растяжение или релаксацию эмбриональных тканей. Кроме того, мы показываем, что гипердаптивные ответы связаны между собой в петли обратной связи второго порядка, которые движут вперед эмбриональное развитие. Таким образом, адаптивные стратегии могут использоваться не только для приспособления к неблагоприятным внешним условиям. В определенном смысле, нормальное развитие также может рассматриваться как последовательность взаимосвязанных адаптаций.

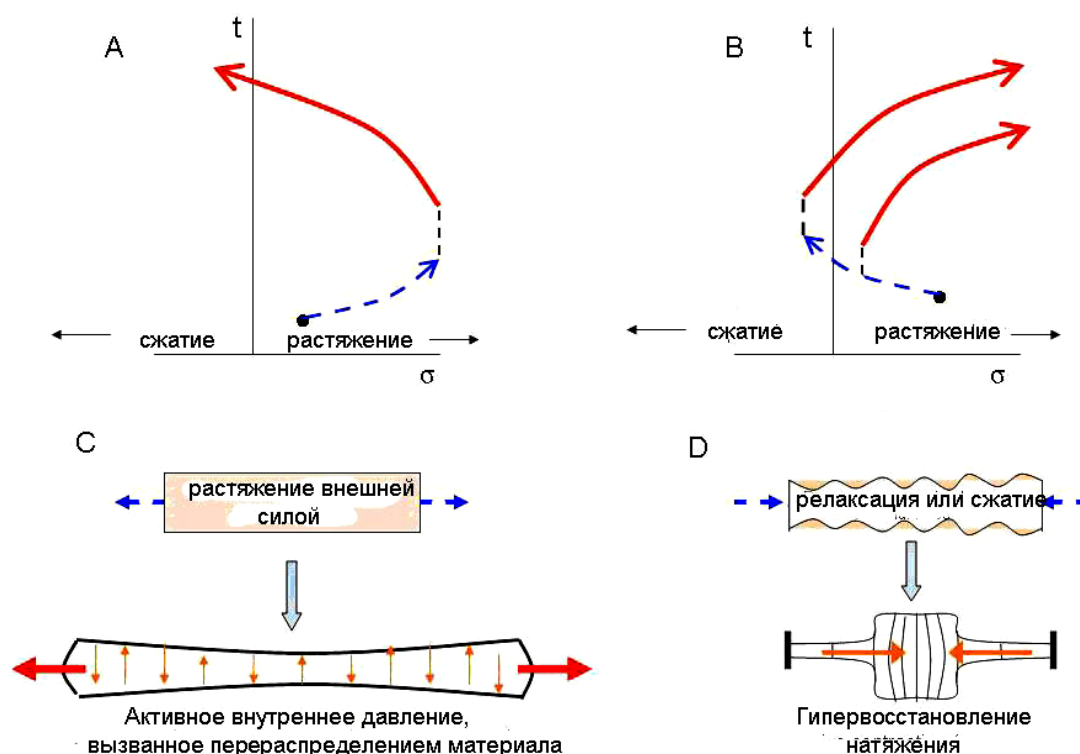


Рис. Гипервосстановление механических напряжений. А, В: схемы ответов соответственно на растяжение и на релаксацию/сжатие. Горизонтальная ось: механическое напряжение (налево сжатие, направо растяжение). Вертикальная ось: время. С: типичный способ ответа на растяжение (интеркаляция клеток). D: ответ на релаксацию/сжатие тангенциальным сокращением некоторого количества клеток. Вертикальные линии – жестко фиксированные края клеточного пласта.

Литература

1. Belousov L. V. (2008). Mechanically based generative laws of morphogenesis. *Physical Biology* 5.(1):015009.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

HYPERADAPTATIONS TO ENDOGENEOUS MECHANICAL STRESSES AS DRIVING FORCES OF EMBRYONIC MORPHOGENESIS

Belousov L. V.

Laboratory of Developmental Biophysics, Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, Russia
e-mail: morphogenesis@yandex.ru

We develop the idea that morphogenesis of multicellular animals is driven by the feedbacks between the mechanical forces acting upon the cells of a given embryo part from outside (during normal development from the neighboring parts) and the active mechanochemical responses of the affected part. The responses have the properties of "hyper-adaptation", so far as they are associated with generation of forces tending not only to diminish but even to overshoot mechanical stresses imposed by the outside forces. Thus, the external stretching of embryonic tissue is responded by generation of the similarly directed internal pressure while the relaxation/compression by the increase of tensions overlapping pre-relaxation ones (Fig.). We present experimental evidences demonstrating the existence and morphogenetic role of such "hyper-adaptive" responses and show that they are coupled with each other into the second order feedback loops which are driving forth embryonic development. Thus, the adaptive strategies may play a role not only in accommodating to unfavorable external conditions; in a sense, normal development can be also regarded as a series of mutually coupled adaptations. In mathematical terms, the above described overshoot reactions correspond to the well-known version of Van der Pol models with two alternative stable states (1).

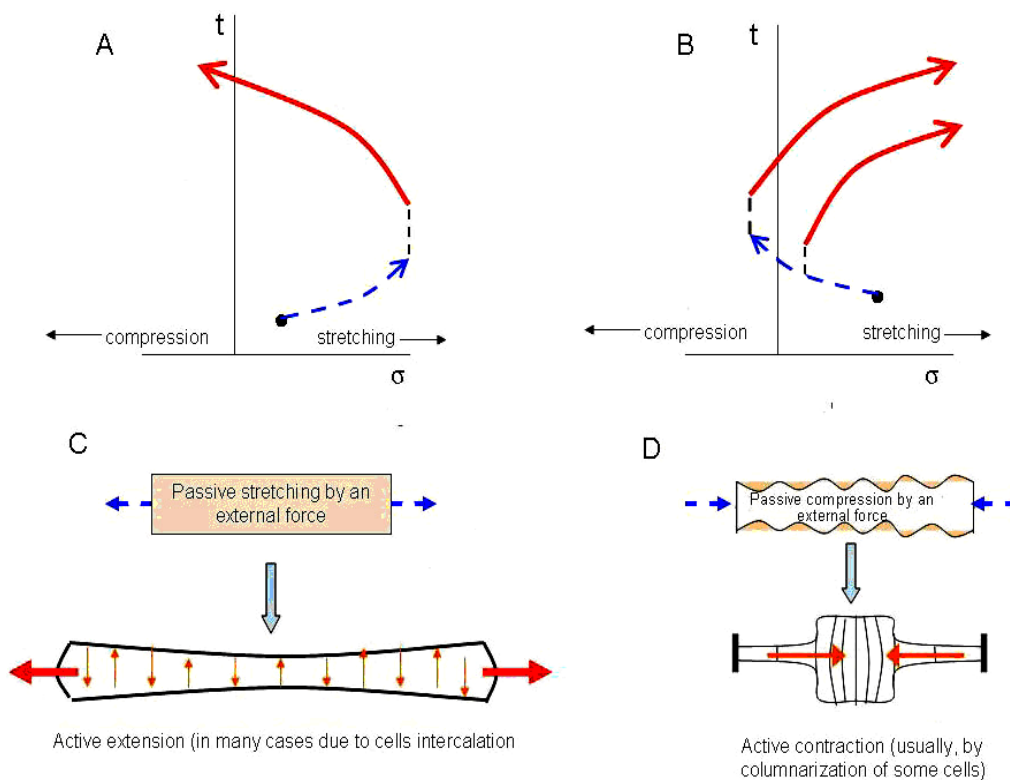


Fig. Hyperrestoration of mechanical stresses. A, B: schemes of the responses to stretching and to relaxation/compression, correspondingly. Horizontal axis: mechanical stress (compression to the left, tension to the right). Vertical axis: time. C: a typical way for a response to stretching (cell intercalation). D: response to relaxation by tangential contraction (columnarization) of some neighboring cells. Vertical bars: firmly fixed edges.

References

1. Belousov L. V. (2008). Mechanically based generative laws of morphogenesis. *Physical Biology* 5.(1):015009.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Борисова А.Г., Ильина Т.Н., Сергина С.Н., Баишникова И.В., Узенбаева Л.Б., Илюха В.А.

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
e-mail: borisova@krc.karela.ru

Морфологические особенности эритроцитов, количество и насыщенность их гемоглобином отражают экологические особенности и интенсивность метаболических процессов. Устойчивость эритроцитов к гемолизу является интегральным показателем, характеризующим их целостность и жизнеспособность, а также критерием их физиологического состояния. Для оценки состояния и физико-химических свойств клеточной мембраны изучали терморезистентность эритроцитов песцов (*Alopex lagopus* L.), содержащихся на ферме в стандартных условиях. В крови определяли количество форменных элементов, а также уровень токоферола в плазме и активность СОД в клетках.

В ходе онтогенеза у песцов наблюдается характерное и для других видов постепенное возрастание количества эритроцитов и уровня гемоглобина. Выявлена обратная зависимость между количеством эритроцитов и их устойчивостью к термогемолизу; кроме того, с возрастом у песцов отмечается прямая корреляция между количеством лейкоцитов и константой скорости гемолиза (устойчивостью эритроцитов). Начиная с полуторалетного возраста как уровень гемолитической устойчивости, так и количество эритроцитов и лейкоцитов стабилизируются на стационарном уровне. При этом сравнительный анализ показал, что различные типы лейкоцитов по-разному влияют на гемолитическую устойчивость эритроцитов: при более высоком относительном содержании лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов наблюдалось снижение константы скорости гемолиза, в то время как возрастание относительной доли сегментоядерных нейтрофилов сопровождалось усилением термогемолиза.

Указанные зависимости могут быть связаны со способностью лейкоцитов, и особенно активированных, генерировать АФК, являющиеся экзогенными по отношению к эритроцитам и способными повреждать их мембрану извне. Несмотря на свою уязвимость к окислительным повреждениям, в норме эритроциты устойчивы к ПОЛ, что связано с наличием низкомолекулярных и ферментативных антиоксидантов.

В ходе онтогенеза отмечается прямая зависимость между обеспеченностью организма песцов токоферолом, активностью СОД в клетках и гемолитической устойчивостью эритроцитов (рис.). Влияние витамина Е на устойчивость мембран может быть связано не только с его свойствами как антиоксиданта, но и с его способностью стабилизировать мембрану, взаимодействуя с метильными группами липидов и уменьшая подвижность мембраны. Важно отметить, что, в отличие от СОД, токоферол способен эффективно защищать эритроциты как от внутриклеточных, так и от экзогенных АФК.

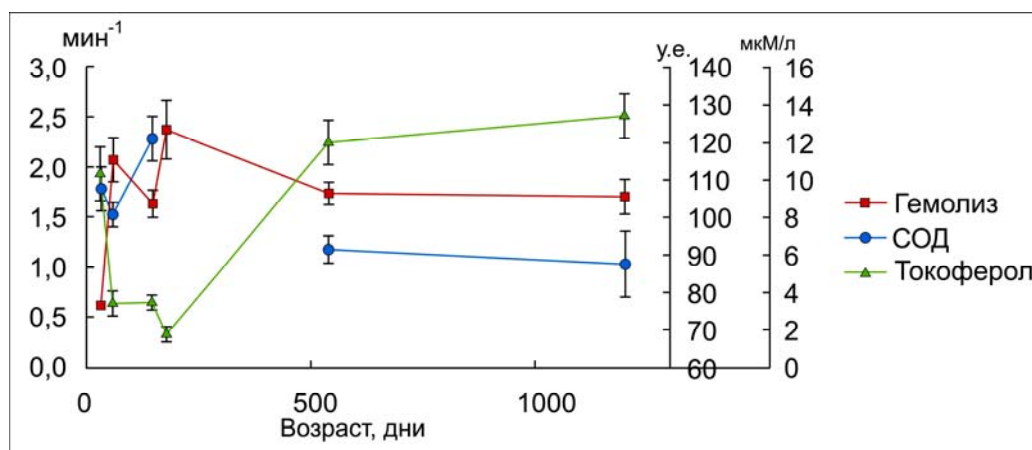


Рис. Зависимость между константой скорости гемолиза (k_{50} , мин⁻¹) и состоянием АОС – активностью СОД (у.е.) в эритроцитах и уровнем токоферола в плазме (мкМ/л) у песцов разного возраста.

В ходе исследования выявлено, что микроокружение (лейкоциты) и состояние антиоксидантов влияют на теплоустойчивость эритроцитов песца, причем колебания наиболее заметны в раннем возрасте. Показана возможность применения оценки термоустойчивости эритроцитов для тестирования их функционального состояния.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

VARIABILITY OF HAEMOLYTIC STABILITY OF ERYTHROCYTES IN MAMMALS THROUGH THE ONTOGENY

Borisova A.G., Ilyina T.N., Sergina S.N., Baishnikova I.V., Uzenbaeva L.B., Ilyukha V.A.

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Science, Petrozavodsk, Russia
e-mail: borisova@krc.karela.ru

The morphological features of erythrocytes, their numbers and saturation with hemoglobin reflect the ecological characteristics and rates of metabolic processes. The resistance of erythrocytes to hemolysis is an integral parameter describing their integrity and viability, as well as a criterion of their physiological condition. To assess the state and physicochemical properties of the cell membrane we studied the thermoresistivity of erythrocytes in polar foxes (*Alopex lagopus* L.) kept in a farm under standard conditions. We determined the number of blood corpuscles, as well as the plasma tocopherol level and SOD activity in cells.

The number of erythrocytes and the hemoglobin level in polar foxes gradually increases during the ontogeny, which is typical of other species also. A inverse relationship was detected between the number of erythrocytes and their resistance to thermohemolysis; furthermore, as polar foxes grow older there appears a direct correlation between the number of leucocytes and the hemolytic rate constant (erythrocyte resistance). In animals older than 1.5 years both the rate of hemolytic resistance and the number of erythrocytes and leucocytes settle at a constant level. Comparative analysis has demonstrated that different types of leucocytes influence the hemolytic resistance of erythrocytes in different ways: when the relative content of lymphocytes, monocytes and eosinophils was higher the hemolytic rate constant decreased, whereas a rise in the relative share of segmented neutrophils went along with intensified thermohemolysis.

The above correlations may be due to the capacity of leucocytes, especially activated ones, to generate AOS, which are exogenous for erythrocytes, and can damage the membrane from the outside. Although vulnerable to oxidation damage, erythrocytes are normally resistant to POL, owing to the presence of low molecular and enzymatic antioxidants.

A direct correlation is observed during the ontogeny between the tocopherol content, SOD activity in cells and the hemolytic resistance of erythrocytes in polar foxes (Fig.). The effect of vitamin E on membrane resistance is presumably due not only to its antioxidant properties but also to the capacity to stabilize the membrane by interacting with lipid methyl groups and reducing the membrane fluidity. Importantly, tocopherol, in contrast to SOD, can effectively guard erythrocytes against both intracellular and exogenous AOS.

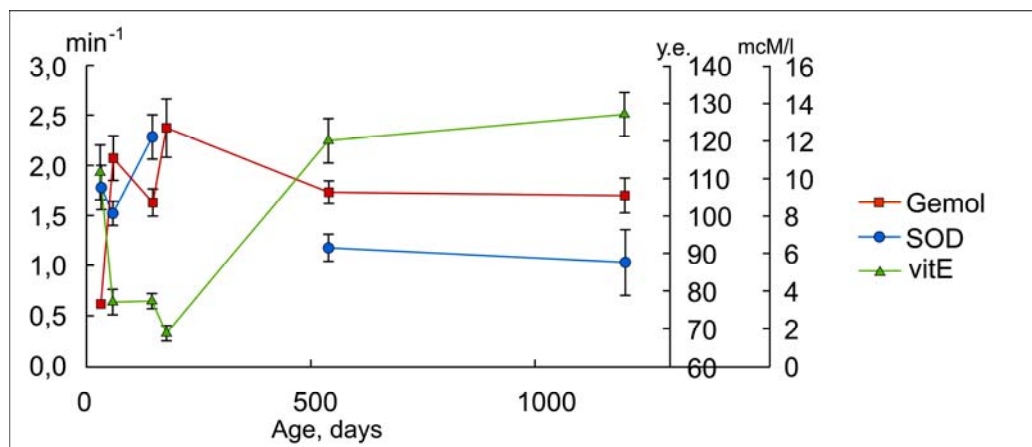


Fig. Correlation between the hemolytic rate constant (k_{50} , min^{-1}) and AOS-status – SOD activity (s.u.) in erythrocytes and plasma α -tocopherol level (mcM/l) in polar fox through the ontogeny

During the study we found that the microenvironment (leucocytes) and the state of antioxidants influence the thermoresistivity of erythrocytes in polar foxes, the fluctuations being most explicit in younger individuals. We demonstrate that the thermoresistivity of erythrocytes can be used to test their functional condition.

ЗНИЖЕННЯ РІВНЮ ХОЛЕСТЕРОЛУ В НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ МАЄ НЕЙРОПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ

Борисова Т., Сівко Р., Касаткіна Л., Крисанова Н.

Відділ нейрохімії, Інститут біохімії ім. Палладіна НАН України, Київ, Україна
e-mail: tborisov@biochem.kiev.ua

При інсульті, церебральній гіпоксії/ішемії, черепно-мозкових травмах нейротоксичні наслідки викликані підвищенням позаклітинної концентрації глутамату, який є основним збуджуючим нейромедіатором в ЦНС. Основним механізмом вивільнення глутамату є транспортер-залежне (обернений захват глутамату). За таких патологічних станів статини, препарати для зниження рівня холестеролу, виявляють нейропротекторні властивості. Метою цього дослідження було оцінити транспортер-залежне вивільнення глутамату з нервових закінчень мозку щурів (синапсом) за умов зменшення рівня холестеролу. При застосуванні акцептора холестеролу метил- β -циклодекстрина (М β CD) відбувалося зменшення концентрації холестеролу в синапсомах на 25%. За умов зменшення рівня холестеролу: 1) тонічне вивільнення ендогенного глутамату, 2) стимульоване деполяризацією плазматичної мембрани транспортер-залежне вивільнення глутамату, 3) вивільнення глутамату шляхом гетерообміну з конкурентним інгібітором глутаматних транспортерів DL-трео- β -гідроксиаспартатом, 4) транспортер-залежне вивільнення глутамату при дії протоніфору FCCP, 5) вивільнення глутамату в середовищі з низьким Na⁺, було знижене, а рівень ендогенного позаклітинного глутамату був збільшений. Зниження рівня холестеролу в мембрані може бути використано для нейропротекції при патологічних станах, включаючи інсульт, церебральну гіпоксію / ішемію, черепно-мозкові травми, що пов'язані зі збільшенням транспортер-залежним вивільнення глутамату. В той же час в нормі зниження концентрації холестеролу в мембрані нервових клітин може викликати нейротоксичні наслідки в результаті підвищення рівня позаклітинного глутамату через зниження захвата глутамату



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

A DECREASE IN CHOLESTEROL LEVEL OF BRAIN NERVE TERMINALS HAS NEUROPROTECTIVE FEATURES

Borisova T., Sivko R., Kasatkina L., Krisanova N.

Department of Neurochemistry, Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine; Kiev, Ukraine
e-mail: tborisov@biochem.kiev.ua

In stroke, cerebral hypoxia/ischemia, traumatic brain injury, neurotoxic consequences are evoked by enhanced extracellular concentration of glutamate, which is the major excitatory neurotransmitter in the CNS, and transporter-mediated release of glutamate (glutamate uptake reversal) is the main mechanism of glutamate release. Under these pathological conditions, cholesterol-lowering drugs statins have neuroprotective features. The aim of this study was to assess transporter-mediated release of glutamate from rat brain nerve terminals (synaptosomes) under conditions of cholesterol deficiency. Cholesterol acceptor methyl- β -cyclodextrin (M β CD) reduced the cholesterol concentration in synaptosomes by 25%. Under conditions of cholesterol deficiency: 1) tonic release of endogenous glutamate; 2) stimulated by depolarization of the plasma membrane transporter-dependent glutamate release; 3) release of glutamate by means of heteroexchange with competitive transported inhibitor of glutamate transporters DL-threo- β -hydroxyaspartate; 4) transporter-mediated glutamate release evoked by protonophore FCCP; 5) glutamate release in low-Na medium; was decreased, whereas the endogenous extracellular level of glutamate was increased. Decrease in the level of membrane cholesterol may be used for neuroprotection under pathological conditions including stroke, cerebral hypoxia/ischemia, traumatic brain injury that were associated with an increase in glutamate uptake reversal. *Visa versa* in norm, a decrease in the concentration of membrane cholesterol may cause neurotoxic consequences resulted from the enhancement of the extracellular glutamate level because of a decrease in glutamate uptake.

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА «РАННЕГО ОТВЕТА» C-FOS В НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР КРЫСЫ ПРИ МОДИФИКАЦИЯХ РЕЖИМА ОСВЕЩЕННОСТИ

Булык Р.Е., Василенко Д.А., Пишак В.П., Тимофей О.В.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина
Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: bulyk@bsmu.edu.ua; neu_nei@yahoo.com

Специфические изменения ряда физиологических процессов, обусловленные циклическими вариациями условий освещенности, являются одним из важнейших адаптационных феноменов, выработанных у различных животных в процессе эволюции. Модификации этих условий, как правило, представляют собой существенные стрессогенные факторы. В регуляции реакций организма животного на изменения уровня освещенности и их цикличность важнейшую роль играют эпифиз мозга (пинеальная железа) и определенные ядра гипоталамуса, прежде всего, супрахиазматические ядра (СХЯ, основной циркадианный пейсмейкер) и паравентрикулярные ядра (ПВЯ). Нейроны медиальных мелкоклеточных субъядер в составе ПВЯ (ммПВЯ) синтезируют кортикотропин-релизинг-фактор; таким образом, данные субъядра являются одной из ключевых структур, ответственных за инициацию и регуляцию реакций организма в условиях стресса.

С помощью иммуногистохимической методики мы исследовали экспрессию гена «раннего ответа» *c-fos* в нейронах СХЯ и ммПВЯ гипоталамуса крыс, находившихся 7 сут в условиях нормального фотопериодизма, постоянной освещенности и постоянной темноты (группы LD, LL и DD соответственно). Степень экспрессии протеина *c-Fos* рассматривается как коррелят активированного состояния нейронов различных отделов ЦНС. Индексы концентрации и содержания *c-Fos* в нейронах обеих исследованных гипоталамических структур демонстрировали существенную зависимость от времени суток и модификаций фотопериода; такие изменения в данных ядерных структурах в ряде аспектов были подобными, а в других отличались заметной спецификой. В группах как LL, так и DD, количество (плотность) *c-Fos*-позитивных нейронов несколько повышалось. В группе LL световой стресс обуславливал сглаживание циркадианных вариаций экспрессии

c-Fos в нейронах СХЯ; в клетках же ммПВЯ соответствующие показатели во всех экспериментальных группах были заметно выше днем, чем ночью. Наиболее выраженным эффектом модификаций фотопериода было резкое (до 2-3 раз) увеличение количества *c-Fos* в нейронах и СХЯ, и ммПВЯ, в течение дневного периода у крыс группы DD (находящихся в условиях световой депривации). Последний эффект был несколько неожиданным; можно было ожидать, что для экспериментальных крыс, предки которых являлись сумеречными/ночными животными, условия DD должны были бы оказаться менее мощным стрессогенным фактором, чем условия LL (световой стресс). Полученные данные свидетельствуют, что гипоталамические структуры, вовлеченные в организацию циркадианного ритма и реализацию стрессорных реакций, тесно взаимодействуют как друг с другом, так и с важнейшим нейроэндокринным посредником – эпифизом мозга. Интенсивность экспрессии гена раннего ответа *c-fos* в данных ядрах не связана с уровнем эпифизарного гормона мелатонина некими простыми зависимостями. Видимо, между упомянутыми структурами существуют не только прямые, но и обратные функциональные связи; это, скорее всего, и обуславливает достаточно сложную (иногда парадоксальную) картину изменений в этих структурах при экспериментальных модификациях светового режима.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EXPRESSION OF AN "EARLY RESPONSE" PROTEIN, C-FOS, IN NEURONS OF THE HYPOTHALAMIC NUCLEI OF RATS AT MODIFIED ILLUMINATION REGIMENS

Bulyk R.E., Vasilenko D.A., Pishak V.P., Timofei O. V.

Bukovina State Medical University, Chernovtsy, Ukraine
Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: bulyk@bsmu.edu.ua, neu_nei@yahoo.com

Specific changes in a number of physiological processes determined by cyclic variations of illumination conditions represent one of the most important adaptational phenomena developed in different animals in the course of evolution. In the regulation of reactions of the animal's organism to changes in the illumination level, important roles belong to the *epiphysis cerebri* (pineal gland) and certain nuclei of the hypothalamus, first of all, the suprachiasmatic nuclei (SChN, main circadian pacemaker) and paraventricular nuclei (PVN). Neurons of the medial parvocellular subnuclei of the latter (mpPVN) produce corticotropin-releasing factor; thus, these subnuclei are one of the key structures responsible for initiation and regulation of the reactions of the organism under stress conditions.

We examined expression of the early-response gene *c-fos* in neurons of the SChN and mpPVN of the hypothalamus of rats kept for 7 days under conditions of normal photoperiodism, constant illumination, and constant darkness (groups LD, LL, and DD, respectively). The levels of the respective protein c-Fos were quantitatively measured in these cells using immunohistochemical techniques; the corresponding indices are generally interpreted as correlates of an activated state of neurons in various CNS structures. Expression of the above protein in neurons of both hypothalamic nuclei demonstrated significant circadian changes and dependences on modifications of the photoperiod. The respective changes in the mentioned nuclei were similar to each other from some aspects and showed certain specificity from other ones. In groups subjected to modified photoperiodism (both LL and DD), the number (density) of c-Fos-positive neurons somewhat increased. In group LL, light stress resulted in smoothing of circadian variations of c-Fos expression in SChN neurons. At the same time, c-Fos levels in mpPVN neurons in all three experimental groups were higher within the day period than those at night. Dramatic (up to two-threefold) rises in the c-Fos amount at the daytime in both examined hypothalamic structures in group DD (rats kept at light deprivation) were the most clearly manifested effect of modifications of the photoperiod. The latter effect was paradoxical to a certain extent; it could be expected that DD conditions would appear for experimental rats (whose ancestors were "twilight"/nocturnal animals) a less potent stressogenic factor than LL conditions (light stress). The data obtained show that hypothalamic structures involved in organization of the circadian rhythm and realization of stress reactions intensely interact both with each other and with a most important neuroendocrine intermediary, *epiphysis cerebri*. The intensity of expression of the early response gene *c-fos* in the mentioned nuclei does not demonstrate some simple dependence on the level of the epiphyseal hormone melatonin. Probably, the above-mentioned structures are functionally interconnected with each other not only by direct connections but also by feedbacks. It seems that the just such a situation determines a rather complicate (sometimes paradoxical) pattern of changes in these structures induced by experimental modifications of the illumination regimen.

КЛОНИРОВАНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА O61R (p12) ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Варенцова А.А., Казакова А.С., Власова Н.Н.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук
e-mail: Staffilokokk@yandex.ru

Возбудитель африканской чумы свиней (АЧС) - крупный ДНК-содержащий вирус, диаметром приблизительно 200 нм. Капсид построен из 50 структурных белков и состоит из нескольких концентрических слоев, укрывающих электронно-плотный нуклеоид, который содержит двухцепочечную ДНК размером около 200 т.п.о. Кор вируса заключен во внутреннюю липидную оболочку, располагающуюся под икосаэдрическим капсидом (Carrascosa M. et al., 1984).

Поскольку при длительной персистенции вируса в природе (более 3-х лет) происходит его естественная аттенуация, вполне вероятно, что в процессе пассирования могут быть затронуты гены, кодирующие белки прикрепления.

По литературным данным: p12 – поверхностный белок, консервативен, формирует димеры с молекулярной массой 17 кДа и является основным белком прикрепления. Анализ данных по изучению нуклеотидного сиквенса ДНК фрагмента, содержащий ген, кодирующий p12, показал, что его 5'-концевой регион является консервативным у всех вирусных изолятов, в то время как интергенный регион, расположенный далее по рамке считывания гена, значительно варьирует у различных изолятов (Angulo, A. et al., 1992).

Полноразмерный ген, кодирующий p12, клонировали в прокариотическом векторе, провели секвенирование и филогенетический анализ по гену O61R изолятов вируса АЧС, циркулирующего на территории Российской Федерации и Армении (Volgograd 2010, Elbrus 2008, Stavropol 2008, Orenburg 2009 и Armenia 2007).

Результаты сиквенса гена O61R изолятов Elbrus 2008 (JQ771677.1), Stavropol 2008 (JQ771679.1), Orenburg 2009 (JQ771678.1), Volgograd 2010 (JQ771680.1) и Armenia 2007 (JQ771676.1) опубликованы нами в GenBank.

Анализ нуклеотидной последовательности гена различных изолятов вируса АЧС, включающего открытую рамку считывания O61R, выявил вариабельные области данного гена между 250 по 260 нуклеотидами (nt) и между 310 и 330 nt.

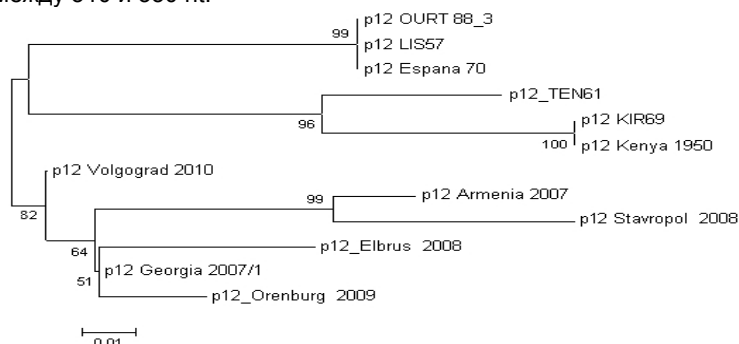


Рисунок. Дендрограмма, построенная на основании данных гомологии нуклеотидных последовательностей O61R (p12) штаммов и изолятов вируса АЧС, выделенных на территории Африки, Европы, Российской Федерации и Армении.

Филогенетический анализ по гену O61R показал, что российские изоляты и изолят Грузии (Georgia 2007/1) относятся к той же группе (субкластеру), что и Tengani 61 (TEN/61), но все 6 изолятов имеют между собой отличия в 7-15 nt., причем данные отличия позволяют распределить изоляты на группы и выявить их основные изменения (Рисунок). Изоляты Armenia 2007 и Stavropol 2008 составляют одну группу, Elbrus 2008, Orenburg 2009 и Georgia 2007/1 входят в другую группу, в то время как изолят Volgograd 2010 является представителем отдельной группы.

Выявленные отличия в последовательности гена, кодирующего p12, могут быть связаны с различными путями передачи и пассирования вируса. Формирование популяции вируса АЧС у изолята Volgograd 2010 проходило путем передачи вируса от одного дикого животного к другому, в то время как вирус других российских изолятов распространялся посредством человеческого фактора.

Таким образом, сравнительный анализ последовательностей гена, кодирующего p12, может внести свой вклад в изучение эволюции вируса и способствовать пониманию адаптационной стратегии и происхождения генетической гетерогенности вируса АЧС.

Литература

1. Angulo, A., Vinuela E., Alcamí A.. 1992. Comparison of the sequence of the gene encoding the African swine fever virus attachment protein p12 from field virus isolates and viruses passaged in tissue culture. J. Virol. 66:3869-3872.
2. Carrascosa AL, Sastre I, Vinuela E. (1991) African swine fever virus attachment protein. J Virol 65:2283–2289.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CLONING AND COMPARATIVE ANALYSIS OF GENE SEQUENCES O61R (p12) VIRUS OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT REGIONS OF RUSSIAN FEDERATION AND ARMENIA

Varentsova A.A., Kazakova A.S., Vlasova N.N.

State Research Institution National Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Pokrov, Russia
e-mail: Staffilokokk@yandex.ru

The causative agent of African swine fever (ASF) - a large DNA-virus with a diameter of about 200nm. Capsid contains more than 50 structural proteins and consists of several concentric layers harboring an electron-dense nucleoid, which contains two chained DNA about 200 kbp. The core is enwrapped by an inner lipid envelope that lies beneath the icosahedral capsid (Carrascosa M. et al., 1984).

As for long-term persistence of the virus in nature (more than 3 years) is its natural attenuation, it is likely that may be affected by genes that encode attaching proteins.

Published research data have shown that p12 - a surface protein that is conservative, forms dimers with a molecular mass of 17 kDa and is a major protein of the attachment. Data analysis for the study of nucleotide sequencing of DNA fragment containing the gene encoding p12, showed that its 5'-terminal region is conserved in all viral isolates, whereas intergenic region located further in the reading frame of the gene varies widely among different isolates (Angulo, A. et al., 1992).

Full-size gene encoding p12 was cloned into the prokaryotic vector and performed phylogenetic analysis of gene O61R ASF virus isolates, circulating in the Russian Federation and Armenia (Volgograd 2010, Elbrus 2008, Stavropol 2008, Orenburg 2009 and Armenia 2007).

The results of gene sequencing of isolates O61R Elbrus 2008 (JQ771677.1), Stavropol in 2008 (JQ771679.1), Orenburg in 2009 (JQ771678.1), Volgograd 2010 (JQ771680.1) and Armenia in 2007 (JQ771676.1) published by us in GenBank.

Analysis of the nucleotide sequence of the gene of different ASF virus isolates, including the open reading frame O61R revealed a variable region of this gene between 250 to 260 nucleotides (nt) and between 310 and 330 nt.

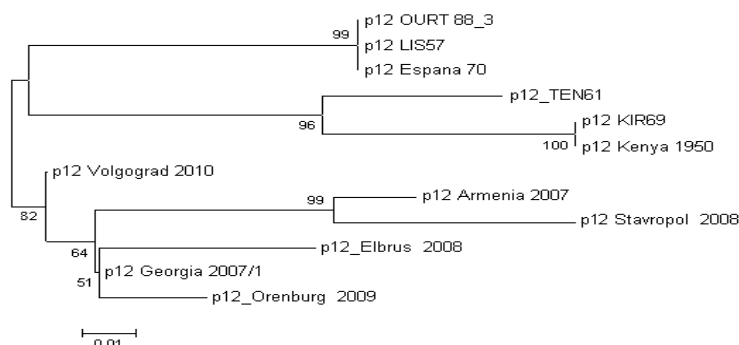


Figure. Neighbour-joining phylogenetic tree of O61R (p12) of ASF virus strains and isolates from Africa, Europe, Russia and Armenia.

Phylogenetic analysis of gene O61R showed that isolates and strains from Russia, Georgia (Georgia 2007/1) relate to the same group (subcluster), which Tengani 61 (TEN/61), but all six isolates have differences among themselves in the 7-15 nt, and these differences can divide isolates into groups and identify their key differences (Figure). Isolates of Armenia 2007 and Stavropol 2008 make up one group, Elbrus 2008, Orenburg 2009 and Georgia 2007/1 - another group, while the Volgograd 2010 isolate is representative of a particular group.

The detected differences in the sequence of the gene encoding p12 may be associated with different modes of transmission and the passage of the virus. The formation of ASF virus population isolates from Volgograd 2010 passed through transmission from a wild animal to another, while other Russian isolates of the virus spreading through the human factor.

Thus, a comparative analysis of gene sequences coding for p12, may contribute to the study of virus evolution and contribute to the understanding of the adapting strategy and mechanisms of the genetic heterogeneity origin of ASF virus.

References

1. Angulo, A., Vinuela E., Alcamí A. 1992. Comparison of the sequence of the gene encoding the African swine fever virus attachment protein p12 from field virus isolates and viruses passaged in tissue culture. J. Virol. 66:3869-3872.
2. Carrascosa AL, Sastre I, Vinuela E. (1991) African swine fever virus attachment protein. J Virol 65:2283-2289.

АДАПТАЦИОННЫЕ КОРРЕКЦИИ РАСХОЖДЕНИЙ МЕЖДУ ВИЗУАЛЬНЫМИ И КИНЕСТЕТИЧЕСКИМИ ОЦЕНКАМИ ПОЛОЖЕНИЯ ЗВЕНА КОНЕЧНОСТИ ПРИ ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННЫХ ДВИЖЕНИЯХ

Василенко Д.А., Мельничук А.П.

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев Украина
e-mail: neu_nei@yahoo.com

Целенаправленные движения (ЦД) конечностей, как правило, реализуются на основе контроля с замкнутой петлей визуальной обратной связи (ВОС). Поскольку выполнение таких движений сопровождается поступлением и запоминанием соответствующей кинестетической информации, в последующем они могут быть воспроизведены в условиях ограничения или даже полного исключения ВОС. Показано, однако, что кинестетический контроль в этих условиях не может обеспечить высокой точности ЦД, и целевое позиционирование референтной точки конечности в данных случаях сопровождается существенными ошибками. Причина этого феномена фундаментальна, она обусловлена принципиальной нелинейностью характеристик проприоцепторов (прежде всего, веретенных рецепторов растяжения), служащих датчиками при формировании кинестетических оценок суставных углов. Ошибки «слепого» целевого позиционирования, как правило, положительны (соответствующие движения гиперметричны). Мы провели анализ значений систематических ошибок «слепого» позиционирования при простых (односуставных) ЦД предплечья и плеча человека в одной плоскости. Показано, что значения таких ошибок демонстрируют высокую интериндивидуальную вариабельность, но при этом паттерны ошибок, наблюдаемые у конкретных испытуемых в разных тестах, относительно стабильны (индивидуально специфичны). Было высказано предположение, что при накоплении двигательного опыта в ходе онтогенеза испытуемые начинают вводить неосознаваемые адаптационные коррекции расхождений между визуальными и кинестетическими оценками положения звена конечности, причем эффективность подобных адаптационных феноменов у разных лиц существенно отличается. Результаты корреляционного анализа систематических ошибок «слепого» позиционирования, наблюдаемых в разных вариантах ЦД, в целом согласуются с этим предположением. Корреляционные связи между значениями упомянутых ошибок, регистрируемых в условиях различных комбинаций тестов (например, флексорного и экстензорного ЦД, движений с приложением различных внешних нагрузок, ЦД с траекториями, соответствующими простой и двойной трапециям, и т.д.) были во всех случаях положительными и значимыми ($P < 0,05$); соответствующие коэффициенты корреляции составляли от 0,52 до 0,77. Таким образом, несмотря на высокую индивидуальную вариабельность «кинестетических» ошибок целевого позиционирования, проявляется отчетливая тенденция к тому, что у индивидуума с небольшими ошибками, выявляемыми в ходе одного теста, ошибки в ходе других ЦД с исключением/ограничением ВОС также будут относительно невелики, и наоборот. При этом эффективность адаптационных коррекций расхождений между визуальными и кинестетическими оценками суставных углов, выработанная в ходе онтогенеза, у отдельных индивидуумов различается в несколько раз. Данное обстоятельство, очевидно, целесообразно учитывать в ряде случаев профессионального отбора.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATIONAL CORRECTIONS OF THE DISCREPANCIES BETWEEN VISUAL AND KINESTHETIC ESTIMATES OF THE LIMB LINK POSITION IN TARGETED MOVEMENTS

Vasilenko D.A., Mel'nichouk A.P.

Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine.
e-mail: neu_nei@yahoo.com

Targeted movements (TMs) of the limbs are performed, as a rule, under visual control (closed visual feedback, VFb). Realization of such movements is accompanied by perception and memorization of the corresponding kinesthetic information; due to this, such movements can be reproduced under conditions of limitation or even complete elimination of VFb. It is, however, impossible to provide high accuracy of TMs exclusively under kinesthetic control, and target positioning of a reference point of the limb is accompanied in this case by considerable errors. The reason of this phenomenon is fundamental; it is determined by the basic nonlinearity of transduction characteristics of the proprioceptors (first of all, of spindle stretch receptors) serving as sensors in the formation of kinesthetic estimates of the joint angles. Errors of blindfold target positioning are, as a rule, positive (the respective movements are hypermetric). We analyzed the values of systematic positioning errors in simple (single-joint and performed in one plane) TMs of the forearm and shoulder in humans. As was found, values of such errors demonstrate high interindividual variability, but patterns of the errors observed in concrete subjects in different tests are relatively stable (individually specific). We hypothesized that, with storing of the motor experience in the course of ontogenesis, the subjects begin to introduce unrecognized adaptational corrections of the discrepancies between visual and kinesthetic estimates of the position of the limb link, and the efficacy of such adaptational phenomena is dissimilar in different subjects. Results of correlation analysis of systematic errors measured in TMs with blindfold positioning agree, in general, with this supposition. Correlation between values of the above-mentioned errors observed in different combinations of the tests (e.g., flexor and extensor TNs, movements performed with different external loadings, TMs with the trajectories corresponding to single and double trapezia, etc.) were in all cases positive and significant ($P < 0.05$). The respective correlation coefficients varied from 0.52 to 0.77. Thus, despite high individual variability of "kinesthetic" errors of target positioning in blindfold TMs, there is clear trend to the situation where an individual demonstrating mild errors in one test with limitation/elimination of VFb shows relatively small errors in other tests, and *vice versa*. The efficacy of adaptational corrections of discrepancies between visual and kinesthetic estimates of the joint angles attained in the course of ontogenesis demonstrates severalfold interindividual variability. It is probably expedient to take this circumstance in certain cases of professional selection.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ ЛИЧИНОК ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ *XENOPUS LAEVIS*

Владимирова И.Г., Алексеева Т.А.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва.
e-mail: i.g.vladimirova@gmail.com

Онтогенетическая адаптация, как способность организма приспосабливаться в своем развитии к изменяющимся внешним условиям, особенно важна для амфибий, у которых в личиночном периоде происходит резорбция специфических личиночных структур, и развиваются структуры взрослого животного. Способы реагирования на факторы среды отличаются у особей, развивающихся от одной пары родителей в одной кладке яиц амфибий, и проявляются в изменении отдельных физиологических процессов, а также более общих параметров, таких как продолжительность периода развития или уровень метаболизма.

Динамика интенсивности потребления кислорода в личиночном развитии отличается у исследованных видов амфибий. Закономерности, определяющие своеобразие изменения интенсивности дыхания у отдельных видов или у одного вида амфибий в разных исследованиях, не установлены. Они могут быть связаны с особенностями процессов роста или преобразования личинки во взрослый организм. Возможно также влияние скорости развития и продолжительности периода личиночного развития, факторов, которые имеют большое значение для выживания, роста и фитнеса амфибий в постличиночный период онтогенеза (1, 2).

Задача настоящей работы заключалась в изучении влияния продолжительности развития на уровень потребления кислорода в личиночный период шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*.

Проводили изучение личинок, полученных из одной кладки икры, начиная с периода полного истощения питательных материалов желтка и до завершения метаморфоза (48–66 стадии развития по Ньюкопу и Фаберу). Потребление кислорода измеряли манометрическим методом с помощью аппарата Варбурга и представляли в виде скорости (мл/ч) и интенсивности (мл/ч г) процесса. Энергетические затраты оценивали по количеству потребленного кислорода, которое пересчитывали в калории с использованием оксикалорийного коэффициента (4.82 кал/мл).

Продолжительность личиночного развития у двух исследованных групп шпорцевой лягушки составляла 31 и 110 сут. В течение этого периода масса тела животных увеличивалась в 28–34 раз. Характер изменения массы тела зависел от стадии развития. На протяжении большей части личиночного развития (до 58 стадии) масса тела увеличивалась. Затем рост личинок останавливался и наблюдался процесс редукции массы вследствие прекращения питания животных, вызванного перестройкой ротового аппарата и пищеварительной системы. Динамика изменения массы тела не имела принципиальных отличий у животных разных групп, но лягушки, развивающиеся медленнее, имели большую массу тела.

Скорость потребления кислорода увеличивалась параллельно увеличению массы тела и одновременно с ней достигала своих наивысших значений. Затем уровень потребления кислорода снижался, но на заключительных стадиях метаморфоза вновь увеличивался. Интенсивность потребления кислорода не отличалась по динамике от скорости потребления кислорода, однако все изменения наблюдались на более ранних стадиях. Изменение интенсивности потребления кислорода более резко выражено у быстроразвивающихся животных, в конце метаморфоза величина параметра у них была в 1.3 раза выше, чем у личинок с замедленным развитием.

Общие энергетические затраты в период развития и трансформации личинок составили 167 и 437 кал у быстрорастущих и медленнорастущих особей соответственно. Ежесуточные затраты были ниже у лягушек с более продолжительным развитием. Полученные данные подтверждают гипотезу, что абсолютные энергетические затраты, необходимые для осуществления метаморфоза, возрастают при увеличении его продолжительности (3, 4).

Таким образом, в процессе онтогенетической адаптации личинок шпорцевой лягушки происходит существенное изменение энергетического обмена. Динамика энергетического обмена зависит от морфологических, физиологических и поведенческих изменений, которые сопровождают переход от ювенильной к взрослой форме животного. Скорость развития личинок влияет на количественные параметры этого процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-04-00397-а и Президиума РАН (программа «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»).

Литература

1. Smith D. C. (1987). Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, 68: 344–350.
2. Semlitsch R.D., Scott D.E. and Pechmann J.H.K. (1988). Time and size at metamorphosis related to adult fitness in *Ambystoma talpoideum*. *Ecology*, 69: 184–192.
3. Beck C.W. and Congdon J.D. (2003). Energetics of metamorphic climax in the southern toad (*Bufo terrestris*). *Oecologia*, 137: 344–351.
4. Orlofske S.A. and Hopkins W.A. (2009). Energetics of metamorphic climax in the pickerel frog (*Lithobates palustris*). *Comp. Biochem. Physiol.* 154A(2): 191–196.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHANGE OF ENERGY METABOLISM DURING THE ONTOGENIC ADAPTATION OF LARVAE CLAWED FROG *XENOPUS LAEVIS*

Vladimirova I.G., Alekseeva T.A.

N.K.Koltsov's Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia
e-mail: i.g.vladimirova@gmail.com

Ontogenic adaptation is especially important for amphibians that have resorption of specific larval structures and formation of adult structures in the larval period. The pattern of response to environmental factors differs in the individuals developing from one pair parents in one laying of amphibian eggs. It consists of changes of structural, functional, and behavioral system, but also of general parameters, such as of development duration or animal metabolic rate.

Dynamics of energy metabolism during larval development differs in various amphibian species. The cause of these is unclear although it appears linked to peculiarities in processes of growth or transformation to an adult organism. Also, it can be affected by the rate and the duration of larval development, factors which are of great importance for a survival, growth and fitness of amphibians during the post-larval period ontogenesis (1, 2).

The goal of this work is to examine the influence of the development duration on the level of oxygen consumption during larval and metamorphic stages of the clawed frog *Xenopus laevis*.

We studied the larvae *Xenopus laevis* received from one laying of eggs from a moment of complete exhaustion of yolk and to a metamorphosis end (48–66 stages of development according to Nieuwkoop and Faber). Oxygen consumption was determined using constant volume Warburg manometry and was represented as rate (ml/h) and mass specific rate (ml/h g). Energy cost of larval development and metamorphosis was estimated by the total amount of the consumed oxygen which was recalculated in calorie with use of a factor 4.82 cal/ml.

The duration of larval development in two studied groups of clawed frog was 31 and 110 days. After completion of metamorphosis, the mass of adult frog was 28–34 times higher than in the beginning of larval development. The character of the change in mass depended on development stage. It increased over the course of most of larval development (to 58 stages). Thereafter, the mass decreased owing to cessation of feeding due to the reorganization of mouth parts and the gastrointestinal tract. The dynamics of body mass had no significant differences at studied animals, but the frogs that had a slower rate of development were greater after metamorphosis.

The rate of oxygen consumption increased simultaneously with a rise of the body mass and reached its peak at the same time. Then, the rate decreased, but it increased again to the end of metamorphosis. The mass specific rate of oxygen consumption didn't differ in dynamics from the oxygen consumption rate, however all changes were observed at earlier stages. Change of the mass specific rate of oxygen consumption was most profound in high-growth animals and the parameter was 1.3 times higher that observed in larvae with the slowed development.

The energy cost of larval development and metamorphosis was 167 and 437 cal at fast- and slow -growing individuals respectively. But daily cost decreased with increasing development duration. The obtained data confirm a hypothesis that there is a positive relationship between the time and the amount of oxygen required during metamorphic climax of different amphibian species (3, 4).

Thus, there was a significant change of a metabolic rate throughout the ontogenic adaptation of larvae of clawed frog. Dynamics of metabolic rate depended on morphological, physiological and behavioral changes which accompanied transition from juvenile to adult form of the frog. The development rate of larvae had an influence on the quantitative parameters of this process.

Acknowledgements: This research was supported by Grant of the RFBR 12-04-00397-a and Presidium of RAS (the program «Wildlife: current state and development problems»).

References

1. Smith D. C. (1987). Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*. 68: 344–350.
2. Semlitsch R.D., Scott D.E. and Pechmann J.H.K. (1988). Time and size at metamorphosis related to adult fitness in *Ambystoma talpoideum*. *Ecology*. 69: 184–192.
3. Beck C.W. and Congdon J.D. (2003). Energetics of metamorphic climax in the southern toad (*Bufo terrestris*). *Oecologia*. 137: 344–351.
4. Orlofske S.A. and Hopkins W.A. (2009). Energetics of metamorphic climax in the pickerel frog (*Lithobates palustris*). *Comp. Biochem. Physiol.* 154A(2): 191–196.

УЧАСТИЕ СЕРОТОНИН-МОДУЛИРУЕМОГО АНТИКОНСОЛИДАЦИОННОГО БЕЛКА В ФОРМИРОВАНИИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У КАРПА *CYPRINUS CARPIO*

¹Гарина Д.В., ²Мехтиев А.А.

¹ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

² Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана, Баку
e-mail: arifmekht@yahoo.com

Память рыб, её длительность и молекулярные механизмы представляют собой интересный и мало изученный феномен, привлекающий в настоящее время активное внимание специалистов-этологов. Ранее в коре головного мозга крыс был выделен и идентифицирован серотонин-модулируемый антиконсолидационный белок (СМАБ) (1), количество которого в мозге находится в прямой зависимости от уровня серотонина, и доказано его ингибирующее влияние на формирование следов памяти у млекопитающих (1, 2). В то же время, сведения о его участии в формировании памяти у рыб полностью отсутствуют. Цель настоящей работы – выяснение влияния белка СМАБ в формировании долговременной памяти у карпа *Cyprinus carpio* L. в условно-рефлекторной модели активного избегания.

Объект исследования – молодь карпа в возрасте 6–7 месяцев, со средней массой 7.8–9.7 г и длиной 8.5–9 см. Для оценки влияния белка СМАБ на формирование долговременной памяти у карпов производили внутривенную инъекцию препарата с последующей выработкой у рыб условного рефлекса активного избегания и тестированием навыка. СМАБ (3 мкл) вводили под наркозом карпам опытной группы (n=10) в 4-й желудочек мозга; контрольным особям (n=10) вводили равное количество физиологического раствора для холоднокровных животных. Обучение рыб рефлексу активного избегания начинали через сутки после инъекции, всего проводили 8 сеансов обучения в течение двух суток с интервалом 1.5–2.5 ч, тестирование навыка осуществляли через 48 ч после обучения.

Установлено, что введение белка СМАБ не оказывает негативного влияния на процесс выработки навыка у карпов (рис. 1), однако приводит к нарушению его воспроизведения при итоговом тестировании: снижению количества особей, выполнивших задание (8 и 5 особей соответственно, $P > 0.05$) и увеличению латентного времени воспроизведения навыка более, чем в два раза: 113 ± 42 сек и 246 ± 42 сек, соответственно, $P < 0.05$ (рис. 2).

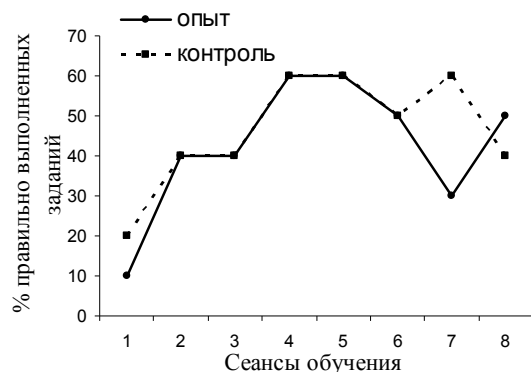


Рис. 1. Динамика формирования навыка у карпов в сеансах обучения.

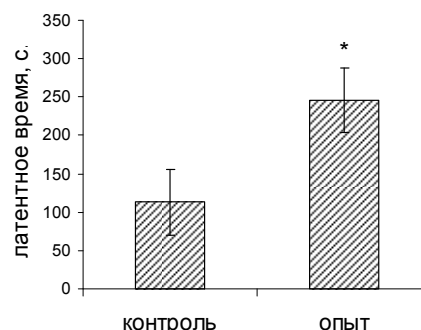


Рис. 2. Латентное время воспроизведения навыка ($M \pm m$) карпов в сеансах тестирования. Обозначения: * - $P < 0.05$ (критерий Манна-Уитни)

Таким образом, впервые продемонстрирован ингибирующий эффект серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка на консолидацию следов памяти у костистых рыб, аналогичный таковому у млекопитающих. Однако, в отличие от последних, СМАБ не оказывает влияния на процесс выработки навыка у рыб. Предположено, что антиконсолидационный эффект белка СМАБ связан с конденсацией хроматина в нервных клетках, что блокирует считывание информации с матрицы ДНК и синтез специфических белков, осуществляющих молекулярное обеспечение формирования долговременной памяти.

Литература

1. Мехтиев А.А. (2000). Обнаружение в головном мозге крыс белка, обладающего антиконсолидационными свойствами. *Бюлл. exper. биол. мед.* 129(8):147–150.
2. Гусейнов Ш.Б., Мехтиев А.А. (2012). Изучение роли серотонин-модулируемого антиконсолидационного белка в формировании памяти у крыс в челночной камере. *Ж. высш. нерв. деят.* 2: 1–8.

PARTICIPATION OF SEROTONIN-MODULATING ANTICONSOLIDATION PROTEIN IN LONG-TERM MEMORY FORMATION IN CARPS *CYPRINUS CARPIO*

¹Garina D.V., ²Mekhtiev A.A.

¹I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters of Russian Academy of Sciences,
Borok, Yaroslavl, Russia

²A.I. Karaev Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan
e-mail: arifmekht@yahoo.com

Fish memory, its duration and molecular mechanisms is interesting and poorly studied phenomenon, presently attracting attention of the ethologists. Earlier novel serotonin-modulating anticonsolidation protein (SMAP), being in linear relationship with serotonin, was identified in brain cortex and extracted from cerebrum of rats (1). It was shown that SMAP participates in negative regulation of memory traces formation in rats (1, 2). Along with it, the information concerning role of SMAP in the formation of long-term memory in teleost fish is absent. The aim of this study is analysis of participation of SMAP in the formation of long-term memory in carps *Cyprinus carpio* L. in active avoidance model.

Twenty juvenile carps (6-7-month-old) with average mass of 7.8–9.7 g and length 8.5–9 cm were the objects of this study. For the purpose of evaluation of the role of SMAP in formation of long-term memory in fish, intracerebral administration of the protein was used, then fish was trained to active avoidance task and tested. Carps of experimental group (n=10) were administered with SMAP (3 µl) into the 4th brain ventricle; the fish of control group (n=10) were injected with vehicle solution. Learning sessions were conducted 24 h after the injection and lasted for two days (4 sessions a day with time interval 1.5-2.5 h), and 48 h later retest sessions were realized.

It was shown that SMAP did not have any effect on memory acquisition (fig. 1) but impaired performance of the task during the retest sessions: the number of fishes performed a task was non-significantly lower in the experimental group in comparison to the controls (5 and 8, correspondently, $P > 0.05$), and latent time of task realization increased more than two times (from 113 ± 42 sec to 246 ± 42 sec correspondently, $P < 0.05$) (fig. 2).

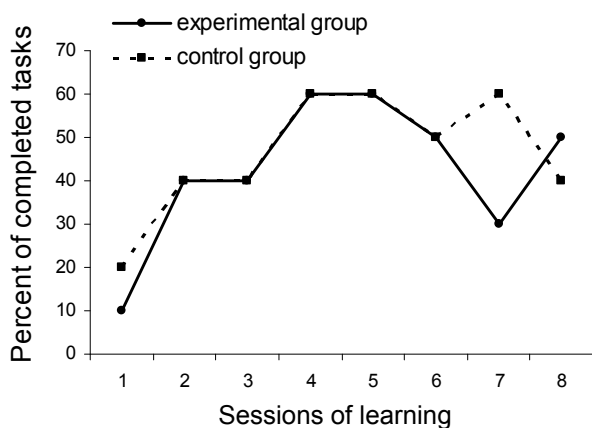


Fig. 1. The dynamics of performance of carps in the active avoidance task during learning sessions

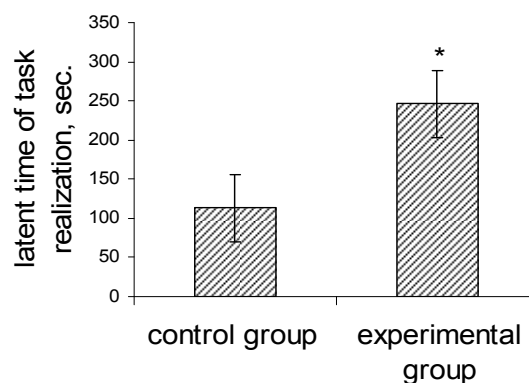


Fig. 2. Latent time of the task realization ($M \pm m$) of carps in retest sessions. * - $P < 0.05$ (Mann-Witney test)

Thus, the data for the first time demonstrate participation of SMAP in negative regulation of memory trace formation in teleost fish similar to those described in mammals. However, unlike to its effect in the rats, the protein did not influence task acquisition in learning sessions. It was hypothesized that anticonsolidation effect of SMAP on fish memory is related to condensation of chromatin structure in the nerve cells and as a result of blocking the process of translation and synthesis of specific proteins responsible for molecular formation of long-term memory.

References

1. Mekhtiev A.A. (2000). Revealing of the protein possessing with anticonsolidation properties in the rat brain cortex. *Bull. Exper. Biol. Med.* 129(8):147–150.
2. Huseynov Sh.B., Mekhtiev A.A. (2012). Studies of the role of serotonin-modulating anticonsolidation protein in memory formation in rats in the shuttle box model. *J. Highest Nervous Activity*, 2:1–8.

ВПЛИВ АДАПТАЦІЙНИХ ТРЕНУВАНЬ НА АКТИВНІСТЬ ТА ЕКСПРЕСІЮ Mn-SOD В МІТОХОНДРІЯХ ЩУРІВ

Гончар О.О., Стешенко М.М., Французова С.Б., Маньковська І.М.

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ, Україна
e-mail: ogonchar@yandex.ru

Останнім часом в медичній та спортивній практиці знайшли широке використання різні види адаптаційних тренувань, у тому числі адаптація до періодичної зміни рівня кисню. Показано їх позитивний вплив на метаболічні процеси, структурні перебудови в тканинах і органах (1), однак, молекулярні механізми цих явищ ще остаточно не з'ясовані. В розробці найбільш ефективних режимів гіпоксичних тренувань особливий інтерес привертає введення в інтервальне гіпоксичне тренування гіпероксичної компоненти (2). Відомо, що функціональний стан антиоксидантного ферменту MnSOD - одного з перших та важливих рівней захисту мітохондрій від дії вільних радикалів, значною мірою впливає на резистентність клітинних структур до дії оксидативного стресу та формування адаптаційних реакцій (3). Досліджувалась активність та експресія MnSOD за умов тривалих гіпоксі-гіпероксичних впливів (5-ти хвилинне дихання газової суміші з 10 та 30% O₂, 60 хв щоденно, протягом 15 днів). Було показано, що такий вид адаптаційних тренувань призводив до зростання в мітохондріях легень активності та експресії білка MnSOD на 32 та 51%, відповідно, у порівнянні з нормоксією (p<0,05). У міокарді активність MnSOD мала лише тенденцію до зростання, при цьому кількість білка MnSOD залишалася на рівні контролю (Рис.1 А, Б). Усі ці зміни відбувалися на фоні зниження вмісту в мітохондріях цих тканин вторинних продуктів ПОЛ. Порівняння динаміки рівня експресії гену MnSOD та його білкового продукту показало, що їх експресії змінювалися різнонаправлено: рівень мРНК MnSOD у легенях був знижен на 16% (p<0,05), а у міокарді мав лише тенденцію до зниження у порівнянні з нормоксією (Рис. 1В).

Таким чином, запропонований вид адаптаційних тренувань шляхом періодичного, помірного по інтенсивності прооксидантного впливу дозволяє обмежити надмірну активацію вільнорадикальних процесів в мітохондріях щурів за рахунок індукції синтезу власних захисних антиоксидантних систем.

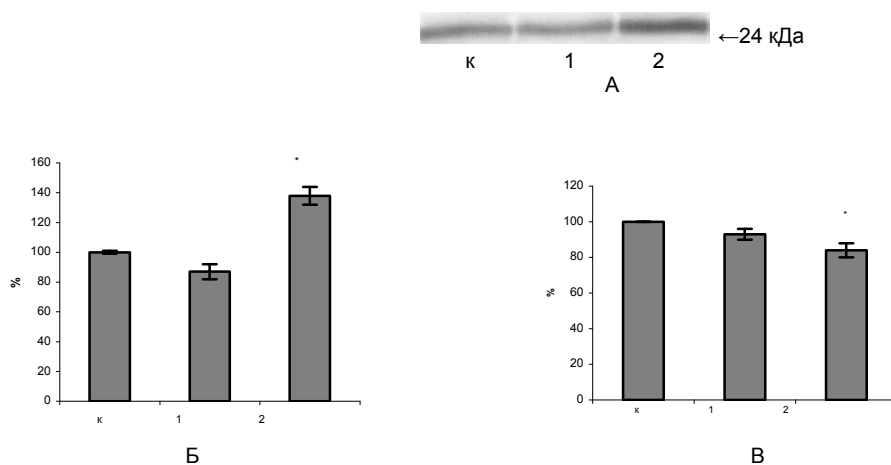


Рис. 1. Зміни рівня експресії білка MnSOD (А). Відносні показники рівня експресії білка (Б) та мРНК (В) MnSOD в мітохондріях міокарду (1) та легень (2) щурів після адаптаційних тренувань (рівень експресії білка та мРНК у тварин контрольних груп (к) прийнятий за 100%) (M±m, n=5), * - p<0,05.

Література

1. Clanton T.L., Klawitter P. (2001). Physiological and Genomic Consequences of Intermittent Hypoxia. Invited Review: Adaptive responses of skeletal muscle to intermittent hypoxia: the known and the unknown. *J. Appl. Physiol.* 90: 2476-2487.
2. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. (2005). Роль свободнорадикальных процессов и редокс-сигнализации в адаптации организма к изменению уровня кислорода. *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова.* 91: 636-655.
3. Gonchar O., Mankovskaya I. (2010). Antioxidant system in adaptation to intermittent hypoxia. *J. Biol. Sci.* 10: 545-554.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INFLUENCE OF ADAPTIVE TRAINING ON ACTIVITY AND EXPRESSION OF MnSOD IN RAT MITOCHONDRIA

Gonchar O.O., Steshenko M.M., Frantsuzova S.B., Mankovska I.M.

Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: ogonchar@yandex.ru

Various kinds of adaptive training including adaptation to periodic changes in oxygen levels widely used in medicine and sport practice. The positive effects of these trainings on metabolic processes, structural adjustment in many tissues and organs were shown (1), however, the molecular mechanisms of these phenomena are still not clear. Recently, it was proposed a new regime of adaptive training which combines periods of hypoxia and hyperoxia and is characterized by upregulation of adaptive reactive oxygen signals compared to classical intermittent hypoxic training (2). It is known that the functional state of the antioxidant enzyme MnSOD - one of the first and most important levels of mitochondria protection from free radicals, considerably affects the resistance of cellular structures to the action of oxidative stress and formation of adaptive reactions (3). We investigated the activity and expression of MnSOD after long-term hypoxia/hyperoxia influences (5-minute breathing of gas mixture with 10 and 30% O₂, 60 min daily for 15 days). It was shown that this type of adaptive training led to an increase in lungs mitochondria MnSOD activity and protein expression by 32 and 51%, respectively, compared with normoxic control ($p < 0.05$). In the myocardium the MnSOD activity had only tendency to an increase, at the same time, MnSOD protein content remained at the control level (Figure 1 A, B). All these changes occurred against the background of a reduce in the secondary products of lipid peroxidation in mitochondria of these tissues. Comparison of the dynamics of gene and protein expression of MnSOD shows that the MnSOD mRNA level in the lungs was reduced by 16% ($p < 0.05$), and in the myocardium has only tendency to a decrease compared with normoxia (Figure 1B).

Thus, the proposed type of adaptive training through periodic and moderate in intensity prooxidant signal restricts the excessive activation of free radical processes in rat mitochondria due to induction of their own protective antioxidant systems.

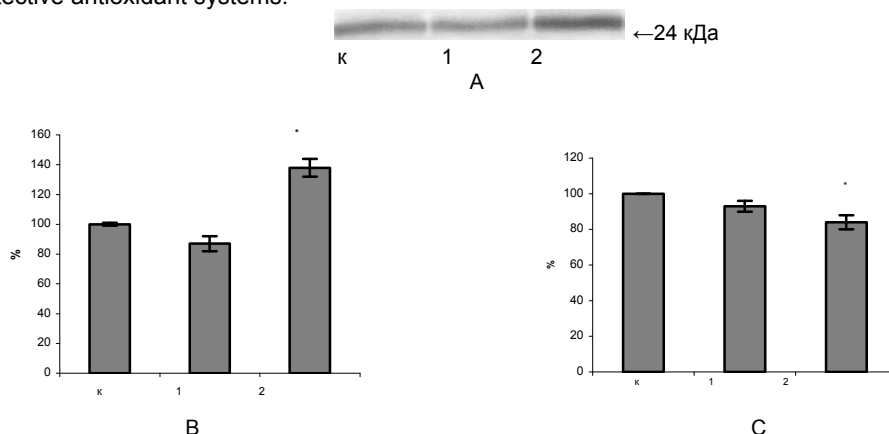


Fig. 1. Changes in MnSOD protein expression (A). Relative rates of MnSOD protein expression (B) and MnSOD mRNA (C) in the mitochondria of myocardium (1) and lung (2) after adaptive training (the levels of protein expression and mRNA of control groups (k) taken as 100%) ($M \pm m$, $n = 5$), * - $p < 0.05$.

References

1. Clanton T.L., Klawitter P. (2001). Physiological and Genomic Consequences of Intermittent Hypoxia. Invited Review: Adaptive responses of skeletal muscle to intermittent hypoxia: the known and the unknown. *J. Appl. Physiol.* 90: 2476-2487.
2. Sazontova T., Arkhipenko Yu.V. (2005). The role of free radical processes and redox-signalization in adaptation of the organism to changes in oxygen level. *Russian Physiol. J.* 91: 636-655.
3. Gonchar O., Mankovskaya I. (2010). Antioxidant system in adaptation to intermittent hypoxia. *J. Biol. Sci.* 10: 545-554.

НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ ПРИ ИЗУЧЕНИИ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМОВ

Гончарова М.В., Чуднова Т.А., Королева С.Ю., Сафонов С.С., Королев Ю.Н.

Международный университет природы общества и человека «Дубна», филиал «Угреша»,
Дзержинский, Московской области, Россия
e-mail: mariy-goncharov@yandex.ru

Для оценки состояния природных экосистем необходимы не только химические, но и биологические показатели. В качестве основных задач было определение параметров, характеризующих состояние экосистем; определение параметров микроорганизмов, соответствующих параметрам экосистем, определяющих их состояния; разработка методологии анализа указанных параметров в клетках; проведение серии экспериментов на популяциях микроорганизмов с целью поиска зависимостей, которые можно использовать при работе с макрообъектами экосистем; апробирование разработанных подходов и методов для контроля состояния на отдельных макрообъектах экосистемы.

Биоценоз реагирует на изменение окружающей среды как единое целое. Существование биоценозов в широком диапазоне изменений окружающей среды возможно благодаря приспособительным изменениям биоценозов — экологическим модификациям. Последние представляют собой единую взаимообусловленную систему приспособлений, включающую в себя различные способы достижения соответствия интенсивности и характера метаболизма биоценоза изменяющимся условиям среды, механизмы саморегуляции численности популяции, регуляторные механизмы особи, приспособительные изменения органов растительных и животных организмов и компенсаторно-приспособительные реакции в их элементарном проявлении на клеточном и субклеточном уровнях. На изменение обеспеченности жизненными ресурсами биоценоз реагирует изменением интенсивности и характера своего метаболизма. Наибольшая приспособленность системы к устойчивому существованию в конкретных условиях среды достигается при строго определенном, обусловленном свойствами среды уровне организации этой системы. Указанный принцип, распространенный на биоценоз, указывает на существование некоторого предела уровня организации биоценоза, определяемого конкретными условиями среды. Не только уровень организации отдельных видов организмов, но и уровень организации их сообществ зависит от окружающей среды.

Многие исследователи указывают на аналогию между индивидуальным развитием биоценоза и онтогенезом организмов. Для контроля за состоянием экосистем возможно использовать организмы, входящие в них, т.к. при определенном изменении среды система откликается соответствующей "реакцией", отражающейся в изменении параметров организмов в соответствии с состоянием экосистемы. Она проявляется либо в количественном варианте (изменение градиентов тех или иных биохимических компонентов в определенном объеме клетки, изменение градиентов степени пространственной организации этих биохимических образований), либо в качественном варианте (изменение векторов изменений градиентов концентраций биохимических компонентов, изменение векторов изменений градиентов степени пространственной организации).

Чтобы рассмотреть возможности практической реализации сказанного, выделили базовые параметры экосистемы, характеризующие ее состояние в соответствии с положениями об экологических модификациях. Затем нашли им соответствие в параметрах клеток микроорганизмов, т.к. микроорганизмы — одна из основных доминантных частей любой экосистемы.

Одной из важных черт экосистем является взаимосвязь между пространственными и временными изменениями их показателей, т.е. единая пространственно-временная организация. Одним из проявлений пространственной организации биологической системы является их топографическая и топологическая гетерогенность, выражающаяся, в частности, в форме градиентов. Степень их выраженности и связь с временной динамикой процессов в системе изменяются при воздействиях на нее.

Коснемся одного из возможных вариантов реализации подобной информации в экспериментальной практике. Для этого обратимся к гипотезе реалистической псевдокристалличности, где структуры рассматриваются как трехмерные случайные поля, обладающие упорядоченностью, степень которой обуславливает свойства и функциональные возможности исследуемых объектов. Материальным носителем жизнедеятельности организма является структурная организация живого объекта. Это означает, если разработаны методы и устройства получения информации о неразрушенном объекте по трем координатам, то возможно иметь количественную информацию о свойствах этого объекта. Для живых систем помимо пространственных координат существует и временные. Нас должна интересовать возможность получения информации, позволяющей судить не только о наличии или количестве в клетках важнейших биополимеров (белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов), но и об их пространственном распределении. Можно предположить, что преимущественная ориентация определенных химических связей в ансамблях макромолекулярных компонентов клеток может характеризовать *in vivo* организацию биосистемы (соответственно и ее функциональное состояние) в определенный момент времени. Неотъемлемым условием существования биологических систем разного уровня является их связь с окружающей средой. Пограничные структуры клеток должны нести основную нагрузку по осуществлению контакта со средой обитания.

Полученные данные выявили определенную способность внешних структур только живого объекта регулировать степень взаимодействия развивающегося объекта со средой обитания, т.е. оболочка проявляет свойства перестраивающегося фильтра только в составе целостной развивающейся системы.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

SOME APPROACHES TO THE STUDY OF THE ADAPTIVE CAPACITY OF THE ORGANISMS

Goncharova M.V., Chudnova T.A., Koroleva S.Yu., Safonov, S.S., Korolev Yu.N.

International University of nature society and man "Dubna", branch of "Udrish" str., Dzerzhinsky, Moscow region, Russia
e-mail: mariy-goncharov@yandex.ru

To assess the state of natural ecosystems are necessary chemical and biological-indicators. The main objectives were: to determine the parameters, characterizing the state of ecosystems; define the parameters of the microorganisms, the relevant parameters of the ecosystem that determine their status; to develop a methodology for the analysis of the parameters specified in the cells; to conduct a series of experiments on populations of microorganisms with a view to finding dependencies, which you can use when working with the macro-objects ecosystems; test the developed approaches and methods for monitoring the status of the individual the macro-objects ecosystems.

Biocenosis responds to changes in the environment as a whole. The existence of biocenoses in a wide range of environmental change is possible thanks to the adaptive changes of biocenoses and environmental modifications. The latter represent a single due to system devices, including the various methods to achieve compliance with the intensity and nature of the metabolism of biocenosis of the changing conditions of the environment, mechanisms of self-regulation of population, regulatory mechanisms of the individual, adaptive changes of the organs of the animal and plant organisms and compensatory and adaptive reactions in their elementary manifestation at the cellular and sub-cellular levels. To change the availability of vital resources biocenosis responds to the change in the intensity and nature of its metabolism.

Greatest adaptability of the system to sustainable livelihoods in the specific conditions of the environment is achieved in a strictly determined by the properties of the medium level of the organization of this system. This principle, common to the biocoenosis, indicates the existence of certain limit, the level of organization of biocenosis, determined by the specific conditions of environment. Not only the level of organization of individual types of organisms, but also the level of organization of their communities depends on the environment.

Many researchers point to the analogy between the individual development of biocenosis and ontogenesis of organisms. To control the state of ecosystems of the possible use of organisms belonging to them, because changes in a certain environment, the system responds with the corresponding "reaction", as reflected in the change of parameters of organisms in accordance with the state of the ecosystem. It manifests itself either in quantitative form (change of the gradients of those or other biochemical components in a specific volume of the cell, the change of the gradients of the degree of the spatial organization of these biochemical entities), either in qualitative form (change of vectors of changes in the gradients of the concentrations of biochemical components, the change of vectors of changes in the gradients of the degree of the spatial organization).

To consider the possibility of practical realization of the above, identified the basic parameters of the ecosystem, which characterize its status in accordance with the provisions of the environmental modifications. Then found them conform to the parameters of the cells of microorganisms, because micro-organisms is one of the main dominant part of any ecosystem.

One of the more important features of the ecosystem is the relationship between the spatial and temporal changes of their indicators, i.e. a unified space-time organization. One of the manifestations of the spatial organization of biological systems is their topographical and topological heterogeneity, as expressed, in particular, in the form of gradients. The degree of their severity and the relationship with the time dynamics of the processes in the system change with impacts on it.

Touch one of the possible variants of realization of such information in the experimental practice. For this we turn to the hypothesis of a stochastic psevdokristallichnosti, where structures are regarded as three-dimensional random fields, with the order, the degree of which determines the properties and functionalities of the investigated objects. Material carrier of the life of the body is the structural organization of a living object. This means, if the developed methods and devices of information about intact object on three coordinates, then it is possible to have quantitative information about the properties of this object. For living systems in addition there are spatial coordinates and time. We should be interested in the possibility of obtaining information, allowing to judge not only on the presence or quantity in the cells of the most important biopolymers (proteins, nucleic acids, lipids, polysaccharides), but also about their spatial distribution.

It can be assumed that the current focus of certain chemical bonds in ensembles of macromolecular components of cells can characterize in vivo organization of Biosystems (respectively, and its functional condition) in a given moment of time. An essential condition for existence of biological systems of different levels is their relationship with the environment. Border structures of cells must bear most of the burden of the implementation of the contact with the environment.

The data obtained revealed a capacity of external structures only living object regulate the degree of interaction between developing object with the environment, i.e. the shell behaves reconfigured filter only in the emerging system of integral.

О РЕАКЦИИ БИОСИСТЕМЫ НА БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Гончарова М.В., Чуднова Т.А., Королева С.Ю., Сафонов С.С., Королев Ю.Н.

Международный университет природы общества и человека «Дубна», филиал «Угреша»,
Дзержинский, Московской области, Россия
e-mail: mariy-goncharov@yandex.ru

В работе дан экспериментальный анализ реакции нативных клеток на присутствие фага в среде как в случае их контактов, так и до момента их механического взаимодействия. Получены и приведены данные, характеризующие так называемую степень организованности культуры в случае изменения взаимодействия системы культура+среда с фагом на разных этапах развития заражения. Для решения задачи были использованы оптические методы получения информации без разрушения живой системы.

Старение - это фундаментальное свойство, внутренне присущее всем живым организмам. Считается, что во многих отношениях старение целого организма можно рассматривать как реализацию наследственной информации во времени, как продолжение непрерывного процесса развития от ювенильности к зрелости. Поэтому, важно иметь возможность выражать через какие-либо характеристики. Предпринята попытка найти один из способов проявления степени "организованности" живой системы в исследованиях возрастной физиологии живых систем. Для решения задачи необходимо было выбрать факторы воздействия на живую систему, которые могли бы выявить ее специфику.

Экспериментальные данные, полученные на разрушенных объектах, часто не отражают истинного течения тех или иных процессов в условиях временной и пространственной организации живой системы. Свойства кооперативной системы, организованной из отдельных макромолекул, не являются простой суммой свойств этих макромолекул. В такой системе проявляются качественно новые свойства, характерные для нового уровня структурной организации. Поэтому необходимо использовать методы получения информации без разрушения живой системы, а также применить фактор, действие которого носит направленный биологический характер. Для получения информации из клеток без их разрушения были использованы методы спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО, МНПВО). В качестве фактора были использованы фаги. Отметим, что при встрече фага с клеткой бактерии-хозяина не всегда происходит явное развитие заболевания.

Задачей исследования было оценить диапазон возможностей предложенных в работе методов анализа нативных клеток при изучении реакции цианобактерий на присутствие фага в среде как в случае их контактов, так и до момента их механического взаимодействия; кроме того, представляли интерес данные, характеризующие так называемую степень организованности культуры в случае изменения взаимодействия системы культура+среда с фагом на разных этапах развития заражения.

Объектами исследования служили цианобактерии *Anacystis nidulans* и *Anabaena variabilis* и цианофаги AS-I и A-I(L). Запись спектров вели параллельно для культуры с фагом и контрольной культуры без фага. Степень реакции культуры на присутствие в среде фага определяли сравнением спектральных характеристик со спектрами контрольной культуры, а также по изменениям интенсивности полос поглощения и дихроичных отношений в области полос амид 1 и амид 2.

Было получено, что разбавленная культура на введение в среду цианофага реагирует сильнее, чем концентрированная, хотя при сильном разбавлении системы фаг+клетки количество контактов фагов и клеток должно уменьшаться и реакция культуры должна была бы стать меньшей. Можно предположить, что 12-дневная культура представляет собой своего рода организм и начальное взаимодействие (адсорбция) цианофага с клетками не находит пока в достаточной степени своего отражения в реакции организма, так как еще существенно не нарушена его система регуляции. При сильном разбавлении культуры нарушается система регуляции, характерная для организма, т. е. нарушается целостность системы клетка+среда. Поэтому при введении в среду цианофага мы регистрируем в опыте ответ отдельных клеток. Эта система, вероятно, более лабильна, и сразу наблюдается реакция именно клеток (а не организма) на фаг, хотя количество контактов может быть меньше, чем в опыте с концентрированной культурой.

Такое предположение подтверждает и проведенный следующий опыт. В менее концентрированную культуру после ее выдерживания в стандартных условиях культивирования в течение нескольких часов был введен цианофаг. Реакция культуры на введение фага в среду была несколько задержана во времени. Вероятно, культура "успела" приобрести некоторые "свойства организма". А за этот промежуток времени действие цианофага нарушило организменную систему регуляции, и культура на это резко отреагировала. В точности такая же картина наблюдается на спектрах концентрированной исходной культуры.

Представленные результаты указывают на то, что фаги могут быть использованы в качестве "инструмента" исследования состояния, поведения, степени организованности культуры клеток на различных этапах ее развития и дать неизмеримо большую информацию о состоянии системы, чем поиск интегральных параметров. Но следует внимательно относиться к выбору фактора воздействия, учитывая поставленные конкретные задачи и степень взаимосвязи объектов в реальных условиях их функционирования.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ABOUT THE REACTION OF THE BIO-SYSTEM ON THE BIOLOGICAL IMPACTS

Goncharova M.V., Chudnova T.A., Koroleva S.Yu., Safonov S.S., Korolev Yu.N.

International University of nature society and man "Dubna", branch of "Ugresha", Dzerzhinsky, Moscow region, Russia
e-mail: mariy-goncharov@yandex.ru

Ageing is a fundamental property of internally inherent in all living organisms. It is considered, that in many respects, the aging of the whole organism can be considered as an implementation of the hereditary information in time, as a continuation of the ongoing process of development of juvenis to maturity, although it has such features, the origins of which cannot be detected in the early stages of development.

Regarding the evolution of ancient times and the necessity of the properties for all living systems there is no single opinion, because these systems are at different levels of the organization in the physiological (even "social") sense. Therefore, in studies involving questions of age physiology of living systems, it is important to have the opportunity to Express the degree of "organization" living systems through any of the characteristics. Attempt to find one of the ways to manifest such characteristics. To solve the problem it was necessary to choose the factors of influence on the living system, which could identify its specific features. The experimental data obtained on the destroyed objects, often do not reflect the real course of those or other processes in the conditions of the temporal and spatial organization of living systems. The properties of the co-operative system, organized of individual macromolecules, are not a simple sum of the properties of these polymers. In such a system are manifested qualitatively new properties, characteristic for a new level of structural organization. Therefore, you must use the methods of obtaining information without the destruction of the living system, and apply the factor, the effect of which is directed biological nature. For reception of the information from cells without their destruction were used methods of spectroscopy of the impaired total internal reflection (НПВО, МНПВО). As a factor of phages were used. Note that at the meeting of the phage with the cell bacteria-host is not always the evident development of the disease.

The goal of the research was to assess the range of possibilities offered in the working methods of the analysis of native cells in the study of the reaction of cyanobacteria in the presence of the phage in the environment as in the case of their contacts, and until the moment of their mechanical interaction; in addition, the interest of the data, characterizing the so-called degree of organization culture in the event of a change of the interaction of culture+environment with phage at different stages of development of the intrusion.

The objects of the research were cyanobacteria *Cyanobacterium nidulans* and *Anabaena variabilis* and cyanofags AS-I and A-I(L). Recording spectra conducted in parallel to the culture of the phage and the control culture without the phage. The degree of response of the culture of the presence in the environment of the phage determined by comparing the spectral characteristics with spectra of the control culture, and changes in the intensity of absorption bands and dichroic relations in the field of amide bands 1 and amide 2.

It was obtained that diluted the culture of the introduction in the environment цианофара reacts stronger than concentrated, although with a strong dilution system phage+cells the number of contacts of phages and cells should decrease and the reaction of culture should become smaller. It can be assumed that the 12-day culture is a kind of organism and primary interaction (adsorption) cyanofag with cells not found yet sufficiently reflected in the reaction of the organism, as still does not significantly interfere with its system of regulation. With a strong dilution of culture is violated, the regulatory system characteristic of the organism, i.e., violated the integrity of the system cell+environment. Therefore, when introduced into the environment cyanofags we register in the experience of the response of individual cells. This system is probably more лабильна, and immediately there is a reaction it is cells (but not the body) to a phage, although the number of contacts may be less than in the experience with concentrated culture.

This assumption is confirmed also carried out by the following experience. In the less concentrated solution of culture after its storage in the standard conditions of cultivation in the course of several hours was introduced cyanofag. The reaction of culture on the introduction of the phage on Wednesday was slightly delayed in time. Probably, the culture of "managed to" get some "properties of the organism". In exactly the same picture is observed in the spectra of a concentrated source of culture.

The increase in the reaction of culture within a few hours after cultivation, probably due to the fact that during this period of time the action cyanofag has also violated and организменную the regulatory system, and culture was sharply reacted.

The results of the study changes in the spectra of cyanobacteria in the introduction in the system of culture+environment phages various concentrations confirm complex biological nature of the reaction of the living system of the presence in the environment of cyanofag. It is known that on the outcome of the interaction between host and parasite affects the physiological condition of culture. In connection with this interest is the further study of the reaction of the various cultures of bacteria in the separate stages of their development in the introduction in the environment of the phage.

These results indicate that phages can be used as a "tool" research of the state, conduct, degree of organization culture cells at different stages of its development. You should pay attention to the fact, that the directed factor of impact on components of the ecosystems can give immeasurably more information on the state of the system, the search for the so-called integral parameters.

ВПЛИВ ГІПОКСИЧНОГО СТРЕСУ В ПЕРИНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ НА СТАН ЗОБНОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРЯТ

Гончарова Н.Г., Бессараб Г.І., Сухомлінова І.Є.

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна
e-mail: edelweiss57@ukr.net

Останнім часом зріс інтерес дослідників до вивчення безпосередніх та віддалених наслідків впливу гіпоксичного стресу, який переживає материнський організм і опосередковано – внутрішньоочеревний плід, на нейроендокринну систему нащадків. Це зумовлює появу цілого спектра змін не тільки з боку центральної нервової системи, ендокринних залоз але й органів імунітету. Відомо, що типовим наслідком перинатально перенесеної гіпоксії є виникнення недостатності гуморальної та клітинної ланок імунітету у периферійній крові. Між тим зміни морфофункціонального стану зобної залози – центрального органу імунітету, що найбільш чутливо реагує на будь-які несприятливі впливи, потребують подальшого вивчення та оцінки. В зв'язку з цим було вивчено вплив перинатального гіпоксичного стресу на морфометричні показники зобної залози щурят на ранньому етапі постнатального онтогенезу.

Об'єктом дослідження стали 80 білих щурят лінії Вістар із 9 послідів. В дослідну групу увійшло 40 тварин, які отримали штучне гіпоксичне стресування в перші десять діб пренатального розвитку (за моделлю Бекетової Г.В. та співавторів; (46) 15.12.2004, Бюл.№ 12.2004 р.; Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика). Решта щурят, що розвивалися фізіологічно, склали групу контролю.

Результати дослідження показали, що візуально форма, колір та пружність зобної залози не відрізняються в групах спостереження і контролю. Між тим абсолютна маса зобної залози новонароджених щурят з групи спостереження достовірно перевищувала дані групи контролю ($P<0,05$).

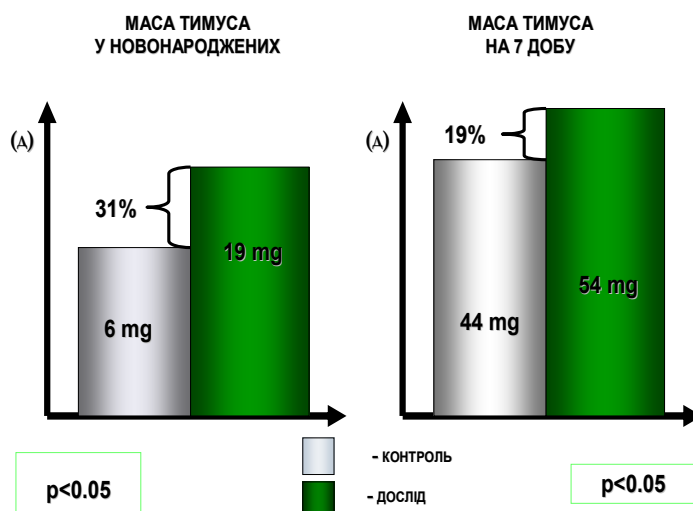


Рис.1. Динаміка змін ваги зобної залози

Подібні результати спостерігалися і на сьому добу життя щурят з групи спостереження, коли абсолютна маса зобної залози вірогідно була більша за показники тварин з групи контролю ($P<0,05$). Площа коркової речовини зобної залози була достовірно більша за площу мозкової, стосовно загальної площі зрізу органа ($P<0,05$). Разом з цим відмічена і вірогідно збільшена кількість міждолькових перетинок тимусу у групі спостереження порівняно з групою контролю ($P<0,05$).

Таким чином, виявлена в експерименті тимомегалія, як наслідок гіпоксичного стресування може бути причиною формування в майбутньому недостатності адаптивного імунітету.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE HYPOXIC STRESS INFLUENCE IN THE PERINATAL PERIOD OF ONTOGENESIS TO PARAMETRS OF RATS' THYMUS

Goncharova N.G., Bessarab G.I., Suchomlinova I.E.

Zaporozhian state medical university, Zaporozhye, Ukraine
e-mail: edelweiss57@ukr.net

Recently, the interest of researchers to study the immediate and remote hypoxic stress effects increased, which is maternal organism experiencing and indirectly - neuro-endocrine system of intrauterine fetal. This leads to the emergence of a range of changes not only in the central nervous system, endocrine glands but also in immunity system too. It is known that a typical consequence of perinatal hypoxia is lack of humoral and cellular branches of immunity in peripheral blood. Meanwhile changes in the morphological and functional state of the thymus, which is the central organ of immunity, the most sensitive to any adverse effects, require further study and evaluation. In this reason, we studied the perinatal hypoxic stress influence on the morphological characteristics of the rats' thymus in the early period of the postnatal ontogenesis.

The objects of the study were 80 white rats of Wistar line from the 9 litter. The studied group included 40 animals. They received artificially hypoxic stress in the first ten days of prenatal development (by model of Beketova G.V. and al, (46) 12.15.2004, Bull. № 12.2004; Kievian Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L.Shupyk). Other rats that developed physiologically were a group of controls.

The results showed that visual form, color and elasticity the thymus do not differ in groups of observation and control. The absolute mass of thymus from observation group of newborn rats was significantly higher than the control group data ($P < 0,05$).

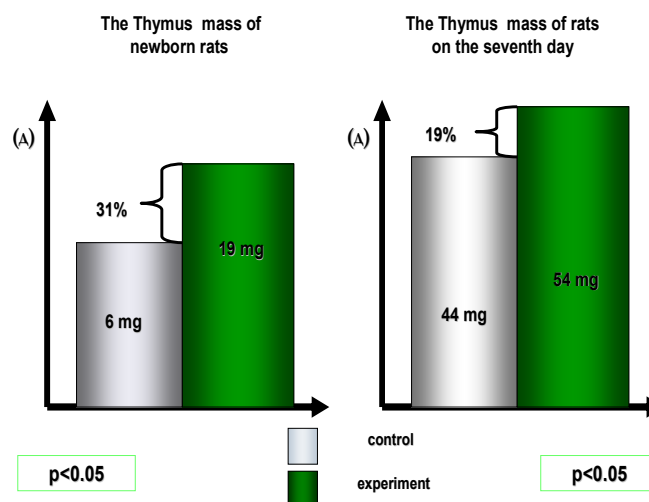


Fig.1. Evolution of the thymus mass

The similar results were observed on the seventh day of rats life from observation group, when the absolute mass of thymus was significantly greater than in animals of control group ($P < 0,05$). The cortical area of thymus was significantly larger than the medulla zone one ($P < 0,05$). We marked increase the number of lobular septum of thymus under observation compared with the control group ($P < 0,05$).

Thus, the thymomehaliya detected in the experiment as a result of hypoxic stress can be the cause of the formation adaptive immunity lack in future.

ВОЗМОЖНЫЙ ОЛИГОНУКЛЕОТИД-ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИЙ

Дейчман А.М.

ФГБУ Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва, Россия
e-mail: amdeich@rambler.ru

Проблема молекулярных, клеточных и, далее, системных механизмов онтогенетических и филогенетических адаптаций исходно тесно связана с проблемами закрепления дифференцировочных состояний клетки (структуры ее генома), – с участием известных/неизвестных генетических и эпигенетических факторов и механизмов регуляции и наследования. Одним из до сих пор не показанных (вероятно фундаментальных) механизмов, связанных с в.н. регуляцией/ наследованием, может оказаться гипотетический механизм воспроизведения клеткой условно коротких (15-30 нуклеотидов) и средних [(15-30)_{ns5}] олигонуклеотидных последовательностей, способных, одновременно, к выполнению широкого круга реактивно-регуляторных (включая защитные для клетки/организма) и более длительно действующих, эволюционно-значимых нуклеотидно-пластических функций в геноме.

Воспроизведение олигонуклеотидов было названо вПОТ-механизмом, – вариабельной Поэпитопной Обратной Трансляции отдельного эпитопа (в 5-10 аминокислот). В этом случае, концевые аминокислоты эпитопов, локализованных на внутренних мембранах митохондрий (труднопроницаемых даже для малых ионов), последовательно вырезались протеиназами и связывались с соответствующими тРНК (или ориентировали вблизи себя наборы Аа-тРНК). Далее, сближенные антикодоновые участки тРНК (Аа-тРНК): 1. либо выполняли роль псевдоматрицы для полимеразной активности, прерывисто синтезирующей рибо- / дезоксирибо-олигонуклеотиды (и, возможно, их комплементарные копии); 2. либо последовательно вырезались и лигировались. В обоих случаях, в силу разных причин, могло формироваться несколько вариантов нуклеинового эквивалента (НЭ в 15-30 нуклеотидов; новая «минимальная генетическая единица») данного эпитопа, отсюда – вариабельность вПОТ-механизма (у прокариот подобный механизм может быть ассоциирован с цитоплазматической мембраной; в разработке). Перенос НЭ (митохондрии→ядро / цитоплазма) может быть связан с транспортирующими их векторными (ретровирус-подобными) нуклеиновыми последовательностями (ВНП-передача) и белками РНП / ДНП-комплексов.

Такие НЭ могут частично/полностью-комплементарно взаимодействовать: 1) с короткими РНК (микро-РНК, малыми интерферирующими РНК, др.; всего около 10 видов) и их мРНК / РНК-мишенями (к которым, в частности, относятся белки, модифицирующие гистоны, негистоновые белки, метилирующие ДНК, т.е. формирующие т.н. «гистоновый код», конформационную структуру нуклеосом и «метилом» ДНК); 2) с РНК-компонентами РНП-комплексов в цитоплазме / ядре (вливают на трансляцию, экспрессию генома); 3) с ориджнами репликации (ядра / митохондрий / хлоропластов), 4) с сайтами инициации транскрипции, – и 5) с праймерами тех и других; а также с сайтами: 6) «горячих точек» генома, 7) репарации одно- / двунитевых разрывов, 8) сплайсинга, 9) повторяющихся последовательностей (вблизи генов, подвижных элементов).

Таким образом, НЭ может позитивно/негативно вмешиваться в такие процессы регуляции экспрессии генома, как репликация, транскрипция, трансляция, сплайсинг, генный / геномный сайленсинг, редактирование РНК, др. Кроме того, единичные (15-30)- и амплифицированные (15-30)_n-варианты НЭ могут служить тем исходным материалом, из которого, за эволюционно значимый период, формируются целые геномы организмов: прежде всего повторы (простые tandemные, др.; найдены в межгенных, некодирующих, нетранслируемых, интронных, промоторных, экзонных, др. регуляторных областях генома эукариот), из которых, далее, воспроизводится большая часть генома, а также интроны и экзоны. Именно пунктуация повторов задает рамки и предпочтительные направления, в которых осуществляется генетический метаболизм любых организмов (различные виды рекомбинации). Повторы, не редко, имеют сайты гипервариабельности / нестабильности; именно они являются наиболее полиморфными областями генома. С повторами связывают многие генетические заболевания, а также раки (прямой кишки, легких, молочной железы), при которых обнаруживают MSI-сайты микросателлитной нестабильности. Напряженно функционирующий вПОТ-механизм (генетического поиска) обоюдоостр, и может вести к генетической нестабильности и патологическим результатам за счет внедрения векторов (с НЭ внутри) в перечисленные участки генома.

В процессе экспрессии генома, предложенный вПОТ-механизм, как и синтез белка, используется большинством клеток (соматических, половых, стволовых, иммунокомпетентных, др.) любых организмов в соответствии с их генетической программой. Связанные с вПОТ/ВНП-передача механизмами изменения регуляции и нуклеотидного состава генома соматических клеток (в течение жизни организма) могут вести к изменению регуляции генных-сетей, генетической/эпигенетической регуляции, и, в частности, к онтогенетическим адаптациям (возможны и соматические нейтральные/летальные/апоптогенные/др. мутации). В соответствии с воззрениями Ч.Дарвина (т.н. «теорией пангенезиса»), не знавшего про ДНК/РНК, некоторые из изменений в соматических клетках могут быть переданы (в виде «геммул») в герминативные клетки. Механизм передачи/закрепления новой генетической информации от соматических клеток к половым связан с пороговым преодолением каждого из множества этапов/барьеров этого процесса, потенциально, и с определенной небольшой частотой, завершающегося филогенетической адаптацией. Работы автора представлены на сайте (www.amdeich-var-reverse-translation.ru).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE POSSIBLE OLIGONUCLEOTIDE-DEPENDENT MECHANISM OF ADAPTATIONS

Deichman A.M.

FSBA Russian Cancer Research Center by N.N.Blokhin, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia
e-mail: amdeich@rambler.ru

The problem of molecular, cellular, and further systemic mechanisms of ontogenetic and phylogenetic adaptations closely linked initially to the problems of fixing differentiated cell states (the structure of its genome), – with the participation of known / unknown genetic and epigenetic factors and mechanisms of regulation and inheritance. One has not yet been shown (probably basic) mechanisms associated with above named regulation / inheritance, it may be a hypothetical mechanism of cell reproduction relatively short (15-30 nucleotides) and medium-sized $[(15-30)_{n \leq 5}]$ oligonucleotide sequences, capable simultaneously to perform a wide range of reactive-regulatory (including protective for the cell / body) and a long-acting evolutionarily significant nucleotide-plastic functions in the genome.

Reproduction of oligonucleotides was called vIERT-mechanism, – variable Individual Epitope Reverse Translation of single epitope (in 5-10 amino acids). In this case, the terminal amino acids of epitopes localized on the inner membranes of mitochondria (poorly permeable even for small ions), consistently cut by proteases and associated with the corresponding tRNA (or oriented near a set of Aa-tRNA). Furthermore, the contiguous of the tRNA anticodon sites (Aa-tRNA): 1. or acted as pseudomatrix for polymerase activity, discrete synthesizing ribo- / deoxyribooligonucleotides (and possibly their complementary copies); 2. or they were sequentially cut and ligated. In both cases, for various reasons, may have formed the several variants of nucleic equivalents (NE in 15-30 nucleotides, a new "minimal genetic unit") of the epitope, from here – variability of vIERT-mechanism (in prokaryotes such a mechanism may be associated with the cytoplasmic membrane; in preparation). Transfer of NE (mitochondria → nucleus / cytoplasm) may be associated with transporting them by vector (retrovirus-like) nucleic acid sequences (VLNS-transfer) and proteins of RNP / DNP-complexes.

These NEs may partially / fully-complementary interact: 1) with short RNAs (micro RNA, small interfering RNA, etc.; about 10 species) and their mRNA/RNA-targets (proteins which, in particular, modify histones, non-histone proteins, methylating DNA, i.e., forming the so-called "histone code", the conformational structure of the nucleosomes and "methyloom" DNA); 2) with the RNA-components of RNP-complexes in the cytoplasm / nucleus (effect on translation, expression of genome); 3) with origins replication (nuclei / mitochondria / chloroplasts), 4) with sites initiation of transcription, 5) with primers of both; as well as the sites: 6) "hot spots" of the genome, 7) repair single- / double-strand breaks, 8) splicing, 9) repetitive sequences (nearby of genes, mobile elements).

Thus NE may have a positive / negative to interfere in these processes regulate the expression of the genome, as replication, transcription, translation, splicing, gene/genomic silencing, RNA editing, etc. In addition, the unit (15-30)- and amplified $(15-30)_n$ -versions of NEs can be used as initial material from which for significant evolutionary period formed the entire genomes of organisms: first of all repeats (simple tandem, etc.; are found in intergenic, non-coding, untranslated, intron, promoter, exon, and oth. regulatory regions of the genome of eukaryotes) of which furthermore reproduced a large part of the genome, as well as introns and exons. Exactly punctuation of the sets repeats define the frameworks and the preferred directions in which the genetic metabolism (different types of recombinations) have a place to be for any organism. In repeats are not uncommon sites of hypervariability / instability, they are the most polymorphic regions of the genome. Repeats associated with many genetic diseases and cancers (colorectal, lung, breast) in which sites exhibit MSI-microsatellite instability. Intensive-functioning vIERT-mechanism (genetic search) is double-edged, and can lead to genetic instability and pathological results due to the introduction of vectors (with NE inside) in the above call sites of the genome.

In genome expression process suggested vIERT mechanism, as well as protein synthesis, is used by most cells (somatic, germinal, stem, immune cells, etc.) of any organisms in accordance with their genetic program. Related vIERT / VLNS-transfer mechanisms and changes in the regulation of the nucleotide composition of the genome of somatic cells (during the life of the organisms) can lead to a change in the regulation of gene networks, genetic / epigenetic regulation, and in particular to the ontogenetic adaptations (possible and somatic neutral / lethal / apoptogenic / oth. mutations). In accordance with the views of Ch.Darwin (so-called "theory of pangenesis"), who did not know about the DNA / RNA, some of the changes in somatic cells can be transferred (in the form of "gemmules") in the germinal cells. The mechanism of transfer / fixation of new genetic information from somatic cells to germinal cells is associated with overcoming the threshold of each of the many steps / barriers of this process, potentially and with some small occurrence, culminating in a phylogenetic adaptation. The author's work presented at this site (www.amdeich-var-reverse-translation.ru).

ПРОЯВЛЕНИЯ АДАПТАЦИИ СЛУХОВОЙ СИСТЕМЫ МЫШИ К АНАЛИЗУ СЛОЖНЫХ КОММУНИКАЦИОННЫХ СИГНАЛОВ В АКТИВНОСТИ СЛУХОВЫХ НЕЙРОНОВ СРЕДНЕГО МОЗГА

Егорова М.А., Акимов А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: ema6913@yandex.ru

Несмотря на то, что обработка видоспецифических акустических сигналов является важнейшей функцией слуховой системы, до настоящего времени остается открытым вопрос о специализации слуховых центров мозга к анализу коммуникационных сигналов, и тем более о том, на основе каких принципов слуховая система выделяет их среди многообразия сложных звуков. Обширные восходящие, нисходящие и комиссуральные связи нейронов слухового центра среднего мозга - задних холмов, структурная упорядоченность их центрального ядра, сосредоточение информации о различных признаках звуковых сигналов, высокая вариабельность параметров импульсной активности нейронов позволяют предполагать существование в этой структуре необходимых предпосылок для кодирования коммуникационных сигналов (1).

В настоящей работе исследовали стратегии адаптации слуховой системы к анализу сложных коммуникационных сигналов на уровне одиночных нейронов двух структурных образований слухового центра среднего мозга: его центрального ядра, играющего принципиальную роль при обработке акустической информации в заднем холме, и дорсо-медиального ядра, предположительное участие которого в анализе коммуникационных сигналов показано морфологическими исследованиями (2). С этой целью оценивали частотно-временные характеристики активности и фильтрующие свойства нейронов этих двух структур у домашних мышей, развитая акустическая коммуникация которых сделала их традиционным объектом исследований механизмов слуха.

Полученные результаты выявили различные стратегии обработки сложных видоспецифических сигналов в заднем холме. Среди нейронов центрального ядра впервые обнаружены комбинационно-чувствительные единицы, в ответах которых зарегистрирована реакция облегчения при воздействии определенных сочетаний частотных компонентов сложных коммуникационных сигналов средних уровней интенсивности (70 дБ УЗД).

Выполненное впервые картирование частотных рецептивных полей нейронов дорсомедиального ядра выявило большое представительство в нем (25%) редко встречающихся в центральном ядре комплексных нейронов, отличающихся сложной формой частотных рецептивных полей, связанной с наличием двух возбуждательных характеристических частот - низкочастотной и высокочастотной и соответственно двух пиков чувствительности глубиной, как правило, до 40 дБ. Пики чувствительности были разделены областями торможения, а их частоты - кратны формантам коммуникационных сигналов мышей в области 3 – 5 кГц. Следовательно, в дорсомедиальном ядре заднего холма осуществляется кодирование сложных коммуникационных сигналов невысоких уровней интенсивности путем выделения их определенных частотных характеристик комплексными нейронами, настроенными на конкретные комбинации формант конспецифических сигналов.

Таким образом, выполненный анализ позволяет отметить несколько адаптационных механизмов кодирования сложных коммуникационных сигналов нейронами задних холмов. Среди них - выделение определенных частотных характеристик сигналов различных интенсивностей комбинационно-чувствительными и комплексными нейронами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 09-04-00656 и 12-04-00969).

Литература

1. *Portfors C.V., Sinex D.G.* (2005). Coding of communication sounds in the inferior colliculus. The inferior colliculus. Eds. J.A. Winer, C.E. Schreiner. New York: Springer: 411-425.
2. *Winer J.A., Schreiner C.E.* (2005). The Central Auditory System: A Functional Analysis. The Inferior Colliculus. Eds. Winer J.A., Schreiner C.E. New York: Springer: 1-68.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF THE MOUSE AUDITORY SYSTEM TO COMPLEX COMMUNICATION CALLS PROCESSING IN THE AUDITORY MIDBRAIN

Egorova M.A., Akimov A.G.

I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and biochemistry RAS, Saint-Petersburg, Russia
e-mail: ema6913@yandex.ru

Despite the fact that basic function of the auditory system is the processing of acoustic communication signals, specialization of the auditory centers in communication calls processing is still not clear, as well as criteria for distinguishing them among the variety of complex sounds. The first largest integrative centre on the way of ascending auditory projections is the midbrain auditory centre (inferior colliculus). The described complex functional connections of the inferior colliculus, the lamination of the central nucleus and the projection patterns of the auditory brainstem nuclei, topographic representations of different sound parameters and neuronal response parameters allow assuming the existence in the inferior colliculus of the necessary premises for the coding of complex sound signals (1).

In present research neuronal adaptations to the auditory processing of complex communication calls have been studied at the level of the auditory midbrain – its central nucleus which principle role in sound processing is well-known and dorso-medial nucleus which possible specialization in communications calls processing has been shown in morphological studies (2). We analyzed frequency-temporal characteristics and filtering properties in neurons of these inferior colliculus subdivisions in house mouse (*Mus musculus*) whose rich auditory communication made them the classic object of hearing studies.

The data obtained revealed different strategies of complex species-specific signals processing in the Inferior colliculus. Combination-sensitive neurons named by their facilitative responses to distinct combinations of frequency components of complex communication calls of intermediate sound level (70 dB SPL) were found in the central nucleus.

Made for the first time in mice electrophysiological mapping of frequency receptive fields in neurons of dorsomedial nucleus revealed high representation (25%) of rare in central nucleus complex multi peaked units remarkable for their complicate receptive field form with two excitatory characteristic frequencies – low- and high frequency and respectively two peaks of sensitivity, 40 dB in depth. Peaks of sensitivity were separated by inhibitory area. Complex units demonstrated multiplicity of their characteristic frequencies and formants of mouse communication calls ranged in 3 – 5 kHz thus confirming the principle role of dorsomedial nucleus in communication calls.

Thus, present results suggest different strategies of complex sounds spectral coding, i.e. combining frequency information (of biological significance) for enhanced processing in combination-sensitive and complex neurons.

Supported by the Russian Foundation for Basic Research (projects N. 09 - 04 - 00656 and 12 – 04 - 00969).

References

1. *Portfors C.V., Sinex D.G.* (2005). Coding of communication sounds in the inferior colliculus. The Inferior Colliculus. Eds. Winer J.A., Schreiner C.E. New York. Springer: 1-68.
2. *Winer J.A., Schreiner C.E.* (2005). The Central Auditory System: A Functional Analysis. The Inferior Colliculus. Eds. Winer J.A., Schreiner C.E. New York. Springer: 1-68.

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ: СУЧАСНІ ПІДХОДИ І НОВІ МОЖЛИВОСТІ

¹Єлісєєва О.П., ²Рибальченко В.К.

¹Національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна
e-mail: yelisol@gmail.com

²Національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: rybalchenko@univ.kiev.ua

Механізми тренуючих впливів інтервальної гіпоксії та добавок олії амаранту (ОАм) як ефективних активаторів аеробного метаболізму аналізуються з позиції значення вищої інтенсивності Red/Ox реакцій, необхідної для підтримання кисневого і вільнорадикального гомеостазу та балансу про/антиоксиданти в умовах цілеспрямованого формування адаптаційної реакції активації (гормезису). Вагоме значення надається феномену генерації ендогенного кисню під час активації вільнорадикальних (ВР) реакцій, що є одним з механізмів підтримання кисневого гомеостазу. Незначні порушення останнього ведуть до ослаблення контролю комплексною системою антиоксидантного захисту (АОЗ) за підвищенням потоком ВР, надмірної прооксидації, накопичення продуктів окисної деструкції і, як наслідок, поглиблення гіпоксії та окисного стресу (ОС). Для індивідуальної оцінки функціонально-метаболічного резерву, необхідної під час корекції ОС, пропонується комплекс біохімічних і фізіологічних параметрів, які найбільше залежать від кисневого гомеостазу і чутливо реагують на його зміни. Серед них pO_2 , SaO_2 і ЧСС, які відображають потенціал аеробного метаболізму під час активації і за умови доповненого їх трактування з позицій ендогенного генерування кисню можуть бути діагностичними критеріями новосформованих адаптаційних станів. Оскільки неспецифічну стійкість організму до ОС відображає не так ЧСС, як варіабельний характер кардіоритму, то динаміка параметрів неінвазивної методики варіабельності серцевого ритму (ВСР) може ефективно інформувати про стан аеробного метаболізму.

Встановлено різну глибину ОС за параметрами аеробного метаболізму і, особливо, ВСР у різних функціональних групах (хворі на цукровий діабет (ЦД) 1Т і 2Т, виразкову хворобу (ВХ), висококваліфіковані атлети), порівняно з волонтерами. Вплив індивідуально дозованого, контрольованого одноразового сеансу інтервальної гіпоксії засвідчив можливість активації аеробного обміну, яка чутливо відображалася на параметрах ВСР. Встановлено, що ВСР зазнавала найефективнішого підвищення у осіб, які реагували зниженням HbO_2 , МДА і зростанням ОМБ, що може свідчити про вагому роль інтенсифікації Red/Ox реакцій у механізмах формування вищої ВСР.

Тривалі (місяць) впливи інтервальної гіпоксії або ОАм у хворих на ВХ засвідчили підвищення ВСР з одночасним покращенням її внутрішньої структури, причому, виявлені зміни мали однотипний характер у випадку застосування обох активаторів. Основним механізмом підвищення ВСР є формування помірної прооксидантної ситуації, коли модуляція активності АО ферментів спрямована на підтримання незначно підвищених рівнів продуктів окисної деструкції, а, значить, постійно підтримуваної помірної індукції комплексного АОЗ в умовах аеробної стимуляції. Аналіз впливу добавок ОАм у групах пацієнтів, хворих на ЦД 1Т, 2Т та атлетів підтвердив одержану тенденцію позитивних змін досліджуваних параметрів, однак, їх виразність залежала від вихідного функціонально-метаболічного резерву та глибини ОС, сформованих різною інтенсивністю Red/Ox реакцій. Значне підвищення ВСР, суттєве покращання внутрішньої структури спектру, активація низькочастотних і високочастотних коливань, які відображають активність автономних компонент регуляції, покращання ортостатичної реакції зумовлено, вважаємо, формуванням адаптаційної реакції активації (гормезису). В основі таких змін є посилення утилізації недоокислених продуктів, модуляція активності каталази та СОД під нові кисневі і функціональні потреби, перерозподіл лігандних форм Нb на користь тих, що приймають участь у ВР реакціях, зникнення істотних кореляцій між аеробним метаболізмом і ВСР, які пов'язані із її зниженням.

Основними механізмами поліфункціонального впливу ОАм є перехід мітохондрій до активного енергетичного стану і підтримання тонкої регуляції переключення їх функції від синтезу АТФ до продукції активних форм кисню; здатність ОАм інкорпороватись у склад мембран, підвищувати їх стабільність, модифікувати ліпідний матрикс, змінюючи їх проникність; посилення антикоагулянтного потенціалу, що підвищує функціональну активність мембран та оптимізує їх взаємодію із регуляторними субстанціями.

Таким чином, низька інтенсивність Red/Ox реакцій корелює із зниженою ВСР і є причиною персистенції ОС та перешкодою для індукції і тривалого підтримання реакції активації. Помірна, контрольована, адекватна до функціональних резервів активація аеробного метаболізму сприяє інтенсивнішим флуктуаціям ендогенного кисню, його використанню для підтримання балансу продукція АФК/утилізація АФК, кисневого гомеостазу, що оптимізує функцію кардіореспіраторної системи і попереджує її надмірне напруження в умовах цілеспрямованого формування потужніших адаптаційних станів. Це дозволяє досягнути стратегічного завдання – малими кроками, але постійно і неухильно формувати вищу стійкість організму до ОС. Оскільки зміни аеробного метаболізму чутливо відображаються на параметрах ВСР, то варіабельність серцевого ритму може служити в якості інтегрального ефективного методу оцінки функціонального резерву та реакції-відповіді організму на різні впливи.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MECHANISMS OF HUMAN ORGANISM ADAPTATION: MODERN APPROACHES AND NEW POSSIBILITIES

¹Yeliseeva O.P., ²Rybalchenko V.K.

¹Danylo Halytsky National Medical University, Lviv, Ukraine
e-mail: yelisol@gmail.com

²Taras Shevchenko National University, Kyiv, Ukraine,
e-mail: rybalchenko@univ.kiev.ua

Mechanisms of action of aerobic metabolism activators such as an interval hypoxic training and Amaranth oil (AmO) are being analyzed taking into account the value of a higher redox reactions intensity. The latter is necessary for the oxygen and free radical (FR) homeostasis and pro-/antioxidant balance maintenance during development of activation adaptive reaction (hormesis). An important role is attributed to the phenomenon of endogenous oxygen production during activation of FR reactions, which is one of the mechanisms of oxygen homeostasis. Even slight disorders of the latter lead to failure of the complex antioxidant defense (AOD) system function, cause excessive pro-oxidation, accumulation of oxidative waste products and, finally progressive cellular hypoxia and oxidative stress (OS). For the individualized assessment of the functional metabolic potential required during correction of OS a complex of physiological and biochemical indexes including pO_2 , SaO_2 and a heart rate (HR), which are closely related to aerobic metabolism and reflect its changes is proposed. Mentioned parameters reflect potential of aerobic metabolism during activation therapy and when interpreted from the standpoint of endogenous oxygen generation they can serve as diagnostic criteria for the newly formed adaptive states. Because nonspecific OS resistance of an organism is mirrored more by the variability of the HR than the HR itself, the dynamics of heart rate variability (HRV), an noninvasive diagnostic method, can provide additional information about the aerobic metabolism.

Various depth of OS was established by parameters of aerobic metabolism and HRV in particular in subjects from different functional metabolic groups (with diabetes mellitus (DM) type 1 and type 2, peptic ulcer disease (PUD), high-performance athletes) comparing to healthy volunteers. Application of individually adjusted one-time session of interval hypoxia resulted in activation of the aerobic metabolism. That was readily reflected by the changes in HRV parameters. It was established that HRV increased most markedly with treatment in subjects that demonstrated decrease in HbO_2 or TBARS and increase in oxidative modification of proteins, which is suggestive about an important role of redox reactions intensification in the mechanisms of higher HRV development.

Prolonged (several-months) use of interval hypoxia and/or AmO in PUD patients showed increase in HRV with simultaneous improvement of its spectral structure in both cases. The main mechanism involved was moderate pro-oxidant activity associated with modulation of the activity of main AOD enzymes aimed at maintenance of slightly increased levels of oxidative destruction products. Such aerobic stimulation constantly induced complex AOD. The results of AmO use in patients with type 1 and type 2 DM and athletes corroborated achieved positive changes, but their prominence dependent upon the initial functional metabolic condition and depth of OS, which is formed by various underlying intensity of redox reactions. Marked increase in HRV with significant improvement of its internal structure, activation of low and high frequency components, positive shifts during orthostatic probe were attributed to adaptive reaction of activation (hormesis). The corresponding mechanism was improved utilization of oxidative destruction products, modulation of catalase and SOD activity according to the new oxygen and functional requirements, redistribution of haemoglobin ligands with increase in those ligands which take part in FR reactions, and disappearance of the significant correlations between indexes of aerobic metabolism and HRV.

The multiple effects of AmO were attributed to activation of energy function of mitochondria and fine tuning of their function from ATP synthesis to production of FR. It was shown that AmO is readily incorporated into membranes, improves their stability and modifies lipid matrix by changing its permeability. Moreover, increase in anticoagulant potential, which improved functional activity of the membranes and optimized their interaction with regulatory substances, was observed with AmO administration.

Thus, a low intensity of redox reactions was closely related to decrease in HRV. It also caused persistence of OS and might prevent induction and maintenance of activation reaction. Consequently, moderate, controlled, and adjusted to the functional reserves of an organism activation of aerobic metabolism promoted more intensive fluctuations in endogenous oxygen production and its consumption for maintenance of a balance between production and utilization of reactive oxygen species, aerobic metabolism. That further led to optimization of cardiorespiratory function and prevented its excessive strain during guided development of the higher functional states. In general, a strategic task - with small steps but steadily and gradually to improve OS resistance was achieved. Since changes of the aerobic metabolism were reflected by parameters of HRV, the latter can serve as an integrative efficient tool for functional reserves assessment during activation therapy.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ ЛАСТОНОГИХ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ

Ерохина И.А.

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск, Россия
e-mail: erohina@mmbi.info

Ранние этапы развития животных заслуживают особого внимания, поскольку в это время осуществляется наиболее интенсивное формообразование структурно-функциональных систем организма. В связи с этим целью работы было исследование метаболизма одного из представителей ластоногих - серого тюленя от рождения до начала самостоятельного питания. Кровь брали из экстрадуральной вены. Биохимические показатели плазмы крови определяли общепринятыми методами.

Состав крови новорожденных животных отражает адаптации, связанные с рождением, когда прекращается приток питательных веществ с кровью матери. В это время отмечается крайне низкая концентрация глюкозы, к концу молочного вскармливания она снижается более, чем в 3 раза, а главным источником энергии служит жир материнского молока. Повышение уровня глюкозы выявлено в возрасте 1.5-2 мес, а значительный прирост отмечается с началом самостоятельного питания (рис.). К особенностям состава плазмы крови у новорожденных относятся также низкая концентрация мочевины,

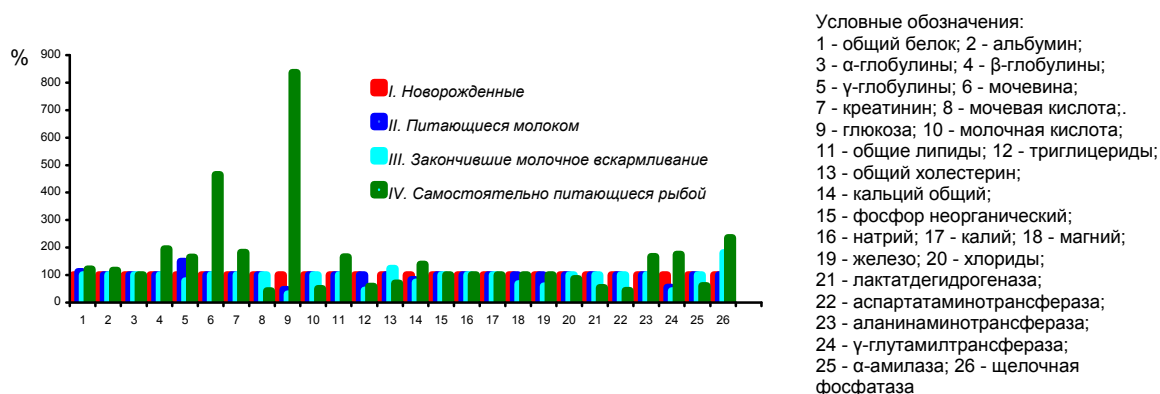


Рис. Изменения показателей обмена веществ в крови серых тюленей в раннем постнатальном периоде развития. Результаты выражены в процентах: для групп II и III по отношению к показателям группы I (100%), для группы IV по отношению к показателям группы III (100%).

высокая активность γ-глутамилтрансферазы (ГТФ) и низкая – щелочной фосфатазы (ЩФ). Известно, что ГТФ может служить маркером пассивного переноса иммуноглобулинов (Ig) у новорожденных морских зверей (1). Аналогичные данные есть и для наземных млекопитающих, однако, значения активности ГТФ для них более, чем в 10 раз превышают таковые для новорожденных серых тюленей в нашей работе, а также показатели щенков гренландского тюленя и тюленя-хохлача (2), из чего следует, что формирование пассивного иммунитета у ластоногих происходит менее интенсивно, чем у наземных млекопитающих.

К концу периода молочного вскармливания в крови уменьшается концентрация белка за счет бета- и гамма-глобулинов. Очевидно, синтез собственных Ig, составляющих основную часть фракции гамма-глобулинов, у животных этого возраста еще не происходит, а начинается с переходом к самостоятельному питанию, так как антигены пищи стимулируют процесс. Кроме этого, повышается уровень мочевины, что свидетельствует об усилении катаболизма белков. К концу молочного вскармливания в плазме крови тюленей продолжает снижаться активность ГТФ, но увеличивается активность ЩФ. Наиболее существенные изменения в составе крови тюленей отмечаются с началом самостоятельного питания. Концентрация глюкозы достигает нормального для взрослых животных уровня. Повышается содержание белка за счет альбумина, бета- и гамма-глобулинов, причем содержание последних такое же, как и в начале питания материнским молоком, когда эта фракция формируется за счет материнских Ig. Снижается уровень лактата, изменяется активность всех изученных ферментов.

Таким образом, в раннем периоде постнатального развития серых тюленей происходят метаболические перестройки, присущие млекопитающим в целом, но с особенностями выраженности отдельных реакций. Наиболее значительные изменения в метаболизме тюленей происходят в период окончания молочного вскармливания и перехода к самостоятельному питанию.

Литература

1. Bossart G.D., Reidarson T.H., Dierauf L.A., Duffield D.A. (2001) Clinical pathology. Handbook of marine mammal medicine. 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida. P. 383-436.
2. Boly F., Beaudoin S., Measures L. (2006) Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the Gulf of St. Lawrence, Canada. *J. Wildlife Diseases*. 42(1): 115-132.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

METABOLIC ADAPTATIONS OF PINNIPEDS IN EARLY POSTNATAL PERIOD OF DEVELOPMENT

Yerokhina I.A.

Murmansk marine biological institute KSC RAS, Murmansk, Russia
e-mail: erokhina@mmbi.info

The early stages of animal development are of particular importance, because the structural and functional systems of the organism are formed at this time. The purpose of the present study in this connection was the investigation of metabolism of the gray seal (*Pinnipedia*, *Phocidae*) pups from birth to the beginning of independent feeding. The blood was sampled from the extradural vein. The biochemical parameters of blood plasma were determined using the conventional laboratory techniques.

The biochemical composition of the blood of newborn animals reflects the adaptations associated with birth, when the inflow of nutrients with mother's blood is stopped. That period is characterized by an extremely low glucose concentration. By the end of nursing, that index decreases by more than three times, and the main energy source is the maternal milk fat. The onset of an increased glucose level in the seal blood is revealed at an age 1.5-2 months, and a considerable increment (more than 8 times) is recorded at late as the beginning of independent nutrition (fig.).

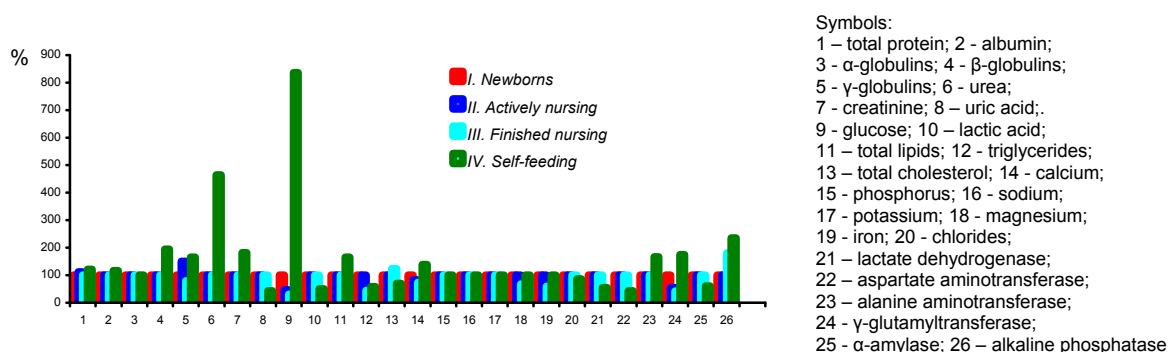


Fig. Changes of metabolic parameters of gray seal blood in the early postnatal period of development. Results are expressed in percentage for groups II and III in relation to data of the group I (100%), for the group IV in relation to data of the group III (100%).

The characteristic features of the chemical composition of newborn animals blood plasma are also a low urea concentration, a high activity of γ -glutamyltransferase (GGT), and a low activity of alkaline phosphatase (AP). It was reported that GGT can be used as a marker of passive immunoglobulin (Ig) transfer in newborn marine mammals (1). Similar data were obtained for terrestrial mammals, however GGT activity in them exceeds by more than 10 times those for newborn gray seals in our study as well as indexes obtained in the study of pups of the harp seal and the hooded seal (2). It follows that the development of passive immunity at the expense of maternal Ig in pinnipeds is less intensive compared with that in terrestrial mammals.

By the end of nursing a decrease in the total protein content is accompanied by a decrease in the content of β - and γ -globulins. Apparently, own immunoglobulins which account for the main part of the γ -globulins fraction are not yet synthesized in animals of this age. The synthesis of these proteins begins after the transition to independent feeding, since the antigens contained in food stimulate this process. In addition, the level of urea increases, which is indicative of an enhancement of protein catabolism. By the end of nursing the activity of GGT in blood plasma of seals continues to decrease. Conversely, the activity of AP increases. The most significant changes in seal blood plasma composition coincide with the beginning of independent feeding. Glucose concentration attains a level normal for adult animals. The total protein content increases. This increase is due to the increase in the content of three fractions – albumin, β - and γ -globulins. The content of the last fraction is almost the same as at the beginning of nursing, when this fraction forms at the expense of maternal immunoglobulins. The lactate concentration declines, the activity of all the enzymes under study changes.

Thus, in the early period of postnatal development of gray seals, metabolic re-arrangements occur, which are characteristic of mammals as a whole; however the degree of expression of some reactions can be regarded as a characteristic feature of pinnipeds. The most substantial changes in seal metabolism occur during the completion of nursing and transition to independent feeding.

References

1. Bossart G.D., Reidarson T.H., Dierauf L.A., Duffield D.A. (2001) Clinical pathology. Handbook of marine mammal medicine. 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida. P. 383-436.
2. Boily F., Beaudoin S., Measures L. (2006) Hematology and serum chemistry of harp (*Phoca groenlandica*) and hooded seals (*Cystophora cristata*) during the breeding season, in the Gulf of St. Lawrence, Canada. *J. Wildlife Diseases*. 42(1): 115-132.

ЭНДОГЕННЫЕ РИТМЫ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ДВУХ ВИДОВ ПРЕСНОВОДНЫХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ (*GASTROPODA*, *PULMONATA*) КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ

Зотин А.А., Кирик Е.Ф.

Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия
e-mail: aazotin@mail.ru

Энергетический обмен, как и большинство процессов, происходящих в онтогенезе, сопровождаются определенными ритмами. По мнению ряда авторов (1) подобные ритмы составляют основу жизнедеятельности организмов, являются скорее правилом, чем исключением, и, по-видимому, тесно связаны с механизмами регуляции биологических процессов посредством изменения длительности периодов и амплитуды колебаний.

Данная работа посвящена анализу эндогенных биоритмов интенсивности энергообмена (скорости потребления кислорода на единицу массы), в постэмбриональном онтогенезе *L. stagnalis* и *Planorbarius corneus*. Особое внимание уделено связи наблюдаемых волновых явлений с процессом онтогенетической адаптации моллюсков к изменившимся после вылупления условиям среды обитания.

Ювенильных моллюсков получали в лабораторной культуре и содержали в отстоянной водопроводной воде в пластиковых стаканчиках объемом 50 мл при постоянной температуре (18°C для *L. stagnalis* и 25°C для *P. corneus*). Воду и остатки корма меняли 2 раза в неделю. Кормом служил лист одуванчика. Измерения скорости потребления кислорода и массы тела проводили: для *L. stagnalis* - 2 раза в неделю, начиная с момента вылупления до достижения возраста 10 нед, и 1 раз в 2 нед для более старых животных вплоть до их естественной гибели; для *P. corneus* - 2 раза в нед, начиная с вылупления и вплоть до естественной гибели животных. Скорость потребления кислорода определяли манометрическим методом Варбурга. Измерения проводили для каждой особи отдельно. Всего исследовано 14 экземпляров *L. stagnalis* и 12 экземпляров *P. corneus*.

Полученные данные анализировали методом сингулярного спектрального анализа (2) с помощью программы "Гусеница" (версия 3.40 разработана компанией GistaT Group, Россия).

Программа "Гусеница" позволяет разделить исследуемый временной ряд на следующие компоненты:

1. Основной тренд - общее направление изменения исследуемого параметра.
2. Одна или несколько волновых компонент, связанных с закономерным изменением параметра.
3. "Шумовая" компонента, связанная со случайными вариациями, вызванными неточностью измерений, флуктуациями и т.п.

Основные тренды изменения интенсивности потребления кислорода в постларвальном онтогенезе в целом сходны у обоих видов. После вылупления на протяжении определенного периода развития этот параметр почти не изменяется и в среднем составляет 0.6-0.8 мл $O_2/(ч \cdot г)$. Затем он постоянно снижается вплоть до гибели животных, достигая величины около 0.04 мл $O_2/(ч \cdot г)$ для обоих видов. Различия между видами касаются лишь сроков начала периода снижения интенсивности обмена: у *L. stagnalis* снижение обмена начинается с возраста приблизительно 7 нед, у *P. corneus* - с 5 нед от вылупления.

Постоянное снижение интенсивности потребления кислорода характерно для взрослых животных (3). Поэтому, можно считать, что возраст начала снижения этого параметра соответствует окончанию периода адаптации моллюсков к новым условиям среды после выхода из оболочек.

Анализ временных рядов интенсивности потребления кислорода показал наличие закономерных периодических изменений, представленных тремя биоритмами для каждого вида. Длительность периодов биоритмов составляет для *L. stagnalis* 2.6 ± 0.1 нед, 7.5 ± 0.2 нед и 18.4 ± 0.8 нед; для *P. corneus* - 2.9 ± 0.1 нед, 4.0 ± 0.2 нед и 15.2 ± 0.8 нед.

Общими свойствами для всех биоритмов являются их синхронность у разных особей одного вида (локальные максимумы приходятся приблизительно на одни и те же возраста) и постоянство периодов на протяжении всего онтогенеза. Эти свойства, а также тот факт, что во внешней среде не наблюдается колебательных явлений с такими периодами, свидетельствуют об их эндогенном характере.

Следует отметить, что первое после вылупления совпадение локальных максимумов всех характерных для данного вида биоритмов, приходится на возраст окончания адаптации к изменившимся условиям среды обитания (7 нед для *L. stagnalis* и 5 нед для *P. corneus*). То есть, именно в результате интерференции волновых процессов происходит усиление энергетического обмена в раннем постэмбриональном онтогенезе и достигается глобальный максимум интенсивности потребления кислорода. Поэтому, можно предположить, что онтогенетическая адаптация тесно связана с биоритмами энергетического обмена и осуществляется за счет интерференции волновых процессов.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-04-00397-а) и Президиума РАН (программы "Живая природа: современное состояние и проблемы развития" и "Организация научных экспедиций и содержание научных стационаров").

Литература

1. Бродский В.Я. и Нечаяева Н.В. (1988). Ритмы синтеза белка. М.: Наука. 240 с.
2. Данилов Д.Л. и Жигляевский А.А. (1997). Главные компоненты временных рядов: метод "Гусеница". СПб: Санкт-Петербургский университет. 308 с.
3. Зотин А.И. и Зотина Р.С. (1993). Феноменологическая теория развития, роста и старения организма. М.: Наука. 364 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ENDOGENOUS RHYTHMS OF THE MASS SPECIFIC RATE OF ENERGY METABOLISM IN TWO SPECIES OF FRESHWATER SNAILS (*GASTROPODA*, *PULMONATA*) AS A POSSIBLE MECHANISM OF ONTOGENETIC ADAPTATION

Zotin A.A., Kirik, E.F.

N.K. Koltsov's Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia
e-mail: aazotin@mail.ru

Energy metabolism like most processes occurring in ontogeny is accompanied by certain rhythms. According to some authors (1), such rhythms are the basis of vital activity of organisms, are more the rule than the exception, and appears to be closely related to the mechanisms of regulation of biological processes by altering the duration of the period and amplitude.

This work is devoted to the analysis of endogenous biorhythms of the mass specific rate of oxygen consumption in the post-embryonic ontogeny of *L. stagnalis* and *Planorbis corneus*. Particular attention is paid to the connection of observed waves with the process of ontogenetic adaptation of snails to changed conditions after hatching.

Newly hatched juvenile specimens kept in plastic cups with 50 ml of defended tap water at a constant temperature (18°C for *L. stagnalis* and 25°C for *P. corneus*). Water and food residues were changed 2 times a week. The food was dandelion leaves. Measurements of the rate of oxygen consumption and body weight were carried out: for *L. stagnalis* - 2 times a week, starting from the moment of hatching until the age of 10 weeks, and ones in every 2 weeks for more old animals until their natural death; for *P. corneus* - 2 times a weeks from hatching until the natural death of animals. The rate of oxygen consumption was determined by the manometric method. The mass specific rate of oxygen consumption was calculated by dividing the oxygen consumption rate for the total body weight of animals. Measurements were made for each individual separately. We investigated 14 specimens of *L. stagnalis* and 12 specimens of *P. corneus*.

The data obtained were analyzed by singular spectrum analysis (2) using the program "Caterpillar" (version 3.40 developed by GistaT Group, Russia).

The program "Caterpillar" allows you to divide the analyzed time series of the following components:

1. The main trend - the overall direction of change of the investigated parameter.
2. One or more wave components associated with the regular variations of the parameter.
3. "Noise" component associated with random variations caused by the measuring errors, fluctuations, etc.

The main trends in changes of the mass specific rate of oxygen consumption in post-larval ontogeny are similar for both species. This parameter remains relatively constant during certain period after hatching. Its value is about 0.6-0.8 ml O₂/(h·g). Thereafter it decreases permanently until the death, reaching a value of about 0.04 ml O₂/(h·g) for both species. The differences between the species concerned only the age in which reduction of mass specific rate of oxygen consumption starts. In *L. stagnalis* the reduction begins approximately from 7 weeks; in *P. corneus* - approximately from 5 weeks after hatching.

The permanent decrease in the mass specific rate of oxygen consumption is the characteristic of adult animals (3). Therefore, we can assume that the age of onset of decline of this parameter corresponds to the end of the period of adaptation to new habitat conditions after hatching.

Time series analysis of the mass specific rate of oxygen consumption shows the presence of regular oscillations, represented by three biorhythms for each species. Values of wave periods of biorhythms for *L. stagnalis* are 2.6±0.1 weeks, 7.5±0.2 weeks and 18.4±0.8 weeks; for *P. corneus* - 2.9±0.1 weeks, 4.0±0.2 weeks and 15.2±0.8 weeks.

Common properties for all biorhythms are synchronous in different individuals of each species (local maxima occur around the same age) and the constancy of the periods throughout ontogeny. These properties, as well as the fact that in the environment the oscillatory phenomena with such periods are not observed, testify about their endogenous nature.

It should be noted that age of the very first match of local maxima of all the rhythms coincides with the age of the end of the adaptation period (7 weeks for *L. stagnalis* and 5 weeks for *P. corneus*). Namely, increasing of mass specific energy metabolism is just a result of the interference of oscillations. As a result a global maximum of mass specific rate of oxygen consumption is reached. Therefore, we can assume that the ontogenetic adaptation is closely linked to energy metabolism biorhythms and is due to the interference of these biorhythms.

The work was carried out with financial support from RFFI (grant N 12-04-00397-a) and the Presidium of RAS (program "Live nature: the current state and problems of development" and "The organization of scientific expeditions and the maintenance of scientific permanent establishments").

References

1. Brodsky V.Ya. and Nechayeva N.V. (1988). The rhythms of protein synthesis. Moscow: Nauka. 240 p. [In Russian]
2. Danilov D.L. and Zhiglyavsky A.A. (1997). The main components of time series: the method of "Caterpillar". St. Petersburg: St. Petersburg State University. 308 p. [In Russian]
3. Zotin A.I. and Zotina R.S. (1993). The phenomenological theory of development, growth and aging. M.: Nauka. 364 p. [In Russian]

АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ ЭКЗОГЕННЫХ ГИДРОЛАЗ В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ФИТОФТОРОЙ

Ибрагимов Р.И., Шпирная И.А., Цветков В.О., Басырова А.М.

Башкирский государственный университет, кафедра биохимии и биотехнологии, Россия
e-mail: i-shia@yandex.ru

Как известно, ключевую роль в расщеплении и мобилизации питательных веществ растений животными, микроорганизмами играют гидролитические ферменты: амилазы, пектиназы, протеиназы и др. В тканях растений выявлены многочисленные соединения полипептидной природы, способные подавлять активность экзогенных ферментов (Дунаевский и др., 2005; Ибрагимов и др., 2010). В связи с проблемой устойчивости растений к патогенным микроорганизмам и насекомым-вредителям исследование белков-ингибиторов чужеродных гидролаз при патогенезе растений представляет актуальную научную и практическую задачу.

В модельном эксперименте на клубнях картофеля анализировали активность ингибиторов экзогенных гидролаз в тканях в норме и при заражении фитофторозом. Объектами исследования служили сорта картофеля, различающиеся по устойчивости к фитофторозу - Невский и Луговской. Из предварительно обеззараженных клубней вырезали цилиндры (Васюкова, 2008), на которые наносили суспензию зооспор *Phytophthora infestans* ($2 \cdot 10^4$ спор на цилиндр). В качестве контроля использовали клубни, обработанные дистиллированной водой. Через 72 часа определяли активность соединений, ингибирующих активность амилазы *Bacillus subtilis*, пектиназы *Aspergillus niger*, бычьего трипсина по разнице интенсивности гидролиза субстратов (крахмала, пектина, желатины) свободными ферментами и в контакте с экстрактами клубней (Шпирная и др., 2009).

Через 3-е суток после инокуляции степень поражаемости клубней фитофторой определяется визуально. На срезах клубней сорта Луговской мицелий фитофторы не развивается, тогда, как на клубнях восприимчивого сорта Невский выявляется интенсивный рост гриба.

Как видно из таблицы 1, в клубнях выявляется высокий уровень активности ингибиторов бактериальной амилазы. Инфицирование фитофторой существенно не влияет на активность этих ингибиторов у восприимчивого и устойчивого сортов.

Таблица 1
Активность гидролитических ферментов и их ингибиторов в клубнях картофеля, зараженных фитофторой

Вариант опыта	Ингибиторы, ИЕ/г массы		
	амилазы	пектиназы	трипсин
сорт Невский			
контроль	16,9±1,3	40,05±3,5	6,4±1,0
заражение	18,9±2,1	0	4,8±0,3
сорт Луговской			
контроль	10,7±0,9	6,9±0,8	7,7±0,9
заражение	10,7±1,3	0	11,5±1,0

Наиболее высоким уровнем активности ингибиторов пектиназы *Aspergillus niger* характеризуются клубни сорта Невский (40 ИЕ/г). В клубнях устойчивого сорта их активность значительно ниже (6,9 ИЕ/г). Интересно отметить, что инокуляция патогеном сопровождается полным исчезновением активности ингибиторов пектиназы в клубнях обоих сортов. Этот факт можно объяснить интенсификацией процессов протеолиза специфических белков, в т.ч. и ингибиторов пектиназы, при инфицировании клубней патогеном. Как было показано, инокуляция клубней грибом сопровождается повышением протеолитической активности в клубнях обоих сортов. Соппротивление растения интенсивному протеолизу выражается в повышении антипротеолитической активности. Как видно, активность ингибиторов трипсина в клубнях неустойчивого сорта при заражении снижается, в инокулированных клубнях устойчивого сорта, напротив, повышается.

Литература

1. Дунаевский Я.Е., Цыбина Т.А., Белякова Г.А., Домаш В.И., Шарпио Т.П., Забрейко С.А., Белозерский М.А. (2005). Ингибиторы протеиназ как антистрессовые белки высших растений // Прикладная биохимия и микробиология. 4 (41): 392-396.
2. Ибрагимов Р.И., Яруллина Л.Г., Шпирная И.А., Умаров И.А., Цветков В.О., Максимов И.В. (2010). Биохимические факторы развития устойчивости растений к патогенам // Современные наукоемкие технологии. 4: 46-48.
3. Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И. (2009). Определение активности гидролаз и их ингибиторов по гидролизу субстрата в геле агарозы // Прикладная биохимия и микробиология. 4 (45): 497-501.

ACTIVITY OF INHIBITORS OF EXOGENOUS HYDROLASES IN POTATO TUBERS AT INFECTION OF PHYTOPHTHORA

Ibragimov R.I., Shpirnaya I.A., Tsvetkov V.O., Basyrova A.M.

Bashkir State University, Chair of Biochemistry and Biotechnology, Russia
e-mail: i-shia@yandex.ru

It's known that essential role in cleavage and mobilization of nutrients of plants by animals and microorganisms plays hydrolytic enzymes: amylases, pectinases, proteinases. In plants tissues shows presence of a lot of polypeptide substances, able decrease an activity of exogenous enzymes (ссылки). In association with the problem of plants resistance against pathogenic microorganisms and pests, research of inhibitory proteins for exogenous hydrolases at plant infection is a topical scientific and practice task.

In model test on potato tubers we analyzed an activity of inhibitors of exogenous hydrolases in tissues at normal terms and at infection of phytophthorosis. As objects of our research we used a potato sorts with different resistance against of phytophtrosis: Nevskiy sort and Lugovskoy. From the pre-sterilized tubers we cut out cylinders (Kladnitskaya, 2008), on which was placed suspension of zoospores of *Phytophthora infestans* ($2 \cdot 10^4$ spores per cylinder). As a control we used tubers, which were processed with distilled water. After 72 hours we measured activity of substances, which inhibits an activity of *Bacillus subtilis* amylases, *Aspergillus niger* pectinases, and bovine trypsin as a difference of intensity of substrates (starch, pectin, gelatin) hydrolysis by free enzymes and in contact with tubers extracts (Shpirnaya et al, 2009).

After 3 days of inoculation grade of damage of tubers by phytophthora may be measured by visual evaluation. On faces of tubers of Lugovskoy sort a mycelium of phytophthora was not grown, but on tubers of sensitive Nevskiy sort was shown intensive growth of fungi.

As shown in table 1, there is high level of inhibitors of bacterial amylases activity in tubers. Infection of phytophthora is not affects essentially on activity of those inhibitors at sensitive and resistant sorts.

Table 1

Activity of hydrolytic enzymes and its' inhibitors in potato tubers, infected by phytophthora

Variant of test	Inhibitors, IU per g of mass		
	of amylases	of pectinases	of trypsin
Nevskiy sort			
Control	16,9±1,3	40,05±3,5	6,4±1,0
Infection	18,9±2,1	0	4,8±0,3
Lugovskoy sort			
Control	10,7±0,9	6,9±0,8	7,7±0,9
Infection	10,7±1,3	0	11,5±1,0

Most high level of activity of *Aspergillus niger* pectinase inhibitors was shown in tubers os Nevskiy sort (40 IU per g). In resistant sort tubers their activity is essentially lower (6,9 IU per g). It's interesting, that pathogen inoculation is accompanied by full disappearance of activity of pectinases inhibitors in both sorts' tubers. This fact may be explained by intensification of proteolysis specific proteins, including pectinase inhibitors, at infection of tubers by pathogen. As was shown, inoculation of fungi into tubers is accompanied by increasing of proteolytic activity in both sorts' tubers. Plant resistance against of intensive proteolysis is expressed as an increasing of antiproteolytic activity. As shown, activity of trypsin inhibitors in non-resistant sort tubers is decreased at infection, and in inoculated tubers of resistant sort, in contrast, is increased.

References

1. Dunaevskij Ja.E., Cybina T.A., Beljakova G.A., Domash V.I., Sharpio T.P., Zabrejko S.A., Belozerskij M.A. (2005). Inhibitory proteinaz kak antistressovye belki vysshih rastenij // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 4 (41): 392-396.
2. Ibragimov R.I., Jarullina L.G., Shpirnaya I.A., Umarov I.A., Cvetkov V.O., Maksimov I.V. (2010). Biohimicheskie faktory razvitiya ustojchivosti rastenij k patogenam // Sovremennye naukoemkie tehnologii. 4: 46-48.
3. Shpirnaya I.A., Umarov I.A., Shevchenko N.D., Ibragimov R.I. (2009). Opredelenie aktivnosti gidrolaz i ih inhibitorov po gidrolizu substrata v gele agarozы // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 4 (45): 497-501.

СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ РЕДОКС-СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ВЫСОКОЖИРОВОЙ НАГРУЗКЕ

Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Бивалькевич Н.В., Янькова В.И.

Владивостокский филиал ДНЦ ФПД СО РАМН-НИИ медицинской климатологии
и восстановительного лечения, Владивосток, Россия
e-mail: karaman@inbox.ru

Исследован состав фосфолипидов (ФЛ) и состояние редокс-системы глутатиона в печени крыс на разных сроках алиментарной высокожировой нагрузки (ВЖН). Высокожировой рацион состоял из говяжьего сала и холестерина (19% и 2% соответственно от общей массы рациона). Алиментарную нагрузку на крыс осуществляли в течение 180 суток. Экстракцию липидов из тканей печени проводили по методу Кейтса (1975). Для разделения полярных липидов использовали двумерную микро-тонкослойную хроматографию (микро-ТСХ) (Svetashev, Vaskovsky, 1972). Количественный анализ отдельных классов фосфолипидов (ФЛ) после микро-ТСХ проводили по методу Васковского с соавт. (Vaskovsky et al., 1975). Результаты выражали в относительных процентах от общего содержания ФЛ. Состояние редокс-системы глутатиона печени оценивали по содержанию восстановленного глутатиона – ГЛ (Ellman, 1959), активности глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП) (Mills, 1959; Ramos-Martines, Torres, 1985).

Динамика состава полярных липидов печени крыс через 30 суток ВЖН сопровождалась повышением доли фосфатидилсерина (ФС) на 20 % ($p < 0,01$) на фоне мало измененных показателей основных классов фосфолипидов. Фосфолипидный профиль печени крыс, находящихся на жировой диете в течение 90 и 180 суток, характеризовался увеличением ФС ($p < 0,01$) при одновременном уменьшении фосфатидилхолина (ФХ) ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Особенностью состава ФЛ печени крыс через 180 суток ВЖН стало снижение уровня фосфатидилинозитола (ФИ) ($p < 0,01$) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ, $p < 0,05$), накопление сфингомиелина (СМ, $p < 0,001$). Перераспределение основных классов фосфолипидов в мембране в сторону увеличения доли ФС можно рассматривать как компенсаторную реакцию клетки направленную на увеличение жесткости липидного бислоя и снижение ее проницаемости. Однако экстернализация ФС в наружный бислой цитомембраны указывает на готовность клетки к гибели по механизму апоптоза и к элиминации макрофагами (1). Также повышение уровня СМ на 180-е сутки эксперимента, продукты метаболизма которого известны как проапоптотические факторы, может указывать на активацию механизмов «программируемой» клеточной гибели (2). Дефицит ФХ, являющегося важнейшим регулятором активности многих ферментных систем, компенсировался за счет сохранения доли ФЭ. Несмотря на то, что ФЭ – менее активный фосфолипид, ему отводится важная роль в стимуляции фосфолипаз клетки, процессах дезинтоксикации, стабилизации липопротеинов, энергетическом обмене. Поддержание гомеостаза ФЭ в печени крыс при высокожировой нагрузке до 90 суток имеет метаболический смысл, поскольку именно этот фосфолипид сосредоточен в основном во внутреннем монослое биомембраны, где располагаются активные центры мембрансвязанных ферментов. Снижение относительной доли ФИ на 180-е сутки эксперимента является неблагоприятным признаком, свидетельствующим о нарушении способности клетки принимать внешние стимулы (3), повышении процессов липопероксидации.

Состояние редокс-системы глутатиона на 90 сутки ВЖН характеризовалось увеличением уровня глутатиона (ГЛ), активности глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП). Выявленная мобилизация антиоксидантной системы способствует сохранению липидного бислоя мембраны, предотвращению окисления ФЛ. Через 180 суток ВЖН в редокс-системе глутатиона наблюдалось угнетение ферментативной активности ГР и ГП, снижение доли ГЛ. Истощение антиоксидантной защиты в печени животных способствует окислению ФЛ, накоплению продуктов липопероксидации.

Таким образом, механизмом адаптации печени к ВЖН является поддержание гомеостаза наиболее метаболически значимых и структурирующих мембрану ФЛ (ФИ, ФС, ФЭ), активация ферментов редокс-системы глутатиона. Активное формирование и реализация печенью адапционного ответа при ВЖН происходит в период от 30 до 90 суток. Истощение компенсаторных механизмов в системе глутатиона, интенсификация процессов липопероксидации на 180 сутки ВЖН приводит к патологической перестройке липидного матрикса цитомембраны, что может детерминировать некроз и фиброгенез печени. Полученные результаты расширяют знания о механизмах адаптации и дизадаптации печени при стрессовых нагрузках.

Литература

1. Fadok V.A., de Cathelineau A., Daleke D.L., Henson P.M., Bratton D.L. Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts // J. Biol. Chem. 2001. N 276(2). P. 1071–1077.
2. Malagarie-Cazenave S., Andrieu-Abadie N., Segui B., Gouaze V., Tardy C., Cuvillier O., Levade T. Sphingolipid signalling: molecular basis and role in TNF - induced cell death // Expert. Rev. Mol. Med. 2002. Vol. 20. P. 1–15.
3. Toker A. Phosphoinositides and signal transduction // Cell Mol. Life Sci. 2002. Vol. 59. P. 761–779.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

COMPOSITION OF RAT LIVER PHOSPHOLIPIDS AND ACTIVITY OF REDOX- GLUTATHIONE SYSTEM UNDER CONDITIONS OF ADAPTATION HIGH-FAT LOAD

Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Bivalkevich N.V., Yan'kova V.I.

Institute of Medical Climatology and Rehabilitation SB RAMS, Vladivostok, Russia
e-mail: karaman@inbox.ru

The composition of phospholipids (PL) and the state of the redox system of glutathione in the liver of rats at different stages of nutritional HIGH-FAT load (HFL). HIGH-FAT diet consisted of beef fat and cholesterol (19% and 2% respectively of the total weight of the diet). Nutritional stress in rats was performed within 180 days. The extraction of lipids from the liver tissue was performed by the method of Cates (1975). For the separation of polar lipids using two-dimensional micro-thin layer chromatography (micro-TLC) (Svetashev, Vaskovsky, 1972). Quantitative analysis of individual classes of phospholipids after micro-thin-layer chromatography was carried out by the method of Vaskovsky et al. (Vaskovsky et al., 1975). The results are expressed in relative percentage of total PL. Status of glutathione redox system was evaluated by liver content of reduced glutathione - GL (Ellman, 1959), the activity of glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GP) (Mills, 1959; Ramos-Martines, Torres, 1985).

The dynamics of the polar lipids of rat liver after 30 days HFL accompanied by an increase the proportion of phosphatidylserine (PS) by 20% ($p < 0.01$) against small changes of parameters of the main classes of phospholipids. Phospholipid profiles of rat liver are on the fat diet for 90 and 180 days, was characterized by an increase in PS ($p < 0.01$) while reducing the phosphatidylcholine (PC) ($p < 0.001$) compared with the control group. A feature of the PL of rat liver after 180 days was HFL reduction phosphatidylinositol (PI) ($p < 0.01$) and phosphatidylethanolamine (PE, $P < 0.05$), the accumulation of sphingomyelin (SM; $p < 0.001$). Redistribution of major classes of phospholipids in the membrane in the direction of increasing the proportion of PS can be regarded as a compensatory response of cells aimed at increasing the rigidity of the lipid bilayer and decrease its permeability. However, the externalization of PS in the outer bilayer cell membrany indicates willingness to cell death by apoptosis and the mechanism for elimination by macrophages (1). Also raising the SM 180 th day of the experiment, the products of metabolism are known as apoptotic factors may indicate the activation mechanisms of "programmed" cell death (2). PC deficiency is a critical regulator of the activity of many enzyme systems, offset by keeping the proportion PE. Despite the fact that PE - less active phospholipid, it plays an important role in the stimulation of phospholipase cells, the processes of detoxification and stabilization of lipoprotein energy metabolism. Maintenance of homeostasis in the rat liver PE in high-fat load up to 90 days a metabolic sense, since this phospholipid is concentrated mainly in the inner monolayer biomembrane, where are the active sites of enzymes. Reduce the proportion of PI on 180th day of the experiment is an unfavorable sign, testifying that the ability of cells to take external stimuli (3), increased lipid peroxidation.

Status of glutathione redox system at 90 days of HFL was characterized by an increase glutathione levels, the activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase. Identified antioxidant mobilization contributes to the preservation of lipid bilayer membranes, preventing oxidation of the PL. After 180 days of HFL in glutathione redox system observed inhibition of enzymatic activity of GR and GP, decrease of GL. Depletion of antioxidant defenses in the liver of animals contributes to the oxidation PL accumulation products lipoperoxidation.

Thus, the mechanism of adaptation to the liver under conditions HFL is to maintain homeostasis most metabolically important structuring and membrane PL (PI, PS, PE), activation of the enzyme glutathione redox system. Active formation and implementation of adaptive response in the liver occurs on the 30 to 90 days of HFL. Exhaustion of compensatory mechanisms in the system of glutathione, an intensification of lipid peroxidation by 180 day HFL leads to a pathological restructuring lipid matrix membrane that can determine necrosis and fibrogenesis of the liver. The results obtained knowledge of the mechanisms of adaptation and disadaptive liver during stress loads.

References

1. Fadok V.A., de Cathelineau A., Daleke D.L., Henson P.M., Bratton D.L. Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts // J. Biol. Chem. 2001. N 276(2). P. 1071–1077.
2. Malagarie-Cazenave S., Andrieu-Abadie N., Segui B., Gouaze V., Tardy C., Cuvillier O., Levade T. Sphingolipid signalling: molecular basis and role in TNF - induced cell death // Expert. Rev. Mol. Med. 2002. Vol. 20. P. 1–15.
3. Toker A. Phosphoinositides and signal transduction // Cell Mol. Life Sci. 2002. Vol. 59. P. 761–779.

ДЕГРАНУЛЯЦИЯ ЯК ЄДИНИЙ ШЛЯХ ВИВІЛЬНЕННЯ ГЛУТАМАТУ З ТРОБОЦИТІВ

Касаткіна Л., Борисова Т.

Відділ нейрохімії, Інститут біохімії ім. Палладіна НАН України, Київ, Україна
e-mail: ludmilka.kasatkina@gmail.com

Тромбоцити експресують функціональний Na^+ -залежні глутаматні транспортери (EAAT1 to 3) на плазматичній мембрані та везикулярні глутаматні транспортери на мембрані щільних гранул (1,2). Метою даної роботи було дослідити можливість нестимульованого вивільнення глутамату, реверсії глутаматних транспортерів та вивільнення глутамату шляхом гетерообміну в тромбоцитах, як це показано для нервових закінчень головного мозку.

Було показано відсутність нестимульованого вивільнення ендogenous глутамату, навіть за умов інгібування накопичення глутамату та цитозольного фермента глутамінсинтетази, DL-трео- β -бензилоксипартатом та метіонін сульфоксимином, відповідно. Деполяризація плазматичної мембрани під дією високої позаклітинної концентрації K^+ (35 мМ) не призводить до вивільнення глутамату з тромбоцитів, що було показано з використанням $\text{L-}^{14}\text{C}$ глутамату та спектрофлуориметричної реєстрації ендogenous глутамату за активністю глутаматдегідрогенази. Вивільнення глутамату з тромбоцитів не відбувається шляхом гетерообміну в присутності транспортабельного інгібітору глутаматних транспортерів DL-трео- β -гідроксипартату (100 мкМ), а також за умов дисипації протонного градієнта кислих компартментів тромбоцитів в присутності протонофору FCCP (1 мкМ) та інгібітору H^+ -АТФази V-типу бафіломоцину A1 (100 нМ). Показано вивільнення глутамату з секреторних гранул тромбоцита шляхом екзоцитозу при стимуляції тромбіном (3), яке зберігається в присутності високої позаклітинної концентрації K^+ , DL-трео- β -гідроксипартату, FCCP та бафіломоцину A1.

На відміну від нервових закінчень головного мозку тромбоцити не здатні вивільнювати глутамат за рахунок нестимульованого, транспортер-залежного вивільнення та гетерообміну. Перехід глутаматних транспортерів у реверсний режим функціонування є малоймовірним. Таким чином, глутамат як сигнальна молекула у міжтромбоцитарному просторі може вивільнюватись з тромбоцитів лише шляхом екзоцитозу (дегрануляції).

Література

1. Rainesalo S, Keränen T, Saransaari P, Honkaniemi J. (2005) GABA and glutamate transporters are expressed in human platelets. *Brain Res Mol Brain Res*. 141(2):161-165.
2. Tremolizzo L, DiFrancesco JC, Rodriguez-Menendez V, Sirtori E, Longoni M, et al. (2006) Human platelets express the synaptic markers VGLUT1 and 2 and release glutamate following aggregation. *Neurosci Lett* 404: 262–265.
3. Borisova T., Kasatkina L., Ostapchenko L. (2011) The proton gradient of secretory granules and glutamate transport in blood platelets during cholesterol depletion of the plasma membrane by methyl- β -cyclodextrin. *Neurochem Int*. 59(6):965-975.

DEGRANULATION AS EXCLUSIVE WAY OF GLUTAMATE RELEASE FROM PLATELETS

Kasatkina L., Borisova T.

Department of Neurochemistry, Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine; Kiev, Ukraine
e-mail: ludmilka.kasatkina@gmail.com

Platelets express functional Na⁺-dependent glutamate transporters (EAAT1 to 3) in the plasma membrane and vesicular glutamate transporters in dense granules (1,2). The aim of this study was to assess whether non-exocytotic glutamate release, i.e. unstimulated release, glutamate transporter reversal and heteroexchange, took place in platelets, similar to that occurred in brain nerve terminals.

We showed absence of unstimulated release of endogenous glutamate from platelets, even after inhibition of glutamate transporters and cytoplasmic enzyme glutamine synthetase by DL-threo-β-benzyloxyaspartate and methionine sulfoximine, respectively. The depolarization of the plasma membrane by high-KCl (35 mM) did not evoke glutamate release from platelets that was shown with glutamate dehydrogenase assay and radiolabeled L-[¹⁴C]glutamate. Glutamate efflux from platelets by means of heteroexchange was not registered in the presence of transportable inhibitor of glutamate transporters DL-threo-β-hydroxyaspartate (100 μM). The protonophore FCCP (1 μM) and inhibitor of H⁺-ATPase V-type bafilomycin A1 (100 nM) which cause the dissipation of proton gradient of acidic compartments did not stimulate glutamate release from platelets. However, exocytotic release of glutamate from secretory granules was registered upon thrombin stimulation (3) and was not prevented by high-KCl, DL-threo-β-hydroxyaspartate, FCCP and bafilomycin A1.

In contrast to nerve terminals, platelets can not release glutamate in a non-exocytotic manner: heteroexchange, transporter-mediated and unstimulated release of glutamate are not inherent to platelets. Reverse function of vesicular glutamate transporters of platelets is rather ambiguous. Glutamate for "synaptic-like interplatelet communications" can be released from platelets by means of exocytosis (degranulation) only.

References

1. Rainesalo S, Keränen T, Saransaari P, Honkaniemi J. (2005) GABA and glutamate transporters are expressed in human platelets. *Brain Res Mol Brain Res.* 141(2):161-165.
2. Tremolizzo L, DiFrancesco JC, Rodriguez-Menendez V, Sirtori E, Longoni M, et al. (2006) Human platelets express the synaptic markers VGLUT1 and 2 and release glutamate following aggregation. *Neurosci Lett* 404: 262–265.
3. Borisova T., Kasatkina L., Ostapchenko L. (2011) The proton gradient of secretory granules and glutamate transport in blood platelets during cholesterol depletion of the plasma membrane by methyl-β-cyclodextrin. *Neurochem Int.* 59(6):965-975.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА К ИЗМЕНЕНИЯМ ПРИРОДНЫХ И СОЦИАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ В ЯКУТИИ – САМОМ ХОЛОДНОМ ОБИТАЕМОМ РЕГИОНЕ ЗЕМЛИ

^{1,2}Кершенгольц Б.М., ^{1,2}Соломонов Н.Г., ²Петрова П.Г.

¹ ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, Россия

²Северо-Восточный Федеральный университет, Якутск, Россия

e-mail: kerschen@mail.ru

Ещё в прошлом веке установлено, что аборигены Севера (эскимосы, ненцы, чукчи, эвены, якуты) имеют морфологические и физиологические особенности, обеспечивающие их адаптацию к условиям холодного климата (Krogh A., Krogh M.A., 1914; Crile, Quiring, 1939; Brown et.al., 1954; Кандрор, 1957, 1960, 1962; Алексеева, 1970, 1971, 1972, 1977; Веселухин, 1971; Деряпа, Рябинин, 1977 и др.). В их числе, массивное относительно коротконогое тело, высокие уровни обмена веществ и содержания γ-глобулиновой фракции крови, замедленная свертываемость крови, увеличение кислородного индекса крови при физической нагрузке, лучшее усвоение липидно-белковых компонентов пищи, замедленные ритмы жизнедеятельности. Эти особенности характерны для северных популяций человека, представляющих разные этнические группы. В 60-80 гг XX века сотрудниками Сибирского филиала АМН СССР (ныне СО РАМН), медицинского факультета ЯГУ, медико-биологических научных учреждений в г.Якутске специально изучены медико-биологические аспекты адаптации человека к условиям Севера. Результаты этих исследований подведены в серии обобщающих работ (Казначеев, 1973, 1974, 1983; Седов и др., 1974; Деряпа, Рябинин, 1977; Алексеев, 1990; Петрова, Ягья, 1977; Петров и др., 1982; Петрова 1996; Васильева и др, 2004).

Особенно большое внимание уделено изучению процессов адаптации у представителей малочисленных народов Севера (эвены, эвенки, чукчи, эскимосы), у якутов, проникших на Север в XIII-XIV веках н.э. и у русских старожилов, обосновавшихся на Северо-Востоке Азии с XVII века. Состояние здоровья населения Якутского, Вилюйского и Олекминского округов ЯАССР обстоятельно изучено участниками медико-санитарного отряда Якутской экспедиции АН СССР в 1925-1926 гг. В то время из-за почти полного отсутствия медицинской помощи среди населения были проявления естественного отбора в виде исключительно большой смертности, когда из 8-10 рождающихся детей до взрослого состояния доживали единицы. Вместе с тем, врачи отмечали у якутского населения относительно хорошее состояние сердечно-сосудистой системы, сохранность зубов, остроты зрения и слуха до пожилого возраста. Участница экспедиции Т.А.Колпакова оставила замечательные строки, относящиеся к социально-бытовым аспектам адаптации северного человека: «Человек Севера находится, безусловно, под угрозой исчезнуть навсегда, если он останется в той же крайней нищете, если мозг его ещё будет спать и не будет развиваться. Его природная честность, гостеприимство, радушие, склонность к общественной жизни, доверчивое отношение к культурной работе, как например, врачебной, даже в самых отсталых наслеггах, позволяет считать чистокровного якута жизненно устойчивым не только в условиях сурового Севера, но и человеком, способным пойти по дороге социально-экономического прогресса» (Колпакова, 1929). Следует отметить, что ещё А.Ф.Миддендорф (1878), побывавший в Якутии за 80 лет до Якутской экспедиции АН СССР, обратил внимание на то, что якуты, наряду с приспособленностью к холодному климату, обладают высокой степенью толерантности к тяжелым социально-бытовым условиям, предприимчивостью, способностями к торговле, различным ремеслам, поэтому они в течение XIX века (до 1870-х годов) удвоили свою численность и имеют хорошие шансы к выживанию.

В течение XX века произошли коренные изменения в социально-бытовых условиях, характере трудовой деятельности, типе питания коренного населения Севера. Переходы от белково-липидного к углеводно-белковому типу питания, от размеренного спокойного образа жизни к быстрым ритмам жизнедеятельности, от спокойного, хотя и весьма продолжительного труда, к темповому, а, главное, от работы в природных условиях к работе на промышленных предприятиях и в офисах, действуют как сильнейшие стресс-факторы. В последние десятилетия происходит концентрация населения не только в городских, но и в сельских местностях. Однобокое развитие горнодобывающей промышленности сопровождается разрушением естественных экосистем и сильным загрязнением окружающей среды. В этих условиях усиливается распространение среди населения различного рода фобий. В первую очередь, радиофобии, связанной с проведением в Якутии подземных ядерных взрывов и началом промышленного освоения урановых руд, а также экофобии – страха проживания в экологически неблагоприятном регионе. Всё это сказывается в последние годы на снижении толерантности человека. Так мониторинговые исследования, проведенные в алмазодобывающем вилюйском регионе, выявили подавление функциональной активности иммунной системы у коренных жителей (уменьшение содержания Т-лимфоцитов почти у 40% обследованных, уменьшение популяции СД-4-клеток и основных классов иммуноглобулинов (А,М,Г). Следует отметить, что в течение последних 80 лет существенно изменился физиолого-биохимический статус северного человека. Например, снижение активности цитохрома Р-450 ретикулоэндотелиальной системы печени, почек и других тканей, ответственного за детоксикацию широкого спектра экзо- и эндотоксинов, лекарственных препаратов, приводит к дополнительному снижению адаптивного потенциала организма в условиях экоинтоксикации, к росту встречаемости метаболических нарушений (сахарный диабет, атеросклероз со всеми его соматическими осложнениями и т.д.).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MEDICOBIOLOGICAL ASPECTS OF PERSON'S ADAPTATION TO CHANGES NATURAL AND SOCIAL CONDITIONS IN YAKUTIA – THE COLDEST MANNED REGION OF EARTH

^{1,2}Kershengolts E.M., ^{1,2}Solomonov N.G., ²Petrova P.G.

¹ FGBUC Institute for biological problems of cryolitozone of the Siberian branch
of the Russian Academy of Sciences, Yakutsk Russia

² Northeast Federal university, Yakutsk, Russia
e-mail: kerschen@mail.ru

Last century it is established that natives of the North (Eskimos, Nenets, Chukchi, Evens, Yakuts) have the morphological and physiological features providing their adaptation to conditions of a frigid climate (Krogh A., Krogh M.A., 1914; Crile, Quiring, 1939; Brown et.al., 1954; Kandrор, 1957, 1960, 1962; Alekseeva, 1970, 1971, 1972, 1977; Veselukhin, 1971; Deryap, Ryabinin, 1977, etc.). Among them, massive rather short-legged body, high levels of a metabolism and the contents of γ -globulin fractions in blood, the slowed-down coagulability of a blood, augmentation of an oxygen index of a blood at the exercise stress, the best assimilation of lipid and protein components of the nutrition, the slowed-down rhythms of vital activity. These features are characteristic for the northern human populations representing different ethnic groups. At 1960-80 the staff of the the Russian Academy of Medical Science, medical faculty of Yakut state university, medical-biological scientific institutions in Yakutsk are specially studied medicobiological aspects of adaptation of the person to North conditions. Results of these researches are brought in a series of generalizing works (Kaznacheev, 1973, 1974, 1983; Sedov, etc., 1974; Deryap, Ryabinin, 1977; Alekseev, 1990; Petrov, Yagya, 1977; Petrov, etc., 1982; Petrov 1996; Vasilyeva et al., 2004).

Especially great attention is given to studying of adaptation processes at representatives of the small people of the North (Evens, Evenkia, Chukcha, Eskimos), at the Yakuts who have got to the north in the XIII-XIV centuries AD and at Russian old residents, located in the Northeast of Asia since the XVII century. The state of health of the population of the Yakut, Vilyuysky and Olekminsky districts of Yakutia in details studied by participants of medicosanitary group of the Yakut expedition of Academy of Sciences of the USSR in 1925-1926. At that time because of almost total absence of a medical care among the population there were implications of natural selection in the form of exclusively big mortality when from 8-10 born children to the adult a condition lived units. At the same time, doctors noted at the Yakut population rather good condition of cardiovascular system, safety of teeth, visual acuity and hearing till advanced age. The participant of expedition T.A.Kolpakova left the remarkable lines relating to social aspects of adaptation of the northern person: «The person of the North is, certainly, under the threat to disappear forever if it remains in the same extreme poverty if his brain sleeps still and won't develop. Its natural honesty, hospitality, kindness, predilection to public life, the trustful relation to cultural work, such as, medical, even in the most backward regions, allows to consider the thoroughbred Yakut vitally steady not only in the conditions of the severe North, but also the person, capable to go on the road of social and economic progress» (Kolpakova, 1929). It is necessary to notice that else A.F.Middendorf (1878) who has visited Yakutia 80 years before the Yakut expedition of Academy of Sciences of the USSR, paid attention that Yakuts, along with fitness to a frigid climate, possess high degree of tolerance to serious social conditions, enterprise, abilities to trade, various crafts therefore they within the XIX century (till 1870th years) doubled the number and have good chances to a survival.

During the XX century there were basic changes in social conditions, nature of labor activity, type of a delivery of indigenous people of the North. Transitions from protein-lipid to carbohydrate-protein type of a delivery, from a measured quiet way of life to fast rhythms of vital activity, from work in natural conditions to work at the industrial enterprises and office work acts as the strongest stress factors. The last decades there is a concentration of the population not only in city, but also in rural areas. One-sided development of the mining industry is accompanied by destruction of natural ecosystems and strong environmental pollution. In these conditions diffusion among different population of phobias amplifies. First of all, a radiophobia bound to carrying out in Yakutia of underground nuclear explosions and the beginning of industrial development of uranium ores, and also an ecophobia – fear of residence in ecologically adverse region. All this affects in recent years depression of tolerance of the person. So monitoring researches which have been carried out in the diamond-mining vilyuysky region, taped suppression of functional activity of immune system at aboriginals (decrease of the maintenance of T-lymphocytes honor at 40 % surveyed, decrease of population of SD - 4-cells and the main classes of immunoglobulins (A, M, G). It is necessary to notice that within the last 80 years the physiology-biochemical status of the northern person essentially changed. For example, depression of activity of P-450 cytochrome of mononuclear phagocyte system of a liver, kidneys and other tissues, a wide range responsible for detoxicating exo- and endotoxins, medicinal preparations, leads to additional depression of adaptive potential of an organism in the conditions of an ecotoxication, to body height of occurrence of metabolic disturbances (a diabetes mellitus, an atherosclerosis with all its somatic complications etc.).

БИОХИМИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ/ДЕЗАДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ, МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Кершенгольц Б.М., Кершенгольц Е.Б.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, Россия
e-mail: kerschen@mail.ru

Жизнь, по определению Г.Селье, - процесс непрерывной адаптации к постоянно изменяющимся условиям внешней и внутренней среды. С этих позиций адаптации, заключающиеся в поддержании структуры и функций всех ключевых систем организма при действии на него различных по природе стресс-факторов среды, являются основой его устойчивости и продуктивности. Эффективность функционирования адаптивных систем определяет эволюционный потенциал и продуктивность вида, его способность к сохранению и развитию в неадекватных условиях среды, состояние здоровья индивидуального организма. Нарушение процессов адаптации – путь к формированию предпатологических состояний, далее - к развитию специфических заболеваний. Одна из важнейших задач науки об адаптациях - выявление ключевых механизмов обуславливающих этот процесс и разработка способов управления, ускоренного и облегченного протекания адаптаций. В результате адаптации при действии любого раздражителя на организм в нем формируется "Адаптивный ферментативный структурный след" (АФСС) [1] в виде изменений содержания и активности ферментов, катализирующих цепи химических реакции. Формирование АФСС - биохимическая основа повышения устойчивости организма к данному типу стресс-факторов среды, поэтому биохимическая адаптивная реакция включает в себя генерализованные перестройки метаболизма, начиная с регуляторных систем нейро-эндокринно-иммунных и кончая изменениями обмена белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и низкомолекулярных метаболитов в клетках специализированных органов и тканей. АФСС зависит от природы раздражителя, его специфики и физиолого-биохимического состояния организма в момент оказания на него стресс-воздействия.

Вышеизложенная модель была апробирована при обследовании 1800 человек населения г.Якутска и пригородов, относящихся к различным этно-поло-возрастным группам (репрезентативная выборка) на предмет оценки адаптивного потенциала и состояния здоровья. Биофизическими и биохимическими методами получена информация о состоянии функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, эпифиза, щитовидной и поджелудочной желез, печени, почек, сердечной мышцы, состоянии сосудистой системы, лимфотока и др.; оценены активность генетического аппарата лейкоцитов крови в процессах репликации, репарации ДНК, направленных на трансляцию, содержание низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО), активности ряда антиоксидантных ферментов и микросомальных оксидаз. Полученные результаты показали, что наиболее выраженное действие стресс-факторов среды проявляется в изменении функции надпочечников (формирование гипо- либо гиперсостояний) у 23–30% обследованных в зависимости от экологических условий конкретного места жительства, места и характера работы, включая наличие электромагнитных полей. Хронизация дисфункции надпочечников, наряду со снижением функции печени (часто в результате перенесенных вирусных гепатитов) и дисбалансами в диете приводит к резкому снижению активности антиоксидантных систем (особенно, содержания НМАО), к формированию «оксидативного стресса» и, как следствие, к нарушению функций поджелудочной и/или щитовидной желез. У 20–35% лиц с изменением функции надпочечников отмечено снижение скорости репликации и транскрипции в лимфоцитах, что указывает на снижение иммунореактивности, у 18–25% – гипериммунореактивность. У 10–14% лиц с выявленной дисфункцией надпочечников, отмечено снижение активности систем репарации ДНК и общей устойчивости генома на фоне активации процессов репликации, что свидетельствует о неспецифическом повышении риска злокачественных новообразований.

Из всех возможных экотоксичных стресс-факторов наибольшее влияние на здоровье городского населения оказывают (в порядке убывания) неадекватные психоэмоциональные нагрузки (до 23%), гипералкоголизация (до 17%), вирусные гепатиты (до 14%), высокочастотные низкоинтенсивные электромагнитные излучения – электромагнитный «смог» (до 13%), несбалансированность витаминно-микроэлементного комплекса в диете (до 13%), загрязнения питьевой воды и вдыхаемого воздуха (до 12%), экстремальные климатические факторы (до 8%). В качестве вторичных заболеваний, развивающихся на базе неадекватных адаптивных состояний организма человека, наиболее распространены (в порядке убывания): инфекционные и аутоиммунные патологии полости рта (кариесы, патологии пародонта) – до 70%; дискинезия желчевыводящих путей, приводящая к замедлению лимфотока и, как следствие, к нарушениям обмена холестерина, вывода липидных шлаков из организма и циркуляции крови, особенно в церебральной зоне и нижних конечностях – до 60%; респираторные и аллергические болезни органов дыхания – до 50%; заболевания желудочно-кишечного тракта – до 40%; нарушения функции сердечной мышцы – до 35%; нарушения функции эпифиза, регулирующего синхронизацию суточного цикла и светового режима – до 30%.

Предложены и апробированы биофизические и биохимические методы лечебного и профилактического действия по отношению к вышеназванным дезадаптивным состояниям организма человека и болезням стресса.

Литература

1. Меерсон Ф.З. (1993) Концепция долговременной адаптации. - М.: Дело.-138 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOCHEMICAL ADAPTATIONS/DISADAPTATIONS OF THE HUMAN BODY TO EXTREME ENVIRONMENTAL CONDITIONS, MEDICO-BIOLOGICAL ASPECTS

Kershengolts B. M., Kershengolts E.B.

FGBUC Institute for biological problems of cryolitozone the Siberian branch
of the Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia
e-mail: kerschen@mail.ru

Life, by Hans Selye's definition, - process of continuous adaptation to constantly changing conditions of external and internal environmental. From these positions the adaptations consisting in maintenance of structure and functions of all key systems of an organism at action on it of various by the nature a stress factors of environmental, are a basis of its fastness and efficiency. Efficiency of functioning of adaptive systems defines evolutionary potential and efficiency of a look, its ability to conservation and development in inadequate conditions of medium, a state of health of an individual organism. Disturbance of adaptation processes – way to formation of prepathological conditions, further - to development of specific diseases. One of the most important problems of a science about adaptations - identification of key mechanisms causing this process and development of ways to the management accelerated and facilitated course of adaptations. Biochemical adaptive mechanisms can be divided into two groups: changes of functional activity of a genome and functional reorganizations of the regulatory device of a cell and organism. At the same time, a final link of all these inside - and intercellular biochemical mechanisms - relative changes of biochemical reactions rates at the expense of activity change of certain enzymes since it is known that this way in any biological system is the only way of the organization of biochemical processes in self-regulating system. As a result, at action of any stimulus on an organism in it "The adaptive enzymatic structural trace" (AEST) [1] in the form of contents and activity change of the enzymes catalyzing chains chemical reaction is formed. AEST formation - a biochemical basis of increasing of organism's tolerance to this type a stress factors of environment therefore biochemical adaptive reaction includes generalized reorganizations of a metabolism, since regulatory systems neuro and endocrine and immune and finishing changes of an exchange of proteins, carbohydrates, lipids, nucleic acids and low-molecular metabolites in cells of specialized organs and tissues. AEST depends by nature a stimulus, its specifics and a physiology-biochemical condition of an organism at the moment of rendering on it a stress influence.

The model set forth above was approved at inspection of 1800 people of the population of Yakutsk and the suburbs relating to various ethno-sex-age groups (a representative sample) about an assessment of adaptive potential and a state of health. Biophysical and biochemical methods received information on a condition of functional activity of *Hypothalamus*, *hypophysis* and adrenal system, an epiphysis, thyroid and pancreatic glands, a liver, kidneys, a cardiac muscle, a condition of vascular system, a lymph flow, etc.; estimated genetic systems activity of the leucocytes in processes of replication, a reparation of DNA referred on translation, the maintenance of low-molecular antioxidants (LMAO), activity of the antioxidatic enzymes and microsomal oxidases. The received results showed that the most expressed action a stress factors of environment is shown in change of function of adrenals (formation hypo - or hyper conditions) at 23–30 % surveyed depending on ecological conditions of a concrete residence, a place and kind of work, including existence of electromagnetic fields. Synchronization of dysfunction of adrenals, along with a liver depression of function (it is frequent as a result of the suffered virus hepatitises) and imbalances in a diet leads to sharp depression of activity of antioxidatic systems (especially, the maintenance of LMAO), to formation of an «oxidative stress» and, as a result, to disturbance of functions of pancreatic and/or thyroid glands. At 20–35 % of persons with change of function of adrenals depression of rate of replication and a transcription in lymphocytes that points to immunoreactivity depression, at 18–25 % – a hyper immunoreactivity is noticed. At 10–14 % of persons with the taped dysfunction of adrenals, decreasing of a DNA reparation activity and the general genome stability against activation of processes of replication that testifies to nonspecific rising of risk of malignant neoplasms is noticed.

From all possible ecotoxic stress factors the greatest influence on health of urban population inadequate psychoemotional loads (to 23 %), hyper alcoholization (to 17 %) render (in decreasing order), virus hepatitises (to 14 %), high-pitched low-intensive electromagnetic radiations – electromagnetic "smog" (to 13 %), imbalance of a vitamin and microelement complex in a diet (to 13 %), pollution of drinking water and inhaled air (to 12 %), extreme climatic factors (to 8 %). As the secondary diseases developing on the basis of inadequate adaptive conditions of a human body, are most widespread (in decreasing order): infectious and autoimmune pathologies of an oral cavity (кариесы, pathologies пародонта) – to 70 %; the diskeniziya of zhelchevyvodyashchy ways leading to retardation of a lymph flow and, as a result, to disturbances of an exchange of a cholesterolin, conclusion of lipide slags from an organism and blood circulation, especially in a cerebral zone and the bottom extremities – to 60 %; respiratory and allergic illnesses of respiratory organs – to 50 %; diseases of a gastrointestinal tract – to 40 %; disturbances of function of a cardiac muscle – to 35 %; disturbances of function of the epiphysis regulating synchronization of a daily cycle and a light regimen – to 30 %.

Biophysical and biochemical methods of medical and preventive action in relation to the above-named dezadaptivny conditions of a human body and illnesses of a stress are offered and approved.

References

1. Meerson F.Z. (1993) Concept of long-term adaptation. - М.:Дено.-138 p.

ПОКАЗАТЕЛИ КАРДИОИНТЕРВАЛОГРАФИИ У ЛИЦ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА

Конарева И.Н.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: psyphysiol_lab@ukr.net

Исследовательский интерес к феномену адаптационного потенциала личности в настоящее время весьма значителен. А.Г. Маклаков ввел понятие личностного адаптационного потенциала (ЛАП), диагностируемого с помощью соответствующего опросника, теоретической основой которого является представление о психологической адаптации как о постоянном процессе активного приспособления индивида к условиям социальной среды, затрагивающем у человека все уровни функционирования [1].

На биологическом уровне индивидуума наиболее реактивной по отношению к воздействиям социальной среды является автономная нервная система (АНС). Функциональные особенности ее влияния на сердечно-сосудистую систему (ССС) объективно отражаются в показателях кардиоинтервалографии (КИГ) [2].

В исследовании приняли участие 140 испытуемых обоего пола в возрасте 18-30 лет с отсутствием заметных проявлений сердечно-сосудистой патологии. Психологическое тестирование осуществлялось с использованием многоуровневого личностного опросника (МЛО) «Адаптивность» А.Г. Маклакова и С.В. Чермнянина (1993). Следует учитывать, что балльные оценки по всем шкалам являются обратными – чем больше набрано баллов, тем ниже уровень соответствующей психологической характеристики. Показатели КИГ определяли с использованием программы OPTW (Н.П. Костенко, ВНМУ им. Пирогова) на основе регистрации электрокардиограммы (ЭКГ), записанной во втором стандартном отведении. Продолжительность записи ЭКГ составляла 5 мин (300 с). Регистрация проводилась в трех условиях – в положении сидя (состояние физиологического покоя), при переходе в вертикальное положение (т.е. при выполнении «усеченной» ортостатической пробы) и при выполнении когнитивного теста «Корректирующая проба» (компьютерный вариант).

Наибольшее количество корреляций показателей КИГ в состоянии покоя было установлено с оценками по шкале «поведенческая регуляция» (имеющей в своем составе характеристику нервно-психической устойчивости) и интегрального показателя ЛАП: положительные – со значениями ПАПР, АМо, ИН и ЧСС, а отрицательные – с величинами Мо и NNm. Оценки по шкале «астенические реакции и состояния» и интегральные оценки «дезадаптационные нарушения» положительно коррелировали с величинами ПАПР и АМо. Сравнение подгрупп, разделенных по величине ИН, показало, что лица с адекватным вегетативным балансом ($50 < \text{ИН} < 200$) являются более психологически адаптивными: их оценки по многим шкалам опросника были достоверно меньше, чем у представителей симпатотонического типа.

В условиях выполнения ортостатической пробы выявилось наибольшее число корреляций между значениями КИГ-показателей и баллами по шкале «моральная нормативность» (МН): лица с низким уровнем МН характеризовались преобладанием парасимпатических влияний. Большая выраженность астенического состояния была связана с относительно более интенсивной активацией центрального контура ССС и уменьшением представленности диапазона всего спектра сердечного ритма ТР. У лиц с низким ЛАП в положении стоя несколько увеличился показатель VLF% и незначительно снизилось значение LF% по сравнению с положением сидя.

Показатели КИГ, полученные при выполнении корректирующей пробы (40 чел.) не обнаруживали каких-либо достоверных корреляций с психологическими оценками ЛАП. Поэтому можно полагать, что данные оценки в целом заметно не влияли на выполнение задачи, связанной с мобилизацией внимания и скоростью реакции. Не были также найдены достоверные различия между показателями КИГ у лиц с разным уровнем ЛАП, хотя сами по себе показатели КИГ в этих пробах различались значимо.

Можно предположить, что определенными показателями «ресурса адаптации» могут быть большая вариативность показателей парасимпатического и симпатического отделов АНС и большая мощность всего КИГ-спектра (ТР).

Таким образом: 1) Лица с низкими оценками ЛАП, как правило, характеризуются преобладанием влияний центрального контура управления в регуляции сердечного ритма и воздействий симпатических механизмов на состояние ССС. У индивидуумов со средними/высокими оценками ЛАП влияния парасимпатических и симпатических механизмов на эту систему более сбалансированы. 2) С низким уровнем ЛАП соотносятся высокие значения ИН, по Баевскому, и принадлежность к симпатотоническому типу вегетативной регуляции. 3) Показатели КИГ в состоянии физиологического покоя могут рассматриваться как прогностические характеристики в отношении не только биологической, но и психологической адаптивности индивидуума.

Литература

1. Маклаков А.Г. Личностный адаптационный потенциал: его мобилизация и прогнозирование в экстремальных условиях / А.Г. Маклаков // Психол. журн. – 2001. – Т. 22, № 1. – С. 16-24.
2. Баевский Р.М. Вариабельность сердечного ритма. Медико-физиологические аспекты [Электронный ресурс] / Р.М. Баевский // Режим доступа: <http://www.ramena.ru>.

CARDIOINTERVALOGRAPHIC INDICES IN SUBJECTS WITH DIFFERENT LEVELS OF THE PSYCHOLOGICAL ADAPTATIONAL POTENTIAL

Konareva I.N.

Taurida V.I. Vernadsky National University
e-mail: psyphysiol_lab@ukr.net

A phenomenon of the psychological adaptational potential attracts at present significant interest of the researchers. Maklakov [1] proposed a term "personality's adaptational potential, PAP". This characteristic can be estimated using the corresponding questionnaire. Theoretically, diagnosing of the PAP is based on the concept considering psychological adaptation as a constant process of the active adaptation of an individual to the conditions of the social environment influencing all levels of functioning of the human being.

At a biological level of the individual, the autonomic nervous system (ANS) is most responsive with respect to influences of the social environment. The functional state of its influences on the cardiovascular system (CVS) are objectively reflected in indices estimated by a cardiointervalography (CIG) technique [2].

We examined 140 subjects of both sexes, 18 to 30 years old, with no observable manifestation of cardiovascular pathology. Psychological testing was carried out using the MLO "Adaptability" multilevel personal questionnaire by Maklakov and Chernyanin (1993). It should be taken into consideration that point estimates of this scale are reverse; the more points, the lower level of the respective psychological characteristic. Indices of CIG were estimated using OPTW software (N. Kostenko, Pirogov Vinnitsa National Medical University) according to electrocardiogram (ECG) records (2nd standard lead; 300 sec long segment). ECG was recorded under three conditions, in the sitting position (state of physiological rest), after transition to the vertical position (lightened orthostatic test), and in the course of a "Correction test" cognitive task (computer version).

A greatest number of correlations between CIG indices in the resting state and psychological estimates was found within the «behavioral regulation» scale (including characteristic of the psychological stability) and with the integral PAP estimates. There were positive correlations this the PAPR ($PAPR = AMo/Mo$), AMo, SI (by Bayevskii) indices, HR (heart rate) and negative correlations this the Mo and NNm values. Estimates by the scale "asthenic reactions" and integral estimates "disadaptive disorders" positively correlated with the PAPR and AMo values. Comparison of the subgroups differentiated according to the SI demonstrated that subjects with an adequate autonomic balance ($50 < SI < 200$) are more psychologically adaptable; their estimates by many questionnaire scales were significantly lower than those in representatives of the sympathotonic type.

Under conditions of the orthostatic test, we found the greatest number of correlations between the CIG indices and point estimates be the «moral normatively» (MN) scale; subjects with low MN levels were characterized by domination parasympathetic influences. Greater manifestations of the asthenic state were related to more intense activation of central contour of CVS regulation and decreased values of the total range of the cardiac rhythm spectrum, TP. Subjects with low PAPs showed somewhat higher VLF% indices and insignificantly lower LF% values in the standing position, as compared with those in the sitting position.

The CIG indices estimated in the performance of the "Correction test" (40 subjects) showed no significant correlations with psychological PAP estimates. Thus, in can be concluded that these estimates, in general, exerted no notable effects on realization of a task related to mobilization of attention and time of reaction. We also found no significant differences between the CIG indices in persons with different PAP levels, while the above indices per se in these conditions differed significantly.

It can be supposed that the greater variability of the indices characterizing the parasympathetic and sympathetic ANS subdivisions and a greater power of the entire CIG spectrum (TP) are significant estimates indicative of the "adaptation resource".

Thus: i) persons with low PAP estimates are, as a rule, characterized by domination of the influences central contour of control of the cardiorhythm and sympathetic mechanisms on the CVS state; individuals with intermediate/high PAP estimates show more balanced effects of the parasympathetic and sympathetic mechanisms on this system; ii) higher values of the SI, by Bayevskii, and a sympathotonic type autonomic regulation correlate with low PAP levels; iii) CIG indices in the resting state can be interpreted as prognostic characteristics with respect to not only biological adaptability of the individual but also to the psychological adaptability of the latter.

References

1. Maklakov A.G. Personality's adaptational potential: its mobilization and prognosing under extreme conditions / A.G. Maklakov // Psihol. Zhurnal - 2001. - v. 22, № 1. - p. 16-24.
2. Bayevskii R.M. Variability of the cardiac rhythm: Medical-physiological aspects [Electron resource] / R.M. Baevskii // Mode of access: <http://www.ramena.ru>.

РОЛЬ БІОЛОГІЧНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ У АДАПТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСАХ

Коритко З.І.

Львівський державний університет фізичної культури, Україна
e.mail: korytko@ukr.net

На сьогодні є підстави вважати, що у збереженні гомеостазу, крім основних механізмів регуляції функцій організму (нервових, гуморальних, імунних і спадкових) велику роль відіграє також тромбін-плазмінова система (ТПС), яка реалізується двома функціональними внутрішньо суперечливими фізіологічними процесами – біологічною коагуляцією (цитогісто-гемокоагуляцією) і біологічною регенерацією (цитогісто-геморегенерацією), що функціонують як єдиний коагуляційно-регенераційний механізм, згідно якого, в залежності від ступеня переважання процесів коагуляції (активації підсистеми тромбіну) чи регенерації (активації підсистеми плазміну) в основних біологічних середовищах організму (в крові, проміжній сполучній тканині та цитоплазмі клітин) відбуваються протилежні зміни структури і функції на різних рівнях організації [2].

Фізіологічна роль ТПС полягає у тому, що вона за допомогою згаданих вище двох фундаментальних протилежних внутрішньосуперечливих процесів - біокоагуляції та біорегенерації, які функціонують як єдиний коагуляційно-регенераційний механізм, здійснює в організмі низку регуляторних функцій, зокрема регулює агрегатний стан колоїдів цитоплазми, проміжної сполучної тканини і крові за типом золь ↔ гель і в такий спосіб модулює об'єми мікро-, ультра- та внутрішньоклітинної циркуляції, тобто модулює циркуляторний та інші механізми трофіки; модулює (підвищує ↔ знижує) рівень функціональної активності структур усіх рівнів організації організму (молекул білків, клітинних органел, клітин, органів, організму), тобто підтримує структурно-функціональний гомеостаз організму, створюючи умови, які необхідні для ефективного функціонування органів і систем організму, а отже, й компенсаторно-приспосувальних реакцій [2].

З уявлень про роботу та функції ТПС можна допустити, що відновлення зрушеного гомеостазу організму та підвищення резервів можна досягти активацією процесів регенерації шляхом корекції функціонального стану організму за допомогою плазміну [1, 2].

Оскільки фібринолізин (плазмін) є хімічним препаратом білкової структури, який вводиться внутрішньовенно, має побічні дії та ряд протипоказань, то з метою перевірки даної гіпотези був створений препарат, виготовлений шляхом опромінення гомеопатичної крупки, який ми назвали – електронною копією фібринолізину (ЕКФ) [3], що зробило можливим вивчення його дії на зміни та відновлення зрушеного метаболічного гомеостазу на прикладі впливу фізичних навантажень у охочих добровольців.

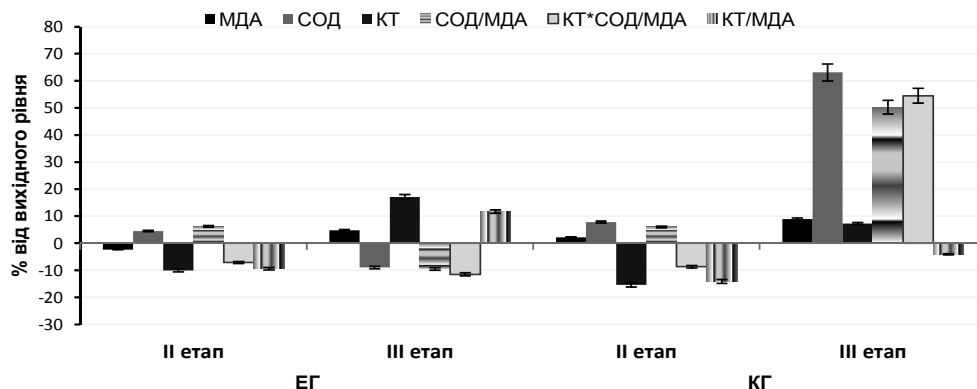


Рис.

Динаміка змін показників системи ПОЛ-АОА (%) під впливом прийому препарату ЕКФ на різних етапах обстеження (II етап - після тижневого курсу прийому; III етап - через тиждень після закінчення прийому препарату)

Встановлено, що препарат ЕКФ, активуючи плазміногенез, підвищував інтенсивність процесів біологічної регенерації, що призвело до зростання загальної варіабельності серцевого ритму, посилення активності автономного контуру регуляції, вирівнювання балансу нервових та гуморальних впливів на серце, нормалізації кисневого гомеостазу (рис.) і створило більш потужний функціонально-метаболічний резерв.

Література

1. Коритко З.І. Оптимизация функциональных возможностей и работоспособности в условиях физических нагрузок путем использования электронной копии фибринолизина / З.И. Коритко // Медицинский университет. – 2011. - № 4-5. – С.10-14.
2. Монастирський В.А. Тромбін-плазмінова система – одна з основних регуляторних систем організму / В.А. Монастирський. – Львів: Ліга-Прес, 2007. – 228 с.
3. Патент на винахід № 09212 С2 Україна, МПК: А61К 41/00, А61К 38/36, А61Р 3/00. Спосіб підвищення функціональних можливостей та працездатності спортсменів при граничних фізичних навантаженнях / З.І. Коритко, В.А. Монастирський; заявл. 12.04.20104, публ.відом.про заявку 25.10.2010, Бюл.№ 20; опубл.10.10.2011, Бюл.№19.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BRAIN ELECTRICAL ACTIVITY DURING VISUAL PERCEPTION OF AVERSIVE PICTURES IN WOMEN

Makarchuk M., Kravchenko V., Maksimovich K.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine
e-mail: mykola.makarchuk@gmail.com

A research purpose was to estimate the features of cerebral neurodynamic at perception of affective images in the different phases of menstrual cycle in young women.

18 females (university students at the age of 18-21 years) with a regular menstrual cycle took part in the investigation. Every student took part in research three times in the different phases of menstrual cycle: in a follicle phase (2-4 days); ovulation (12-16 day); in a luteal phase (21-25 day). An electroencephalogram was registered in a rest state and during viewing of images which are able to cause negative emotions - pictures of the International system of affect images (IAPS).

In general, the viewing of unpleasant pictures was accompanied by decreasing of power alfa-and low-frequency beta ranges in the symmetric back-temporal brain regions, which represents visual associative areas activation.

According to amount of the involved areas the most activating processes at perception of unpleasant images were observed in a follicle phase with the low level of both estrogen and progesteron. During the viewing of aversive pictures in the follicle phase was observed growth of tetra-power in a frontal areas and depression of alfa-power in left hemisphere central-parietal areas, which can be the reflection of the verbally mediated anxious thoughts.

In a luteal phase was observed the lateralization of activation providing of sensory processes in the right hemisphere.

The lowest activation of cerebrum during perception of unpleasant pictures was marked in the phase of ovulation, which is known by a maximal level of estrogen. It can be explained by the anxiolytic action of estrogens, that is probably carried out by influence on the secretion of hormones of hypothalamic-hypophysis-suprarenal axis and on release of norepinephrine in a frontal cortex.

СИГНАЛЬНІ КАСКАДИ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА РЕГУЛЯЦІЯ БАЛАНСУ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ У АДАПТИВНИХ РЕАКЦІЯХ РОСЛИН

Кравець В.С., Яковенко О.М., Калачова Т.А.

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ, Україна
e-mail: kravets@bpcl.kiev.ua

Одним з ключових сигнальних механізмів реалізації захисної ролі саліцилової кислоти в адаптації рослин до біотичних стресу є активація продукції активних форм кисню (АФК). Проте надмірне накопичення АФК спричиняє окислювальний вибух та пошкодження клітинних мембран. Нами було досліджено молекулярні механізми захисту клітинних мембран рослин від індукованого дією саліцилової кислоти перекисного окиснення ліпідів. В рамках комплексної антиоксидантної системи ключовими є функціонування аскорбат-глутатіонового циклу, окиснювально-відновних ферментних систем та ліпофільних антиоксидантів, зокрема токоферолів. У той же час розглядається роль токоферолів в якості компонентів сигнальних систем в умовах стресу, особливо за дії біотичних чинників. З метою дослідження координації між сигнальними каскадами саліцилової кислоти, аскорбіновою кислотою та метаболізмом токоферолу в тканинах рослин було використано *vtc1* трансгенні рослини арабідопсису зі зниженням експресії генів GDP-маннозопірофосфорилази. Було показано, що рослини *vtc1* мають підвищений загальний рівень α -і γ -токоферолу за нормальних умов і виявляють зниження вмісту α -токоферолу і збільшення γ -токоферолу за обробки саліциловою кислотою в порівнянні з рослинами дикого типу. Отримані результати свідчать на користь того, що низький ендогенний рівень аскорбінової кислоти у мутантних рослин *vtc1* пов'язаний з експресією СК-регульованих генів, а регуляція здійснюється із залученням транскрипційного фактору NPR1. Також було показано, що рослини дикого типу виявляли значне зниження рівня α -токоферолу і підвищення вмісту γ -токоферолу у фотосинтетичних тканинах після екзогенної обробки саліциловою кислотою. Між тим, у рослин *prg1* рівень γ -токоферолу після дії фітогормону збільшився вдвічі, що вказує на активацію NPR1 - незалежного регуляторного шляху.

Таким чином, нами було з'ясовано взаємозв'язок між сигнальними шляхами саліцилової кислоти і аскорбат-глутатіоновим циклом в регуляції метаболізму токоферолів у тканинах рослин. Отримані дані свідчать про компенсаторні механізми у системах генерації та детоксикації активних форм кисню між в процесі формування адаптивних реакцій рослин.

Робота виконана за підтримки грантів НАН 2.1.10.32 і № 8-12.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

SALICYLIC ACID SIGNALING CASCADES AND REDOX BALANCE REGULATION IN PLANT ADAPTIVE REACTIONS

Kravets V.S., Iakovenko O.M., Kalachova T.A.

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: kravets@bpci.kiev.ua

One of the key signaling mechanisms involved in the salicylic acid protective role in plant adaptation to biotic stress is activation of reactive oxygen species (ROS) production. However, overmuch accumulation of ROS causes oxidative burst and cell membrane damaging. At the present study, mechanisms of plant membrane protection from salicylic acid-induced lipid peroxidation were investigated. Tocopherol function realizes as a part of complex antioxidant system, including ascorbate-gluthathione cycle and redox-regulating enzymes. In addition, tocopherols are being discussed to be the components of cell signaling under stress conditions, especially under pathogen attack. In order to realize the coordination between salicylic acid signaling cascade, ascorbic acid metabolism and tocopherol accumulation in plant tissues, we used *vtc1* transgenic *Arabidopsis* plants with reduced GDP-mannose pyrophosphorylase gene expression. *Vtc1* plants showed an increased total level of α - and γ -tocopherols at normal conditions and decreased α -tocopherol level and increased γ -tocopherol level under salicylic acid application in comparison to wild type plants. There is evidence that low ascorbic acid concentrations in *vtc1* activated expression of salicylic acid (SA)-regulated genes, a response found to be dependent on the redox-regulated transcriptional co-regulator NPR1. Here we show that wild type plants showed significant reduction of α -tocopherol and increasing of γ -tocopherol under exogenous application of salicylic acid. Meanwhile, in *npr1* plants tocopherol levels under salicylic acid also showed two-fold increase in γ -tocopherol levels indicating activation of NPR1 - independent regulatory pathways.

Thus, we have established cooperation between signaling pathways involving salicylic acid and ascorbate-gluthathione cycle in the regulation of tocopherol content in *Arabidopsis* leaves. The findings suggest activation of compensatory mechanisms of ROS production and detoxification regulation by antioxidant enzymes and lipophilic antioxidants during the formation of plant adaptive reactions.

Research was supported by grants NAS 2.1.10.32 and № 8-12.

БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВЗАЄМОДІЇ МОЛЕКУЛЯРНОГО ШАПЕРОНУ HSP60 ТА ПРОТЕЇНКІНАЗИ АКТ1

Крупська І.В., Капустян Л.М., Сидорик Л.Л.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: i.v.kroupskaya@imbg.org.ua

При дії на клітини організмів різними фізико-хімічними факторами найчастіше пошкоджуються білки – порушується структура і змінюється їх функція. Щоб впоратися з ушкодженнями білкових структур, клітина повинна активувати апарат специфічного захисту. Існує ряд клітинних компонентів, які залучені або в каталіз процесу згортання білків, або в регуляцію розподілу знову синтезованих білків між альтернативними шляхами згортання і агрегації. Одними з таких клітинних компонентів і є молекулярні шаперони та протеїнінази.

Гіперекспресія HSPs є потужним засобом цитопротекції, в тому числі і серцево-судинної системи. Молекулярний шаперон Hsp60 та протеїніназа Akt1 і p70S6 відіграють важливу функціональну роль в PI3K-кіназному шляху кардіоміоцитів в нормі та за патологічних умов. p70S6 кіназа є важливим регулятором швидкості та ефективності біосинтезу білків, критична при фізіологічній адаптації міокарду до стресу, при якому активується PI3K-шлях. Akt1 протеїніназа при активації призводить до захисту міокарда від ішемії *in vivo*. Akt1 активується PI3K кіназою та відіграє важливу роль в забезпеченні життєдіяльності клітини - блокуючи каспази, функція яких – забезпечення програми апоптоза.

Виходячи з отриманих нами раніше результатів про утворення функціонального комплексу *in vivo* між протеїніназою p70S6 та молекулярним шапероном Hsp60 та даних літератури про те, що кіназа Akt1, як і p70S6K, фосфорилує антиапоптозний білок Bad по залишку серину 136 та мають високий ступень гомології між собою, ми зробили припущення про можливу взаємодію молекулярного шаперону Hsp60 з протеїніназою Akt1 при активації стрес-індукованого сигналіну апоптозу кардіоміоциту.

Для підтвердження такого припущення нами було проведено теоретичний розрахунок можливого докінгу між молекулою молекулярного шаперону Hsp60 (1GRL) та кіназою Akt1 (1MRV), використовуючи програму HEX 5.0. За допомогою інформації з послідовності і структури шаперону Hsp60 (1GRL) та кінази Akt (1MRV), були передбачені, як потенційно взаємодіючі, наступні амінокислотні залишки:

для Hsp60 (1GRL) - Val6, Lys7, Phe8, Val14, Arg18, Glu63, Asp64, Lys65, Phe66, Asp523;

для Akt (1MRV) - Ser124, Asp127, Asn128, Leu362, Met363, Arg367, Phe368, Arg370, Pro374, Lys377, Lys386, Arg406, Gln414.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF INTERACTION BETWEEN THE MOLECULAR CHAPERONE HSP60 AND PROTEIN KINASE AKT1

Kroupskaya I.V., Kapustian L.N., Sidorik L.L.

Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: i.v.kroupskaya@imbg.org.ua

Different physical and chemical factors when exposed to cells can cause proteins damage, their structure are broken and their function are changing. Cell to activate the machine specific protection to cope with injuries of protein structures. There are several cellular components involved in catalysis protein folding, as well as regulating the distribution of new synthesized proteins between alternative ways of folding and aggregation. Molecular chaperones and protein kinases is one such cell components.

Overexpression of HSPs is a powerful tool cytoprotective, including the cardiovascular system. Molecular chaperone Hsp60 and protein kinases Akt1 and p70S6 are an important components of functional PI3K signal pathway cardiomyocytes in normal and pathological. p70S6 kinase is an important regulator of speed and efficiency of protein biosynthesis which is critical for physiological adaptation to myocardial stress in which the activated PI3K signal pathway. Protein kinase Akt1 activation leads to myocardial protection in vivo. Akt1 is activated PI3K signal pathway and plays an important role in providing cellular activity-blocking caspase which the function – providing programs apoptosis.

Based on the our results to form a functional complex in vivo between p70S6K and molecular chaperones Hsp60 and literature data that the kinase Akt1 is like p70S6K phosphorylates antiapoptotic protein Bad on serine residue 136 and a high degree homology with each other, we have suggested a possible interaction between molecular chaperone Hsp60 and protein kinase Akt1 in in stress-induced apoptosis sygnal pawthway in cardiomyocytes.

We have performed a theoretical calculations of possible docking between a molecules of Hsp60 (1GRL) and Akt1 (1MRV), using the molecular-modelling program HEX 5.0. and were provided as potentially interacting the following amino acid residues: for Hsp60 (1GRL) - Val6, Lys7, Phe8, Val14, Arg18, Glu63, Asp64, Lys65, Phe66, Asp523 and for Akt (1MRV) - Ser124, Asp127, Asn128, Leu362, Met363, Arg367, Phe368, Arg370, Pro374, Lys377, Lys386, Arg406, Gln414.

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕЙ ГИПОТЕРМИИ НА ФОНЕ И БЕЗ БЛОКАДЫ ЦЕНТРОВ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА КРЫС

Ломако В.В., Шило А.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
e-mail: avshilo@list.ru

Проблема биологического действия охлаждения на гомойотермный организм давно привлекала внимание исследователей и более чем за полтора века опыт изучения накоплен большой массив данных о его влиянии на функциональную активность различных систем организма. При охлаждении наиболее выраженные изменения наблюдаются в функциональной активности сердечнососудистой системы. Одновременное возбуждение вегетативной нервной системы (ВНС) приводит к увеличению выброса симпатических медиаторов - активных в отношении сосудов веществ. Изменение ритма сердца (РС) при этом является наиболее универсальной реакцией организма на охлаждение.

Цель работы – изучение особенностей распределения кардиоинтервалов (КИ) и спектральных показателей вариабельности ритма сердца (ВРС) при общей гипотермии (ОГ) организма крыс на фоне и без блокады центров терморегуляции (ЦТ).

Работа выполнена на 7-8 мес. белых крысах-самцах с соблюдением всех биоэтических норм.

Общую гипотермию на фоне наркотической блокады ЦТ (смесь тиопентала натрия и оксибутирата натрия из расчета 30 и 100 мг/кг массы соответственно) осуществляли в холодовой камере (при температуре 0-5 °С) и без блокады ЦТ - в тесте «вынужденное плавание» в ледяной воде (при температуре 0 °С). Длительность холодового воздействия в обоих случаях – 5 мин. Регистрацию, распознавание R-зубцов электрокардиограммы, измерение временных интервалов между ними (R-R-интервалы) и расчет параметров ВРС проводили на компьютерном электрокардиографе фирмы «НейроСофт» (Россия) (частота дискретизации 1024 Гц) с помощью программы «Поли-Спектр». Автоматически рассчитывались следующие параметры ВРС: частота сердечных сокращений (ЧСС), минимальная и максимальная длительность КИ, коэффициент вариации (CV) ряда КИ, общая мощность спектра (Total Power, TP), мощность высокочастотного (High Frequency, HF), низкочастотного (Low Frequency, LF) и очень низкочастотного (Very Low Frequency, VLF) компонентов спектра, вклад указанных компонентов в общую мощность спектра в процентах, а также соотношение LF/HF. Температуру тела (Тт) животных измеряли раз/мин ректальным датчиком с помощью электронного термометра. Статистическую обработку данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Общая гипотермия на фоне блокады ЦТ сопровождалась снижением Тт до 32 ± 1 °С и замедлением ЧСС (длительность КИ увеличивалась). Перемещение животных в условия с нормальной температурой окружающей среды (22-23 °С) приводило к быстрому возвращению показателей активности сердца к исходному уровню, что, вероятно, в первую очередь, определялось уровнем блокады ЦТ животного. При этом CV ритма сердца, зависящий от уровня влияния симпатического или парасимпатического отделов ВНС на синусовый узел сердца, уменьшается, что свидетельствует о смещении вегетативного баланса в сторону преобладания симпатической регуляции. Подобное смещение сохраняется и в первые минуты восстановления Тт животного.

Спектральный анализ ВРС показал, что несмотря на уменьшение соотношения LF/HF, процесс охлаждения организма и последующее восстановление Тт происходят на фоне преобладания церебральных эрготропных или гуморально-метаболических влияний на ритм сердца, при этом показатель TP, отражающий суммарный эффект нейрогуморального воздействия, достоверно не изменялся. Сходная динамика изменения длительности КИ отмечалась и при ОГ в тесте «вынужденное плавание», когда Тт снижалась до 18 ± 1 °С. Однако сразу после отмены воздействия холодового фактора отмечалось некоторое замедление ЧСС с непродолжительным плато (в течение приблизительно 5 мин), когда ЧСС практически не изменялась, а затем следовало монотонное ее повышение.

Оба вида ОГ характеризовались мономодальным (с минимальным разбросом CV) распределением КИ и монотонным повышением CV. После ОГ без блокады ЦТ CV повышался до 45 мин самосогревания и снижался к 90 мин наблюдения. Подобная динамика характерна и для показателя общей мощности спектра, отражающего суммарную активность воздействия на ритм сердца, и имеющего то же значение, что и CV. Это свидетельствует о преобладании активности парасимпатического отдела ВНС на начальных этапах восстановления Тт, которое в последующем сменялось активацией симпатического отдела ВНС.

Следует отметить, что процесс восстановления Тт животного происходил на фоне монотонного повышения активности сердца в диапазоне VLF (0,003-0,04 Гц). Физиологические факторы, оказывающие влияние на этот диапазон, еще до конца не определены. Предположительно, это связано с изменениями функциональной активности терморегуляторной и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем, колебаниями уровня катехоламинов в плазме крови и др.

Таким образом, характер изменения и скорость восстановления изученных показателей активности сердца существенно не зависели от способа достижения и глубины гипотермии организма крыс, активности ЦТ, сохранялись и после отмены действия холодового фактора, но быстро нивелировались после восстановления Тт. При охлаждении в холодной воде происходит более быстрое падение Тт и развивается состояние, подобное наркозу, что может объяснять сходную динамику изученных показателей сердечного ритма при обоих способах достижения общей гипотермии.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF HYPOTHERMIA WITH AND WITHOUT BLOCKADE OF THERMOREGULATORY CENTER ON HEART RATE VARIABILITY IN RATS

Lomako V.V., Shylo O.V.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Kharkov, Ukraine
e-mail: avshilo@list.ru

The problem of biological action of cooling on the homoeothermic organism has been attracting the attention of researchers for a long time and a great amount of data on its impact on the functional activity of various systems of organisms was accumulated for more than century and a half. Upon cooling the most pronounced changes are observed in the functional activities of the cardiovascular system. The simultaneous excitation of the autonomic nervous system (ANS) leads to an increase in release of sympathetic neurotransmitters, which are active substances towards vessels. Change of heart rate (HR) in this case is the most universal reaction of the organism to cooling.

The aim of the research was to study the peculiarities of R-R-intervals distribution and spectral indices of heart rate variability (HRV) under general hypothermia (GH) in rats on the background and without the blockade of thermoregulatory centres (TC).

The work was carried out on 7-8 month male white rats in compliance with all the bioethical norms.

General hypothermia on the background of blockade of TC (mixture of thiopental sodium and oxybutyrate sodium 30 and 100 mg/kg of animal weight, respectively) was carried out in a cold chamber (at the temperature of 0-5 °C) and without blockade of the TC in the "forced swimming" test in icy water (at 0 °C). Durations of cold exposure in both cases were 5 min. Registration, identification of R-peaks of electrocardiogram, measurements of time intervals between successful R-R-intervals and HRV parameters calculation were performed on a computer electrocardiograph ("Neurosoft" (Russia), sampling frequency 1024 Hz) using the "Poly-Spectrum" program. The following parameters of HRV such as heart rate (HR), minimum and maximum duration of R-R-intervals, the coefficient of variation (CV) of R-R-interval series, the total spectrum power (Total Power, TP), power in the high-frequency range (High Frequency, HF), power in the low frequency range (Low Frequency, LF) and power in the very low frequency range (Very Low Frequency, VLF), the contribution of these components in the total spectrum power in percents, as well as the LF/HF ratio were automatically calculated. Body temperature (Tb) of the animals was measured once per minute with a rectal probe by an electronic thermometer. Statistical data were processed by ANOVA.

General hypothermia on the background of the blockade of the TC was accompanied by a decrease in Tb down to 32 ± 1 °C and a decrease in HR (increase in duration of R-R-intervals). Replacing the animals to the conditions with normal ambient temperature (22-23 °C) led to a rapid return of cardiac activity indices to the initial level, which is probably mainly determined by the level of the blockade of the animals' TC. At the same CV, depending on the level of influence of the sympathetic and parasympathetic branches of ANS on the sinus node of the heart, the heart rate decreases, indicating a shift of autonomic balance towards the domination of the activity of sympathetic branch. This domination is preserved within the first minutes of recovery of the animals' Tb.

Spectral analysis of HRV showed that despite the decrease in the ratio LF/HF, the process of the organism cooling and the subsequent restoration of Tb occurred on the background of the domination of cerebral ergotropic or humoral-metabolic effects on the HR, at the same time the TP as the indicator, which reflects the total effect of the neuro-humoral impacts, did not change significantly.

The similar dynamics was observed in change of the R-R-interval length under GH achieved in the "forced swimming" test, when Tb reduced down to 18 ± 1 °C. However, immediately after withdrawal the cold factor slowing HR with a short plateau (for about 5 minutes), when the heart rate remained unchanged, was noted, and then the monotonous increase in the heart rate was observed.

The both kinds of GH were characterized by monomodal (with low CV value) distribution of R-R-intervals and by monotonous increase in CV. After GH without blockade of the thermoregulatory centres CV increased for 45 min of self-warming and then decreased for 90 min of the observation. The similar dynamic is characteristic for the index of the total power, which reflects the impact of total activity in the heart rate, and has the same meaning as the CV. This indicates to domination of parasympathetic activity of ANS at the early stages of the Tb recovery, which is subsequently replaced by the activation of the sympathetic ANS.

It should be noted that the process of normalization the animals' Tb occurred against the background of a monotonous increase in activity of the heart in the range of VLF (0.003-0.04 Hz). Physiological factors influencing this range are not yet fully defined. Presumably this is due to changes in the functional activity of thermoregulatory and renin-angiotensin-aldesteron systems, fluctuations in the level of catecholamines in blood plasma, etc.

Thus, the character of the change and the recovery rate of the studied indices of activity of the heart did not significantly depend on the method of achieving and depth of the hypothermia in rats and activity of thermoregulatory centres, persisted after the abolition of the cold factor, but quickly leveled after the normalization of body temperature.

Under cooling in cold water a faster decrease in Tb took place and an anesthesia-like condition was developed that may explain the similar dynamics of the heart rate indices studied for the both types of general hypothermia.

РАЗНЫЕ ВИДЫ ХОЛОДОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ ПРИВОДЯТ К СХОДНЫМ ИЗМЕНЕНИЯМ В ГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ МОЗГА НЕЗАВИСИМО ОТ МЕХАНИЗМОВ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТАЦИИ

Луценко Д.Г., Венцковская Е.А., Марченко В.С., Бабийчук Г.А., Шило А.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
e-mail: ludg@list.ru

Известно, что разные виды холодových воздействий (ХВ) (постоянные (ПХВ) или ритмические (РХВ)) приводят к повышению адаптивных способностей организма и повышению выживаемости при низких температурах благодаря активации различных метаболических процессов [1]. При этом сердечно-сосудистая система (в частности микроциркуляторное русло) является одной из наиболее быстро реагирующих на холод систем организма. Однако особенности реагирования микроциркуляторного русла на разные ХВ еще недостаточно изучены.

Эксперименты были проведены на самцах белых крыс (7-8 месяцев, 220-250 г) и были одобрены комитетом по биоэтике при ИПКиК. РХВ проводились в светлое время суток 9 раз в день по 15 минут потоком холодного воздуха (+6-+10°C) с интервалами по 45 минут без обдува при комнатной температуре +23°C в течение 30 дней. НХВ достигалось постоянным выдерживанием крыс при +4°C в течение 30 дней. Адаптивные способности крыс оценивались в тесте вынужденного плавания в холодной воде после ХВ. Критериями были длительность плавания и изменение ректальной температуры. Пиальная сосудистая сеть окрашивалась DiOC2(3) и исследовалась *in vivo* под микроскопом Zeiss LSM META-510. В сыворотке крови и коре головного мозга методом Грисса определялся уровень продуктов обмена NO (NOx).

Во всех случаях ХВ приводили к формированию адаптации, которая проявлялась в повышении устойчивости температуры тела и/или увеличении длительности плавания в холодной воде. Последнее в основном обеспечивалось преобладанием пассивных форм поведения (более выражено после РХВ) [2].

Микроциркуляторное русло головного мозга характеризуется сильно разветвленной сетью. Несмотря на минимальные изменения в диаметрах микрососудов после ПХВ и РХВ повышается количество микрососудов и их извитость, что отражается в увеличении площади, занимаемой микрососудами по сравнению с контролем. При РХВ, мы заметили «плазматические капилляры», которые не наблюдались при ПХВ [3].

Такие изменения могут быть вызваны локальным действием NO на миоциты микрососудов, перициты и прекапиллярные и капиллярные сфинктеры. Кроме того показано, что концентрация NOx через 2 дня РХВ («ускоренная акклиматизация» по ЛеБлану-Пастухову [1]), снижается в коре мозга и заметно повышается (до 45,3 мкмоль/л) в сыворотке крови, что может указывать на активацию NO-зависимых систем на начальных этапах адаптации к холоду. При пролонгировании РХВ концентрация NOx в коре головного мозга достоверно уменьшается (14,8 мкмоль/л), а после ПХВ - незначительно отличалось от контроля (18,1 и 21 мкмоль/л). В тоже время концентрация NOx в сыворотке крови заметно снижалась и после ПХВ (с 29 до 17 мкмоль/л) и после РХВ (до 19,5 мкмоль/л), что может указывать на нормализацию функционирования NO-зависимых систем при адаптации к холоду.

Таким образом, можно сказать, что разные виды длительных ХВ приводят к сходным изменениям в микроциркуляторном русле мозга независимо от способа выработки адаптации к холоду.

Благодарности: Мы благодарны к.б.н. И. Коваленко и к.б.н. Г. Божок за помощь в проведении микроскопических исследований.

Литература

1. Пастухов Ю.Ф., Максимов А.Л., Хаскин В.В. Адаптация к холоду и условиям Субарктики: проблемы термофизиологии // Магадан: СВНЦ ДВО РАН – 2003, Т.1, 373 с.
2. Венцковская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А. Изменение адаптационных способностей крыс после ритмических холодových воздействий // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – № 2. – С. 38-43.
3. Луценко Д.Г., Марченко В.С., Бабийчук В.Г. NO-залежні механізми дії ритмічних холодových впливів на функціональну архітектуру мікрогемодинамічного русла головного мозку щурів // Проблеми криобиології. – 2011. – Т. 21, № 2. – С. 117-124

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DIFFERENT TYPES OF COLD EXPOSURES RESULT IN THE SIMILAR CHANGES IN THE BRAIN HEMOCIRCULATION REGARDLESS FROM DIFFERENT MECHANISMS OF ADAPTATION FORMATION

Lutsenko D.G., Ventskovska O.A., Marchenko V.S., Babychuk G.O., Shylo O.V.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: ludg@list.ru

It is known that different types of cold exposures (CE) (constant - CCE or rhythmic - RCE) lead to increase of organism adaptive abilities and increase of survival at low temperatures due to the activation of various metabolic processes [1]. At the same time cardio vascular system (particularly the microcirculation bed) is one of the systems which promptly responds to the cold. But the peculiarities of microcirculation bed reactions to the different cold exposures are poorly investigated.

The experiments were performed in male white breedless rats (7-8 months, 220-250 g) and were approved by the Committee on Bioethics at the IPC&C NASU. RCE were carried out during light periods 9 times per day by blowing for 15 min with cold air (+6-+10°C) with intervals of 45 min without blowing (+23°C) for 30 days. CCE was achieved by keeping rats at +4°C for 30 days. The adaptive abilities of rats were assessed in forced swim test in cold water after RCE and CCE. The criteria were the swim duration and changes in rectal temperature. Pial vascular net was contrasted with DiOC2(3) and investigated in vivo with Zeiss LSM META-510. Level of NO derivatives (NOx) was assessed by Griess reaction in blood serum and brain cortex.

In all cases, cold exposures led to the formation of adaptation, which was expressed either in the increase of body temperature resistance and/or swimming time in cold water. The latter one was generally due to the dominance of passive forms of behaviour (more expressed after RCE) [2].

Brain microcirculation bed is characterized by highly branched network. Despite the minor changes in microvascular diameters after CCE and RCE the increase in the number of microvessels and their tortuosity was found, that was reflected in the microcirculation bed area increase in the field of the vision compared to the control. Under RCE we detected the "plasmatic capillaries", which was not observed under CCE. Such changes may be explained by the local influence of NO on microvessel myocytes, pericytes and pre-capillary and capillary sphincters [3].

Besides it should be noted that in 2 days RCE ("accelerated acclimation" by LeBlanc-Pastukhov [1]) the NOx concentration decrease insignificantly in the cerebral cortex and increase markedly (up to 45.3 $\mu\text{mol/l}$) in blood serum. That may indicate an activation of NO depended systems at the initial stages of the cold adaptation. RCE prolongation led to the significant decrease in concentration of NO metabolism final products in cerebral cortex (down to 14.8 $\mu\text{mol/l}$) and after CCE the NOx concentration did not differ significantly from the control (18.1 и 21 $\mu\text{mol/l}$, respectively). At the same time the significant decrease of NOx concentration in blood serum both after CCE (from 29 down to 17 $\mu\text{mol/l}$) and after RCE (down to 19.5 $\mu\text{mol/l}$) were observed that may indicate the normalization of functioning of NO-depended systems after cold adaptation.

Thus we can say that different types of long-term cold exposures resulted in the similar changes of brain microcirculation bed regardless the method of cold adaptation formation.

Acknowledgments: We acknowledge Dr. I. Kovalenko and Dr. G. Bozhok for the help in performing microcirculatory investigations.

References

1. Pastukhov Yu.F., Maksimov A.L., Khaskin V.V. Adaptation to cold and subarctic conditions: the problems of thermophysiology. – Magadan: SVNC DVO RAN, 2003. – Vol.1. – 373 p.
2. Ventskovska O.A., Shylo O.V., Babychuk G.A. Changes of adaptive abilities of rats after rhythmic cold exposures// Visnyk Problem Biologii i Medytsyny. – 2010.- N 2. – P. 38-43.
3. Lutsenko D.G., Marchenko V.S., Babychuk V.G. NO-dependent mechanisms of rhythmic cold exposures on functional architectonics of microhemocirculatory bed in rat brain // Problems of Cryobiology – 2011. – Vol. 21, N 2. – P. 117-124.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ ОСМОТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Лысенко Л.А., Кяйвярйнен Е.И., Крупнова М.Ю., Немова Н.Н.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра
Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
e-mail: l-lysenko@yandex.ru

В отличие от позвоночных водных животных, осмотическое давление межклеточной жидкости у которых поддерживается на постоянном уровне, многие морские беспозвоночные являются осмоконформерами, осмолярность межклеточной жидкости у которых изменяется в довольно широком диапазоне в соответствии с осмолярностью среды их обитания. Несмотря на отсутствие у морских беспозвоночных (нематод, ракообразных, брюхоногих и двустворчатых моллюсков) развитой системы осморегуляции, ключевую роль в которой играет мембранный переносчик Na^+, K^+ -АТРаза, у них функционирует система весьма эффективных адаптаций с ведущей ролью электролитов, особенно Na^+ . Другой составляющей механизма поддержания осмотического баланса клеток является содержание низкомолекулярных азотсодержащих соединений (аминокислот, таурина, триметиламиноксида и др.). Поскольку аминокислоты и пептиды обладают осмотической активностью и способны изменять онкотическое давление в замкнутом компартменте (клетке, органелле), изоосмотичность клеточного содержимого может поддерживаться за счет регуляции их содержания, например, путем гидролиза тканевых белков. Благодаря этой многокомпонентной системе частных приспособительных ответных реакций – от поведенческих до генетических – достигается значительная эвригалинность этих беспозвоночных: в условиях резкого, но ограниченного по времени изменения солёности их клетки и субклеточные структуры сохраняют функциональную активность.

Внутриклеточный протеолиз, основной и наиболее древней задачей которого является пополнение пула свободных аминокислот, необходимых для синтеза белка, кроме того участвует и в адаптивных реакциях живых организмов на изменение параметров среды их обитания. Мы показали, что в норме для беспозвоночных характерен более высокий уровень активности всех основных белок-деградирующих систем – протеасомной, кальпаиновой, лизосомальной – в сравнении с этими показателями у позвоночных животных сходной экологической ниши (морских рыб). Наряду с более высокой протеин-деградирующей активностью, протеиназы беспозвоночных обладают более выраженной способностью к неселективному гидролизу белков в сравнении с гомологичными ферментами из высших организмов.

Для Белого моря, где осуществлялся отбор животных для проведения аквариального эксперимента, нормальным считается уровень солёности 25 ppm. Сублиторальных мидий, *Mytilus edulis* L., после преадаптации содержали отдельно в аквариумах с водой сходного ионного состава, но с различной концентрацией солевых компонентов: повышенную солёность (35, 45 ppm) создавали добавлением к морской воде коммерческого солевого микста, а пониженную (15, 5 ppm) – разбавлением морской воды пресной. Длительность воздействия составляла шесть суток.

Оценивалась протеолитическая и пептидазная активность основных протеиназ клетки – лизосомальных катепсинов В и D и кальцийактивируемых протеиназ цитозоля, кальпаинов. Оказалось, что значительное повышение солёности до 45 ppm приводит к избыточной активации изученных внутриклеточных протеиназ, тогда как опреснение воды, напротив, к супрессии этих путей протеолиза. Особенно четко эта тенденция проявилась при сравнении активности кальций-зависимых протеиназ, для которых показано дозозависимое повышение активности у мидий, выдержанных при повышенной солёности и снижение – при пониженной. Исключение из этой закономерности показано для катепсина D, активность которого изменяется противоположным образом, однако, вклад этой протеиназы в белковую деградацию существенно ниже, чем других участников.

Рыбы, обладая развитой системой осморегуляции, тем не менее, также прибегают к этой древней стратегии в определенных ситуациях. Так, аналогичные изменения были отмечены нами ранее в скелетных мышцах проходных рыб на стадии смолтификации. Миграция смолтов атлантического лосося из рек в море сопровождается коренной перестройкой их системы осморегуляции, и на определенном этапе она не функционирует.

По всей вероятности, эффективность внутриклеточного протеолиза подвержена регуляции при изменении осмолярности тканевой жидкости. Активация кальпаинов и определенных лизосомальных протеиназ при повышении солёности среды, очевидно, отражает их участие в поддержании осмотического давления в клетках за счет высвобождения свободных аминокислот. Можно предположить, что эта «необычная» роль протеиназ у морских беспозвоночных может свидетельствовать о том, что солёность, среди прочего, является одним из факторов молекулярной эволюции протеиназ.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК № 14.740.11.1034), программы Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-1642.2012.4), грантов РФФИ №11-04-00167-а, №12-04-01597-а, программы № 28-2 Президиума РАН «Проблема происхождения жизни и становления биосферы».

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INTRACELLULAR PROTEOLYSIS AS A FACTOR OF OSMOTIC TOLERANCE IN MARINE INVERTEBRATES

Lysenko L.A., Kantserova N.P., Kaivarainen E.I., Krupnova M.Ju., Nemova N.N.

Institute of Biology, Karelian Research Centre of Russian Academy of Science, Petrozavodsk, Russia
e-mail: l-lysenko@yandex.ru

In contrast to water vertebrates maintaining osmotic pressure in intercellular fluid at constant level, many marine invertebrates are osmoconformers, meaning that the osmolality of their extracellular fluid is equal to that of surrounding water. Due to the absence of developed osmoregulatory system (with key role of membrane transporter Na^+, K^+ -ATPase) in marine invertebrates (nematodes, crustacean, gastropods, bivalves, etc.) they possess a rather effective complex of particular adaptations with the main contribution of electrolytes, especially Na^+ . Other component of the mechanism of osmotic balance maintaining is the level of low-molecular nitrogen-containing compounds such as amino acids, taurine, trimethylaminoxide, etc. Because of osmotic properties amino acids and peptides can change oncotic pressure in isolated compartment such as cell or organelle and osmotic balance can be maintained by the way of regulation of peptide components level through tissue proteins hydrolysis. Due to the multicomponent system of compensatory response reactions – from behavior to genetics – euryhalinity of the invertebrates is achieved; at acute but short-term salinity variation invertebrate cells and subcellular structures conserve functionally activity.

Intracellular proteolysis along with basic and ancient task of amino acid pool enrichment for protein synthesis purposes participates in adaptive response on environmental changing in any living organism. It was demonstrated that protein turnover estimating by the activity of main protein-degrading enzymes such as proteasome, calpain, and lysosomal proteases is quite rapid in water invertebrates comparing with vertebrates from the same ecological niche (marine fish). Along with higher protein-degrading capacity invertebrate homologues of known intracellular proteases are rather non-selective hydrolases whereas their counterparts have achieved high specificity in higher animals.

Samples for aquarial experiment were collected in White Sea basin characterized by normal salinity of 25 ppm. When preadapted mussels, *Mytilus edulis* L., were kept in water of common ionic composition and various concentration; salinity was adjusted by adding of commercial salt mix for increased means (35, 45 ppm) and by dilution for decreased (15, 5 ppm) ones. Exposition lasted six days. Proteolytic and peptidase activity of main intracellular proteases such as cathepsins B and D and neutral calcium-activated proteases (calpains) were estimated.

It was revealed that acute elevation of osmolality from 25 to 45 ppm results in excessive protease activation and protease pathway were substantially suppressed in animals acclimated to diluted seawater. The tendency is especially pronounced in calpain activity changing in dose-dependent manner in treated mussels. Cathepsin D activity changes in opposite manner however the contribution in bulk proteolysis much lower than for other proteases.

Fishes possessing advanced osmoregulation nevertheless resort to this adaptive strategy in some situations. We observed similar response reaction in skeletal muscles of migrating fishes at the stage of smoltification followed by osmotic misregulation. River/sea migration of atlantic salmon smolts requires deep remodeling of osmoregulatory system that is invalid at certain stage.

Data obtained in the model observations in marine animals exposed to increased/decreased salinity suggest that the effectiveness of intracellular proteolysis can be regulated at variation in tissue fluid osmolarity. Activation of calpains and certain lysosomal enzymes at excessive salinity allow supposing their contribution to osmotic balance maintaining through free amino acid release. We speculate that, since proteases play unconventional role in marine invertebrates, salinity might have the effects on the course of protease molecular evolution.

This work was supported by the programs of Education & Science Ministry (contract 14.740.11.1034), RAS Presidium Program 28.2 «The problem of life origin and biosphere evolution», RFBR (11-04-00167), and «Leader Scientific Schools» (1642.2012.4).

О ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ МИКОРИЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И СОДЕРЖАНИЕМ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КОРНЯХ ОРХИДНЫХ (ORCHIDACEAE)

Маракаев О.А., Холмогоров С.В., Сидоров А.В., ¹Загоскина Н.В.

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

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

e-mail: olemar@yandex.ru

Физиолого-биохимические взаимодействия в эндотрофной симбиотической системе «орхидея – микоризообразующий гриб» сложны и неоднозначны (1, 2). Известно, что степень и характер развития микосимбионта значительно варьируют на протяжении онтогенеза растения, находясь под его метаболическим контролем, и, по-видимому, отражают адаптационную стратегию вида к меняющимся экзо- и эндогенным факторам. Молекулярными механизмами, регулирующими микотрофию орхидных, может быть изменение фенольного статуса их подземных органов, о чем ранее сообщалось в литературе (3, 4). В настоящей работе у представителя орхидных умеренного климата России – пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soo – исследовали интенсивность микоризной инфекции (ИМИ) придаточных корней в связи с накоплением в них фенольных соединений. Обилие микосимбионта и его качественные характеристики оценивали на давленных препаратах и микротомных срезах корней после его окрашивания раствором анилиновой сини в молочной кислоте. Фенольные соединения экстрагировали из свежего материала горячим 80%-ным этанолом. Спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса; 725 нм) и содержание флавоноидов (с хлористым алюминием; 415 нм). Установлено, что придаточным корням *D. maculata* свойственны высокие показатели ИМИ и содержания фенольных соединений по сравнению с корневыми окончаниями запасующих органов (тубероидов), подверженных микоризной инфекции в существенно меньшей степени. В старых корнях ИМИ наибольшая в середине вегетационного периода – июле (49%) и снижается в августе до 35%. Динамика содержания фенольных соединений аналогична таковой для ИМИ. Суммарное накопление этих вторичных метаболитов существенно увеличивается, начиная с мая, в июле достигает максимального значения (2,01 мкг/г сырой массы), а в августе уменьшается (1,42 мкг/г сырой массы). Что касается флавоноидов, то их содержание в летние месяцы было достаточно высоким и практически одинаковым (0,23-0,25 мкг/г сырой массы), тогда как в начале вегетации (май) – в 2 раза ниже. Молодые корни *D. maculata* образуются в конце июня и отличаются высокими темпами роста в течение дальнейшей вегетации. В июле они подвергаются активному проникновению микосимбионта, о чем свидетельствует высокая ИМИ (50%). В августе выявлено ее снижение (31%), в сентябре – повышение (41%). На этом же уровне (39-45%) ИМИ сохраняется в октябрь-ноябре. Содержание суммы растворимых фенольных соединений в молодых корнях в сентябре высокое (1,46 мкг/г сырой массы) и сопоставимо с таковым в старых корнях в августе. Уровень флавоноидов в растущих корнях в сентябре достаточно низкий (0,05 мкг/г сырой массы), но он неуклонно увеличивается к ноябрю (в 10 раз). Содержание фенольных соединений за то же время возрастает в 1,8 раза. Эти биохимические изменения в молодых корнях происходят на фоне существенного увеличения количества зернистой массы микосимбионта (до 90%), свидетельствующей об активном его переваривании в клетках. Выявленные особенности позволяют полагать о существовании взаимосвязи между ИМИ придаточных корней *D. maculata* и содержанием в них фенольных соединений в целом, и в частности флавоноидов, что, возможно, обусловлено их фунгицидной и фунгистатической активностью. Это предположение подтверждается тем, что большое число известных фенольных соединений являются фитоалексинами, то есть веществами, образующимися в тканях растений в ответ на поражение, а корни *D. maculata* в течение вегетации подвергаются периодическому вторжению микосимбионта и являются сильно микотрофными. По-видимому, фенольные соединения могут защищать корни *D. maculata* от повреждающих воздействий, регулируя взаимодействие с микосимбионтом и обеспечивая «контроль» развития микоризной инфекции.

Литература

1. Hadley G. Orchid mycorrhiza // Orchid biology – reviews and perspectives / Ed. J. Arditti. Ithaca, N.Y.: Cornell Univ. Press, 1982. V. 2. P. 83-118.
2. Rasmussen H.N. Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. 433 p.
3. Arditti J. Aspect of orchid physiology // Advances in Bot. Research. 1979. V. 7. P. 421-465.
4. Arditti J., Flick B.H., Ehmann A., Fisch M.H. Orchid phytoalexins. II. Isolation and characterization of possible sterol companions // Amer. J. Bot. 1975. V. 62. P. 738-742.

ON RELATIONSHIP BETWEEN INTENSITY OF MYCOTIC INFECTION AND PHENOLIC COMPOUND CONTENT IN ORCHID (ORCHIDACEAE) ROOTS

Marakaev O.A., Kholmogorov S.V., Sidorov A.V., ¹Zagoskina N.V.

Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology of RAS, Moscow, Russia

e-mail: olemar@yandex.ru

Physiological and biochemical interactions in the endotrophic symbiotical system which is an orchid and its mycoforming fungus are complex and varied (1, 2). It is known that level and character of mycosymbiont development are controlled through the plants metabolism and vary greatly during its onthogenesis. It may be considered as the species adaptation strategy in respect to the ever-changing endo- and exogenous factors. It's been suggested that changes in the phenolic status of *Orchidaceae* underground organs could be the molecular mechanism used to regulate their mycotopia (3, 4). In this paper, we've researched mycotic infection intensity (MII) in the adventitious roots of Heath Spotted Orchid *Dactylorhiza maculata* (L.) Soo, a typical moderate climate Russian orchid, in relation to the level of phenolic compounds accumulation there. The mycosymbiont quantification was carried out by means of squash preparations and microtome root slices that's been previously coloured by aniline blue in lactic acid. Phenolic compounds were extracted from fresh material with 80% hot ethanol. The sum content of soluble phenolic compounds was assessed by spectrophotometric analysis with Folin-Denis reagent (725 nm), and flavonoids with aluminium chloride (415 nm). It's been determined that adventitious roots of *D. maculata* have higher MII rate compared to the root ends of storage organs (tuberoids) which are to sufficiently lesser degree susceptible to mycotic infection. In old roots MII reaches its peak in the middle of vegetation period, in July (49%) to decrease until 35% in August. Phenolic content dynamics is similar to that of MII. From May on sum accumulation of these secondary metabolites is growing considerably, reaching maximum in July (2,01 mcg per 1g raw weight) and showing a drop in August (1,42 mcg/g raw weight). As for flavonoids, their content in summer is pretty high and stays mostly at the same level (0,23-0,25 mcg/g raw weight) while in the beginning of vegetation period (May) it is two times lower. In the end of June *D. maculata* forms young roots which are growing rapidly throughout the vegetation period. In July they are subjected to the active penetration of mycosymbiont which shows in their high MII (50%). MII drops in August (31%) and increases again in September (41%), holding approximately the same level in October-November (39-45%). In September young roots show high rate of phenolic compound content (1,46 mcg/g raw weight) which matches that of old roots. Flavonoid level in September is rather low in young roots (0,05 mcg/g raw weight) but it grows steadily, reaching 10 times as much in November. Phenolic content increases 1,8 times. Simultaneously with these biochemical changes in young roots there occurs a considerable growth of mycosymbiont granulosa mass (up to 90%) showing it's been actively digested in cells. Characteristics described above allow us assume that there is a correlation between MII in adventitious roots of *D. maculata* and their overall phenolic content, flavonoids in particular. Possibly it is determined by the plants fungicidal and fungistatic activity. This hypothesis is supported by the fact that a good number of known phenolic compounds are phytoalexins, that is, substances produced in plant tissues in response to pathogenic attack. Roots of *D. maculata* during the whole vegetation period are periodically subjected to mycosymbiont penetration and are highly mycotrophic. Apparently phenolic compounds may protect roots of *D. maculata* from possible injures, thus regulating interactions with mycosymbiont and controlling the mycotic infection development.

References

1. Hadley G. Orchid mycorrhiza // Orchid biology – reviews and perspectives / Ed. J. Arditti. Ithaca, N.Y.: Cornell Univ. Press, 1982. V. 2. P. 83-118.
2. Rasmussen H.N. Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. 433 p.
3. Arditti J. Aspect of orchid physiology // Advances in Bot. Research. 1979. V. 7. P. 421-465.
4. Arditti J., Flick B.H., Ehmann A., Fisch M.H. Orchid phytoalexins. II. Isolation and characterization of possible sterol companions // Amer. J. Bot. 1975. V. 62. P. 738-742.

ФРАКТАЛЬНАЯ ГЕОМЕТРИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ФОРСИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ, ЭСТИВАЦИИ, ГИБЕРНАЦИИ

Марченко В.С., Марченко Л.Н., Луценко Д.Г., Говоруха Т.П.

Институт проблем криобиологии и криомедицины Национальной Академии Наук Украины, Харьков, Украина
e-mail: marchik@list.ru

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) следует рассматривать как комплекс фракталоподобных структур, хаотичность функционирования которых может возрастать при квазициклических (фрактальных) режимах акклимации, определяя избыточную робастность центров регуляции как стратегию адаптации.

При обработке данных электронной и конфокальной микроскопии (КМ) мозга хомяков и крыс проводили расчет фрактальной размерности (D), как тангенс угла наклона графика линейной аппроксимации логарифмической зависимости площади поверхности перепадов яркости изображений от стороны квадрата, который ее ограничивает. Форсированная акклимация (ФА) проводилась путем 15 мин. ритмических температурных воздействий (РТВ) - одновременное обдувание животных холодным (10°C) и горячим (40°C) воздухом (6 возд. в мин.) в начале каждого из 9 дневных часов на протяжении 3 мес. Затем животных помещали в холодильник (10°C), при этом у крыс повышалась температурная устойчивость, а хомяки в течение 1-2 суток впадали в нехарактерную для них спячку летом. Эта методика могла бы служить основой экспериментальной модели эстивации (Э), если бы удалось найти значимые отличия в структуре ЦНС данного торпидного состояния от гибернации (Г), что и определило цель нашей работы.

В динамике РТВ (рис.1,2), как модели начальных этапов ФА, увеличивается степень хаотичности микрогемодикуляции. Био- и электронная микроскопия выявляет вокруг эритроцитов и микровиллей эндотелиоцитов фрактальный ареол (D~1,7) не характерный для Г, но типичный для Э, хотя с меньшей площадью и размерностью (рис.3,4). При Г и в меньшей степени при Э, в отличие от ФА имеются очевидные признаки редукции (D~1,2) элементов дендритного древа (рис.7, справа верх.), происходит фрагментация синаптических бутонов. При Э у большинства отдельных нейронов сохраняются фрактальные особенности структурных возмущений поверхности, характерные для активного состояния (D~1,4), и способность к росту шипиков. После ФА и 1-2 баутов Э в синаптическом аппарате у ~25% синапсов (при Г у 10%) формируется парасинаптический инструмент, состоящий из цистерн с разными значениями D (при Г D пре- и постсинапса одинакова ~1,3), что может явиться коррелятом вегетативной памяти (рис.4,6; стрелки). При ФА «синхронизируется» геометрия эндотелиоцитов и синапсов, увеличивается транзитоз и уровень проницаемости ГЭБ для нейромедиаторов и, возможно, гормонов спячки. Эти структуры приобретают одинаковую размерность (~1,7 или ~1,3) при снижении резистентности ГЭБ к ацетилхолину (АХ) или норадреналину (НА) соответственно (рис.5), формируются особые эндотелиальные области - «фрактальные поры» (рис. 2, стрелка) с характерным чередованием персистентных и антиперсистентных компартментов. В условиях Г при отсутствии пиноцитоза и активных перичитов, как при ФА и Э, на первый план выступают перекапиллярные и арахноэндотелиальные макрофаги, формируя «сторожевой пост» закрытого ГЭБ (рис.7, стрелки). Таким образом, D может быть важным параметром функциональной геометрии мозга, а ФА явится основой первых моделей эстивации

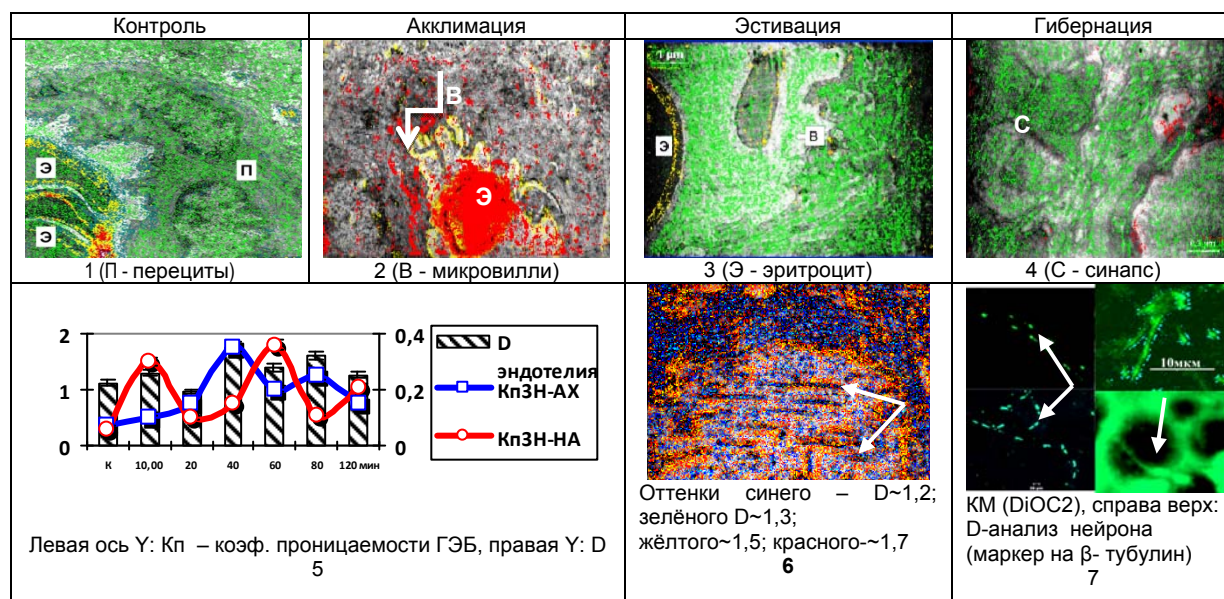


Рис. Проницаемость и фрактальный анализ структурных элементов ГЭБ и его нейро-глияльного окружения.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

FRACTAL GEOMETRY OF BRAIN BLOOD BARRIER IN FORCED COLD ACCLIMATION, ESTIVATION AND HIBERNATION

Marchenko V.S., Marchenko L.N., Lutsenko D.G., Govorukha T.P.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: marchik@list.ru

Blood Brain Barrier (BBB) should be considered as a complex of fractal like structures, randomness of which functioning could rise under quasi-cyclic (fractal) regimens of acclimation, designating the over-robustness of regulation centers as a adaptation strategy.

When processing of the electron and confocal microscopy (CM) data of hamster and rat brain we determined fractal dimension (D) as tangent of slope of linear approximation of logarithmic dependence of surface areas of image brightness difference versus dimension of the square, which limits the surface. Forced acclimation was performed by 15-minute-long rhythmic temperature exposures (RTE), the simultaneous blowing of animals by cold (10°C) and hot (40°C) air (6 actions per minute), in the start of each of 9 light period hours during 3 month. After that the animal were placed into the cold chamber (10°C), herewith in rats we observed an elevated temperature stability, and the hamsters entered the torpor for 1-2 days, which is not inherent for them in summer. This approach could be the basis of experimental model of estivation (E) in the case if we could find a significant differences between CNS structure of this torpid state and hibernation (H), and this become the aim of our study.

In dynamics of RTE (Fig. 1, 2), as a model of first stages of FA, we observed a rise in randomness of microhemocirculation. Biomicroscopy and electron microscopy reveal a fractal halo (D~1.7) around erythrocytes and endotheliocytes' microvilli, that is not characteristic for H, but typical for E, although with lower area and dimensions (Fig. 3, 4). Under H and in lesser extent under E, unlike FA, there are the evident signs of reduction (D~1.2) of elements of dendritic tree (Fig. 7, top right), as well as the fragmentation of synaptic buds. Under E in most single neurons the fractal peculiarities of surface structure disturbances characteristic for an active state (D~1.4) are preserved as well as the ability to grow spinules. After FA and 1-2 bouts of E in synaptic apparatus of 25% of synapses (in 10% during H) the parasynaptic structure is formed, which consists of cisterns with various D values (during H the values of D of pre- and postsynapses are the same ~1.3), that could be the correlate of vegetative memory (Fig. 4, 6, arrows). Under FA the geometry of endotheliocytes and synapses is "synchronized", and there is the rise in transcytosis and BBB permeability for neuromediators and, probably, torpor hormones. These structures get the same dimensions (~1.7 or ~1.3) during decreasing of BBB resistance for acetylcholine (ACh) and norepinephrine (NE), correspondingly (Fig 5); the special endothelial areas, "fractal pores" (Fig. 2, arrow), are formed, which have the characteristic alternation of persistent and anti-persistent compartments. Under H when pinocytosis and active pericytes are absent, pericapillary and arachno-endothelial macrophages are on the foreground and form the "watch station" of closed BBB (Fig. 7, arrows). Thus the D value could be the important parameter of brain functional geometry, and FA could be the basis of the primary models of estivation.

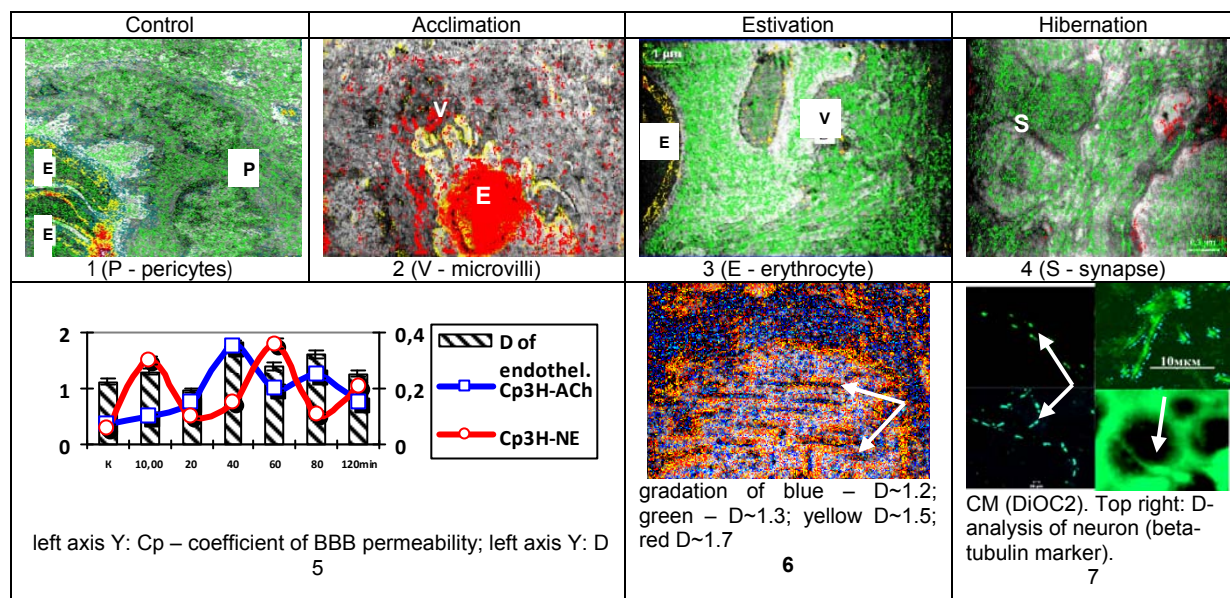


Fig. Permeability and fractal analysis of structure elements of BBB and its neuro-glial environment

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ КОРРЕЛЯТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ТРИАДЫ: АДЕНИЛАТЦИКЛАЗА – ЦИКЛИЧЕСКИЙ АДЕНОЗИНМОНОФОСФАТ – ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР ПРИ ГИПОТЕРМИИ И ГИБЕРНАЦИИ

Марченко В.С., Бабийчук В.Г., Марченко Л.Н., Бабийчук Г.А.

Институт проблем криобиологии и криомедицины Национальной Академии Наук Украины, Харьков, Украина
e-mail: marchik@list.ru

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) играет важную роль в центральных механизмах терморегуляции при гипотермии и гибернации [1,2]. Ранее нами были показаны существенные изменения в процессах секреции, рецепции и проницаемости ГЭБ для нейромедиаторов при гибернации и гипотермии [1]. В этой связи было интересно проследить изменения в следующем звене системы передачи регуляторных сигналов в ЦНС. Мы изучили влияние разных режимов охлаждения на структурно-функциональный треугольник: аденилатциклаза (АЦ) – циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) – ГЭБ хомяков и крыс.

Непрерывные и ритмические гипотермические воздействия (НГВ, РГВ) вызывают одинаково существенное повышение содержания цАМФ в мозге, как крыс, так и хомяков (рис. а, график). Но нейробиологические механизмы этого феномена принципиально различаются. При НГВ высокая концентрация цАМФ соизмерима высокому коэффициенту проницаемости (Кп) ГЭБ для ^3H -цАМФ, при этом суммарная площадь эндотелиоцитов с электронноплотным продуктом гистохимической реакции на АЦ не превышает контрольные значения. В условиях РГВ проницаемость ГЭБ для ^3H -цАМФ почти вдвое ниже нормы, а высокая концентрация цАМФ обусловлена повышением аденилатциклазной активности (рис.а). Гистохимический маркер на АЦ выявляется как цепочка вкраплений на люминальной поверхности эндотелия и, как пятна, в блебсах - эндотелиальных пузырьках (рис. а, стрелки). Такое распределение цАМФ является отличительной особенностью РГВ (но не НГВ) и хорошо объясняет довольно нетривиальный феномен снижения проницаемости ГЭБ для ^3H -цАМФ при РГВ. Ультраструктурные отличия реагирования гомойо- и гетеротермных животных на охлаждение были выявлены при фрактальном анализе с 3D реконструкцией серийных ультратонких срезов фрагментов эндотелиоцитов [1], который показал, что блебсы - это действительно пузыреобразные образования со сложной формой поверхности ($D \sim 1,6$), которые у хомяков при гибернации преимущественно формируются путем многократной конформации микровильных комплексов и напоминают силфоны (рис. б, стрелки), а в эндотелиоцитах мозговых капилляров крыс при охлаждении чаще происходит процесс слияния нескольких пиноцитозных везикул в одно шарообразное образование с более гладкой поверхностью ($D \sim 1,3$). По нашему мнению, фрактальный рисунок особых микроструктур, подобных блебсам, мог бы быть не только объективным количественным индикатором структурно-функционального состояния ГЭБ охлажденного мозга, но и определять сенситивные особенности центров терморегуляции при гипотермии и гибернации.

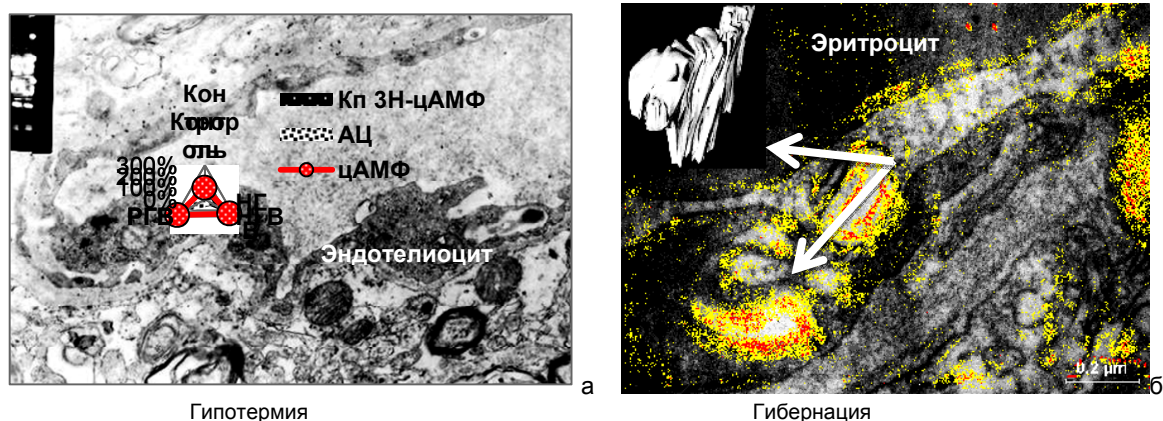


Рис. Содержание, проницаемость, распределение в эндотелиальных компартментах ГЭБ АЦ – цАМФ. Желтым цветом выделены области с фрактальной размерностью $D \sim 1,5$; красным – $D \sim 1,6$

Литература

1. Марченко В.С. (2008). Функціональна архітектура гематоенцефалічного бар'єра в центральних механізмах терморегуляції при гіпотермії і гібернації. *Науковий вісник Національного аграрного університету*. 126: 88-97.
2. Kondo N., Sekijima T., Kondo J., Takamatsu N., Tohya K., Ohtsu T. (2006). Circannual control of hibernation by HP complex in the brain. *Cell*. 125:161-172.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ULTRASTRUCTURAL CORRELATES OF FUNCTIONAL TRIAD: ADENYLATE CYCLASE – CYCLIC ADENOSINE MONOPHOSPHATE -BLOOD BRAIN BARRIER DURING HYPOTHERMIA AND HIBERNATION

Marchenko V.S., Babiychuk V.G., Marchenko L.N., Babiychuk G.A.

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: marchik@list.ru

Blood brain barrier (BBB) plays an important role in central mechanisms of thermoregulation during hypothermia and hibernation [1, 2]. Previously we have shown significant changes in the processes of secretion, reception and permeability of BBB for neuromediators during hibernation and hypothermia [1]. In this connection it would be interesting to trace the changes in the next link of the system passing the regulatory signals to CNS. We have studied the effect of different cooling regimens on structural and functional triangle: adenylate cyclase (AC)-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) – BBB of hamsters and rats.

Continuous and rhythmic hypothermal effects (CHE, RHE) cause similar significant rise in the content of cAMP in brain of both rats and hamsters (Fig. 1, diagram). But neurobiological mechanisms of this phenomenon differ in principle. During CHE a high concentration of cAMP is comparable to a high permeability coefficient (Cp) of BBB for ^3H -cAMP herewith a total area of endotheliocytes with electron dense product of histochemical response to AC does not exceed the control value. Under conditions of RHE the BBB permeability for ^3H -cAMP almost twice lower the norm, and a high concentration of cAMP is stipulated with a rise in adenylate cyclase activity (Fig. a). Histochemical marker to AC is revealed as a chain of inclusions on luminal surface of endothelium and as the spots in blebs, endothelial bubbles (Fig. a, arrows). Such a distribution of cAMP is the feature of RHE (but not CHE) and explains well quite non-trivial phenomenon of a decrease in BBB permeability for ^3H -cAMP during RHE. Ultrastructural distinctions of response for homoio- and heterothermal animals to cooling were revealed during fractal analysis with 3D reconstruction of serial ultrathin sections of endotheliocytes' fragments [1], which demonstrated that the blebs were actually bubble-like formation of a complicated shape of the surface ($D \sim 1.6$), which in hamsters during hibernation were predominantly formed by multiple conformation of microvilli complexes and were similar to bellows (Fig. , arrows) and in endotheliocytes of brain capillaries of rats during cooling the process of merging of several pinocytosis vesicles into one sphere-like formation with smoother surface took place ($D \sim 1.3$). We believe that fractal picture of special microstructures similar to blebs could be not only true quantitative indicator of structural and functional state of cooled brain BBB but also determined sensitive peculiarities of thermoregulation centers during hypothermia and hibernation

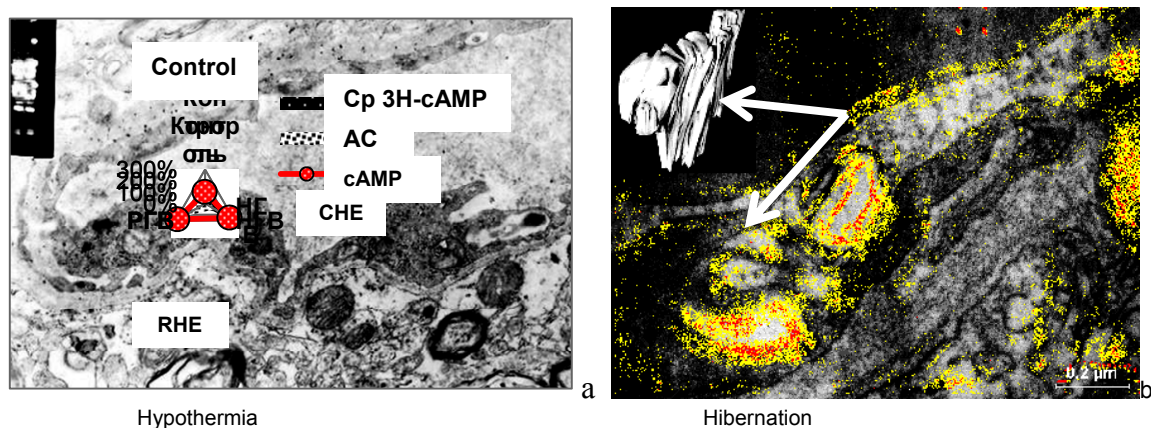


Fig. Content, permeability, distribution in endothelial compartments of BBB-AC-cAMP.
The sites with fractal dimension of $D \sim 1.5$ are indicated with yellow, and $D \sim 1.6$ with red one.

References

1. *Marchenko V.S.* (2008) Functional architecture of BBB in central mechanisms of thermoregulation during hypothermia and hibernation. *Scientific news of agrarian university*. 126:88-97.
2. *Kondo N., Sekijima T., Kondo J., Takamatsu N., Tohya K., Ohtsu T.* (2006). Circannual control of hibernation by HP complex in the brain. *Cell*. 125:161-172.

РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГАЛОТОЛЕРАНТНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA MARITIMA* НА ИЗМЕНЕНИЕ СОЛЕНОСТИ СРЕДЫ

¹Маталин Д.А., ²Захожий И.Г., ¹Попова Л.Г., ¹Балнокин Ю.В.

¹Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, Россия

e-mail: dmatalin@mail.ru;

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

e-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru

Факторы окружающей среды, оказывающие стрессовое воздействие на растение, в первую очередь тормозят работу фотосинтетического аппарата. Одним из таких факторов является повышенное содержание NaCl в питательном субстрате растений. В условиях солевого стресса фотосинтетическая функция страдает из-за недостатка влаги и ограниченного поступления CO₂ в листья; непосредственное ингибирующее действие на фотосинтез может также оказывать накапливающийся в листьях NaCl.

Центральную роль в генерировании и регуляции электронного транспорта в хлоропластах играет фотосистема 2 (ФС 2) [1]. В связи с этим, показатели, отражающие эффективность работы ФС 2, являются важным компонентом мониторинга активности фотосинтетического аппарата.

Объектом нашего исследования являлась галотолерантная зеленая микроводоросль *Dunaliella maritima* (Chlorophyta). Микроводоросли рода *Dunaliella* обнаруживаются в соленых водоемах с нестабильным солевым режимом. Они обладают эффективной системой осморегуляции и способны адаптироваться к средам, концентрации соли в которых лежат в широком диапазоне; отдельные виды способны выживать в насыщенных солевых растворах; внутриклеточные концентрации ионов Na⁺ при этом существенно (в 10-20 раз) ниже, чем в наружной среде [2]. Способность водорослей *Dunaliella* адаптироваться к средам, содержащим NaCl, обусловлена способностью к интенсивному синтезу глицерина, который является совместимым осмолитом у представителей этого рода [3]. Водоросли *Dunaliella* рассматриваются как модельный организм в исследованиях механизмов солеустойчивости растений.

Для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата *D. maritima* в условиях гиперосмотического солевого шока различной интенсивности мы использовали метод индукции флуоресценции хлорофилла, который обладает большими возможностями для получения информации о состоянии ФС 2 [4]. Гиперосмотический солевой шок создавали, перенося клетки водоросли, растущей в среде, содержащей 0,5 M NaCl, на среды с более высокими концентрациями NaCl (1,0 M/1,5 M/2,0 M NaCl).

Показано, что гиперосмотический солевой шок приводит к росту внутриклеточных концентраций Na⁺ и к снижению функциональной активности ФС 2 *D. maritima*, которое наблюдается непосредственно после шокового воздействия. Оно проявляется в уменьшении максимального квантового выхода разделения зарядов в ФС 2, падении скорости линейного электронного транспорта, повышении восстановленности пула первичных акцепторов электронов Q_A, уменьшении скорости фотосинтетического выделения O₂ клетками водоросли. В целом, снижение параметров, характеризующих функционирование ФС 2, при стрессовом воздействии прямо зависит от силы стрессового воздействия. Степень восстановления этих параметров коррелирует с возможностями данного организма восстанавливать внутриклеточный ионный гомеостаз и осмотический баланс.

Полученные данные говорят о том, что ФС 2 галотолерантной водоросли *D. maritima* чувствительна к гиперосмотическому солевому шоку, подобно ФС 2 растений-галофитов. Функция этой фотосистемы у *Dunaliella* восстанавливается по мере восстановления осмотического баланса и замещения в цитоплазме ионов Na⁺, поступивших в клетку из гипертонической солевой среды, глицерином. Однако, несмотря на подавление ФС 2, фотосинтетический аппарат *D. maritima* был способен в условиях гипертонического солевого шока обеспечить клетку энергией, поскольку реакции синтеза глицерина и откачка избыточных количеств Na⁺ из цитоплазмы, очевидно, требуют повышенных (по сравнению со стационарным состоянием) энергозатрат. Восстановление функции ФС 2 также требует дополнительных количеств АТФ.

Существенную роль в энергетическом обеспечении клетки *Dunaliella* в условиях гипертонического солевого шока, по-видимому, играет фотосистема 1 (ФС 1). Устойчивость ФС 1 к действию стрессовых факторов значительно выше, чем у ФС 2, что позволяет ФС 1 функционировать в условиях сниженной активности ФС 2 [5]. При гиперосмотическом солевом шоке в клетках *Dunaliella*, по-видимому, активируются альтернативные пути переноса электронов, связанные с ФС 1 [5], что позволяет клетке генерировать энергию, необходимую для преодоления стресса. (Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 10-04-01456).

Литература

1. Бухов Н.Г. (2004) Динамическая световая регуляция фотосинтеза. *Физиология растений*. 51: 825 - 837.
2. Балнокин Ю.В., Медведев А.В. (1984) Транспорт Na⁺, K⁺ и H⁺ через плазмалемму K⁺-дефицитных клеток галофильной водоросли *Dunaliella maritima*. *Физиология растений*. 31: 805 – 809.
3. Ben-Amotz A., Avron M. (1973) The role of glycerol in the osmotic regulation of the halophilic alga *Dunaliella parva*. *Plant Physiol.* 51: 875 – 878.
4. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. Киев: Альтпресс, 2002. 187 с.
5. Bukhov N., Carpentier R. (2004) Alternative Photosystem I-driven electron transport routes: mechanisms and functions. *Photosynth. Res.* 82: 17 – 33.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

RESPONSES OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF THE HALOTOLERANT MICROALGA *DUNALIELLA MARITIMA* TO SALT CONCENTRATION CHANGES IN THE EXTERNAL MEDIUM

¹Matalin D.A., ²Zakhozhiy I.G., ¹Popova L.G., ¹Balnokin Yu.V.

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow
e-mail: dmatalin@mail.ru

²Institute of Biology, Komi Research Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia
e-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru

Environmental stress factors affecting on green plants suppress primarily the operation of photosynthetic apparatus. One of such factors is the increased NaCl content in the plant nutrient substrate. Under salt stress the photosynthetic function suffers from water deficiency and restricted CO₂ delivery to leaves; NaCl accumulated in leaves can also directly inhibit photosynthesis.

Photosystem II (PSII) plays the key role in generation and regulation of electron transport in chloroplasts [1]. Therefore, parameters of PSII operational efficiency are important for monitoring the activity of photosynthetic apparatus.

This study was performed with halotolerant green microalga *Dunaliella maritima*. Microalgae of *Dunaliella* genus are found in salt water reservoirs with unstable salt regime. They possess an effective system of osmotic regulation and are able to adapt to large variations of external salt concentration. The intracellular Na⁺ content in *Dunaliella* cells remains 10–20 times lower than that in the external medium [2]. The ability of *Dunaliella* to adapt to the solutions containing NaCl is due to intensive synthesis of glycerol, which is a compatible solute in these species [3]. The *Dunaliella* algae are regarded as model organisms in studies of salt tolerance mechanisms in plants.

To assess the functional conditions of *D. maritima* photosynthetic apparatus under hyperosmotic salt shock of different intensity we used method of chlorophyll fluorescence induction, which has great potential for obtaining information on the status of PSII [4]. The hyperosmotic salt shock was created by transferring alga cells grown in the solution with 0,5 M NaCl to the media containing higher salt concentrations (1,0 M/1,5 M/2,0 M NaCl).

It was shown that hyperosmotic salt shock led to an increase in intracellular Na⁺ concentrations and a decrease in functional activity of *D. maritima* PSII, which occurred immediately after the shock impact. The suppression of PSII activity was evident from the decrease in the maximal quantum yield of photochemical energy conversion in PSII, the decreased rate of linear electron transport, the increased reduction of the primary acceptor Q_A, and the suppression of photosynthetic O₂ evolution. In general, reducing the parameters that characterize the functioning of PSII under stress conditions are directly dependent on the strength of the stress imposed. Re-establishing the parameters correlates with the possibilities of the organism to restore intracellular ion homeostasis and osmotic balance.

The results of this work provide evidence that PSII of the halotolerant alga *D. maritima* is sensitive to hyperosmotic salt shock, similarly to PSII of glycolphytic plants. The function of PSII in *Dunaliella* recovers along with restoration of the osmotic balance when glycerol substitutes the cytoplasmic Na⁺ permeated into the cell from the hypertonic salt medium. Despite the inhibition of PSII, the photosynthetic apparatus of *D. maritima* obviously satisfied the cell demands for energy under conditions of hypertonic salt shock, because it is evidently that glycerol synthesis and extrusion of Na⁺ excess from the cytoplasm involve additional energy expenditures. The restoration of PSII function also requires an additional ATP supply.

Photosystem I (PSI) plays apparently a significant role in energy supply in *Dunaliella* cells under hypertonic salt shock. The elevated tolerance of PSI to shock factors, compared to PSII, allows this system to operate under conditions of reduced PSII activity [5]. The hyperosmotic salt shock apparently activates the alternative PSI-related pathways of electron transport [5], which allows the cells to generate energy required to overcome salt stress.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project № 10-04-01456.

References

1. Bukhov, N.G. (2004) Dynamic Light Regulation of Photosynthesis. *Russ. J. Plant Physiol.* 51: 825-837.
2. Balnokin Yu.V., Medvedev A.V. (1984) Transport of Na⁺, K⁺ and H⁺ through plasma membrane of K⁺-deficite cells of halophilic alga *Dunaliella maritima*. *Russ. J. Plant Physiol.* 31: 805-809.
3. Ben-Amotz A., Avron M. (1973) The role of glycerol in the osmotic regulation of the halophilic alga *Dunaliella parva*. *Plant Physiol.* 51: 875-878.
4. Korneev, D.Yu. Method of chlorophyll fluorescence induction and its information resources. Kiev: Al'tpress, 2002. 187 p.
5. Bukhov, N., Carpentier, R. (2004) Alternative Photosystem I-driven electron transport routes: mechanisms and functions. *Photosynth. Res.* 82, 17–33.

ФОРМУВАННЯ ОКИСНОЇ АДАПТАЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПОБІОЗУ

¹Мельничук С.Д., ¹Морозова В.С., ²Хижняк С.В., ²Степанова Л.І., ¹Войціцький В.М.

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

e-mail: hsv@univ.kiev.ua

В зимовий період гібернуючі тварини легко переносять як різке зниження температури тіла, так і концентрації кисню у повітрі, що вдихають. За певних умов можна створити стан штучного гіпобіозу для теплокровних тварин, які в природних умовах ніколи в нього не впадають. Так, при одночасному впливі на організм щурів пониженої температури, зменшенні концентрації кисню та підвищенні вуглекислоти у повітрі тварини входять в стан близький по біохімічними та фізіологічними параметрами до природного гіпобіозу. Повідомлялось, що підвищення вмісту вуглекислого газу в гіпобіотичному середовищі, яке обумовлює розвиток гіперкапнії, являється визначальним фактором в період адаптації тварин до гіпобіотичних умов. Крім того, розвиток гіперкапнії впливає на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, а з іншого боку, відомо, що збереження антиоксидантної активності органів та тканин на достатньо високому рівні характеризує адаптивні здатності організму. Метою даної роботи є дослідження проокисних процесів, функціональної активності антиоксидантної системи в організмі щурів в умовах штучного гіпобіозу.

В дослідях використовували білих безпородних щурів-самців масою 180–200 г. В стан штучного гіпобіозу тварин вводили за методом «закритої судини» Бахметьєва-Джайя-Анжуса за умов: об'єм гіпобіотичної камери — 3 л; температура — 3–5 °С, час перебування тварин в зазначених умовах — 3 години; рівень у «закритій судині» кисню — 4%, CO₂ — 18%, ректальна температура тіла 17 °С, частота серцевих скорочень — 75 ударів за хвилину. Об'єктом дослідження слугували сироватка крові, тканини печінки та міокард. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали по вмісту продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) — кінцевого продукту переокисного окиснення ліпідів, а також визначаючи активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КТ).

Проведені дослідження свідчать, що в умовах штучного гіпобіозу в тканинах печінки та міокарді щурів вміст ТБК-АП достовірно не змінюється. Крім того, в препаратах мітохондрій клітин печінки не виявлено змін вмісту цих продуктів та зростання індукції накопичення в присутності Fe²⁺-аскорбат, у порівнянні із контролем. Дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту свідчать, що активність СОД в міокарді знижується недостовірно, а в тканинах печінки - в середньому на 23%. Причому ці зміни обумовлені зниженням активності внутрішньоклітинних ізоформ супероксиддисмутази (Mn-SOD та Cu,Zn-SOD), які захищають клітини від дії супероксиду. Активність КТ, яка каталізує альтернативний шлях детоксикації пероксиду водню, хоча в умовах гіпоксії дещо знижується, залишається високою в тканинах печінки та особливо міокарді щурів. Поряд із цим, за досліджуваних умов в сироватці крові вміст ТБК-АП зростає на 27%, а активність СОД та КТ знижується на 30% та 24% відповідно, відносно контрольних значень.

Отримані дані підтверджують, що введення тварин в стан штучного гіпобіозу не характеризується окисним стресом в тканинах печінки та міокарді, що можливо є проявленням адаптивних механізмів, які направлені на попередження пошкоджень клітинних ліпідів організму, який знаходиться в стані гіпобіозу. Підтримання високого рівня антиоксидантного захисту, особливо в активно функціонуючих тканинах є адаптивним механізмом, що забезпечує стійкість до окисного стресу під час пробудження тварин. Цей факт необхідно враховувати при переведенні організмів у стан штучного гіпобіозу.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE FORMATION OF THE RATS OXIDATIVE ADAPTATION IN THE STATE OF ARTIFICIAL HYPOBIOSIS

¹Melnytchuk S.D., ¹Morozova V.S., ²Khyzhnyak S.V., ²Stepanova L.I., ¹Voitsitsky V.M.

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

e-mail: hsv@univ.kiev.ua

In winter period hibernation animals are tolerate to a sharp drop of body temperature and oxygen concentration in the air. Under the definite conditions it is possible to create the state of artificial hypobiosis for warm-blooded animals that isn't natural for them. Thus, under the synchronous influence of low temperature, reducing of the oxygen level and increasing of the carbon dioxide level on the rats organism the animals enter in the state which is similar to the natural hibernation by biochemical and physiological parameters. It was reported that in the hypobiotic environment the increasing of the carbon dioxide level which leads to the hypercapnia development is a decisive factor in the animals adaptation to the hypobiotic conditions. Besides it, the hypercapnia development affects on the intensity of the lipid peroxidation. On the other hand, the preservation of the organs and tissues antioxidant activity at a high level characterizes the adaptive abilities of the organism. The aim of this work is to investigate oxidative processes, the functional activity of the antioxidant system in the rats organism under the artificial hypobiosis conditions.

The white outbred male rats (180-200 g) were used in the experiments. In the state of artificial hypobiosis animals were entered by Bahmetyev-Jay-Anzhus method of the "closed vessel" under the next conditions: volume of the hipometabolic camera — 3 l, temperature — 3–5 ° C, time that animals were in these conditions — 3 hours, the oxygen level in a "closed vessel" — 4%, CO₂ — 18%, rectal body temperature — 17 ° C, heart rate — 75 beats per minute. The objects of the study were serum, liver tissue and myocardium. The level of the lipid peroxidation (LP) was evaluated by the content of products which reacted with tiobarbituric acid (TBA-AP) – the final product of the lipid peroxidation and the levels of superoxidedismutase (SOD) and catalase (CT) activity.

The studies showed that in the state of artificial hypobiosis the contain of TBK-AP in the rats liver tissue and myocardium didn't significantly change. Besides it, considerable changes of the TBK-AP content and any increase of accumulation induction at the presence of Fe²⁺-ascorbate were not detected in the preparation of liver mitochondrias relative to the control. The investigation of the antioxidant enzymes activity indicated that the SOD activity decreased in myocardium not authentically. But in the liver tissue the SOD activity decreased by 23% on average. Perhaps, these changes are caused by the decreasing of the SOD intracellular isoforms (Mn-SOD and Cu, Zn-SOD) activity, which protect cells from the superoxide influence. The CT controls the alternative way of the hydrogen peroxide detoxification. In spite of the CT activity decreases slightly at the hypoxia, the level of CT activity is quite high in the liver tissue and especially it is high in the myocardium. At the same time, at the studied conditions in the serum the content of TBK-AP increases by 27% and the SOD and CT activity decreased by 30% and 24% relative to control values, respectively.

These data confirm that the state of artificial hypobiosis in the rats isn't characterized by oxidative stress in the liver tissue and myocardium. Probably, it is a result of adaptive mechanisms which are directed on the damage preventing of cellular lipids of the organism at the artificial hypobiosis state. The maintaining a high level of the antioxidant protection, especially in the actively functioning tissues is the adaptive mechanism that provides animals' resistance to oxidative stress during waking. This fact should be considered during the organism transfer in the state of artificial hypobiosis.

НАДКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ РАДИОАДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ

Мухеев А.Н.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: mikhalex7@yahoo.com

В докладе рассмотрен ряд малоизученных аспектов проблемы адаптации и, в частности, механизмы фенотипической адаптации (ФА). Феноменология закалки растительных объектов к действию ингибирующих факторов достаточно хорошо изучена, что создало эмпирическую базу для перехода к этапу фундаментальных исследований, сконцентрированных на раскрытии механизмов устойчивости и на теоретическом обосновании методов ее модификации. Явление адаптации может иметь несколько проявлений. Во-первых, адаптацию следует рассматривать как собственно процесс приспособления объекта к измененным условиям существования. Во-вторых, адаптация может означать уже сформированное состояние приспособленности объекта (результат адаптиогенеза, адаптированность, устойчивость) к действию экстремальных факторов окружающей среды. Изменения, обусловленные стрессором, проявляются в процессе перехода биологического объекта временно или постоянно в новое состояние, которое характеризуется измененным уровнем устойчивости к последующим воздействиям. Последнее может быть выявлено в условиях повторного (тестирующего) действия стрессора в остром или пролонгированном режиме. Конечным или текущим результатом взаимодействия объекта с фактором (стрессором) может быть состояние адаптированности или дезадаптированности. В первом случае после действия определенной дозы стрессора наблюдается повышение устойчивости биологического объекта к последующему действию того или другого фактора. Первый фактор называется адаптирующим, а его действие переводит объект в состояние адаптации (состояние эустресса по Г. Селье). Во втором случае система снижает уровень своей устойчивости к последующим влияниям, переходя в состояние дезадаптированности (дистресса по Г. Селье). Суть явления адаптации как процесса состоит в том, что биосистема под влиянием стрессора осуществляет переход в новое состояние - состояние стресса. В свою очередь, переходный процесс есть временное или постоянное пребывания биологического объекта в состоянии перерегулирования своих параметров. Это состояние представлено фазами гипо- и/или гипертрофии. Именно наличие состояния перерегулирования свидетельствует о возможном пребывании биологического объекта в состоянии адаптированности.

Принципиальным для понимания механизмов адаптации биологического объекта является необходимость учета многоуровневости его структурно-функциональной организации. Это, в свою очередь, предопределяет существование многоуровневой индуцибельной системы, которая обеспечивает как многоуровневые реакции биологических объектов, так и многоуровневые механизмы адаптивных реакций. Очевидно, что на организменном уровне появляется возможность задействования также механизмов индукции повышенных скоростей пролиферативных и ростовых (регенерационных) процессов в адаптивном ответе. Так, с большой вероятностью можно предположить, что существуют дозы гамма-излучения, которые повышают радиоустойчивость критических тканей растений не только путем стимуляции репарационной активности в меристематических клетках, но и путем стимуляции их пролиферативной активности. Так нами было установлено, что в условиях хронического действия ионизирующего излучения на растения гороха, обусловленного инкорпорированием в их ткани Cs-137, они приобретали повышенную радиоустойчивость. Этот эффект мог осуществляться как за счет усиления работы репарационных систем, так путем повышения пролиферативной активности клеток апикальной меристемы.

Таким образом, можно сформулировать ряд положений, которые отображают основные закономерности формирования ФА: 1) ФА является результатом многоуровневых эпигенетических перестроек, которые осуществляются под влиянием внешних и внутренних факторов; 2) наряду с существованием индуцибельных процессов адаптации, которые обусловлены действием экзогенных факторов, существуют конститутивные процессы и результаты адаптации, осуществляемые под влиянием эндогенных факторов; 3) известные возможности модификации клеточной пролиферации, ростовой активности и размножения на популяционно-организменном уровне, которые проходят при определенных условиях стадию гиперкомпенсации, указывают на принципиальную возможность получения эффекта закалки за счет гиперкомпенсаторных процессов с участием этих уровней организации; 4) ФА всегда относительно качества адаптирующего фактора; 5) величина ФА зависит не только от характеристик исходного состояния биологического объекта, но и от качественных и количественных (дозовых) характеристик стрессора, а также от его мощности; 6) независимо от структурно-функционального уровня организации, на котором фиксируется ФА, в основе ее первичного механизма лежит изменение количественного и/или качественного состава элементов биологической системы, а также изменение отношений между ее элементами; 7) адаптационный потенциал формируется и реализуется за счет многоуровневой эндогенной системы восстановления биологических объектов и за счет разнокачественных экзогенных факторов.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

SUPERCELL MECHANISMS OF ONTOGENETIC RADIOADAPTATION OF PLANTS

Mikhyeyev A.N.

Institute of cell biology and genetic engineering of NAN of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: mikhalex7@yahoo.com

In this report the attempt is done to consider proceeding from the achieved level of general theoretical representations a number some little learned from our point of view aspects of adaptation problem and, in particular, mechanisms of phenotypic adaptation (PA). The plant hardening phenomenon to action of the inhibition factors is enough well investigated, that have created empirical base for transition to a stage of fundamental researches concentrated on disclosing of resistance mechanisms and on a theoretical substantiation of its updating methods. The adaptation phenomenon can have some displays. First, the adaptation is necessary to considered as actually process of the adaptation (process of adaptatiogenesis, adaptive response) object to the changed conditions of existence. Secondly, the adaptation can mean already generated adaptation condition of object (result of adaptatiogenesis, adaptability, resistance) to action of the environment extreme factors. The changes caused stressor is shown during transition of biological object temporarily or constantly in a new condition, which is characterized by the changed resistance level to the subsequent influences. Last can be revealed in conditions of repeated (testing) action of stressor in acute or prolongation mode. Final or current result of interaction of object with the factor (stressor) can be a condition of adaptation or desadaptation. In the first case after action of the certain stressor dose, the resistance increasing of biological object to the subsequent action of that or other factor is observed. The first factor refers to as adaptation, and its action translates object in adaptation condition (condition of eustress on H. Selye). In the second case, the system decies resistance level to the subsequent influences, passing in a condition of desadaptation (distress on H. Selye). The essence of the adaptation phenomenon as process is, that the biosystem under influence of stressor carries out transition in a new condition – stress condition. In turn, the transient process is temporary or constant stay of biological object in a condition of the parameters re-regulation. This condition is submitted by phases of hypo- and hyperrecovery (hypo- and - or hypercompensation). In these phases the biological object can be characterized by increased resistance to repeated influence that or other factor (cross or multiple adaptation).

Basic for understanding of adaptation mechanisms of biological object the necessity is the account of its multilevel structural-functional organization. It predetermines existence multilevel inductive system, which provides both multilevel reactions of biological objects, and multilevel mechanisms of adaptive reactions.

It is obvious, that on organism level there is an opportunity to use induction mechanisms of the increased speed levels of proliferation and growth (regeneration) processes in the adaptive response. So, with a high probability it is possible to assume, that there are gamma-radiation doses, which raise radioresistance of critical tissue of plants not only by the reparation activity stimulation in meristem cells, but also by the proliferation activity stimulation. So, it was established, that in conditions of chronic action of ionizing radiation on pea plants caused by radionuclide incorporation in their tissue (Cs-137), they got the increased radioresistance. This effect could be carried out as at the expense of amplification work of reparation systems, so by increase the proliferation activity of apex meristem.

Thus, the given experimental and theoretical results allow to formulate a number of thesis, which display the basic laws and mechanisms of phenotype adaptation formation: 1) the phenotype adaptation, as against genetic, is result of multilevel epigenetic reorganizations, which are carried out under influence of the external and internal in relation to biological object factors; 2) alongside with existence of inductive adaptation processes, which caused by the exogenic factors action, exist constitutive processes and results of adaptation, which are carried out under influence of the endogenic factors; 3) known possibility of modification of cell proliferation, growth activity and breeding on population-organism level, which pass under certain conditions the hypercompensation stage, specify a basic opportunity of hardening effect receiving for the account of hypercompensation processes with participation of these organization levels, i.e. display that the phenotype adaptation is possible at all levels of biological integration; 4) the phenotype adaptation is always relative in the spatial - temporary relation and is characterized certain unspecific rather of the adaptation factor, in which role can act the biotic or abiotic factors; 5) the value of phenotype adaptation depends not only on the characteristics of an initial condition of biological object, but also from qualitative and quantitative (dose) of the stressor characteristics, and also from its capacity; 6) irrespective of a structural-functional level of organization, on which the phenotype adaptation is fixed, in a basis of its primary mechanism the change of quantitative and/or qualitative structure of elements of biological system, and also change of the relations between elements lays; 7) adaptation potential is formed and is realized at the expense of multilevel endogenous recovery system of biological objects and for the account of the various exogenic factors.

ОБЩАЯ СХЕМА АДАПТАЦИИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК: НОВЫЙ ВЗГЛЯД

Мурик С.Э.

Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия
e-mail: sergey_murik@yahoo.com

Анализ литературных данных показывает, что в настоящее время имеются все основания рассматривать ответ нервных клеток на любые раздражители (неблагоприятные факторы) как адаптивную реакцию, которая развивается в несколько стадий (Мурик, 2003, 2010). Мы различаем четыре адаптивные стадии, проявляющиеся в уровне потенциала покоя (ПП) клеток (см. рисунок): (I) - гиперполяризацию (или гиперполяризационное «торможение»); (II) - гиперполяризационное (или постгиперполяризационное) возбуждение; (III) - деполяризационное возбуждение; (IV) - деполяризационное торможение. Каждая из этих стадий характеризуется собственными особенностями протекания жизненных процессов, разными функциональными возможностями, а также разной устойчивостью к неблагоприятным факторам (Мурик, 2003). Реально существует два вида нейронального возбуждения: возбуждение на фоне хорошего метаболического (читай жизненного) и функционального состояния (ФС) (постгиперполяризационное возбуждение) и возбуждение на фоне плохого метаболического и ФС (деполяризационное возбуждение). Также имеется два вида торможения: торможение на фоне хорошего метаболического и ФС (гиперполяризационное торможение) и торможение на фоне плохого метаболического и ФС (деполяризационное торможение).

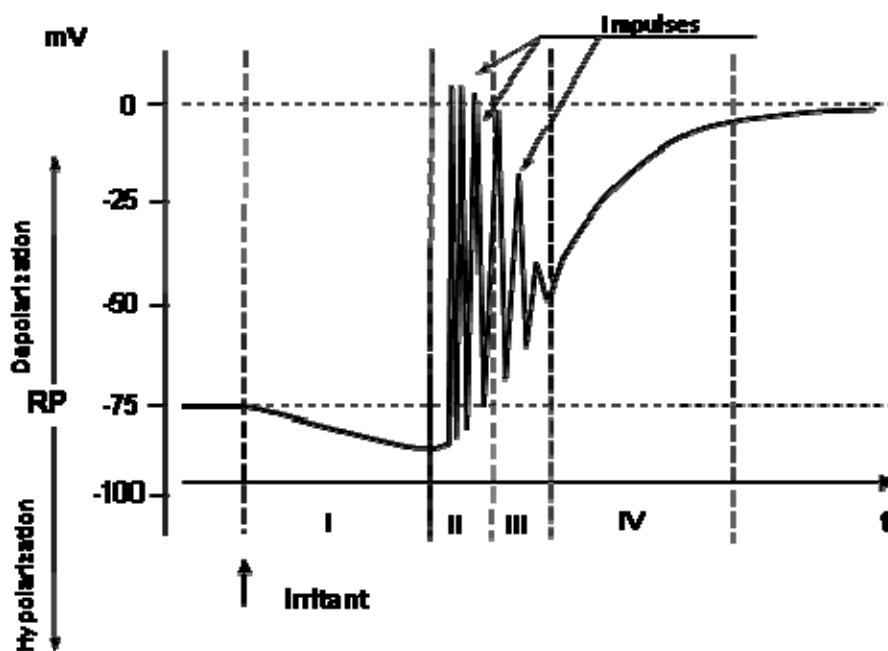


Рис. Изменение мембранного потенциала (mV, в милливольтях) и состояния нервной ткани под влиянием стимула с течением времени (t). Стрелка показывает начало действия стресс-стимула. RP- уровень ПП.

Мы также предполагаем, что клетки и других тканей организма в целом проходят эти же 4 адаптивные стадии, сопровождающиеся аналогичными изменениями в уровне ПП. Особенностью является, лишь отсутствие таких быстрых потенциалов действия, как у нервных клеток.

По нашему представлению, адаптация всех живых клеток идет по одному типу, включающему всегда более или менее выраженные данные стадии. Любая клетка может находиться в превосходном (I), относительно хорошем (II), относительно плохом (III) и, наконец, в очень плохом (IV) метаболическом (жизненном, адаптивном, - синонимы) и ФС, а дифференцировать их можно по уровню ПП.

Литература

1. Мурик С.Э. О функциональном состоянии нейронов головного мозга // Бюллетень Восточно-Сибирского Научного центра СО РАМН, 2003, №7, с.51-53.
2. Murik S.E. On the functional states of nerve cells (a new approach) // International Journal of Psychophysiology, 2010, Volume 77, Issue 3, Page 311.

A GENERAL SCHEME OF NERVOUS CELLS ADAPTATION: A NEW SIGHT

Murik S.E.

Irkutsk State University, Irkutsk, Russia
E-mail: sergey_murik@yahoo.com

The analysis of numerous scientific data showed that at present there are many reasons to consider the response of nerve cells to any irritant (i.e. unfavorable factors) as an adoptive reaction that has several stages (Murik, 2003, 2010). We distinguish four adaptive stages in the reaction of nerve cells to irritants and unfavorable factors which are reflected in the changes of the degree of cell membrane polarization (i.e. resting potential, RP) (see figure): (I) hyperpolarisation (or hyperpolarizing inhibition); (II) hyperpolarising (posthyperpolarising) excitation; (III) depolarising excitation; (IV) depolarising inhibition. Each of these stages is characterized by its own peculiarities of the elapse of living processes, the functional capacities of neurons and also different resistance to unfavorable factors (Murik, 2003). In fact, there are two types of neuronal excitation: excitation with a good metabolic and functional state background (posthyperpolarising excitation) and excitation with a bad metabolic and functional state background (depolarising excitation). There are also two types of inhibition: inhibition with a good metabolic and functional state background (hyperpolarizing inhibition) and inhibition with a bad metabolic and functional state background (depolarising inhibition).

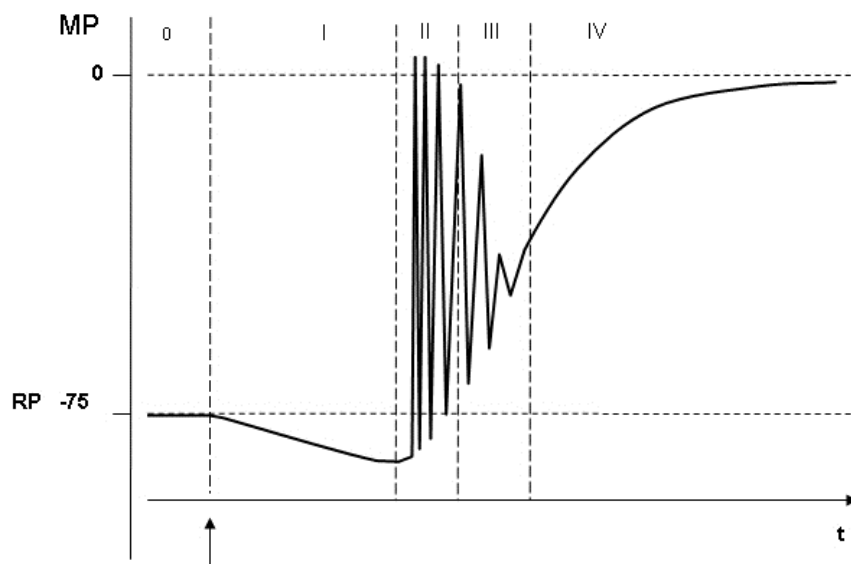


Fig. Variation in membrane potential (MP) and change in the state of neural tissue under the action of stimuli with time (t). An arrow indicates the beginning of the action of the stress-stimulus. RP – resting potential level.

Also we suggest that whole the cells of another tissues of the organism go through the same four stages. Alongside these stages, analogous changes in the degree of cell RP occur, excepting the fast acting potentials.

In our opinion, the adaptation of all living cells goes in an identical type having that more or less expressed stages. Every cell can be in an excellent(I), relatively good(II), relatively bad(III) and finally in a very bad (IV) metabolic (vital, adaptive) and functional state. There is a possibility to differentiate them by RP.

References

1. Murik S.E. About functional state of brain neurons // Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center SB RAMS, 2003, №7, pp.51-53.
2. Murik S.E. On the functional states of nerve cells (a new approach) // International Journal of Psychophysiology, 2010, Volume 77, Issue 3, Page 311.

НЕЙРОЕТОЛОГІЧНИЙ ТЕСТ «ВІДКРИТЕ ПОЛЕ» ЯК ОБ'ЄКТИВНИЙ КРИТЕРІЙ ОЦІНКИ СТРЕСОСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ ТВАРИН

Непорада К.С., Панасенко Т.О., Слободяник Н.М.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна
e-mail: neporada_69@mail.ru

У житті стреси відіграють значну роль. Вони впливають на поведінку людини, її працездатність, здоров'я, взаємовідносини з оточуючими. Такі «хвороби століття» як інфаркт, гіпертонія, інсульт, виразкова хвороба та інші є кінцевим результатом післястресових порушень у нервовій діяльності. Захворювання, пов'язані зі стресом, Г.Сельє назвав «хворобами адаптації».

Відомо, що розвиток стресіндукованих ушкоджень залежить від індивідуально-типологічних особливостей організму, що в свою чергу є проявом балансу стресреалізуючої та стреслімітуючої систем і має індивідуальні, генетично детерміновані особливості. На сьогоднішній день питання взаємодії цих систем є недостатньо вивченими. Актуальним залишається і завдання типування тварин на стресостійких і стресонестійких.

Поведінкова діяльність тварин за умов вільного переміщення під час нейроетологічного тесту «Відкрите поле» відбувається за участі вищих нервових центрів і носить інтегративний характер. Окрім того, зміни в поведінці щурів яскраво відображають можливості пристосувальних реакцій нервової системи за умов дії стресових факторів, тому для визначення інтегративної реакції мозку та особливостей стресостійкості організму за умов гострого стресу, нейроетологічний тест «Відкрите поле» є адекватною та достатньо інформативною методикою.

Метою нашого дослідження було обґрунтувати можливість оцінки стресостійкості організму тварин на підставі аналізу перемінних нейроетологічного тесту «Відкрите поле» та співставлення їх з тяжкістю стрес-синдрому.

Експерименти виконано на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар вагою 320г з дотриманням біоетичних норм Європейської конвенції. Гострий імібілізаційний стрес моделювали за Г.Сельє (1960) шляхом фіксації тварин на спині протягом 3 годин. Евтаназію здійснювали під тіопенталовим наркозом (50мг/кг) шляхом кровопускання.

Нейроетологічний тест «Відкрите поле» проводили в один і той же час протягом 6 хв., враховували перемінні, які відображають дослідно-рухову активність, швидкість адаптації та показники вегетативного балансу, а саме: горизонтальну активність (кількість пересічених квадратів), латентний період першого переміщення, час у центрі майданчика, кількість виходів у центр поля, вертикальну активність (кількість стійок), кількість вмивань, болюсів та уринацій. Тяжкість стрес-синдрому оцінювали за тріадою Сельє, досліджуючи ульceraції слизової оболонки шлунка, визначаючи масу тимусу та наднирникових залоз щурів.

Нами встановлено, що до стресонестійких тварин слід відносити щурів, які мали високу дослідно-рухову активність, низьку швидкість адаптації та високі показники вегетативного балансу; стресостійкими тваринами вважалися такі, що мали низьку дослідно-рухову активність, високу швидкість адаптації та низькі показники вегетативного балансу. Нейроетологічні показники тесту «Відкрите поле» корелюють з тяжкістю стрес-синдрому, про що свідчать максимальна інволюція тимусу, гіпертрофія наднирникових залоз та ульceraції слизової оболонки шлунка у стресонестійких тварин порівняно зі стресостійкими.

Таким чином, нейроетологічний тест «Відкрите поле» є об'єктивним для розподілу тварин за стресостійкістю.

Література

1. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология /Крыжановский Г.Н.// Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 2002. - №3. - С. 2-19.
2. Кундиев Ю.И., Кальниш В.В., Нагорная А.М. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ// Журн. АМН Украины. - 2002. - Т. 8, №2. - С. 335-345.
3. Майоров О.Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / О.Ю. Майоров – М., 1988. – 45 с.
4. Судаков К.В. Новые акценты классической концепции стресса /Судаков К.В.// Бюл. экперим. биол. и мед. - 1997. - №2. - С.124-130.
5. Хитров Н.К. Болезни цивилизации и нозологический принцип медицины с позиций общей патологии /Хитров Н.К., Салтыков А.Б.// Клин.мед. - 2003. - №1. - С. 5-11.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

NEUROETHOLOGICAL TEST "OPEN FIELD" AS AN OBJECTIVE CRITERION FOR ESTIMATION OF ANIMALS ORGANISM STRESS RESISTANCE

Neporada K.S., Panasenko T.O., Slobodyanik N.M.

Higher medical educational institution of Ukraine "Ukrainian medical stomatological academy", Poltava, Ukraine
e-mail: neporada_69@mail.ru

Stress plays an important role in people's life. It influences human behavior, workability, health, relations with other people. Such "century diseases" as infarction, hypertension, stroke, peptic ulcer, etc. are the final result of neural activity malfunction after stress. Stress-associated diseases were called "adaptive diseases" by G.Selye.

It is known that development of stress-induced damages depends on individually typological characteristics of organism, that in their turn are manifestations of stress-realitative and stress-limitative systems and have individual, genetically determined specialities. The question of systems interaction is not totally explored nowadays. A typing of stress-resistant and stress-nonresistant animals is still an actual task.

Animals' behavioral activity in free moving conditions during neuroethological test "Open field" occurs with participation of higher neural centers and has an integrative character. Besides of this, changes in rats' behavior clearly show the adaptive ability of nervous system in conditions of stress-factors activity. So neuroethological test "Open field" is an adequate and rather informative method for estimation of brain integrative reaction and organism's stress-resistance specialities.

The aim of our research was substantiation of ability to estimate animals' organism stress-resistance, basing on the analysis of neuroethological test's "Open field" variables and its comparison with the seriousness of stress syndrome.

The experiments were conducted on 40 white male rats of "Wistar" line, whose weight was 320g, following the bioethical regulations of European convention. An acute immobilizing stress was created by G.Selye (1960), fixing animals on the back during 3 hours. Euthanasia was done with thiopental narcosis (50 mg/kg) in the bloodletting way.

Neuroethological test "Open field" was carrying out at the same time during 6 min., we counted the variables that showed the locomotive activity, adaptation speed and value of vegetative balance or more exactly: horizontal activity (amount of crossed squares), first movement latent period, time spent in the center of the field, amount of the movements to the center of the field, vertical activity (the amount of stances), grooming, boluses, urinations. Stress-syndrome severity was estimated by the Selye triad: gastric mucous tunic ulcerations, thymus and adrenal glands weight of rats.

We have established that animals with high locomotive activity, slow speed of adaptation and high value of vegetative balance should be put to stress-nonresistant; rats with low locomotive activity, fast speed of adaptation and low value of vegetative balance should be put to stress-resistant. Neuroethological variables of "Open field" test had correlation with stress-syndrome severity, which was confirmed by maximum thymus involution, adrenal gland hypertrophy and gastric ulcerations of stress-nonresistant animals in comparison with stress-resistant.

So neuroethological test "Open field" is an objective one to divide the animals by the stress-resistance.

References

1. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология /Крыжановский Г.Н.// *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* - 2002. - №3. - С. 2-19.
2. Кундиев Ю.И., Кальниш В.В., Нагорная А.М. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ// *Журн. АМН Украины.* - 2002. - Т. 8, №2. - С. 335-345.
3. Майоров О.Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук / О.Ю. Майоров – М., 1988. – 45 с.
4. Судаков К.В. Новые акценты классической концепции стресса /Судаков К.В.// *Бюл. эксперим. биол. и мед.* - 1997. - №2.- С.124-130.
5. Хитров Н.К. Болезни цивилизации и нозологический принцип медицины с позиций общей патологии /Хитров Н.К., Салтыков А.Б.// *Клин.мед.* - 2003. - №1. - С. 5-11.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ СРЕДНЕГО И ВЫСОКОГО УРОВНЯ НА ЭМБРИОНАЛЬНУЮ МОТОРИКУ ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА КУРИНОГО ЗАРОДЫША

Нечаева М.В., Алексеева Т.А.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия
e-mail: mnechaeva2003@yahoo.com

У птиц развитие яиц в природе может происходить при существенном изменении содержания кислорода в окружающем воздухе. Так, например, снижение внешнего кислорода (гипоксия) может наблюдаться у яиц птиц в период сильных дождей. Кроме того, многие виды птиц (например, роющие), откладывают яйца глубоко в ямы или другие, напротив, насыпают холм, где также создаются гипоксические условия. Адаптация к внешней гипоксии в период эмбрионального развития у птиц, а также роль отдельных эмбриональных физиологических систем в этом гипоксическом ответе остаются мало изученными. Подходящей моделью для исследования влияния гипоксии на эмбриогенез птиц является куриный зародыш.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению двигательной активности в эмбриогенезе, которая существенно влияет на развитие опорно-двигательной системы, а также на формирование нервных связей. Однако каким образом изменения эмбриональной моторики, вызванные внешней гипоксией, влияют на формирование моторного поведения, на развитие опорно-двигательной системы, а также, каков их вклад в адаптацию зародыша к внешним условиям, остаются не достаточно изученными.

Задачей данного исследования было изучить возрастные изменения эффекта острой гипоксии (газовая смесь O_2 и N_2) на временные параметры эмбриональной моторики куриного зародыша во второй половине эмбриогенеза (10, 14 и 16 сут инкубации). Использовали гипоксию среднего и высокого уровня (10% O_2 и 5% O_2 , соответственно) при длительности воздействия 10, 20 и 40 мин. Для регистрации эмбриональной моторики в яйце использовали механосенсор, закрепленный на конечности зародыша. Поскольку эмбриональная моторика в исследованный период имела циклический характер, для ее оценки определяли длительность периодов покоя и периодов активности.

Показано, что на 10 сут инкубации газовая смесь, содержащая 10% O_2 , достоверно не изменяла двигательную активность зародыша при длительности воздействия 10, 20 и 40 мин. Однако, при такой же длительности воздействия газовая смесь с 5% O_2 оказывала выраженный ингибиторный эффект и полностью прекращала движения зародыша; а в случае 40 мин экспозиции, ингибиторный эффект был необратимым (при замене гипоксической смеси на воздух двигательная активность зародыша не восстанавливалась). На 14 сут при действии 10% O_2 в течение 10, 20 и 40 и 5% O_2 в случае 10 и 20 мин наблюдался двухфазный ответ эмбриональной моторики: двигательная активность после первоначального снижения частично восстанавливалась на фоне продолжающейся гипоксии (Nechaeva et al., 2010). При действии 5% O_2 на 14 сутки инкубации в течение 40 мин движения зародыша полностью прекращались и ингибиторный эффект был также необратимым. На 16 сут инкубации (в отличие от 14 сут) при действии 10% O_2 наблюдалось постепенное снижение двигательной активности, более выраженное в случае длительном гипоксическом воздействии. При действии 5% O_2 динамика ответа двигательной активности была сходной с 10% O_2 , однако ингибиторный эффект был выражен сильнее.

Таким образом, сравнивая полученные результаты по эмбриональной двигательной активности в ответ на гипоксию разного уровня и длительности, можно предположить участие эмбриональной моторики в адаптацию зародыша к внешней гипоксии на 14 сут инкубации, поскольку на данной стадии эмбриогенеза мы наблюдали частичное восстановление двигательной активности зародыша на фоне гипоксии как 10% O_2 , так и 5% O_2 . В тоже время на 10 и 16 сут инкубации при действии 10% O_2 или 5% O_2 в течение 10, 20 и 40 мин данный эффект не проявлялся. Действие 5% O_2 в течение 40 мин является критичным для эмбриональной моторики во всех изученных возрастах, поскольку движения зародыша не восстанавливались при замене гипоксической смеси на воздух.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-01362-а и частичной поддержке программы Президиума РАН "Живая природа: современное состояние и проблемы развития".

Литература

1. Nechaeva M.V., Vladimirova I.G. and Alexeeva T.A. (2010) Effect of acute hypoxia on the motor activity and heart rate of the 10- and 14-day chick embryo. // The Open Ornithology Journal. V. 3, P.127-133. [DOI: 10.2174/1874453201003010127]

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF HYPOXIA MEDIUM AND HIGH LEVEL ON THE EMBRYONIC MOTILITY IN THE SECOND HALF EMBRYOGENESIS OF CHICK EMBRYO

Nechaeva M.V., Alexeeva T.A.

Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia
e-mail: mnechaeva2003@yahoo.com

In nature, bird eggs develop under conditions of varying oxygen content of the ambient air. For example, the reduction in ambient oxygen (hypoxia) can be observed around the eggs of birds during periods of heavy rains. Additionally, many bird species are fossorial, laying their eggs at the end of long, narrow nests or within mounds, which also creates hypoxic condition. Adaptation to external hypoxia during embryonic development in birds, as well as the role of individual embryonic physiological systems remains poorly understood. A suitable model for studying the effect of hypoxia on the embryogenesis of birds is the chicken embryo.

Currently, much attention is paid to the study of motor activity during embryogenesis, which significantly affects the development of the musculoskeletal system, as well as the formation of neural connections. However, how changes in fetal motor activity caused by external hypoxia, affect the formation of motor behavior, the development of the musculoskeletal system, and what their contribution to the adaptation of the fetus to external conditions, are not sufficiently understood.

The purpose of this study was to investigate the embryonic motor activity under acute hypoxia (a gas mixture O_2 and N_2) in the second half of chick embryo embryogenesis (10, 14 and 16 days of incubation). We used a hypoxia medium and high level (10% O_2 and 5% O_2 , respectively) for the duration of exposure 10, 20 and 40 min. A force transducer attached to a limb of the embryo was used to record embryonic movements inside the egg. Because embryonic motility in the investigated period was cyclical in nature, to evaluate the measured duration of the periods of rest and activity periods. As the embryonic motility display cyclic character during the investigated period, the duration of the activity phase and the inactivity phase were estimated.

On the incubation day 10, it was shown that the motor activity of the embryo did not change significantly during the exposure to a gas mixture containing 10% O_2 during 10, 20 and 40 min. However, a distinct inhibitory effect was observed in the case of the exposure to gas mixture with 5% O_2 during the same exposure and the embryo movements completely stopped; failing of a 40 min exposure, the inhibitory effect was irreversible (when the hypoxic mixture was replaced by air the motor activity of the embryo is not recovered). On day 14, a biphasic response of embryonic motility in response to hypoxia was observed in case of 10% O_2 for 10, 20 and 40 min and 5% O_2 for 10 and 20 min: the motor activity first disappeared and then was partly restored against a background of continuing hypoxia (Nechaeva et al., 2010). The action of 5% O_2 on the 14th day of incubation for 40 min completely stopped the movements of the embryo and the inhibitory effect was irreversible. On incubation day 16 (as opposed to day 14) a gradual decrease in motor activity was observed in case of the action of 10% O_2 and it was more pronounced in the case of prolonged hypoxic exposure. The dynamic of the motor activity was similar between hypoxia 5% O_2 and 10% O_2 , but the inhibitory effect was more pronounced during 5% O_2 .

Thus, comparing the results of embryonic motor activity in response to hypoxia at various levels and durations, we may suggest a participation of the embryonic motility in the adaptation to ambient hypoxia on incubation day 14, because a partial restoration of the embryonic motor activity against a background of continuing hypoxia 10% O_2 and 5% O_2 was observed at this stage. At the same time, on incubation days 10 and 16, this effect was not observed under the action of 10% O_2 or 5% O_2 for 10, 20 and 40 min. Effect of 5% O_2 for 40 min is critical for embryonic motility in all age groups studied, as the movements of the embryo were not restored by replacing the hypoxic mixture into the air.

This work was supported by Grant RFBR № 11-04-01362-A and partly supported by RAS Presidium Program "Wildlife: Current Status and Problems of Development."

References

1. *Nechaeva M.V., Vladimirova I.G. and Alexeeva T.A.* (2010) Effect of acute hypoxia on the motor activity and heart rate of the 10 - and 14-day chick embryo. // The Open Ornithology Journal. V. 3, P.127-133. [DOI: 10.2174/1874453201003010127]

ОЦЕНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛОВ *a* И *b*

Погромская Я.А., Зуза В.А., Зуза С.Г., Ротач Ю.В.

Донецкий отдел плодородия почв Научного центра «Институт почвоведения и агрохимии имени А. Н. Соколовского»
Национальной академии аграрных наук Украины
e-mail: ddcnnc@ukr.net

Преобразование солнечной энергии в фотосинтезирующих клетках осуществляется мембранными пигмент-белковыми комплексами, включающие реакционный центр и светособирающую антенну (LHC). Хлорофилл *a* (*chl a*) является компонентом как коровых комплексов реакционных центров (*Cor*), так и периферических светособирающих антенн фотосистем 1 и 2. Тогда как, хлорофилл *b* (*chl b*) является компонентом преимущественно периферической антенны обоих фотосистем. В связи с этим изменение отношения *chl a/chl b* указывает на изменение соотношения между комплексами *Cor* и LHC [1-3], что является одним из механизмов адаптации фотосинтетического аппарата к меняющимся условиям внешней среды.

Нами предложена модель определения содержания хлорофилла реакционных центров и светособирающих антенн в растениях по данным содержания хлорофиллов *a* и *b*. Полагая, что отношение концентрации хлорофилла *a* светособирающих антенн (*chl aLHC*) и хлорофилла *b* равно *C* (*chl aLHC/chl b* = *C*) и постоянно при данных условиях произрастания, а *chl aLHC* определяется как разность общего содержания хлорофилла *a* и хлорофилла реакционных центров (*chl aLHC* = *chl a* – *Cor*), можно представить зависимость содержания *chl a* и *chl b* следующим образом:

$$\frac{chl a}{chl b} = C + Cor \frac{1}{chl b}, \quad (1)$$

где *chl a* – содержание хлорофилла *a*, мг/100г массы зеленого листа;

C – отношение *chl aLHC/chl b*;

chl b – содержание хлорофилла *b*, мг/100г массы зеленого листа;

Cor – содержание *chl a* коровых антенн реакционных центров, мг/100г массы зеленого листа.

Регрессионная зависимость *chl a/chl b* от $1/chl b$ (1) позволяет рассчитать концентрацию хлорофилла коровых антенн *Cor* и хлорофилла светособирающего комплекса.

С помощью данного подхода показано, что внесение азотных удобрений N_{60} приводит к интенсификации синтеза хлорофилла (табл. 1) не зависимо от фона минерального питания растений кукурузы. При этом наблюдается снижение концентрации хлорофилла реакционных центров и увеличение содержания хлорофилла светособирающих антенн LHC. Аналогична тенденция перераспределения хлорофилла и при зафосфачивании почвы на фоне уменьшения общего содержания пигментов (см. табл. 1).

Таблица 1 – Влияние уровня минерального питания кукурузы на пигментный состав фотосинтетического аппарата

Фон	Вариант	<i>chl a</i>	<i>chl b</i>	<i>Cor</i>	<i>chlLHC</i>	<i>chlLHC/Cor</i>	<i>chl aLHC/chl b</i>	<i>Cor/chl a</i>	<i>chl b/hLHC</i>	<i>chl b/Cor</i>
Сбалансированное минеральное питание	контроль	41.20	13.30	25.26	29.21	1.19	1.1	0.61	0.46	0.53
	N_{60}	49.20	17.70	22.24	44.70	2.02	1.5	0.45	0.40	0.80
Зафосфачивание почвы	контроль	34.73	10.78	15.04	31.08	2.06	1.9	0.43	0.35	0.72
	N_{60}	51.87	15.52	14.31	53.02	3.77	2.4	0.28	0.29	1.08

Метод индукции флуоресценции хлорофилла показал снижение эффективности первичных процессов фотосинтеза (ППФ) при внесении N_{60} (табл. 2), что объясняется интенсификацией азотного синтеза, который является альтернативным потребителем энергии электронтранспортной цепи [2]. Интенсификация ППФ компенсирует пониженное содержание пигментов на фоне зафосфачивания почвы (см. табл. 1, 2).

Таблица 2 – Влияние уровня минерального питания кукурузы на параметры первичных процессов фотосинтеза [3]

Параметр	Сбалансированное минеральное питание		Зафосфачивание почвы	
	контроль	N_{60}	контроль	N_{60}
Квантовый выход фотосистемы 2	0.440	0.407	0.508	0.490
Эффективность разделения зарядов	0.107	0.082	0.140	0.148
Эффективность электронтранспортной сети	0.333	0.325	0.367	0.342
Эффективность фотолиза	0.608	0.562	0.731	0.683

Таким образом, оптимизация фотосинтетического аппарата, как при зафосфачивании почвы, так и внесении N_{60} , происходит за счет увеличения содержания хлорофилла структур, улавливающих свет. Что при несбалансированном питании компенсирует, на ряду с интенсификацией ППФ, снижение содержания хлорофилла, а при внесении азотных удобрений – затраты энергии, не связанные с поглощением CO_2 .

Литература

1. Dror Noy, Christopher C. Moser, P. Leslie Dutton. (2006). Design and engineering of photosynthetic light-harvesting and electron transfer using length, time, and energy scales. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1757: 90–105.
2. Рубин А.Б. Регуляция первичных процессов фотосинтеза / А.Б. Рубин, Т.Е. Кренделева // Успехи биологической химии. – 2003. - Т. 43. - С. 225-266.
3. Байрак Н.В. Применение метода ИФХ для изучения неоднородности системы фотосинтеза растений / Н.В. Байрак, В.А. Зуза, Я.А. Погромская / Вісник ХНУ імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – Харків, 2008. – № 814. – вип. 7. – С. 181-187.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EVALUATION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF PLANTS BY THE DATA CONTENT CHLOROPHYLLS *a* AND *b*

Pogromska Ia.A., Zuza, V.A., Zuza S.G., Rotach Ya.V.

Donetsk department of Soil Fertility Research Center "Institute of Soil Science and Agrochemistry named after O.N. Sokolovsky"
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
e-mail: ddcnnc@ukr.net

Conversion of solar energy in photosynthetic cells is performed by inside membrane pigment-protein supramolecular complexes, which form separate photosynthetic units, including the reaction center and light-harvesting complex (LHC). Chlorophyll *a* (*chl a*) is a component of as core-complexes, as the peripheral antennas *PSI* and *PSII*, whereas chlorophyll *b* (*chl b*) is a component of the peripheral antenna of both photosystems predominantly. In connection with this a change of an attitude *chl a/chl b* indicates a change in the ratio between the complexes of reaction centers of photosystems and LHC [1, 2, 3], which is one of the mechanisms of adaptation of the photosynthetic apparatus to changing environmental conditions.

We have proposed the model of determination of the chlorophyll of reaction centers and light-harvesting antennas in plants according to the content of chlorophyll *a* and *b*. Assuming that the ratio of the concentration of chlorophyll *a* of light-harvesting antennas (*chl aLHC*) and chlorophyll *b* is equal to *C* (*chl aLHC/chl b=C*) and constantly for a variant of impact on the plant, and *chl aLHC* defined as the difference between the total content of chlorophyll *a* and chlorophyll reaction centers (*chl aLHC=chl a-Cor*), you can submit dependence of the *chl a* and *chl b* as follows:

$$\frac{chl a}{chl b} = C + Cor \frac{1}{chl b}, \quad (1)$$

where *chl a* – chlorophyll *a* content, mg/100 g weight leaf;

C – ratio *chl aLHC/chl b*;

chl b – chlorophyll *b* content, mg/100 g weight leaf;

Cor – cor-antennas *chl a* of reaction centers content, mg/100 g weight leaf.

Regression dependence of *chl a/chl b* from $1/chl b$ (1) allows us to calculate the concentration of cor-antennas chlorophyll *Cor* and light-harvesting complex chlorophyll.

Using this approach it is shown that application of nitrogen fertilizers leads to an intensification of the synthesis of chlorophyll (table 1) regardless of the background of mineral nutrition of corn plants. In this case there is an absolute and a relative decrease in the chlorophyll content of the reaction centers and an increase in the chlorophyll of antennae LHC, as well as in the case of aftereffect of phosphorus fertilizer.

Table 1 – Effect of the level of mineral nutrition of corn on the pigment composition of the photosynthetic apparatus

Background	Variant	<i>chl a</i>	<i>chl b</i>	<i>Cor</i>	<i>chl LHC</i>	<i>chl LHC/Cor</i>	<i>chl aLHC/chl b</i>	<i>Cor/chl a</i>	<i>chl b/hl LHC</i>	<i>chl b/Cor</i>
Balanced mineral nutrition	control	41.20	3.30	25.26	29.21	1.19	1.1	0.61	0.46	0.53
	N ₆₀	49.20	7.70	22.24	44.70	2.02	1.5	0.45	0.40	0.80
Aftereffect of phosphorus fertilizer	control	34.73	0.78	15.04	31.08	2.06	1.9	0.43	0.35	0.72
	N ₆₀	51.87	5.52	14.31	53.02	3.77	2.4	0.28	0.29	1.08

Reducing the effectiveness of the primary processes of photosynthesis (table 2) at balancing of mineral nutrition indicates an intensification of the nitrogen synthesis, which is alternative electron transport chain energy consumer [3]. Low pigments content, as in absolute and in functional nitrogen deficiency, is compensated through the intensification of the primary processes of photosynthesis (see table. 2).

Table 2 – Effect of the level of mineral nutrition of corn on the state of the primary processes of photosynthesis

Parameter	Balanced mineral nutrition		Aftereffect of phosphorus fertilizer	
	контроль	N ₆₀	контроль	N ₆₀
The quantum yield of photosystem 2	0.440	0.407	0.508	0.490
The efficiency of charge separation	0.107	0.082	0.140	0.148
The efficiency of electron transport chain	0.333	0.325	0.367	0.342
The efficiency of the photolysis	0.608	0.562	0.731	0.683

Thus, the optimization of light absorption is due to the increase in the number of structures that absorb light. That compensates for the absolute reduction in chlorophyll in the unbalanced nourishment and energy costs, not related to the absorption of CO₂ at the intensification of nitrogen metabolism.

References

1. Dror Noy, Christopher C. Moser, P. Leslie Dutton Design and engineering of photosynthetic light-harvesting and electron transfer using length, time, and energy scales. *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2006. – 1757. – P. 90–105.
2. Jensen P.E., Bassi R., Boekema E.J., Dekker J.P., Jansson S., Leister D., Robinson C., Vibe Scheller H. Structure, Function and Regulation of Plant Photosystem I // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2007. – V. 1767. – P. 335–352.
3. Рубин А. Б. Регуляция первичных процессов фотосинтеза / А. Б. Рубин, Т. Е. Кренделева // *Успехи биологической химии*. – 2003. – Т. 43. – С. 225–266.

ВЛИЯНИЕ ПОТЕРИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ДРОЖЖАМИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Пронина О.В., Рушковский С.Р.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: olpronina@gmail.com

Формирование биопленок является одной из важных адаптивных стратегий, которые используют микроорганизмы в процессе приспособления к условиям окружающей среды. Штаммы дрожжей *S.cerevisiae*, способные к формированию биопленок на поверхности мягкого агара, являются удобной моделью для изучения механизмов регуляции данного процесса. Целью нашего исследования было изучение влияния потери митохондриальной ДНК на процесс формирования биопленок в присутствии различных источников углерода.

В работе использовался лабораторный гомоталлический диплоидный штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* SK1 и полученный от него ρ^0 клон. Для получения ρ^0 клона клетки исходного штамма культивировали в 2 мл жидкой питательной среды YPD, содержащей бромистый этидий в концентрации 10 мкг/мл. После инкубации клетки дважды отмывали дистиллятом и пересеивали на полную питательную среду YPD. Потерю митохондриальной ДНК в отобранных клонах подтверждали с помощью люминесцентной микроскопии (прижизненная окраска DAPI).. Штаммы наносили уколом в центр чашки Петри с питательными средами: YPD (2 % глюкозы), YPM (2 % мальтоза), YPD с низким содержанием глюкозы (0,2 % глюкозы). Колонии культивировали на питательной среде содержащий 0,3% агар при температуре 28 °C. С промежутком в 3-4 дня фотографировали формирующиеся колонии.

Штамм SK1 формировал пленки на всех типах использованных сред, при этом морфология пленок и скорость их роста значительно отличалась в зависимости от использованного источника углерода. Так, при росте на среде YPD среде наблюдается стремительный рост пленки вплоть до почти полного заполнения ею площади чашки Петри, морфология пленки соответствует описаниям в литературе: складчатая центральная часть окружена кольцевой структурой, от которой отходят радиальные тяжи. При 10 кратном снижении концентрации глюкозы (среда YPD с низким содержанием глюкозы) начальный рост колонии резко замедлялся, в дальнейшем от центральной части из секторов колонии начиналось активное формирование пленок. Структура пленок была нерегулярной, симметричные тяжи в ней не формировались. На среде YPM морфология пленок на ранних этапах роста была подобной морфологии колоний, росших на среде YPD. На поздних стадиях культивирования поверхность пленок изменялась и становилась глянцевой.

ρ^0 клон штамма SK1 на всех использованных средах пленок не образовывал, колонии имели рыхлую структуру. По мере роста колонии наблюдалось формирование разветвленных секторов. Морфология колоний была подобна на всех типах использованных сред, однако на среде YPD с низким содержанием глюкозы скорость роста колоний была значительно ниже.

Таким образом, нами было показано, что потеря дрожжевыми клетками митохондриальной ДНК приводит к потере способности к формированию биопленок.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INFLUENCE OF MITOCHONDRIAL DNA LOSS ON BIOFILM FORMATION BY THE YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Pronina O.V., Rushkovsky S.R.

Taras Shevchenko University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: olpronina@gmail.com

Biofilm formation is one of the most important strategies used by microorganisms during adaptation to environmental changes. Strains of the yeast *S.cerevisiae* that have ability to form biofilms on the soft agar media surface could be used as a model to study regulatory mechanisms of this process. The goal of our research was investigation of influence of the mitochondrial DNA loss on biofilm formation on media with different carbon sources.

Laboratory homotallic diploid strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* SK1 and his ρ^0 clone have been used. For ρ^0 clone isolation cells have been cultivated in 2 ml of liquid YPD medium containing 10 mg/ml of ethidium bromide. After incubation yeast cells were washed in distilled water twice and inoculated on YPD solid medium. Control of the mitochondrial DNA loss was performed by luminescent microscopy after DAPI vital staining. Stains were inoculated in the center of the Petri dish with YPD (2% glucose), YPM (2% maltose) and low glucose YPD (0,2 % glucose) media. Colonies were cultivated on media with 0,3% agar under temperature 28 °C. Colonies were photographed every 3-4 days.

Biofilms were formed by SK1 strain on all used media, but their morphology and rate of growth were very different depending on carbon source in media. On YPD medium biofilm is formed very quickly until almost all surface of the Petri dish was covered, biofilm morphology was typical according to previously published articles: folded central part was surrounded by circular structure, from which radial cords were spread. On the medium with 10 fold reduction of glucose concentration (low glucose YPD medium) initial growth of the colonies were decreased, later biofilm formation from colonies sectors were observed. Biofilms structure was irregular, no symmetrical cords were formed. On early stages of growth, morphology of the biofilms grown on YPM medium was similar to morphology of YPD grown colonies. On later stage of culturing the biofilm's surface changed and became glossy.

The ρ^0 clone of SK1 strain did not form biofilms on all used media. The colonies had spongiouse structures. On the later stages of the growth formations of the branched sectors were observed. Morphology of the colonies was alike on all used media but rate of the colonies growth on the low glucose YPD medium were greatly reduced.

Thus our data suggest that loss of mitochondrial DNA result in loss of biofilm formation ability by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells.

ВПЛИВ СТРЕСУ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ АСТРОЦИТІВ І НЕЙРОЦИТІВ АРКУАТНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ЕСТРАЛЬНОГО ЦИКЛУ

Пустовалов А.С., Матвієнко М.Г., Держинський М.Е.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: grandmaster.majority@gmail.com

Великий інтерес викликає вивчення чутливості репродуктивної функції, особливо на гормональному рівні, до подразників оточуючого середовища, зокрема впливу стресу. Стресові фактори здатні порушувати регулярність естрального циклу й негативно впливати на репродуктивну здатність організму (1, 2). Основою жіночої репродуктивної системи є вісь гіпоталамус - гіпофіз - яєчник, правильне функціонування якої забезпечує дозрівання повноцінної яйцеклітини, запліднення, імплантацію і збереження ранньої вагітності (3). Важливо при дослідженні стресорного впливу звернути увагу на стан гіпоталамуса, а саме аркуатного ядра, яке відіграє ключову роль у регуляції репродуктивної функції. В аркуатному ядрі синтезується гонадотропний рилізінг-гормон (ГнРГ), який є рилізінг-фактором двох головних гонадотропнів, лютеїнізуючого (ЛГ) і фолікулоstimулюючого (ФСГ) гормонів. Для забезпечення нормальної секреції гонадотропнів необхідна стабільна частота викиду ГнРГ. Основними факторами, які регулюють частоту виділення ГнРГ є опіати і альфа-адреноблокатори. Пульсовий генератор ритму - аркуатне ядро - не потребує для підтримки своєї нормальної роботи жодних впливів з боку інших відділів нервової системи (4,5). Аркуатне ядро включає в себе кілька популяцій нейроцитів, а також гліальні клітини, зокрема астроцити. Останні поділяють на дві категорії - фіброзні та протоплазматичні. Визначити тип астроцита можна при електронномікроскопічному дослідженні.

Метою роботи було дослідження змін показників функціональної активності астроцитів і нейроцитів аркуатного ядра гіпоталамуса самок щурів на різних стадіях статевого циклу та в умовах іммобілізаційного стресу. Експеримент проведений на 24 самках щурів *Rattus norvegicus* трьохмісячного віку. Тварин, які перебували на стадії еструса і дієструса, піддавалися дії іммобілізаційного стресу протягом 1,5 годин. Наприкінці досліду всі тварини були декапітовані з подальшим дослідженням гіпоталамічних ядер. Висновки про функціональну активність клітин гіпоталамуса робили на основі таких морфометричних показників: площа перерізу ядер астроцитів і нейроцитів; коефіцієнт форми ядер астроцитів та нейроцитів; кількість ядерних пор на мкм довжини периметру ядра (питома кількість ядерних пор).

Результати дослідження показали, що при стресі у тварин як на стадії еструса, так і на стадії дієструса збільшується площа перерізу ядер нейроцитів. Фіброзні і протоплазматичні астроцити продемонстрували зростання цього морфометричного параметра в щурів на стадії еструса, але зменшення на стадії дієструса під дією іммобілізаційного стресу. В щурів контрольної групи на стадії дієструса збільшується площа перерізу ядер фіброзних астроцитів, порівняно зі стресованими тваринами. Площа перерізу ядер протоплазматичних астроцитів зменшується при дієструсі як в контролі, так і на тлі стресу. Також показано, що площа перерізу ядер протоплазматичних астроцитів достовірно менше цього показника у фіброзних астроцитів. Недостовірні ці відмінності у протоплазматичних астроцитів стресованих тварин на стадії дієструса, що пов'язано із загальним зменшенням цього параметра у астроцитів даної групи. Протоплазматичні астроцити мають більший коефіцієнт форми ядра, порівняно з фіброзними астроцитами тільки у тварин на стадії дієструса, які не піддавалися стресу. Для фіброзних астроцитів характерна в цілому більш висока щільність ядерних пір, ніж у протоплазматичних астроцитів, однак ці відмінності достовірні тільки у стресованих тварин на стадії еструса.

Отже, зміни параметрів функціональної активності обох типів астроцитів аркуатного ядра не завжди співпадають зі змінами в нейроцитах цієї ж гіпоталамічної області. Так, площа поперечного перерізу ядер фіброзних і протоплазматичних астроцитів достовірно зменшується при переході від дієструса до еструса, натомість у нейроцитів цей показник достовірно зростає. Водночас у групах тварин, які піддавалися стресу, спостерігається зростання площі поперечного перерізу ядер усіх трьох досліджуваних типів клітин, при цьому діапазон коливання розмірів ядер клітин усіх типів виявляється більшим, ніж за відсутності стресу.

Література

1. Devall A.J., Lovick T.A. (2010). Differential activation of the periaqueductal gray by mild anxiogenic stress at different stages of the estrous cycle in female rats. *Neuropsychopharmacology*. 5 (35): 1174-1185.
2. Goldstein J.M., Jerram M., et. al. (2010). Sex differences in stress response circuitry activation dependent on female hormonal cycle. *J Neurosci*. 2 (30): 431-438.
3. Запорожан В.М., Холодкова О.Л., Пухтеев Д.М., Щербатюк А.Л. (2009). Морфометричні показники супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамусу експериментальних тварин за умов впливу шкідливих чинників. *Морфологія*. 3 (3): 55-59.
4. Bouret S.G., Draper S.J., Simerly R.B. (2004). Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice. *J Neurosci*. 11 (24): 2797-2805.
5. Plant T.M., Krey L.S., et. al. (1978). The arcuate nucleus and the control of gonadotropin and prolactin secretion in the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology*. 102: 52-62.

STRESS EFFECT ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF RAT ASTROCYTES AND NEUROCYTES IN THE ARCUATE HYPOTHALAMIC NUCLEUS AT DIFFERENT STAGES OF ESTROUS CYCLE

Pustovalov A.S., Matvienko M.G., Dzerzhinsky M.E.

Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine
e-mail: grandmaster.majority@gmail.com

Great interest is the study of the sensitivity of reproductive function, especially in hormonal level to environmental stimuli, including the impact of stress. Stressful factors can disrupt the regularity of the estrous cycle and affect the reproductive ability of the organism (1, 2). The basis of the female reproductive system is the axis hypothalamus - pituitary - ovary, which ensures the correct functioning of full maturation of the egg, fertilization, implantation and maintaining early pregnancy (3). It is important while studying the stressful influences to draw attention to the condition of the hypothalamus, in particular the arcuate nucleus, which plays a key role in regulating of the reproductive function. In the arcuate nucleus the gonadotropic releasing hormone (GnRH) is synthesized, it's a releasing factor of two major gonadotropins, luteinizing (LH) and follicle stimulating (FSH) hormones. The stable frequency output of GnRH is necessary to ensure the normal secretion of gonadotropins. Opiates and alpha-adrenoblockers are the main factors governing the frequency allocation of GnRH. A pulse generator rate – the arcuate nucleus – doesn't need any effects from other parts of the nervous system to maintain its normal operation (4, 5). The arcuate nucleus includes several populations of neurocytes and glial cells, separately astrocytes. The latter are divided into two categories - fibrous and protoplasmic. The type of astrocytes can be determined in electron microscopy study.

The aim of this work was to study changes of functional activity of astrocytes and neurocytes in the arcuate hypothalamic nucleus of the female rats at different stages of sexual cycle and in conditions of immobilization stress. The experiment was conducted on 24 three months female rats *Rattus norvegicus*. The animals at the estrus and diestrus stages were exposed to immobilization stress for 1,5 hours. At the end of this experiment all the animals were decapitated with further investigation of the hypothalamic nuclei. Conclusions about the functional activity of the hypothalamic cells have been done on the basis of such morphometric parameters: the nuclear cross-sectional area of astrocytes and neurocytes; the nuclear shape ratio of astrocytes and neurocytes; the number of nuclear pores in micron length perimeter nucleus (specific number of nuclear pores).

The results showed that both animals at the estrus and diestrus stages increased the nuclear cross-sectional area of neurons under stress. The fibrous and the protoplasmic astrocytes showed the growth of this morphometric parameter in the rats at the estrus stage, but decrease it at the diestrus stage under immobilization stress. In the control group of rats at the diestrus stage the nuclear cross-sectional area increased of the fibrous astrocytes, compared with the animals exposed to stress. It was also shown the nuclear cross-sectional area of the protoplasmic astrocytes is significantly less than in the fibrous astrocytes. These differences are statistically untrusted in the protoplasmic astrocytes of the animals exposed to stress at the diestrus stage, due to the general decrease in this parameter in astrocytes of this group. The protoplasmic astrocytes have larger nuclear shape ratio compared to fibrous astrocytes only in animals at the diestrus stage, not exposed to stress. The fibrous astrocytes are characterized by generally higher density of nuclear pores than the protoplasmic astrocytes, but these differences are valid only in the animals at the estrus stage and exposed to stress.

Thus, the changes in functional activity of both types of astrocytes of the arcuate nucleus do not always coincide with changes in neurocytes in the same hypothalamic region. So, the nuclear cross-sectional area of fibrous and protoplasmic astrocytes significantly decreases during the transition from diestrus to estrus, instead this parameter significantly increases in neurocytes. Simultaneously there is growing of nuclear cross-sectional area of all three cell types in the animal groups exposed to stress, herewith the range of fluctuations in the size of cell nuclei of all cell types is more than in the absence of stress.

References

1. Devall A.J., Lovick T.A. (2010). Differential activation of the periaqueductal gray by mild anxiogenic stress at different stages of the estrous cycle in female rats. *Neuropsychopharmacology*. 5 (35): 1174-1185.
2. Goldstein J.M., Jerram M., et. al. (2010). Sex differences in stress response circuitry activation dependent on female hormonal cycle. *J Neurosci*. 2 (30): 431-438.
3. Запорожан В.М., Холодкова О.Л., Пухтеев Д.М., Щербатюк А.Л. (2009). Морфометричні показники супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамусу експериментальних тварин за умов впливу шкідливих чинників. *Морфологія*. 3 (3): 55-59.
4. Bouret S.G., Draper S.J., Simerly R.B. (2004). Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice. *J Neurosci*. 11 (24): 2797-2805.
5. Plant T.M., Krey L.S., et. al. (1978). The arcuate nucleus and the control of gonadotropin and prolactin secretion in the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology*. 102: 52-62.

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ ВОДЫ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА: РОЛЬ СИМПЛАСТА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ

Сибгатуллин Т.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия
e-mail: timsdance@mail.ru

Транспорт воды в растении – один из ключевых процессов в жизнедеятельности растения. В условиях неблагоприятного водного режима наряду с адаптацией анатомо-морфологических признаков в растениях заложена возможность регуляции физиологических процессов. Такая регуляция позволяет оперативно подстраивать метаболизм растения под изменения климата в течение сезона. Если надземная часть растения главным образом контролирует расходование воды, то подземная корневая система отвечает за эффективность всасывания воды из почвы.

Согласно композитной модели межклеточный транспорт воды может идти по трем путям: апопласт (межклеточное пространство), симпласт (система протопластов растительных клеток, объединяемых плазмодесмами), трансклеточный путь (через мембраны клеток). От внешних условий может зависеть, какой из путей будет преобладающим. Таким образом, представляет интерес исследовать, как регулируется транспорт воды в растениях, различающихся по устойчивости к дефициту воды. Для этого была поставлена задача: провести сравнительный анализ температурной зависимости диффузионной проницаемости межклеточных водных транспортных путей в корнях растений, различающихся по устойчивости к водному стрессу, в норме и в условиях осмотического стресса.

Сравнивали растения кукурузы (*Zea mays*) и африканского проса (*Pennisetum americanum*), из которых последнее по литературным данным более устойчиво к осмотическому стрессу. В опыте использовали 10-12 дневные проростки, выращенные на гидропонике. Осмотический стресс создавали в течение 24 часов раствором полиэтиленгликоля ПЭГ-6000, осмотический потенциал которого составлял -0.5 Мпа. Непосредственно перед измерениями были приготовлены сегменты длиной 1 см из зоны всасывания первичного корня. Исследовали диффузионную проницаемость межклеточных транспортных путей воды в радиальном направлении. Для этого методом ЯМР измеряли зависимость наблюдаемого коэффициента диффузии воды от времени наблюдения (диффузии). Протонный сигнал кортекса дифференцировали от сигнала других тканей корня на основе DRCOSY (анализа корреляции диффузии и спин-спиновой релаксации намагниченности протонов воды). Для селективного подавления сигнала намагниченности от воды в апопласте сегменты корней во время измерений помещали в раствор комплекса парамагнитного иона Gd-ДТПА (диэтилен-триамин-пентауксусная кислота) в концентрации 30 мМ в присутствии маннитола в концентрации 200 мМ. Проницаемость мембран определяли методом парамагнитного допинга. Температуру образца при измерениях варьировали в интервале 5-35 °С с шагом в 10 °С.

В результате было получено, что под действием осмотического стресса во всем диапазоне исследованных температур суммарная проницаемость межклеточных путей воды в радиальном направлении в корнях проса уменьшается, а в корнях кукурузы существенно не изменяется. При увеличении температуры проницаемость увеличивается у обоих растений, как в контрольных условиях, так и в условиях стресса. У проса была выявлена более сильная температурная зависимость проницаемости, чем у кукурузы.

Для определения путей, ответственных за увеличение проницаемости в кортикальной паренхиме проса с ростом температуры, исследован вклад каждого пути в суммарную проницаемость в условиях осмотического стресса. У проса при всех исследованных температурах, начиная с 15 °С, проницаемость симпластного пути совпадает в пределах погрешности с суммарной проницаемостью. Температурная зависимость проницаемости симпластного пути характеризуется значением энергии активации 61 ± 5 кДж/моль. У кукурузы проницаемость симпластного пути в 2-3 раза меньше суммарной и практически не зависит от температуры. Полученные результаты свидетельствуют о том, что функционирование симпластного пути у проса и у кукурузы существенно различается. Вероятно, это связано с различием в температурной регуляции пропускной способности плазмодесм.

В заключении можно сделать вывод, что у клеток кортикальной паренхимы корней проса в условиях умеренного осмотического стресса межклеточный транспорт воды осуществляется преимущественно по симпластному пути. Сильная температурная зависимость проницаемости симпластного пути, возможно, является одним из механизмов, обеспечивающих адаптацию растения к водному дефициту в условиях жаркого засушливого климата.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INTERCELLULAR WATER TRANSPORT UNDER OSMOTIC STRESS: ROLE OF SYMPLAST IN ADAPTATION OF PLANTS

Sibgatullin T.A.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan, Russia
e-mail: timsdance@mail.ru

Water transport is one of the key processes in plants. In case of unfavorable conditions of water supply the plants have the ability to regulate physiological processes in addition to anatomical and morphological adaptations. This regulation helps to harmonize metabolism of plant with seasonal climate changes. The shoot of plant mainly controls water expenses. The root system of plant defines the efficiency of water intake from soil.

According to the composite model there are three main pathways for intercellular water transport in plants: apoplast, symplast and transcellular (or cell-to-cell – with crossing of membranes). External conditions may determine which of them dominate. The question is, how the water transport is regulated in plants with various resistances to water shortage. To answer this question we performed a comparative analysis of the temperature dependence of the diffusion permeability of intercellular water pathways in the roots of plants that differ in their resistance to water stress, in normal conditions and under conditions of osmotic stress.

The plants of maize (*Zea mays*) and pearl millet (*Pennisetum americanum*) were examined, of which the last one is more resistant to osmotic stress. A 10-12 day seedlings grown in hydroponics were used. Osmotic stress was generated with a solution of polyethylene glycol PEG 6000 (osmotic potential -0.5 MPa) during 24 hours prior to the NMR measurements. Immediately before the measurements a 1 cm long segments of the primary root were prepared. The diffusion permeability of intercellular water pathways was measured in the radial direction. To do this, the time-dependent apparent diffusion coefficient of water was measured by means of NMR diffusometry. The proton signal of the cortex tissue was differentiated from the signal of other root tissues on the basis of DRCOSY (correlation spectroscopy of diffusion and spin-spin relaxation). For the selective suppression of proton of apoplast water the root segments was placed in a solution of the complex of the paramagnetic ion Gd-DTPA at a concentration of 30 mM in the presence of mannitol at a concentration of 200 mM during the measurements. Membrane permeability was determined by NMR relaxometry with paramagnetic doping. The temperature of sample during measurements varied in the range of 5-35 °C with an increment of 10 °C.

As a result, it was found that the overall permeability of the radial intracellular water pathways of root is reduced in pearl millet and stays nearly constant in maize under osmotic stress in the whole range of studied temperatures. The permeability of both plants increase with temperature in normal conditions as well as under the osmotic stress. Pearl millet demonstrates a much stronger temperature dependence of permeability than that of maize.

To determine the pathways that responsible for the temperature dependence of permeability in the cortical parenchyma of pearl millet the contribution of each pathway to the overall permeability under the osmotic stress was investigated. In pearl millet at all studied temperatures above 15 °C the permeability of symplastic pathway coincide within the error to the overall permeability. Temperature dependence of the permeability of symplastic pathway is characterized by the activation energy of 61 ± 5 kJ/mol. In maize plants the permeability of symplastic pathway is 2-3 times less than the overall and is nearly independent of temperature. These results suggest that the functioning of symplastic pathway in roots of pearl millet and maize differs significantly. This is probably due to the difference in the temperature regulation of plasmodesmata opening.

Conclusions: 1) in case of moderate osmotic stress the symplast becomes the main water radial pathway in the cortical parenchyma cells of pearl millet roots; 2) the strong temperature dependence of the permeability of symplast pathway is probably one of the mechanisms for the adaptation of plants to water deficit in a hot arid climate.

АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ С РАЗЛИЧНОЙ МОРФОГЕННОЙ СПОСОБНОСТЬЮ

Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р., Румянцева Н.И.

КИББ КазНЦ РАН, Казань, Россия
e-mail: kam-guz@yandex.ru

Условия культивирования *in vitro* являются стрессовыми для клеток, поскольку сопряжены с воздействием, как физических, так и химических факторов: поранение эксплантов, субоптимальные концентрации гормонов, их сочетание, наличие железа и других прооксидантов в среде культивирования, осмотический шок и т.д. (1, 2, 3). Эти воздействия и условия часто превышают пределы нормы реакции исходного растения-донора. В таких условиях высока вероятность избыточного накопления активных форм кислорода (АФК), поскольку окислительный стресс является наиболее общей реакцией клетки на различные воздействия. Для существования в условиях, способствующих повышению содержания АФК, клетка может адаптироваться различными путями, например, снижать уровень АФК с помощью антиоксидантных систем или, наоборот, приспосабливаться жить в условиях повышенного фона АФК. При этом, следует отметить, что уровень АФК влияет на редокс-статус клеток и впоследствии воздействует на регуляцию многих процессов в клетке (4, 5), к числу которых относятся и процессы морфогенеза. В этой связи представляет интерес исследовать адаптационные стратегии культивируемых клеток, обладающих различной морфогенной способностью.

Морфогенные каллусы (МК) гречихи татарской способны к длительному сохранению регенерационной способности и неморфогенные клоны в них выщепляются исключительно редко (6). При этом неморфогенные клоны можно отобрать и культивировать отдельно как самостоятельную линию.

Показано, что неморфогенные каллусы (НК) гречихи характеризуются увеличенным содержанием перекиси водорода и малонового диальдегида (МДА) по сравнению с исходными морфогенными культурами, тем не менее, прирост биомассы и митотический индекс НК значительно выше по сравнению с МК. В НК отмечается высокая активность супероксиддисмутазы (СОД) и аскорбатпероксидазы (АПО) и низкая активность каталазы по сравнению с морфогенными культурами. Кроме того, соотношение восстановленной формы глутатиона к окисленной в НК всегда ниже, чем в МК. МК, напротив, характеризуются низким содержанием перекиси водорода и МДА, высокой активностью каталазы и низкой активностью СОД и АПО.

Применение ингибитора каталазы 3-амино-1,2,4-триазола (АТ) в качестве индуктора окислительного стресса вызывало гибель НК, тогда как клетки МК сохраняли жизнеспособность. При этом, в случае НК мы наблюдали значительно большее увеличение содержания перекиси водорода под действием АТ по сравнению с МК. Было показано, что антиоксидантные системы клеток морфогенного и неморфогенного каллусов в условиях индукции окислительного стресса функционируют по-разному. НК, так же как и МК, реагирует на стресс запуском защитных механизмов. В первую очередь происходит активация АПО. При этом значительное увеличение активности АПО наблюдается в НК. Тем не менее, этот ответ в клетках НК характеризуется кратковременностью, что, вероятно, не может обеспечить высокой эффективности в устранении перекиси водорода. Тогда как в МК повышенная по сравнению с контролем активность АПО наблюдается в течение 7 сут. Активность глутатионредуктазы в клетках НК также увеличивается, но незначительно по сравнению с МК. Увеличение содержания фенольных соединений при выращивании НК на среде с АТ сопровождается увеличением их антиоксидантной активности, однако общее содержание фенолов остается более низким по сравнению с МК. Соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона в клетках НК при действии АТ снижается и оказывается намного ниже значения в МК. Таким образом, запускаемые неморфогенным каллусом защитные механизмы оказываются малоэффективными, в результате чего в клетках накапливаются высокие концентрации перекиси водорода и МДА и происходит гибель клеток.

Вероятно, морфогенные каллусы гречихи татарской способны с помощью ферментативных и неферментативных механизмов контролировать редокс-метаболизм, что может быть критичным для сохранения морфогенного потенциала. Тогда как неморфогенные культуры способны активно пролиферировать в присутствии повышенного содержания АФК, при этом вероятно, что изменение контроля баланса АФК приводит к потере морфогенной способности и делает неморфогенные культуры более чувствительными к индукции окислительного стресса.

Литература

1. Gaspar Th., Bisbis B., Kevers C. (1998). Atypical metabolisms and biochemical cycles imposing the cancerous state on plant cells. *Plant Growth Regul.* 24: 135–144.
2. Cassells A.C. and Curry R.F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropagators and genetic engineers. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 64: 145–157.
3. Joyce S.M., Cassells A.C., Jain S.M. (2003). Stress and aberrant phenotypes in *in vitro* culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 74: 103–121.
4. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 779–795.
5. Mittler R. (2002). Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405–409.
6. Румянцева Н.И., Валиева А.И., Самохвалова Н.А. (1998). Особенности лигнификации клеточных стенок каллусов гречихи, различающихся по способности к морфогенезу. *Цитология.* 40(10): 835–842.

ADAPTATIVE STRATEGIES OF TATAR BUCKWHEAT CELL CULTURES WITH DIFFERENT MORPHOGENIC ABILITY

Sibgatullina G.V., Khaertdinova L.R., Rumyantseva N.I.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan, Russia
e-mail: kam-guz@yandex.ru

The conditions of in vitro cultivation are stressful to cells, as are associated with exposure, both physical and chemical factors: wounding of explants, suboptimal concentrations of hormones, their combination, the presence of iron and other prooxidants in the culture medium, osmotic shock, etc. (1, 2, 3). These effects and the conditions often exceed the limits of the initial reaction rate of the donor plant. In such circumstances, likely to excessive accumulation of reactive oxygen species (ROS), since oxidative stress is the most common reaction of cells to different effects. For the existence in conditions that increase the content of ROS, the cell can adapt in different ways, for example, reduce the level of ROS with the antioxidant systems, or conversely, to adapt to live in conditions of high ROS background. In this case, it should be noted that the level of ROS affects the redox status of cells and subsequently affects the regulation of many processes in the cell (4, 5), which include processes of morphogenesis. In this connection it is of interest to investigate the adaptive strategies of cultured cells with different morphogenic ability.

Morphogenic calli (MC) of Tatar buckwheat are capable of long-term preservation of the regenerative capacity and nonmorphogenic clones in their excise extremely rare (6). At the same time nonmorphogenic clones can be selected and cultured separately as an independent line.

It was shown that nonmorphogenic calli (NC) of buckwheat are characterized by increased content of hydrogen peroxide and malondialdehyde (MDA), as compared with the initial morphogenic cultures, however, biomass growth and mitotic activity of NC are significantly higher in comparison with MC. In NC there is a high activity of superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (Apx) and low catalase activity in comparison with the morphogenic cultures. In addition, the ratio of reduced to oxidized glutathione in NC is always lower than in MC. MC, in contrast, are characterized by low content of hydrogen peroxide and MDA, the high activity of catalase and low activity of SOD and Apx.

An inducer of oxidative stress catalase inhibitor 3-amino-1,2,4-triazole (AT) caused the death of NC, whereas MC cells remained viable. Thus, in the case of NC, we observed a significantly greater increase in hydrogen peroxide content under the influence of AT compared to MC. It was shown that the antioxidant system of morphogenic and nonmorphogenic calli cells function differently in oxidative stress conditions. NC, as well as MC responds to stress with activation of protective mechanisms. The first is the Apx activation. A significant increase in Apx activity is observed in NC. However, this response is short-term, which probably can not provide high efficiency in hydrogen peroxide removing. While in MC increased activity of Apx compared to control observed for 7 days. The activity of glutathione reductase in NC cells also increased, but only slightly compared to MC. The increase of phenolic compounds in NC grown on medium with AT is accompanied by an increase in their antioxidant activity, but the total content of phenols is lower compared to MC. Ratio of reduced and oxidized forms of glutathione in NC cells under AT action is reduced and is much lower than in the MC. Thus, in nonmorphogenic calli defense mechanisms are ineffective, resulting in high concentrations of hydrogen peroxide and MDA accumulation in calli and cell death occurs.

Probably morphogenic calli of Tatar buckwheat capable to use enzymatic and non-enzymatic mechanisms to control the redox metabolism, which may be critical for the realisation of morphogenic ability. While nonmorphogenic culture can actively proliferate in the presence of high content of ROS, thus, the lack of control of ROS balance lead to loss of morphogenic activity and make nonmorphogenic cultures more sensitive to the induction of oxidative stress.

References

1. Gaspar Th., Bisbis B., Kevers C. (1998). Atypical metabolisms and biochemical cycles imposing the cancerous state on plant cells. *Plant Growth Regul.* 24: 135-144.
2. Cassells A.C. and Curry R.F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropagators and genetic engineers. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 64: 145-157.
3. Joyce S.M., Cassells A.C., Jain S.M. (2003). Stress and aberrant phenotypes in *in vitro* culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 74: 103-121.
4. Dat J., Vandenberghe S., Vranova E. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 779-795.
5. Mittler R. (2002). Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-409.
6. Rumyantseva, N.I., Valieva, A. I., Samokhvalova, N. A., Mukhitov, A. R., Ageeva, M. V., and Lozovaya, V. V. (1998). Peculiarities of lignification of cell walls of buckwheat calli with different morphogenic ability. *Tsitologiya.* 40 (10): 835-842.

КИНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД В КОМЕТНОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗЕ КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ТОПОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ДНК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ КЛЕТОК

Сиволоб А.В.

Кафедра общей и молекулярной генетики, Национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: sivolob@univ.kiev.ua

При электрофореze изолированных клеток (кометном электрофореze) ДНК лизированных клеток (нуклеоидов) вытягивается к аноду, формируя трек, напоминающий хвост кометы. Мы применили предложенный нами ранее [1] кинетический подход для измерения относительного содержания ДНК в хвостах в зависимости от времени в присутствии различных концентраций широко используемого интеркалятора – хлорокина. Мы показали, что, при определенных невысоких концентрациях, интеркаляция хлорокина существенно ускоряет формирование кометных хвостов. В то же время, некоторая часть ДНК нуклеоидов (около 8%) выходит очень быстро независимо от наличия хлорокина, тогда как большая часть ДНК (около трех четвертей) не выходит вообще. При высоких концентрациях интеркалятор увеличивает фракцию ДНК, неспособную к выходу. Наши результаты указывают, что петлевые домены, содержащие от одной до нескольких сотен килобаз, составляют только небольшую часть (около четверти) ДНК в ядре. Интеркаляция вызывает отсоединение этих петель от ядерного матрикса.

Наши результаты подтверждают, что при нейтральном кометном электрофореze вызванная интеркаляцией релаксация отрицательной сверхспирализации нуклеоидов существенно ускоряет формирование кометного хвоста. Когда зависимость от интеркаляции релаксация завершена (при определенной концентрации интеркалятора) такое ускорение достигает максимума; при более высоких концентрациях интеркалятор создает затруднения для образования хвоста и максимальное содержание ДНК в хвостах становится недостижимым. Кинетика образования кометных хвостов в присутствии интеркаляторов может быть использована для оценки топологического состояния (уровня сверхспирализации) ДНК в ядрах различных клеток при различных функциональных состояниях. Хлорокин можно рассматривать как один из наиболее подходящих для этой цели интеркаляторов.

Литература

1. Afanasieva K., Zazhytska M. and Sivolob A. (2010) Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: loops and fragments. *Electrophoresis* 31: 512–519.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

KINETIC APPROACH IN THE COMET ASSAY AS A TOOL TO ESTIMATE TOPOLOGICAL STATUS OF DNA AT DIFFERENT FUNCTIONAL STATES OF CELLS

Sivolob A.V.

Department of General and Molecular Genetics, Taras Shevchenko National University, Kiev, Ukraine.
e-mail: sivolob@univ.kiev.ua

In single-cell gel electrophoresis (the comet assay) the DNA of lysed cells (the nucleoids) extends towards the anode in a track resembling a comet tail. We used the kinetic approach proposed earlier by us [1] to measure the relative amount of DNA in the comet tails as a function of time in the presence of different concentrations of chloroquine, a widely used intercalator. We have shown that, at given small concentrations, intercalation of chloroquine strongly facilitates the comet tail formation. At the same time, some part of DNA (about 8%) in the nucleoids exits very fast independently on chloroquine, while the largest part of DNA (about three quarters) does not exit at all. At high concentrations the intercalator increases the fraction of DNA, which cannot exit. Our results imply that the loop domains, which contain about one to several hundreds kilobases, represent only a small part (about a quarter) of DNA in the nucleus. The intercalation induces detachment of these loops from the nuclear matrix.

Our results confirmed that in the neutral comet assay a relaxation of DNA negative supercoiling in nucleoids due to intercalation strongly facilitates the comet tail formation. When the intercalation dependent relaxation is complete (at a given concentration of an intercalator) the facilitation reaches a maximum; at higher concentrations the intercalator creates a hindrance for the tail formation, so that the maximum level of DNA in the tails becomes inaccessible. The kinetics of the comet tail formation in the presence of an intercalator can be used to estimate the topological state (the supercoiling level) of DNA in nuclei of different cells in different functional states. Chloroquin may be considered as one of the most suitable intercalators for this purpose.

References:

1. Afanasieva K., Zazhytska M. and Sivolob A. (2010) Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: loops and fragments. *Electrophoresis* 31: 512–519.

АДАПТАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ У *ARABIDOPSIS THALIANA* И *THELLUNGIELLA HALOPHILA* ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ

Соколов О.И., Наумова Т.С., Соколова М.К.

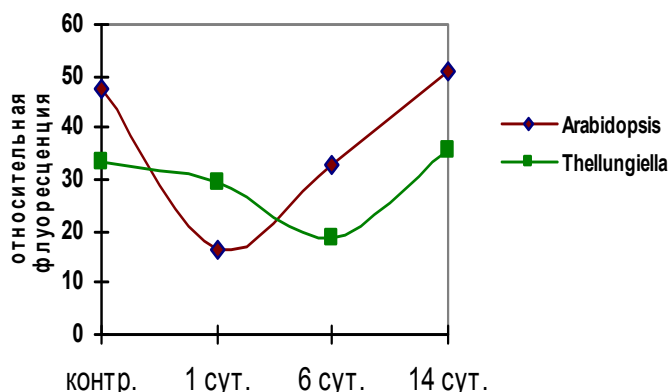
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия
e-mail: sokolov@ibppm.sgu.ru

Проведен сравнительный анализ организации и динамики содержания основного цитоскелетного белка - F-актина в клетках суспензионных культур *Arabidopsis thaliana* и *Thellungiella halophila* при холодном стрессе. Следует отметить, что растение *T. halophila* является близким родственником *Arabidopsis thaliana* (сем. *Cruciferae*). Согласно EST-анализу, теллунгиелла проявляет 90-95% нуклеотидную идентичность транскриптов известных видоспецифичных генов (Inan *et al.* 2004). Несмотря на близкое генетическое родство и очень близкие морфологические параметры эти два вида растений существенно отличаются по своей физиологии. В частности, в отличие от арабидопсиса, теллунгиелла устойчива к экстремально низким температурам, засухе, засоленности и недостатку азота. Преимуществом выбранной пары растений является то, что можно проводить непосредственное сравнение морфологических и биохимических параметров с помощью специфических зондов и конфокальной лазерной микроскопии (Leica TCS SP5), и получать данные об устойчивости или реакциях обоих видов на различные типы стрессов. Одним из интегральных параметров оценки реакции клеток растений на те, или иные стрессовые условия может служить поведение актинового цитоскелета, а также ассоциированного с ним сложного и динамичного комплекса актин-связывающих белков.

В работе использовали суспензионные культуры клеток *Arabidopsis thaliana* (Heynh.) Col-0 (экотип Columbia), и *Thellungiella halophila* (Meu.) (экотип Якутск), выращенные на жидких модифицированных средах при 25-26°C в темноте. Суспензионные культуры получены и любезно предоставлены Носовым А.В. (ИФР РАН). Для оценки количественных изменений и последующей реорганизации актиновой сети, мы подвергали клетки длительному (14 суток) холодному (4°C) стрессу.

В клетках *A. thaliana*, культивируемых при комнатной температуре (контроль), хорошо выражена система актинового цитоскелета. Для них характерна мощная кортикальная сеть F-актина и под ней почти не просматриваются отдельные тяжи и нити, но у молодых клеток кортикальная сеть менее выражена и присутствует большое количество транзитоплазматических тяжей. У зрелых клеток хорошо выражена локализация полимерного актина вокруг ядра. После 24 часов холодного стресса в клетках практически не наблюдается выраженная актиновая сеть и F-актина остается ~34% от контроля. После 6-и суток стресса относительное содержание F-актина частично восстанавливается и составляет ~68%. К 14-м суткам стресса относительное содержание F-актина практически восстанавливаются до исходных значений, а его организация становится близкой к контролю.

В клетках *T. halophila*, культивируемых при комнатной температуре (контроль), актиновый цитоскелет находится в более «диффузном», по сравнению с клетками *A. thaliana* состоянии. В клетках теллунгиеллы он деполимеризуется к 6-м суткам холодного стресса, но к 14-м суткам восстанавливается. Реакция клеток суспензионной культуры *T. halophila* на холодный стресс существенно отличается от реакции клеток *A. thaliana*. Резистентность актинового цитоскелета клеток *T. halophila* выше, чем клеток *A. thaliana*. Минимальное содержание F-актина в клетках *T. halophila* наблюдается только к 6-м суткам холодного стресса и составляет ~54%.



Таким образом, у клеток суспензионной культуры *A. thaliana* происходит быстрое, в течение одних суток, разрушение актинового цитоскелета (~66%), а его сборка начинается уже со 2-х суток, с последующим плавным восстановлением к 14-м суткам. В то время как у клеток *T. halophila* существенная деполимеризация актинового цитоскелета наступает только к 6-м суткам. При этом относительная деполимеризация или деградация не столь выражена по сравнению с *Arabidopsis* (~46%), что свидетельствует о его большей устойчивости к холодному стрессу. После 6-и суток скорость его восстановления

(сборка) происходит намного быстрее, что свидетельствует о более быстрой адаптации. Открытым остается вопрос о динамике пула мономерного или G-актина и синтеза этого белка *de novo* после снятия стрессовой нагрузки. Предполагается, что на основании данных о скорости разборки и восстановления актинового цитоскелета можно проводить оценку устойчивости растений к стрессовым условиям.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION PROCESSES IN *ARABIDOPSIS THALIANA* AND *THELLUNGIELLA HALOPHILA* AT PROLONGED COLD STRESS

Sokolov O.I. Naumova T.S. Sokolova M.K.

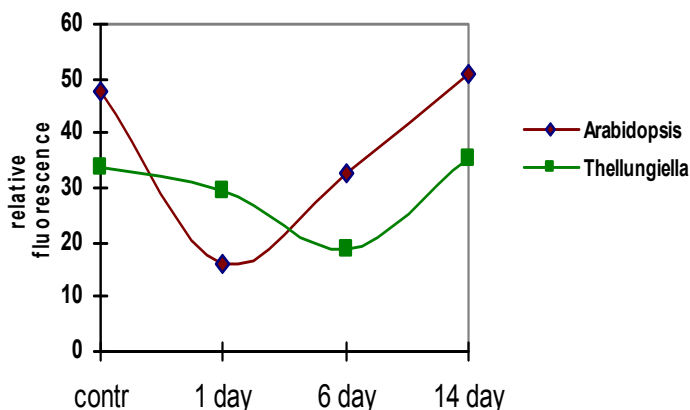
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS, Saratov, Russia
e-mail: sokolov@ibppm.sgu.ru

A comparative analysis was made of the organization and content dynamics of the major cytoskeletal protein, F-actin, in cells *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila* at cold stress. It should be noted that the plant *T. Halophila* is a close relative of *A. Talliana* (Cruciferae). According to EST analysis, *Thellungiella* shows 90-95% nucleotide identity of transcripts of known species-specific genes (Inan *et al.* 2004). Despite the close genetic relationship and very close morphological parameters these two plant species differ substantially in their physiology. In particular by contrast with *Arabidopsis*, *Thellungiella* is resistant to extremely low temperatures, drought, salinity and nitrogen shortage. The strong point of the chosen pair of plants is that it is possible to directly compare morphological and biochemical parameters by using specific fluorescent probes and confocal laser microscopy (Leica TCS SP5), obtaining data on the resistance or responses of both species to various types of stress. One of the integral parameters to use for assessing plant cell response to particular stress conditions is the behavior of the actin cytoskeleton and of the dynamic complex of actin-binding proteins that associated with it.

In this work, we used suspension cultures of cells of *A. Talliana* (Heynh.) Col-O (Columbia ecotype) and *T. Halophila* (Mey.) (Yakutsk ecotype), which were grown in liquid modified media at 25-26°C in the dark. The suspension cultures were courtesy of A.V. Nosov (Institute of Plant Physiology, RAS). For evaluating quantitative changes and the subsequent reorganization of the actin network, the cells were subjected to prolonged (up to 14 days) cold (4°C) stress.

In *A. Talliana* cells grown at room temperature (control), the actin cytoskeletal system is clearly defined. The cells have a vigorous cortical network of F-actin, under which individual threads almost cannot be seen. In young cells the cortical network is less pronounced, and a large number of transcytoplasmic threads are present. Mature cells demonstrate clearly defined localization of polymeric actin around the nucleus. After 24h of cold stress, there is almost no defined network to be observed and the remaining amount of F-actin is ~34% of the control. After 6 days of stress, the relative content of F-actin is partly restored, accounting for ~68%. By day 14 of stress, the relative content of F-actin is almost restored to the initial values and its organization becomes similar to that of the control.

In *T. Halophila* cells grown at room temperature (control), the actin cytoskeleton is in a more "diffuse" state, as compared with that in *A. Talliana*. It becomes depolymerized by day 6 of cold stress but is restored by day 14. The response of the *T. Halophila* suspension culture cells to cold stress differs essentially from that of *A. Talliana*. The resistance of the actin cytoskeleton of *T. Halophila* cells is greater than that of *A. Talliana* cells. Minimal content of F-actin in *T. Halophila* is observed only by day 6 of cold stress, according for ~54%.



In summary, in cells of *A. Talliana* suspension culture, there occurs rapid (within a day) destruction of the actin cytoskeleton (~66%), and its assembly begins as early as on day 2, with the subsequent smooth restoration by day 14. By contrast, in *T. Halophila* cells, substantial depolymerization of the actin cytoskeleton begins only by day 6. The relative depolymerization or degradation is not as pronounced as it is in *A. Talliana* (~46%), affecting to a greater resistance of *T. Halophila* to cold stress. After 6 days, its restoration (assembly) proceeds much faster, indicating the plant's more rapid adaptation. The question as to the

dynamics of the pool of monomeric or G-actin and the synthesis of this protein *de novo* after removal of stress remains open. It is speculated that on the basis of the data on the role of disassembly and restoration of the actin cytoskeleton, it is possible to assess plant resistance to stress conditions.

ВОЗМОЖНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОМПОНЕНТЫ ПРОЦЕССА АДАПТАЦИИ

Соколова Д.А, Венгжен Г.С., Кравец А.П.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Исследование развития реакции организмов на повторяющиеся воздействия находится в центре внимания ряда биологических и медицинских дисциплин. В радиобиологии этот вопрос широко исследуется при изучении эффектов фракционированного облучения и адаптивного ответа. Несмотря на богатый феноменологический материал, полученный в этих исследованиях, системные механизмы изменения радиочувствительности – как ее снижения (адаптации), так и повышения (радиосенсибилизации) остаются малоизученными. Современная радиобиология располагает обширными данными о конститутивных и индуцибельных механизмах защиты и восстановления биологических систем от радиационных воздействий. Однако потенциал каждого из них и взаимосвязь в формировании пострадиационного системного ответа остается мало изученной. Один из возможных подходов к оценке включения индуцибельных механизмов и их роли в изменении радиочувствительности биологических систем связан с изучением изменений профилей метилирования транскрибируемой части ДНК.

Известно, что метилирование, как единственная форма ковалентной модификации ДНК без изменения ее нуклеотидной последовательности, является одним из основных эпигенетических механизмов контроля генной экспрессии [1,2]. Вместе с тем, метилирование является полифункциональным процессом, играя значительную роль и в изменениях стабильности структуры ДНК.

В работе изучена связь изменений выхода хромосомных aberrаций и профиля метилирования в функционально различных частях ДНК при фракционированном УФ-С облучении в дозах 6,2- 9 кДж/м². На основании проведенного статистического анализа выявлены две стратегии восстановления объема меристематической ткани в пострадиационный период (Рис.1).

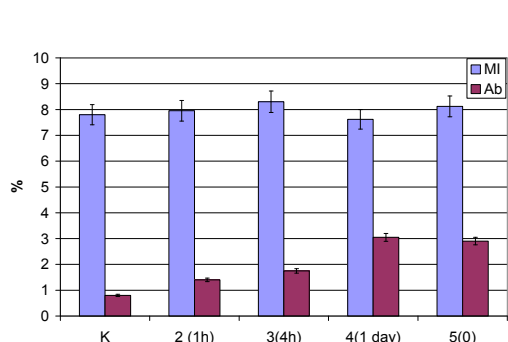


Рис. 1. Митотический индекс и выход хромосомных aberrаций на 4 сутки после фракционированного УФ-С облучения в дозе 7,2 кДж/м² с различными интервалами между фракциями

M₁ 1 2 3 4 5 M₂

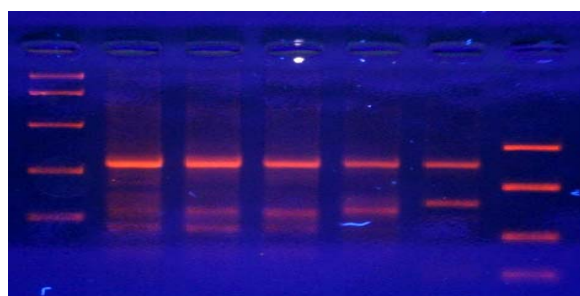


Рис.2 Электрофореграмма разделения продуктов амплификации с ITS праймерами рестриков реакции с HpaII эндонуклеазой; (M₁ – в.м. маркер; 1 – контроль; 2 – интервал между фракциями-1 час; 3 – 4 часа; 4 – 1 сутки; 5 – одномоментное облучение в полной дозе; M₂ – н.м маркер)

Для оценки изменения профиля метилирования функционально различных частей ДНК использован рестрикционный анализ с рестриктазами HpaII, MspI, MboI с последующей постановкой ПЛР с праймерами internal transcribed space - ITS1(19b), ITS4(20b) и inter simple sequence repeat - ISSR(14b). Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в профиле метилирования транскрибируемых и сателлитных частей ДНК при фракционированном облучении и в зависимости от временного интервала между фракциями (Рис 2). Обсуждается возможная роль изменений в профилях метилирования ДНК как в развитии радиационных повреждений, так и в формировании индуцибельных защитных реакции при действии облучения.

Литература

1. Adams R.L.P. (1996) DNA methylation// Principles of Medical Biology. New York, - 5.- p.33-66.2.
2. Тищенко Е.Н., Дубровная О.В. (2004) Эпигенетическая регуляция. Метилирование ДНК генов и трансгенов растений. - К.: Логос - 232 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

POSSIBILITIES FOR DETECTION OF EPIGENETIC MECHANISM CONTRIBUTION TO ADAPTATION

Sokolova D.A., Vengzhen G.S., Kravets A.P.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Science of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Investigation of organisms' reaction to reiterated affects is one of key subject for many biological and medical branches of science. In radiobiology this issue is widely studied under researching effects of fractionated irradiation and adaptive response. In spite of great phenomenological material, the mechanisms of changing radio sensitivity are insufficiently known. Currently radiobiology disposes of extensive information about the constitutive and inducible protection and repair mechanisms. However, its potential and correlation in forming post-radiation system response is still not understood. One of the approaches for assessment of inducible mechanisms and their functions in radiosensitivity formation is associated with investigation of methylation pattern in transcribed DNA changes.

Methylation is a unique form of covalent DNA modification; it occurs without alterations in nucleotide sequences. Also it is one of basic epigenetic mechanisms in controlling gene expression [1,2]. At the same time, methylation is a polyfunctional process implicated in the DNA structure stabilization.

The report is devoted to the results of studying correlations between changes in methylation pattern of functionally different DNA parts and chromosomal aberrations' yield under fractionated UV-C total exposure of maize seedlings.

Two ways of meristematic tissue renewal after irradiation have been revealed on the grounds of statistical analysis.

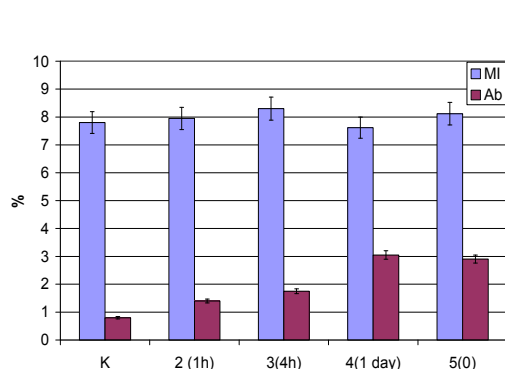


Fig. 1. Mitotic index and chromosomal aberrations' yield at fractionating UV - C irradiation in the dose of 7,2 kJ/m2 with different intervals between factions. 2 -1 hour interval between factions; 3 - 4 hours; 4 - twenty-four hours; 5 - irradiation in a total dose

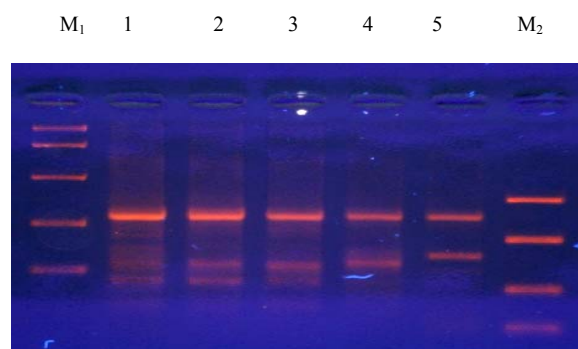


Fig. 2. Electrophorogramme of ITS- amplification of HpaII enzyme reaction products (M₁ high - molecular marker; 1 - control; 2 -1 hour interval between factions; 3 - 4 hours; 4 - twenty-four hours; 5 - irradiation in a total dose; M₂ - low-molecular marker)

To estimate changes in methylation pattern of functionally different DNA parts the restriction analysis was carried out. Three types of restriction enzymes were used: HpaII, MspI and MboI. The restriction reaction was followed by PCR with primers: internal transcribed spacer - ITS1 (19b), ITS4(20b) and inter simple sequence repeat - ISSR(14b). Obtained data indicate specific changes in methylation pattern of transcribed and satellite DNA parts under fractionated irradiation with various times between fractions. Possible role of these changes in progressing irradiation damage and generation inducible protection reactions is discussed.

References

3. Adams R.L.P. (1996) DNA methylation// Principles of Medical Biology. New York, - 5 - p.33-66.2.
4. Тищенко Е.Н., Дубровная О.В. (2004)Эпигенетическая регуляция. Метилирование ДНК генов и трансгенов растений. - К.: Логос - 232 с.

БИОХИМИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ КОМНАТНОЙ МУХИ К БИТОКСИБАЦИЛЛИНУ

Соколянская М.П.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской Академии Наук, Уфа, Россия
e-mail: sokolyanskaya-m@yandex.ru

В результате длительного или многократного действия на организм факторов внешней среды развивается долговременная адаптационная реакция, примером которой может служить формирование устойчивости (резистентности) насекомых к применяемым в сельском и лесном хозяйствах инсектицидам. Эта устойчивость может формироваться за счет различных изменений в организме насекомых.

Физиологическая резистентность обусловлена уменьшением проницаемости кутикулы насекомых для инсектицидов. Например, уровень проникновения меченого лямбда-цигалотрина через кутикулу гусениц резистентной к этому пиретроиду линии помидорной совки составлял 55% от уровня проникновения через кутикулу гусениц чувствительной линии (1). Часто механизм уменьшенной проницаемости действует в совокупности с другими механизмами резистентности. Например, у табачной совки, резистентной к фосфорорганическим инсектицидам, в механизм резистентности включаются также изменение экскреции и ускорение метаболизма жиров (2).

Некоторые насекомые инстинктивно избегают токсические вещества. Описаны постельные клопы, которые избегали поверхности, обработанные дельтаметрином (3).

Но наиболее распространенный механизм формирования резистентности связан с увеличением активности детоксицирующих ферментов – это биохимический механизм устойчивости к инсектицидам. В детоксикации инсектицидов принимают участие, в основном, три ферментные системы: микросомальные монооксигеназы со смешанной функцией с цитохромом Р-450 в качестве центрального звена; неспецифические эстеразы и глутатион-S-трансферазы. Кроме того, в зависимости от класса инсектицида, в его детоксикации могут принимать участие и другие ферменты. Например, в инактивации фосфорорганических соединений немаловажную роль играет ацетилхолинэстераза, а микробиологических препаратов – протеиназы.

Так как основным действующим веществом микробиологических препаратов на основе бактерии *Bacillus thuringiensis* являются эндотоксины белковой природы, то основное внимание исследователей при изучении биохимических механизмов резистентности к этим препаратам сосредоточено на изучении вклада протеиназ. Наши исследования показали, что и другие ферменты принимают участие в процессе формирования резистентности. Мы селектировали личинок комнатной мухи в течение 40 поколений микробиологическим инсектицидом битоксибациллином (БТБ) и определяли активность двух гидролитических ферментов – кислой фосфатазы и неспецифических эстераз в каждом пятом поколении. Активность неспецифических эстераз (рис.) значительно увеличилась на начальных этапах селекции, а затем уменьшилась, видимо, передавая защитную функцию другим ферментам. Аналогичное явление наблюдалось нами ранее при селекции комнатной мухи фосфорорганическими инсектицидами и пиретроидами (4). Активность кислой фосфатазы также увеличилась, но в гораздо меньшей степени, что свидетельствует о меньшей роли этого фермента в формировании устойчивости к БТБ. Для изучения органной локализации ферментов определяли их активность в гомогенатах отдельных органов и частей тела препарированных личинок. И кислая фосфатаза, и неспецифические эстеразы были наиболее активны в кишечнике и покровах. В этой линии, скорее всего, изученные нами ферменты определяют неспецифическую устойчивость комнатной мухи, что подтверждается данными о наличии кросс-резистентности этих мух к воздействию низкой температурой и некоторым инсектицидам.

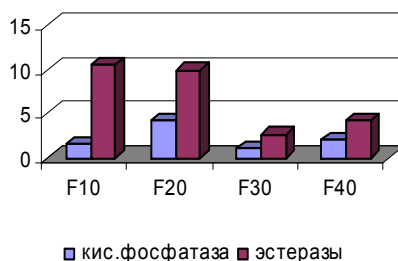


Рис. Изменение активности гидролаз в процессе селекции личинок комнатной мухи битоксибациллином (данные нормированы по чувствительной линии).

Литература

1. Liu Y.-J., Shen J.-L. (2003). Проникновение сквозь кутикулу как механизм резистентности *Spodoptera exigua* к лямбда-цигалотрину // Kunchong xuebao=Acta entomol. sin. 46(3): 288-291.
2. Witten C.J., Bull D.L. (1978). Metabolism and absorption of methyl parathion by tobacco budworms resistant or susceptible to organophosphorus insecticides // Pestic. Biochem. and Physiol. 9(2):196-202.
3. Romero A., Potter M., Haynes K. (2009). Behavioral Responses of the Bed Bug to Insecticide Residues // J. Med. Entomol. 46(1): 51-57.
4. Соколянская М.П., Амирханов Д.В. (2008). Динамика формирования резистентности комнатной мухи к инсектицидам из разных химических классов // Вестник защиты растений. С-Пб. 4: 22-32.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOCHEMICAL ADAPTATION OF THE HOUSEFLY TO BITOXIBACILLIN

Sokolyanskaya M.P.

Institute of biochemistry and genetics of the Ufa scientific center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia
e-mail: sokolyanskaya-m@yandex.ru

As a result of long or repeated action on an organism of factors of environment the long-term adaptable reaction develops and formation of stability (resistance) of insects to applied in agriculture and forestry insecticides can serve example. This resistance can be formed at the expense of various changes in an organism of insects.

Physiological resistance is caused by reduction of permeability of a cuticle of insects for insecticides. For example, level of penetration marked a lambda-cyhalothrin through a cuticle of caterpillars resistant to this pyrethroid of strain of tomato scoops is 55 % from penetration level through a cuticle of caterpillars of the sensitive strain (1). Often the mechanism of the reduced permeability operates in aggregate with other mechanisms of resistance. For example, in tobacco scoops, resistant to organophosphate insecticides, change of an excretion and acceleration of a metabolism of fats include in the mechanism of resistance also (2).

Some insects avoid toxic substances instinctively: bed bugs are described which avoided a surface, processed by deltamethrin (3).

But the most widespread mechanism of formation of resistance is connected with increase in activity of detoxify enzymes – there is a biochemical mechanism of resistance to insecticides. Three ferment systems take part in a detoxication of insecticides, generally: microsomal monooxygenases with the mixed function with P-450 cytochrome as the central link; nonspecific esterases and glutation-S-transferases. Besides, and other enzymes can take part in detoxication. It is depended on insecticide class. For example, acetylcholinesterase plays an important role in an inactivation of organophosphates and proteinases – in an inactivation of microbiological preparations.

As the main active ingredient of microbiological preparations on the basis of a bacterium of *Bacillus thuringiensis* are endotoxins of the protein nature, the main attention of researchers at studying of biochemical mechanisms of resistance to these preparations is concentrated to studying of a contribution of proteinases. Our researches showed, that other enzymes take part in process of formation of resistance to bacterium insecticides. We selected larvae of a housefly during 40 generations by a microbiological insecticide bitoxibacillin (BTB) and determined activity of two hydrolytic enzymes - acid phosphatase and nonspecific esterases in every fifth generation. Activity of nonspecific esterases (fig.) considerably increased at the initial stages of selection, and then decreased, probably, transferring protective function to other enzymes. The similar phenomenon was observed by us earlier at selection of a housefly by organophosphate insecticides and pyrethroids (4). Activity of acid phosphatase also increased, but in much smaller degree that shows a smaller role of this enzyme in formation of resistance to BTB. For studying of organ localization of enzymes we defined their activity in homogenate of separate bodies and parts of a body of the prepared larvae. Both acid phosphatase, and nonspecific esterases were more active in intestines and covers. In this strain, most likely, the enzymes studied by us define nonspecific resistance of a housefly that supported by data on existence of cross-resistance of these flies to influence in low temperature and some insecticides.

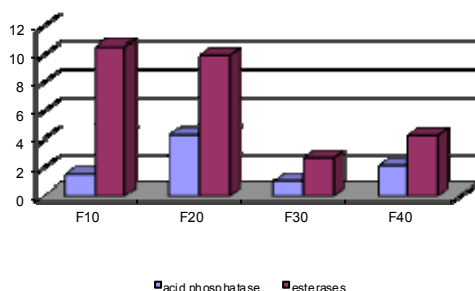


Fig. Change activity of hydrolytic enzymes in the process of selection of housefly larvae by bitoxibacillin (data are normalized to the sensitive strain).

References

1. Liu Y.-J., Shen J.L. (2003). Penetration through a cuticle as the mechanism of resistance of *Spodoptera exigua* to a lambda-cyhalothrin//Kunchong xuebao=Acta entomol. sin. 46(3): 288-291.
2. Witten C.J., Bull D.L. (1978). Metabolism and absorption of methyl parathion by tobacco budworms resistant or susceptible to organophosphorus insecticides. Pestic. Biochem. and Physiol. 9 (2):196-202.
3. Romero A., Potter M., Haynes K. (2009). Responses of the Bed Bug to Insecticide Residues. J. Med. Entomol. 46 (1): 51-57.
4. Sokolyanskaya M.P., Amirkhanov D.V. (2008). Dynamics of formation of resistance of a housefly to insecticides from different chemical classes. Messenger of protection of plants. S-Pb. 4: 22-32.

АДАПТАЦИЯ *MUSCA DOMESTICA* К ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Соколянская М.П.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской Академии Наук, Уфа, Россия
e-mail: sokolyanskaya-m@yandex.ru

Жизнь пойкилотермных организмов при меняющихся температурах ведет к формированию адаптационных механизмов, которые значительно расширяют ее “температурные пределы”. У каждого организма есть своя оптимальная температура для развития. У комнатной мухи *Musca domestica* она составляет +25-28°C. Мы изучали возможность формирования устойчивости комнатной мухи к высокой температуре и некоторые биохимические и физиологические изменения, происходящие при этом в организме насекомого.

Исследования проводились на личинках III возраста комнатной мухи *Musca domestica*. При селекции высокими температурами стаканы с кормом и личинками выдерживали 30 мин в термостате при повышенных температурах, начиная с 35°C. В каждой последующей селекции температуру изменяли на 1-5°C в зависимости от выживаемости личинок. Затем стаканы содержали при 25°C, учет проводили после вылета имаго. При определении уровня резистентности учитывали процент выживаемости личинок при 60°C. Полученные данные свидетельствуют о возможности формирования устойчивости комнатной мухи к высокой температуре: если в F₅ – F₁₅ выживаемость личинок при этой экстремально высокой температуре была равна 0, то, начиная с 20-го поколения, зарегистрирована их 40%-ная выживаемость. Более того, с этого же поколения более 30% личинок выживали и при +65°C.

Известно, что в устойчивости организмов к высокой температуре значительную роль играют белки теплового шока. Мы попытались оценить вклад в этот процесс детоксицирующих ферментов – неспецифических эстераз и кислой фосфатазы. Активность этих ферментов у личинок мух, селектированных высокой температурой, в целом возрастает в процессе формирования резистентности. Особенно это касается неспецифических эстераз, как и в случае селекции мух инсектицидами. Видимо, ферменты гидролазного комплекса играют определенную роль и в увеличении резистентности личинок мух данной линии к повышенной температуре.

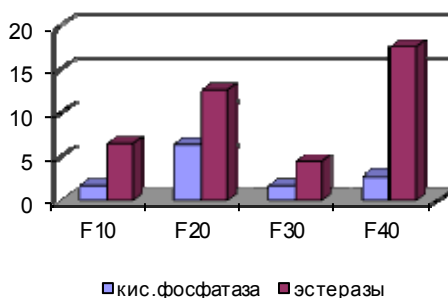


Рис. Изменение активности гидролитических ферментов у комнатных мух в процессе селекции высокой температурой в общем гомогенате (нормировано по чувствительной линии).

В процессе селекции произошли и физиологические адаптации. Скорость развития в селектированной линии была достоверно выше, чем в чувствительной. Это свидетельствует о том, что давление стрессора ведет к ускорению онтогенетических процессов. Аналогичное ускорение преимагинального развития при переменной температуре по сравнению с постоянной наблюдалось у клопа-солдатика *Pyrrhocoris apterus* (1). Кроме того, в селектированной линии наблюдалось продление жизни имаго, но в то же время была резко снижена выживаемость на всех преимагинальных стадиях, снизились длительность репродуктивного периода и плодовитость, стал короче период репродуктивного созревания. Приведенные данные показывают, что рост устойчивости к действию стрессора в линии связан со снижением жизнеспособности развивающихся особей. Сходный пример снижения не только уровней выживаемости в онтогенезе, но и плодовитости, сопровождавшего приобретение устойчивости к фосфорорганическим и карбаматным инсектицидам, известен для линий рисовой цикадки *Nilaparvata lugens* (2).

Таким образом, формирование устойчивости к тепловому стрессу у личинок комнатной мухи сопровождается увеличением активности гидролитических ферментов, которые, возможно, способствуют ускорению онтогенеза и наступлению метаморфоза.

Литература

1. Numata H., Saulich A.H., Volkovich T.A. (1993). Photoperiodic responses of the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*, under conditions of constant temperature and under thermoperiodic conditions. *Zool. Sci.* 10: 521-527.
2. Liu Z., Han Z., Wang Y. (2001). Кросс-резистентность и сравнительная биологическая приспособленность линий *Nilaparvata lugens*, резистентных к метамифосу и малатиону. *J. Nanjing Agr. Univ.* 24(4): 37-40.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF *MUSCA DOMESTICA* TO HIGH TEMPERATURE

Sokolyanskaya M.P.

Institute of biochemistry and genetics of the Ufa scientific center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia.
e-mail: sokolyanskaya-m@yandex.ru

Life of poikilothermy organisms at changing temperatures conducts to formation of adaptable mechanisms which considerably expand its "temperature limits". Each organism has the optimum temperature for development. It makes +25-28°C in a housefly *Musca domestica*. We studied possibility of forming of resistance of a housefly to high temperature and some biochemical and physiological changes occurring thus in an organism of an insect.

Researches were carried out on larvae of the III age of a housefly of *Musca domestica*. At selection by high temperatures glasses with a forage and larvae were maintained 30 min in the thermostat at the increased temperatures, since 35°C. Temperature was changed on 1-5°C depending on survival rate of larvae in each subsequent selection. Then glasses were contained at 25°C, the account was carried out after an imago departure. At definition of level of resistance considered percent of survival rate of larvae at 60°C. The obtained data testify about of possibility of formation of resistance of a housefly to high temperature: if the survival rate of larvae at this extremely high temperature was equal 0– in F₅₋₁₅, that, since the 20th generation, the survival rate was registered their 40 %-survive. Moreover, from the same generation more than 30 % of larvae survived and at +65°C.

It is known that protein of thermal shock play the significant role in the resistance of organisms to high temperature. We tried to estimate a contribution in this process of detoxify enzymes - nonspecific esterases and acid phosphatase. Activity of these enzymes in larvae of flies, selected by high temperature, in a whole increased in process of formation of resistance (fig.). Especially it concerns nonspecific esterases, as well as in case of selection of flies by insecticides. Probably, enzymes of a hydrolase complex play a part and in increase of resistance of flies larvae in this strain to the increased temperature.

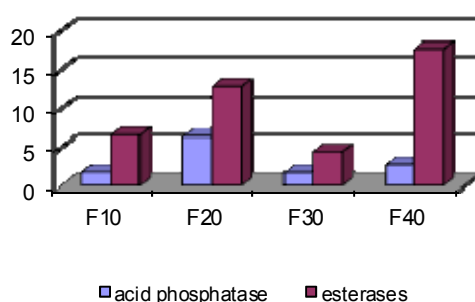


Fig. Change of activity of hydrolytic enzymes in houseflies in the process of selection by high temperature in general homogenate (data are normalized to the sensitive strain).

There were also physiological adaptations in the process of selection. Speed of development in the selected strain was authentically above, than in sensitive strain. It testifies that pressure of a stressor conducts to acceleration of ontogenetic processes. Similar acceleration of preimaginal development at variable temperature in comparison with a constant was observed in firebug *Pyrrhocoris apterus* (1). Besides extension of life of imago was observed, in the selected strain, but the survival rate at all preimaginal stages at the same time was sharply reduced, duration of the reproductive period and fertility decreased, the period of reproductive maturing became shorter. The provided data show that growth of resistance to stressor action in the strain is connected with decrease in viability of developing individuals. The similar example of decrease not only survival rate levels in ontogenesis, but also the fertility, accompanying acquisition of stability to organophosphate and carbamate insecticides, is known for strains of a brown planthopper of *Nilaparvata lugens* (2).

Thus, the formation of resistance to a thermal stress in larvae of a housefly is accompanied by increase in activity of hydrolytic enzymes which, probably, promote to acceleration ontogenesis and approach a metamorphosis.

References

1. Numata H., Saulich A.H., Volkovich T.A. (1993). Photoperiodic responses of the firebug, *Pyrrhocoris apterus*, under conditions of constant temperature and under thermoperiodic conditions. Zool. Sci. 10: 521-527.
2. Liu Z., Han Z., Wang Y. (2001). Cross-resistance and comparative biological fitness of the *Nilaparvata lugens* strains, resistant to metamidophos и malathion. J. Nanjing Agr. Univ. 24(4): 37-40.

АДАПТАЦІЯ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ДО ДЕФІЦИТУ ФОСФОРУ ЗА УМОВ ПЕРЕДПОСІВНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ НАСІННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ З ФОСФАТМОБІЛІЗУВАЛЬНОЮ ЗДАТНІСТЮ

Стороженко В.О., Светлова Н.Б., Улинець В.З., Серга О.І.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», Київ, Україна
e-mail: vstoro@ukr.net

Оптимізація вирощування рослин озимої пшениці та отримання сталих врожаїв цієї стратегічної для нашої держави культури в умовах дефіциту фосфору є важливим завданням для агропромислового сектору. Розробка нових екологічно безпечних технологій покращення фосфорного живлення рослин базується на застосуванні препаратів на основі мікроорганізмів, які здатні до метаболічного перетворення важкорозчинних ґрунтових фосфатів у легкорозчинні форми.

Метою нашої роботи стало дослідження фізіологічного стану рослин озимої пшениці за умов дефіциту доступного фосфору в ґрунті та застосуванні бактеріальних препаратів, виготовлених на основі культур вищенаведених бактерій.

Передпосівну бактеризацію насіння проводили шляхом обробки насіння мікробними препаратами на основі бактерій *Paenibacillus polymyxa*, *Achromobacter album*, *Rhizobium radiobacter* (0,5 млн клітин на 1 насінину). Рослини озимої пшениці сорту Поліська 90 вирощували на лучно-чорноземному вилугуваному ґрунті на дослідних ділянках Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН України (м. Чернігів) в умовах підживлення ґрунту суперфосфатом (варіант без передпосівної бактеризації) та без підживлення (контрольний варіант та варіант з передпосівною бактеризацією). Агротехнічна обробка – загальноприйнята для ґрунтово-кліматичних умов Чернігівщини. Відбір рослинного матеріалу проводили у фазі кушіння та цвітіння. Фізіологічний стан рослин оцінювали за морфометричними та фізіолого-біохімічними параметрами. Загальний вміст хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом. Облік урожаю та статистичну обробку результатів проводили за Доспеховим.

Оптимальний вміст фосфатів у рослинній клітині є передумовою підтримання основних фізіологічних і біохімічних процесів у рослинах. Передпосівна обробка насіння пшениці фосфатомобілізувальними препаратами викликала низку адаптивних реакцій рослин, які проявлялися на рівні функціонування фотосинтетичного апарату та, в кінцевому рахунку, спричинювала результируючий ефект – підвищення біопродуктивності рослин.

Зокрема, в наших дослідженнях обробка насіння пшениці препаратом *Achromobacter album* 1122 сприяла збільшенню площі асиміляційної поверхні листків. Позитивного впливу препаратів *Paenibacillus polymyxa* KB, *Rhizobium radiobacter* 1333 та *Rhizobium radiobacter* 5006 на цей параметр у фазі цвітіння не встановлено. Водночас, обробка насіння пшениці вищенаведеними препаратами перешкоджала деструкції хлорофілів *a* і *b* в листках рослин. Обробка насіння *Paenibacillus polymyxa* KB сприяла акумуляції хлорофілів *a* і *b* та каротиноїдів в листках у фазі кушіння та цвітіння.

Бактеризація насіння пшениці всіма досліджуваними препаратами на основі фосфатомобілізувальних бактерій сприяла збереженню співвідношення $хл\ a / хл\ b$ на ранніх етапах органогенезу, а отже, підтриманню оптимального рівня електронного транспорту між ФС I і ФС II в умовах фосфорного голодування. Акумуляція вмісту хлорофілів та суми каротиноїдів в листках рослин, інокульованих *Paenibacillus polymyxa* KB (у фазі кушіння та цвітіння) та *Rhizobium radiobacter* 1333 (у фазі цвітіння) супроводжується зростанням співвідношення $хл\ (a+b)/кар$, що пов'язано з істотною акумуляцією пулу зелених пігментів у листках рослин цих варіантів.

Дослідження впливу *Achromobacter album* 1122 на пігментний комплекс інокульованих рослин не виявило моделюючої дії цих бактерій на вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках пшениці на ранніх етапах органогенезу. У фазі цвітіння встановлене порушення балансу синтезу-розпаду пігментів у рослинах за дії *Achromobacter album* 1122. Трансформації загального пулу пігментів проявлялись у зростанні співвідношення $хл\ (a+b)/кар$. Виявлено позитивний моделюючий вплив на складові пігментної системи рослин бактерій *Paenibacillus polymyxa* KB, *Rhizobium radiobacter* 1333 та *Rhizobium radiobacter* 5006, що проявлялося в акумуляції головних фотосинтетичних пігментів. Водночас, нами була виявлена обернена залежність між вмістом загального пулу фотосинтетичних пігментів та величиною фотоасиміляційної поверхні рослин, оброблених *Achromobacter album* 1122. Зі зменшенням вмісту хлорофілу і каротиноїдів виявлено зростання площі асиміляційної поверхні листків в цьому варіанті, що на нашу думку є певним компенсаторним механізмом, необхідним для підтримання оптимальної роботи фотосинтетичного апарату рослин за умов дефіциту фосфору.

В кінцевому рахунку, збільшення урожайності пшениці озимої за бактеризації насіння фосфатомобілізувальними препаратами знаходилось в межах 0,3-0,8 т/га, а у варіанті з *Rhizobium radiobacter* 5006 врожайність рослин пшениці майже не поступалася врожайності пшениці, вирощеної за оптимального рівня вмісту фосфору у ґрунті.

Отже, передпосівна обробка рослин препаратами на основі фосфатомобілізувальних бактерій індукувала низку адаптивних реакцій рослин, що, у кінцевому рахунку позитивно відобразилося на їх урожайності.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF WINTER WHEAT PLANTS TO PHOSPHORUS DEFICIENCY UNDER PREPLANT BACTERIZATION OF SEEDS WITH PHOSPHATE-MOBILIZING MICROBES

Storozhenko V.O., Svetlova N.B., Ulinets V.Z., Serga O.I.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Education-Scientific Centre "Institute of Biology", Kyiv, Ukraine
e-mail: vstoro@ukr.net

Optimization of plant growing of winter wheat and obtaining of permanent yields of this strategic planting under phosphorus deficiency are important task for agro-industrial sector of our country. Development of new ecologically safe technologies for improvement of phosphorous nutrition of plants based on employment of preparation on the base of microbes, that capable to metabolic transforming of sparingly soluble phosphate in easily soluble forms in soils.

The aim of our work was investigation of physiological state of winter wheat plants under deficiency of available phosphorus in soils and employment of bacterial preparation performed on the base of cultures of above-named microbes.

Preplant bacterization of seeds carried by treatment with microbe preparation of seeds based on bacteria *Paenibacillus polymyxa*, *Achromobacter album*, *Rhizobium radiobacter* (0,5 million cells per seed). Plants of winter wheat Polisska 90 grown on the meadow black earth soils on the experimental areas of the Institute of agricultural microbiology of NAAS of Ukraine (Chernigov, Ukraine) under conditions of additional fertilizing of soil by superphosphate (variant without preplant bacterization) and without additional fertilizing (control variant and variant with preplant bacterization). Agrotechnical treatment was general for edaphic and climatic conditions of Chernigov area. Selection of plants was carried out in phases of tillering and flowering. Physiological state of plants was estimated by morphometric, physiological and biochemical parameters. Total content of chlorophylls and carotenoids was determined by spectrophotometric method. Crop accounting and statistical treatment was carried out by Dospechov's method.

Optimal content of phosphates in plant cell is precondition of maintenance of basic physiological and biochemical processes in plants. Preplant treatment of wheat seeds by phosphate-mobilizing preparations induced the chain of adaptive reactions in plants, that appeared on the level of photosynthetic apparatus functioning and resulted to increasing of crop productivity of plants.

In particular, the treatment of wheat seeds by *Achromobacter album* 1122 preparation promoted to increasing of assimilation area of leaves. The positive influence of *Paenibacillus polymyxa* KB, *Rhizobium radiobacter* 1333 and *Rhizobium radiobacter* 5006 on this parameter was not observed. However, treatment of wheat seeds with these preparations prevented the degradation of chlorophylls a and b in leaves of plants. The treatment of plants with *Paenibacillus polymyxa* KB stimulated the accumulation of chlorophylls and carotenoids in leaves in phases of tillering.

Bacterization of wheat seeds with all investigated preparations in the bases of phosphate-mobilizing microbes promoted to the maintenance of Chl a/Chl b relation on the early stages of organogenesis and to the maintenance of optimal level of electron transport between PS I and PS II in photosynthetic apparatus under phosphorous starvation conditions of plants. Accumulation of chlorophylls and carotenoids content in leaves of plants, inoculated with *Paenibacillus polymyxa* KB (phases of tillering and flowering) and *Rhizobium radiobacter* 1333 (phase of flowering) supported by increasing of Chl (a+b)/Car relation, that associated with significant accumulation of green pigments pool in leaves of plants of this variants.

The investigation of *Achromobacter album* 1122 influence on pigment complex of inoculated plants not detected of modulated action of this bacteria on chlorophyll and carotenoids content in leaves of plants on the early stages of ontogenesis. In the phase of flowering was indicated the disturbance of balance between synthesis/degradation of pigments in plants under *Achromobacter album* 1122 action. The transformation of general pool of pigments was appeared in increasing of Chl (a+b)/Car relation. It was revealed positive modeling influence on the components of pigment systems of plants of *Paenibacillus polymyxa* KB, *Rhizobium radiobacter* 1333 and *Rhizobium radiobacter* 5006 bacteria, that appeared in accumulation of main photosynthetic pigments and in area of photoassimilation surface of plants, treated with *Achromobacter album* 1122. In this variant was revealed the decreasing of chlorophylls and carotenoids content with increasing of leaf area. In our opinion this is specified mechanism, that required for supported of optimal state of photosynthetic apparatus of plants under conditions of phosphorous deficiency.

In result, the increasing of crop productivity of winter wheat plants under conditions of bacterization of seeds with phosphate-mobilizing preparations was 0,3-0,8 t/ga. At the same time in *Rhizobium radiobacter* 5006 treated plants crop productivity was almost the same as crop productivity under optimal level of phosphorous in soil.

Thus, preplant treatment of plants by preparations on the base of phosphate-mobilizing bacteria induced the series of adaptive reactions of plants, that positively reflect on their productivity.

КОНСТРУИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ В *E. COLI* И ЦИАНОБАКТЕРИЯХ ДЕЛЕЦИОННЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *DRGA* ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS SP. PCC 6803* И ИХ ГИБРИДОВ С ГЕНАМИ, КОДИРУЮЩИМИ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ

¹Топорова В.А., ²Алёшин А.В., ¹Некрасов А.Н., ²Гривенникова В.Г., ²Муронец Е.М., ²Лукашев Е.П.,
²Тимофеев К.Н., ¹Долгих Д.А., ²Еланская И.В.

¹ Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва, Российская Федерация.
e-mail: toporova-viktoria@rambler.ru, Rhuta@rambler.ru

² Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
e-mail: ivelanskaya@mail.ru

Растворимая NAD(P)H:хинон-оксидоредуктаза цианобактерии *Synechocystis sp. PCC 6803*, кодируемая геном *drgA*, участвует в окислении NADPH и контролирует устойчивость клеток к нитроароматическим ингибиторам, и к ингибиторам хинонного типа, индуцирующим окислительный стресс [1-3]. Экспрессия гена *drgA* в геноме цианобактерии зависит от содержания NADPH [3]. Белок DrgA катализирует восстановление пероксида в реакции Фентона [4], а также участвует в регуляции фотосинтетического и дыхательного транспорта электронов в тилакоидной мембране цианобактерии [5]. Свойства DrgA белка указывают на его функциональную гомологию с растворимой NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазой (DT-диафоразой), выделенной из клеток животных и человека, которая используется при тестировании новых противоопухолевых препаратов.

Выделение белка DrgA из клеток цианобактерий многоступенчато и затруднено из-за чрезвычайно низкого его содержания [4]. Поэтому изучение возможности получения рекомбинантного DrgA, а также его мутантных вариантов с целью изучения структуры и биологической активности этого белка представляется достаточно актуальным.

Анализ случайных наборов белковых последовательностей позволяет выявить ряд характерных для всех белков особенностей шенноновской информационной энтропии, как функции расстояния между аминокислотными остатками [6,7]. Предложен метод выявления участков с повышенной степенью взаимосогласованности между аминокислотными остатками (IDIC-сайтов). Полученные данные позволили ввести понятие об информационной структуре белковых последовательностей как системе иерархически организованных информационных элементов (IDIC-деревья и IDIC-ветви), описывающих наличие в первичной структуре информации о пространственной организации белковой молекулы [8].

Проведен анализ информационной структуры белка DrgA, кодируемого геном *slr1719* цианобактерии *Synechocystis sp. PCC 6803*. Выявлены потенциальные участки для проведения сайт-направленного мутагенеза с целью изучения структурно-функциональных характеристик белка. На основе анализа информационной структуры отобраны наиболее перспективные варианты делеционных мутантов. Проведено сравнение аминокислотных последовательностей и информационных структур DrgA и его гомологов из других микроорганизмов.

Ген *drgA*, фланкированный сайтами клонирования, был амплифицирован на матрице хромосомной ДНК *Synechocystis sp. PCC 6803* с помощью ПЦР со специфическими олигонуклеотидными праймерами. С помощью полимеразной цепной реакции нами получены новые делеционные варианты гена *drgA* (*drgAΔ1*, *drgAΔ2*, *drgAΔ3*, *drgAΔ4* и *drgAΔ5*) с удаленными отдельными IDIC-ветвями первого порядка. Для облегчения последующей очистки на 3'-конец мутантных и нативного гена *drgA* помещена синтетическая последовательность, кодирующая додекагистидиновый таг. Кроме того, для визуализации клеточной локализации DrgA и его мутантов, перед додекагистидиновым тагом помещены кодирующие последовательности флюоресцентных белков Cherry и EGFP, полученные с помощью ПЦР на матрице плазмид pmCherry-C1 и pEGFP-C1 (Invitrogen) соответственно. Полученные кодирующие последовательности использованы для конструирования на основе pTrc99A плазмид для прямой конститутивной и индуцируемой внутриклеточной экспрессии в *E. coli* гена *drgA* и его делеционных производных под контролем промотора P_{trc} с усилителем трансляции TREN гена 10 бактериофага T7.

Кроме того, для изучения роли и клеточной локализации DrgA в *Synechocystis sp. PCC 6803* на основе полученных генов и фрагментов генов *slr1718* и *slr1720*, амплифицированных на матрице хромосомной ДНК *Synechocystis sp. PCC 6803* с помощью ПЦР со специфическими олигонуклеотидными праймерами, и гена канамициновой устойчивости Km из pET-28a на основе pSK+ созданы плазмиды для введения полученных гибридных генов в *Synechocystis sp. PCC 6803*.

Изучена экспрессия нативного и мутантных генов в различных штаммах *E. coli* в разных условиях культивирования. Подобраны оптимальные условия биосинтеза гибридных белков в клетках *E. coli* штамма BL21(DE3), определена клеточная локализация и опробована схема выделения полученных гибридных белков методом металл-аффинной хроматографии. Очищенный белок DrgA-12His отличался высокой хиноноредуктазной и диносебредуктазной активностью с NADPH и NADH в качестве доноров электронов. Белок DrgA участвует в переносе электронов от NADPH в пул пластохинона тилакоидной мембраны цианобактерии [9]. С целью выяснения функциональной роли отдельных аминокислотных остатков DrgA очищенный мутантный белок DrgAΔ147-178-12His (*drgAΔ5*) использовали в модельных экспериментах по измерению с помощью ЭПР спектроскопии скорости послесветового восстановления светоокисленного реакционного центра фотосистемы I (P700⁺) в изолированных тилакоидных мембранах цианобактерии.

Также получены и охарактеризованы спонтанные мутанты гена *drgA* *Synechocystis sp. PCC 6803*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 09-04-01119).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CONSTRUCTION AND EXPRESSION IN *E. COLI* AND CYANOBACTERIA OF THE DELETION DERIVATIVES OF THE CYANOBACTERIUM *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803 *DRGA* GENE AND ITS HYBRIDS WITH *GFP*

¹Toporova V.A., ²Aleshin A.V., ¹Nekrasov A.N., ²Grivennikova V.G., ²Muronets E.M., ²Lukashev E.P.,
²Timofeev K.N., ¹Dolgikh D.A., ²Elanskaya I.V.

¹Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: toporova-viktorija@rambler.ru, Rhuta@rambler.ru

²Department of Genetics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
e-mail: ivelanskaya@mail.ru

Soluble NAD(P)H:quinone-oxidoreductase encoded by *drgA* gene of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 is involved in NADPH oxidation and is responsible for the cell sensitivity to nitroaromatic inhibitors as well as for the resistance to the oxidative stress inducer menadione [1-3]. DrgA protein is responsible for peroxide reduction in Fenton reaction [4] and participates in regulation of photosynthetic and respiratory electron transport in cyanobacterial thylakoid membranes [5].

The protein sequences of DrgA from *Synechocystis* sp. PCC 6803 and its homologues from other microorganisms were aligned and studied for their information content by analysis of Shannon-Weaver informational entropy computed as function of the distance between the amino acid residues [6-8]. Sites of increased degree of information coordination between residues (IDIC-sites) were identified. Associations of information-coordinated structural elements (IDIC-trees and IDIC-branches) were mapped.

Coding sequence of *drgA* gene was amplified using PCR method. To study DrgA functional topology, several new deletion derivatives of *drgA* gene (*drgAΔ1*, *drgAΔ2*, *drgAΔ3*, *drgAΔ4* and *drgAΔ5*) were constructed using PCR. In order to facilitate protein purification we have spliced the 3'-ends of all genes with 12xHis tag coding sequence. For visualization of DrgA, the genes encoding the green fluorescent proteins (GFP) *cherry* or *egfp* were placed between *drgA* and 12xHis tag coding sequences. Several constructions for direct constitutive and inducible intracellular expression in *E. coli* of *drgA* and its deletion variants were designed and investigated. The recombinant proteins were purified by IMAC-chromatography method. The enzyme activity of DrgA was tested. The purified DrgA-12His protein exhibited high quinone reductase and nitroreductase activity. The rate of re-reduction of photooxidized Photosystem I reaction center was increased after addition of DrgA-12His protein and NADPH to isolated cyanobacterial thylakoid membranes [9]. Thus, DrgA protein may participate in electron transfer from NADPH to plastoquinone pool in thylakoid membranes of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803.

To study the role and cellular localization of DrgA in *Synechocystis* sp. PCC 6803 cells on the basis of the constructed *drgA* deletion variants the clones of *Synechocystis* sp. PCC 6803, carrying deletions in selected regions of a *drgA* gene, as well as clones of cyanobacteria that contain protein DrgA hybrids with Cherry and EGFP were obtained and tested for their photosynthetic activity and resistance to inhibitors. Also the *Synechocystis* sp. PCC 6803 cells with spontaneous mutations in *drgA* gene were obtained and characterized.

The work was supported by RFBR grant 09-04-01119.

References

1. Elanskaya I. V., Chesnavichene E. A., Vernotte C., Astier C. Resistance to nitrophenolic herbicides and metronidazole in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 as a result of the inactivation of a nitroreductase-like protein encoded by *drgA* gene. FEBS Letters, 1998, v. 428, pp. 188-192.
2. Еланская И. В., Гривенникова В. Г., Грошев В. В., Кузнецова Г. В., Семина М. Е., Тимофеев К. Н. Роль NAD(P)H : хинон-оксидоредуктазы, кодируемой геном *drgA*, в восстановлении экзогенных хинонов в клетках цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Биохимия, 2004, т. 69, № 2, сс. 172-178.
3. Карандашова И.В., Семина М.Е., Муронец Е.М., Еланская И.В. Экспрессия гена *drgA*, кодирующего NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазу, в клетках цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Генетика, 2006, т. 42, № 8, сс.1360-1364.
4. Takeda K, Iizuka M, Watanabe T, Nakagawa J, Kawasaki S, Niimura Y. *Synechocystis* DrgA protein functioning as nitroreductase in Natural Protein Sequences. FEBS J. 2007, v. 274, No. 5, pp. 1318-1327.
5. Еланская И. В., Тимофеев К. Н., Гривенникова В. Г., Кузнецова Г. В., Давлетшина Л. Н., Лукашев Е. П., Яминский Ф. В. Восстановление реакционного центра фотосистемы I у DrgA-мутанта цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803, лишённого растворимой NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазы. Биохимия, 2004, т. 69, №4, сс. 549-559.
6. Nekrasov A.N. Entropy of Protein Sequences: an Integral Approach. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2002, v. 20, pp. 87-92.
7. Rogov S.I., Nekrasov A.N. A Numerical Measure of Amino Acid Residues Similarity Based on the Analysis of their Surroundings in Natural Protein Sequences. Protein Engineering 2001, v. 14, pp. 459-463.
8. Nekrasov A.N. Analysis of Information Structure of Protein Sequences: A New Method for Analyzing the Domain Organization of Proteins. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2004, v. 21, pp. 615-623.
9. Еланская И.В., Топорова В.А., Гривенникова В.Г., Муронец Е.М., Лукашев Е.П., Тимофеев К.Н. Восстановление реакционного центра фотосистемы I рекомбинантным белком DrgA в изолированных тилакоидных мембранах цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Биохимия, 2009, т. 56, сс. 1327-1335.

ДИНАМИКА ВЕЙВЛЕТ - СПЕКТРА КАРДИОРИТМА КАК ОТРАЖЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА К КОГНИТИВНОЙ НАГРУЗКЕ

¹Филимонова Н.Б., ¹Зима И.Г., ²Белоусова С.В., ³Крижановская Т.В.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", Київ, Україна

²Київський національний торгово-економічний університет, Київ, Україна

³Державний економіко-технологічний університет транспорту, Київ, Україна

e-mail: filimonova@univ.kiev.ua

Анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР) позволяет получить объективные количественные показатели функционального состояния нервной системы. Поскольку сердечно-сосудистая система является чувствительным индикатором адаптационных реакций целостного организма, динамика показателей ВСР отражает формирование различных функциональных систем, соответствующих поставленной на данный момент задаче.

Для анализа нестационарных процессов был разработан метод вейвлет - преобразования. При этом сигнал анализируется путем разложения по определенным базисным функциям (отличным от гармонических), которые получены из некоторого прототипа путем сжатия и сдвига. Функция-прототип называется материнским вейвлетом. В отделе "Физиологии мозга и психофизиологии" НИИ физиологии имени академика Петра Богача НУЦ "Институт биологии" КНУ имени Тараса Шевченко разработан метод и программное обеспечение вейвлет - преобразования электрофизиологических сигналов с использованием в качестве материнского вейвлета функций Кравчука.

У 30 женщин (средний возраст 20 ± 2 года, правши), студенток биологического факультета Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, были изучены особенности обработки вербальных (буквы и цифры) и невербальных (геометрические фигуры) стимулов в оперативной памяти. Каждая из обследуемых проходила последовательно тест корректурной пробы Бурдона-Анфимова и 4 субтеста оценки уровня развития кратковременной памяти. Кроме того, у обследуемых регистрировали ЭКГ до начала обследования и на протяжении тестирования с использованием 12-канального электрокардиографа «Поли-Спектр-12» (ООО «Нейрософт», Россия, ЕС-сертификат № RQ060612-V от 02.03.2006р.). В дальнейшем проводилось вейвлет – преобразование ритмограмма. В отличие от принятой в вейвлет-анализе схемы, обработка сигнала проводилась максимально широким окном, поскольку мы рассматривали более высокие частоты как модуляции более низких. Полученные вейвлет – спектры были соотнесены со временем ответных реакций обследуемых и правильностью/ошибочностью их ответов. При анализе вейвлет – спектрограммы была обнаружена повышенная активность в VLF-диапазоне вначале тестирования уровня внимания, а также вначале всех тестов на оперативную память. Таким образом, можно отметить усиление влияния надсегментарных уровней на автономный уровень регуляции кровообращения вначале прохождения тестов. Возможно, это связано с психоэмоциональным возбуждением и усилением произвольного внимания. Также была выявлена повышенная активность в области 0,1 Гц в самом начале тестирования, в финальной части теста на оперативную память на буквы, когда сложность теста максимальная и вначале теста на геометрические фигуры с 2 признаками, что свидетельствует, по-видимому, о центральном механизме адаптационных реакций к возросшему уровню сложности. Кроме того, на графике видно, что происходили определенные колебания парасимпатической активности, которые вероятно связаны с адаптационными реакциями. В любом случае, анализ графика носит описательный и приблизительный характер.

Для выявления структурных закономерностей в динамике вейвлет - спектра был проведен кластерный анализ полученного вейвлет - спектра по всему исследуемому диапазону частот методом самоорганизующихся карт Кохонена при помощи программы Viscovery SOMine 5.1 (Viscovery Software GmbH, Austria, 1998-2009). Истинная кластеризация была определена как система из 5 кластеров. Анализ профилей вейвлет - частот 1-го кластера показал однонаправленный вклад колебаний в VLF- и LF-диапазонах (кроме 0,08 Гц), что, по-видимому, свидетельствует об участии симпатического отдела вегетативной нервной системы и надсегментарных уровней в усилении произвольного внимания и формировании реакции вработывания. 2-й кластер можно было соотнести с некоторым ослаблением уровня внимания. Максимальный вклад в формирование данного кластера внесла частота около 0,03 Гц. В формировании 3-го кластера принимали участие колебания всего частотного диапазона с исключением частот около 0,08 Гц и 0,15 Гц. Этот кластер фактически характеризовал некоторый перелом в работе. Не совсем понятна в этом процессе роль частот около 0,08 Гц и 0,15 Гц, которые фактически сформировали 4-й кластер. Можно предположить, что 4-й кластер характеризовал состояние сильного напряжения. 5-й кластер характеризовал адаптацию к обработке невербальной информации. При формировании этого кластера внесли однонаправленный вклад практически все частоты, кроме частот около 0,08 Гц и 0,15 Гц. Заметим, что в этом случае максимально проявился вклад частоты около 0,1 Гц.

Вейвлет - анализ ритмограммы позволяет оценить функциональное состояние организма в динамике. Соотнесение изменения вейвлет - спектра с типом, уровнем сложности тестовых заданий и эффективностью их выполнения позволяет получить объективную количественную оценку состояния отдельных звеньев вегетативной регуляции кровообращения, а кластеризация вейвлет - спектра – проанализировать индивидуальную адаптационную реакцию на когнитивную нагрузку.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

WAVELET - SPECTRUM DYNAMICS OF THE CARDIAC RHYTHM AS THE REFLECTION OF THE ADAPTIVE REACTIONS OF THE HUMANS ORGANISM TO THE COGNITIVE LOAD

¹Filimonova N.B., ¹Zima I.G., ²Belousova S.V., ³Krizhanovskaja T.V.³

¹ - Kyiv National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine

²Kiev National Trade and Economic University, Kiev, Ukraine

³The state Economic-Technological University of Transport, Kiev, Ukraine

e-mail: filimonova@univ.kiev.ua

The analysis of variability of the cardiac rhythm (VCR) allows obtaining objective quantity indices of a functional condition of nervous system. As the cardiovascular system is the sensitive indicator of adaptive reactions of an integrated organism, dynamics of the VCR parameters reflects formation of the various functional systems corresponding to the task put at present.

The wavelet - transformations has been developed for the analysis of non-stationary processes. Thus the signal is analyzed by decomposing by the certain basic functions (distinct from harmonious) which are obtaining from some prototype by compression and shift. Function-prototype named as mother - wavelet. At the department "Physiology of the brain and psychophysiology" of the Peter Bogach Scientific Research Institute of Physiology ESC "Institute of biology" Kyiv National Taras Shevchenko University it was developed the method and the software of the wavelet - transformations of electrophysiological signals with use as mother - wavelet the Krawtchouk functions.

At 30 women (middle age 20 ± 2 years, right-handed persons), the students of the biological faculty of the Kyiv National Taras Shevchenko University, have been studied the features of processing verbal (letters and digits) and nonverbal (geometrical figures) stimulus in the working memory. Each of inspected students passed consistently the test of the Burdon – Anfimov proof trial and 4 subtests of an estimation of a level of development of working memory. Besides at surveyed recorded an electrocardiogram before to the beginning of inspection and during testing with use of a 12-channel electrocardiograph «Poly-Spectrum-12» (Neurosoft, Russia, EC-Certificate RQ060612-V from 02.03.2006). In the further it was realized wavelet - transformation of the cardiac rhythm. Unlike the scheme accepted in the wavelet-analysis, processing of a signal was realized by as much as possible wide window as we considered higher frequencies as modulations of lower. Received wavelet - spectra have been compared with due course responses surveyed and correctness/inaccuracy of their answers. At the analysis of the wavelet - spectrograms high activity in a VLF-range in the beginning testing of a level of attention, and also in the beginning all tests for the working memory has been found out. Thus, it is possible to note intensifying of influence high segmental levels on the autonomic level of the regulation of a circulation in the beginning passages of tests. Probably, it is bound to the psychoemotional activation and the increase of the arbitrary attention. Also the high activity in the region of the 0,1 Hz right at the beginning of testing, in a final part of the test for the working memory on letters, when complexity of the test is maximal and in the beginning the test for geometrical figures with 2 attributes that testifies, apparently, about the central mechanism of adaptive reactions to the increased level of complexity has been revealed. Besides this is evident from the graph, that there were detected certain fluctuations of the parasympathetic activity which are possibly bound to adaptive reactions. In any case, the analysis of the graph has descriptive and approximate character.

For revealing structural patterns in the wavelet – spectrum dynamics the cluster analysis of the wavelet - spectrum on all investigated frequency range by the method of the Kohonen Self-Organizing Maps based on the program Viscovery SOMine 5.1 (Viscovery Software GmbH, Austria, 1998-2009) has been realized. The true clusterization it has been define as system from 5 clustering. The analysis of structures of the wavelet - frequencies of 1-st cluster has shown the unidirectional contribution of fluctuations in VLF-and LF-ranges (except for 0,08 Hz), that, apparently, testifies to participation of a sympathetic department of vegetative nervous system and high segmental levels in the increase of the arbitrary attention and formation of reaction of the working. 2-nd cluster could be correlated with some relaxation of attention. The maximal contribution to formation of data кластера was brought with frequency about 0,03 Hz. Fluctuations of all frequency range took part in the formation of 3-rd cluster with exception of frequencies about 0,08 Hz and 0,15 Hz. This cluster actually characterized some crisis in the work. The role of frequencies about 0,08 Hz and 0,15 Hz which have actually generated 4-th cluster is not absolutely clear in this process. It is possible to assume, that 4-th cluster characterized a condition of a strong strain. 5-th cluster characterized adaptation to processing the nonverbal information. At formation of it cluster have entered the unidirectional contribution practically all frequencies, except for frequencies about 0,08 Hz and 0,15 Hz. We shall notice, that the contribution of frequency about 0,1 Hz in this case was as much as possible has been showed.

Wavelet – analysis of the cardiac rhythm allows estimating the functional condition of the organism in dynamics. The comparison of the change of the wavelet - spectrum with the type, the level of complexity of test tasks and the efficiency of their execution allows to receive an objective quantitative estimation of a condition of separate parts of a vegetative regulation of a circulation, and the clusterization of the wavelet - spectrum - to analyze the individual adaptive reaction on the cognitive load.

АДАПТАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МУЖЧИН ПРИ ВЕРБАЛЬНОЙ КОГНИТИВНОЙ НАГРУЗКЕ НА ОСНОВЕ ВЕЙВЛЕТ – АНАЛИЗА ЭЭГ

Филимонова Н.Б., Трушина В.А.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", Київ, Україна

Спектральная мощность EEG является мерой, которая отражает мощность и производительность процессов обработки информации в коре головного мозга человека. а также связана с эффективностью познавательных процессов и процессов памяти. В (Astrid von Stein and al., 2000) показано, что мощность спектра в альфа- и тета- диапазонах отвечают за различные процессы в оперативной памяти человека и связаны реципрокной взаимосвязью. При этом большая мощность в тета – диапазоне является прогнозом эффективного кодирования, поиска и воспоминания информации (Lluis Fuentemilla and al., 2010). Активность в альфа – диапазоне связана с тормозящим влиянием на несоответствующие нейронные структуры. В течение начальных стадий восприятия информации альфа направляет поток информации к тем мозговым структурам, которые представляют уместную для кодирования информации, и определяет время корковой активности в релевантных нейронных сетях. Вызванный альфа и его фаза отображают успешное кодирование стимула в раннем постстимульном интервале длительностью 0 – 150 мс (Wolfgang Klimesch, 2011).

Было проведено тестирование вербальной оперативной памяти возрастающего уровня сложности у 16 мужчин в возрасте 19-21 год одновременно с регистрацией у них ЭЭГ с использованием комплекса "Нейрон-Спектр-4/ВП" (ЕС-сертификат № RQ043131-V от 08.11.2004р.). Анализ ЭЭГ проводили на основе вейвлет – преобразования. Технология вейвлетов основывается на обобщенном представлении сигналов в виде взвешенной суммы базисных функций: нестационарный сигнал раскладывается по базисным функциям, которые называются материнским вейвлетом. В качестве материнского вейвлета мы использовали функции Кравчука. Вейвлет Кравчука – это ортогональный дискретный вейвлет, который обеспечивает как нахождение временной локализации сигнала, так и частотной. Вейвлет – анализ ЭЭГ с использованием функций Кравчука позволил проанализировать организацию ее частотно – временную динамику в диапазоне 3 - 13 Гц, и совместить вейвлет – спектр с результатами прохождения теста на оперативную память. Предварительно к ЭЭГ были применены разработанные в отделе «Физиологии мозга и психофизиологии» Института физиологии имени академика Петра Богача ННЦ «Институт биологии» КНУ имени Тараса Шевченко адаптивные фильтры на основе вейвлет – преобразования, которые позволили выделить в сигнале артефакты, вызванные мышечной активностью, в т.ч. окулографические. Как правило, обработку ЭЭГ начинают вейвлетом наиболее высокой частоты. Мы начинаем вейвлет – анализ наименьшей частотой (наибольшим масштабом), при этом высокочастотные составляющие ЭЭГ мы рассматриваем как модуляции более низких частот.

Показано, что при повышении уровня сложности вербального задания происходила определенная перестройка в структуре спектральных характеристик ЭЭГ у мужчин. А именно, при запоминании 2-3 букв наибольшая активность в 3 – 13 Гц наблюдалась в префронтальной зоне, т.е. запоминание простой вербальной информации происходит в основном с использованием префронтальной зоны. При увеличении количества стимулов для запоминания до 4 букв происходили некоторые колебания в тета – диапазоне в префронтальной зоне и увеличение такой активности в заднее – височной зоне, что возможно связано с привлечением зоны Вернике к процессам оперативной памяти. При увеличении количества стимулов до 5, происходило повышение активности в тета – диапазоне в левой передневисочной и фронтальной зонах, а также в правой височной и задневисочной зонах. При увеличении количества стимулов до 6 – 7 стимулов активность в альфа – диапазоне уменьшилась в префронтальной зоне и увеличилась в фронтальной, особенно в правом полушарии, а также в передневисочных, височных и задневисочных зонах. Альфа – активность в этих зонах была локализована во времени в течение 80 – 160 мс и сцеплена с локальными колебаниями тета – активности. При этом тета – активность была стабильно высокой в префронтальной зоне, особенно левого полушария. Возможно, это связано с усилением top – down контроля и обеспечением взаимодействия между префронтальной корой и височной зоной, которое также было выявлено в (K. L. Anderson, 2010). Таким образом, реципрокная взаимосвязь в тета – и альфа – диапазонах проявилась на вербальных заданиях повышенной сложности.

Также было выявлено колебание в диапазоне около 3 Гц длительностью 80 – 240 мс, что возможно связано с реакцией на новый уровень сложности заданий. Так, в работе (Julie Onton, 2005) всплески таких колебаний длительностью до 500 мс были связаны с реакцией на потенциально важную информацию.

Вейвлет – анализ ЭЭГ позволяет оценить как индивидуальные особенности динамики активности мозга человека при когнитивной нагрузке, так и выделять наиболее типичные, которые мы определяли на основе кластерного анализа методом самоорганизующихся карт Кохонена с использованием программы Viscovery SOMine 5.1 (Viscovery Software GmbH, Austria, 1998-2009).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE ADAPTIVE CHANGES OF ACTIVITY OF THE BRAIN OF THE MEN AT THE VERBAL COGNITIVE LOAD ON THE BASIS OF WAVELET - ANALYSIS EEG

Filimonova N.B., Trushina V.A.

Kyiv National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine

The EEG spectral power is a measure which reflects power and productivity of processes of processing of the information in a cortex of a brain of the human. And also it is bound to efficiency of cognitive processes and processes of memory. In (Astrid von Stein and al., 2000) it is shown, that power of a spectrum in alpha- and theta -ranges are responsible for various processes in operative memory of the human and are connected by reciprocal interrelation. Thus greater power in theta - a range is the forecast of successful encoding, retrieval and memoirs of the information (Lluís Fuentemilla and al., 2010). Activity in an alpha - range is related to inhibition influence on irrelevant neural structures. During initial stages of perception of the information the alpha refers a stream of the information to those cerebral structures which present the relevant encoding of the information, and determines the time of cortical activity in relevant neuronal networks. Evoked alpha and its phase reflect successful encoding the stimulus in early poststimulus interval duration 0 - 150 mc (Wolfgang Klimesch, 2011).

Testing verbal working memory of an increasing level of complexity at 16 men in the age of 19-21 year at the same time with registration at them EEG with use of a complex "Neuron - Spectrum-4/EP" (EC-Certificate RQ043131-V from 08.11.2004) has been realized. EEG analysis was realized on the basis of wavelet - transformations. The wavelet technology is based on a general presentation of the signals in the form of the weighed sum of basic functions: the non-stationary signal is decomposed on the basic functions which named the mother - wavelet. As mother - wavelet we used Krawtchouk functions. The Krawtchouk wavelet is orthogonal discrete wavelet which ensure as the finding of time localization of the signal, and the frequency. EEG wavelet - analysis with the use of Krawtchouk functions has permitted to analyze its frequency - time dynamics in the range 3 - 13 Hz organizations, and to comparison the wavelet - spectrum with the results of passage of the test for working memory. Preliminary it was applied the adaptive filters on the basis of wavelet - transformations to EEG. These filters was developed at the department "Physiology of the brain and psychophysiology" of the Peter Bogach Scientific Research Institute of Physiology ESC "Institute of biology" Kyiv National Taras Shevchenko University and they have permitted to allocate the signal artefacts, evoked by muscular activity, including the oculographic. Usually, EEG processing begins with the wavelet of highest frequency. We begin wavelet - analysis the least frequency (the greatest scale), thus we survey high-frequency EEG components the modulation of lower frequencies.

It is shown, that at increase a level of complexity of the verbal task there was certain reorganization in structure of EEG spectral characteristics at men. Namely, at memorization of 2-3 letters the greatest activity in 3 - 13 Hz was observed in prefrontal zone, i.e. the memorization of the simple verbal information take place basically with using the prefrontal zones. At increasing of quantity of stimulus for memorization up to 4 letters there were some fluctuations in theta - range in prefrontal zone and increasing of such activity in inferior temporal zone that is probably related to use the Wernicke's area to processes of working memory. At increasing of quantity of the stimulus up to 5, there was a increasing activity in theta - range in left anterior temporal and frontal zones, and also in right temporal and inferior temporal zones. At increasing of quantity of the stimulus up to 6 - 7 stimulus activity in the alpha - range was decreased in prefrontal zone and was increased in prefrontal, especially in the right hemisphere, and also in anterior temporal, temporal and inferior temporal zones. The alpha - activity in these zones has been localized in time during 80 - 160 mc and coupling with local fluctuations of the theta - activity. Thus theta - activity was stably high in the prefrontal zone, especially in the left hemisphere. Probably, it is related to the intensifying of the top - down control and the support of interaction between prefrontal cortex and the temporal zone which also has been detected in (K. L. Anderson, 2010). Thus, reciprocal interrelation in theta - and alpha - ranges was showed on verbal tasks of the increased complexity.

Also it has been fined the fluctuation in a range about 3 Hz by duration 80 - 240 mc, that is probably related with reaction on a new level of complexity of the tasks. So, in (Julie Onton, 2005) splashes in such fluctuations by duration up to 500 mc have been related to reaction to potentially important information.

EEG wavelet - analysis allows to estimate as specific features of the dynamics of activity of the human brain at the cognitive load, and to allocate most typical, which we defined on the basis of the cluster analysis by the method of the Kohonen Self-Organizing Maps based on the program Viscovery SOMine 5.1 (Viscovery Software GmbH, Austria, 1998-2009) .

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ ЖЕЛУДКА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Хацаева Р.М.

Институт проблем экологии и эволюции им А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия
e-mail: R.Khatsaeva@mail.ru

Исследования были направлены на выяснение механизмов адаптаций пищеварительных органов жвачных животных в течение онтогенеза к экологическим условиям их обитания. Объектами исследований были выбраны представители жвачных копытных: сайгак (*Saiga tatarica* L., 1766), памирский архар (*Ovis ammon polii* Blyth, 1841) и домашняя овца (*Ovis ammon f. aries* L., 1758), имеющие желудочно-кишечный тип пищеварения, свойственный жвачным, обитающие в близких по кормовым условиям стациях, но обладающие различной пищевой специализацией.

В адаптации жвачных животных к экологическим условиям обитания важнейшее место принадлежит сложному многокамерному желудку, на который ложится основная функциональная нагрузка при желудочно-кишечном типе пищеварения.

В связи с этим задача проведения сравнительного анализа морфологических и функциональных возможностей адаптации желудка копытных жвачных животных к различным экологическим условиям обитания, связанных с эволюцией этого органа, составит важное направление исследований в рамках указанной проблемы. В исследованиях был поставлен большой комплекс задач по выяснению сроков закладки камер желудка и их морфологических структур у сравниваемых животных, исследованию роста и гистогенеза камер желудка в течение всего онтогенеза, выявлению участия камер желудка в обменных процессах.

Выяснение адаптивных возможностей желудка диких и домашних жвачных животных к экологическим условиям их обитания представляет как теоретический, так и практический интерес при выяснении границы их кормового диапазона и прогнозировании состояния популяции на основании оценки кормовой базы, а также разработке основ рационального природопользования и сохранения биоразнообразия. К сожалению еще мало работ по комплексному изучению пищеварительных органов диких представителей *Cervinae*, для выяснения механизмов их адаптации к условиям обитания, значительно меняющимся вследствие антропогенного влияния, хотя в настоящее время многие дикие виды находятся на грани уничтожения.

В основе настоящих исследований лежат фундаментальные разработки методов изучения органов пищеварения копытных, позволивших доказать, что тип пищеварения жвачных животных формируется в течение онтогенеза в связи с особенностями их питания. Уровень полученных результатов сопоставим с мировыми, а по ряду позиций опережает аналогичные зарубежные в данной области науки. Заявленный проект является продолжением ранее начатых работ. Кратко можно выделить следующие наиболее важные новые результаты исследований:

- впервые в мировой науке была открыта взаимосвязь развития пищеварительных органов плода млекопитающих с его провизорными органами и плацентой;
- расшифрованы механизмы и способы участия органов пищеварения плодов в обменных и пищеварительных процессах;
- доказано, что формирование различных типов пищеварения жвачных происходит в течение всего онтогенеза;

Впервые применен комплекс методов для исследований камер желудка в онтогенезе у близкородственных видов *Cervinae* на разных уровнях структурной организации (морфометрический, макро-микро – и электронномикроскопический, гистологический, гистохимический, биохимический).

Выявлены общие закономерности и особенности эмбрионального развития и гистологического строения камер желудка у домашних и диких жвачных.

Выявлены макро- и микроморфологические особенности камер желудка у систематически близких видов *Cervinae* на всех уровнях структурной организации в связи с их пищевой специализацией, в том числе, имеющих общий ареал обитания.

Впервые выявлены особенности ультраструктуры поверхности эпителия камер желудка у близких видов *Cervinae* и показана их роль в качестве экологической ниши для симбионтов.

Впервые выявлена корреляция особенностей строения желудка на всех уровнях структурной организации с особенностями питания и симбиотозов у каждого вида. Дано физиологическое обоснование морфологических особенностей камер желудка у исследованных животных.

Выявлены компенсаторные отношения между камерами и компенсации функций на разных уровнях структурной организации отдельных камер.

Показано, что domestикация ведет к ослаблению типа пищеварения домашних овец, а степень выраженности типа пищеварения у диких видов обусловлена спецификой их питания.

Выявленные морфофункциональные особенности желудка исследованных видов определяют границы их адаптивных возможностей.

Впервые на основе выявленных морфофункциональных особенностей камер желудка исследованных жвачных животных проведена классификация близкородственных видов *Cervinae* по типам питания.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ONTOGENETICS MECHANISMS OF ADAPTATIONS OF THE STOMACH OF RUMINANTS

Khatsaeva R.M.

Institute of Ecology and Evolution of the Severtsov Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: R.Khatsaeva @ mail.ru

The studies were aimed at clarifying the mechanisms of adaptation of the digestive organs of ruminants during ontogeny to environmental conditions of their habitat. The objects of study were selected by representatives of ruminant ungulates: antelope (*Saiga tatarica* L., 1766), Pamir argali (*Ovis ammon polii* Blyth, 1841) and domestic sheep (*Ovis ammon* f. *Aries* L., 1758), having a gastrointestinal type of digestion, characteristic of ruminant living in nearby habitats for feeding conditions, but have different nutritional specialization. In the adaptation of ruminants to environmental habitat conditions important place belongs to a complex multi-compartment stomach, which lays down the basic functional load in the intestinal type of digestion.

In this regard, the task of comparative analysis of morphological and functional adaptation of stomach capacity hoofed ruminant animals to different environmental conditions of habitat associated with the evolution of this body will be an important area of research within the framework of this problem.

The study was made big complex task to clarify the timing of bookmarks cells of the stomach and their morphological structures compared with the animals, the study of growth and histogenesis of gastric cells throughout ontogeny, revealing the participation of cells of the stomach in metabolic processes.

Elucidation of the adaptive capacity of the stomach of wild and domestic ruminants to environmental conditions of their habitat is both theoretical and practical interest in clarifying the boundaries of their feeding range and predicting the state of the population on the basis of assessment of prey, as well as developing a framework of environmental management and biodiversity conservation. There is little work on the integrated study of digestive organs of wild representatives of the Caprinae, to elucidate the mechanisms of their adaptation to environmental conditions, significantly changing due to human influence, although at the present time, many wild species are on the brink of destruction.

The bases of this research are the development of fundamental methods for the study of the digestive system of ungulates, which allowed to prove that the type of digestive system of ruminants is formed during ontogeny due to the peculiarities of their nutrition. The level of the obtained results comparable with the world, and a number of positions ahead of similar overseas in the field of science.

Stated the project is a continuation of previous work. In short we can distinguish the following most important new findings:

- the first time in the world of science was discovered the relationship of the digestive organs of the fetus of mammals with its provisional organs and the placenta;
- deciphered the mechanisms and ways to participate in the fruits of the digestive metabolic and digestive processes;
- proved that the formation of different types of digestive system of ruminants occurs throughout ontogeny;

First used a set of methods to study cells of the stomach in the ontogeny of a closely related species of Caprinae at different levels of structural organization (morphometric, macro-micro - and electron, histological, histochemical, biochemical).

The general regularities and features of embryonic development and the histological structure of the cells of the stomach in domestic and wild ruminants.

Revealed macro-and micro-morphological features of cells of the stomach have systematically close species Caprinae at all levels of structural organization in connection with their food specialization, including having a common habitat.

For the first time revealed ultrastructural features of the surface epithelial cells of the stomach at the close of Caprinae and shows their role as ecological niches for the symbionts.

For the first time revealed the correlation characteristics of the structure of the stomach at all levels of structural organization with special food and symbiogenesis in each species.

Given the physiological basis of morphological features of cells of the stomach in experimental animals.

Identified compensatory relationships between the cameras and compensation functions at different levels of structural organization of individual cells. It is shown that domestication leads to a weakening of the digestive system such as domestic sheep, and the severity of the type of digestion of wild species due to the specifics of their diet.

Revealed morphofunctional characteristics of the stomach studied species define the boundaries of their adaptive capacity.

First identified on the basis of morphological features of cells of the stomach of ruminants examined the classification of closely related species of Caprinae by type of food.

ВПЛИВ УЯВНОЇ РОТАЦІЇ ОБ'ЄКТІВ НА СТАН ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНИХ ФУНКЦІЙ ЖІНОК

Чікіна Л.В., Федорчук С.В., Трушина В.А., Янчук П.І., Макаrchук М.Ю.

НДІ фізіології імені Петра Богача, ННЦ "Інститут біології",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: lychikina@yandex.ru

При тривалій роботі з комп'ютеризованими системами, що стали основою сучасного життя людини, така робота при дефіциті часу і складності завдань завжди супроводжується в деякій мірі психоемоційним напруженням, яке в залежності від його тривалості та сили, здатне порушувати нормальну діяльність основних фізіологічних систем організму людини [1,2,3]. Тому проблема нормалізації психофізіологічного стану людини за таких умов в останнє десятиріччя стала однією із центральних в системі реабілітаційних заходів [4]. Разом з тим, відновлення постстресових порушень натеper є ще недостатньо вивченим і реабілітаційні процедури, які застосовуються на практиці, не завжди бувають ефективними, зокрема і тому, що при цьому не враховується стать людини [5]. Проведені нами раніше дослідження здатності до уявної ротації об'єктів як одного із видів невербального мислення у обстежуваних різного віку і статі показало, що сама процедура такого тестування здатна певною мірою компенсувати наслідки різних видів психофізіологічного та психоемоційного напруження [6,7]. Тому в даній роботі було зроблено спробу дослідити як впливає комплекс подібних задач, розроблених нами, на основні психофізіологічні показники обстежуваних жінок, оскільки саме у таких обстежуваних психоемоційний стрес при застосуванні комп'ютерних технологій проявляється найбільш сильно [9].

В роботі в якості обстежуваних брали участь 36 студентів факультету психології Київського національного університету імені Тараса Шевченка жіночої статі віком 18-20 років. Оцінку стану основних психофізіологічних функцій обстежених проводили за допомогою комплексу комп'ютерних програм, які були розроблені на основі ряду модифікованих методик Макаренка М.В. та Чайченка Г.М. [9]. Впродовж перших 30 хв. тестування визначали коефіцієнт сили нервової системи, функціональний рівень системи, швидкість простої сенсомоторної реакції, середню швидкість реакції вибору, швидкість реакції вибору правої руки, швидкість реакції вибору лівої руки, функціональну рухливість нервових процесів, працездатність головного мозку, показник точності реакції на рухомий об'єкт, критерії випередження та запізнення, показник урівноваженості нервових процесів. Обсяг короткочасної пам'яті оцінювали через врахування відносної кількості зроблених помилок. Відразу по завершенні цього блоку тестів всі обстежувані впродовж наступних 30 хв. послідовно виконували комплекс трьох різних типів просторових завдань [6].

Аналіз отриманих даних показав, що уявна ротація об'єктів справляє суттєвий вплив на стан основних психофізіологічних функцій обстежуваних. Доказом цього може бути те, що після виконання комплексу завдань на уявну ротацію об'єктів, латентні періоди простої та складної зорово-моторної реакції стали значуще меншими, ніж до ротації, зросла швидкість реакції вибору. Процедура ротації також підвищила працездатність головного мозку та збільшила обсяг короткочасної пам'яті. При цьому у обстежуваних значуще зменшився коефіцієнт сили нервової системи, що опосередковано може вказувати на активацію протікання нервових процесів. Тому можна припустити, що уявна ротація об'єктів є потужним фактором, який здатний, оптимізуючи функціональний стан нервової системи у жінок, що зазнали психоемоційного напруження, покращувати стан всього організму людини. Запропонований комплекс просторових завдань можна рекомендувати як реабілітаційний засіб для компенсації наслідків психоемоційного та психофізіологічного напруження.

Література

1. Taelman J., Vandeput S., Vlemicx E., Spaepen A., Van Huffee S. Instantaneous changes in heart rate regulation due to mental load in simulated office work. // *Eur. J. Applied Physiol.* - 2011. -V.111(7). - P. 1497-1505.
2. Orisa R., Virtanen M., Luukaala T., Tarvainen M. Perceived mental stress and reactions in heart rate variability - a pilot study among employees of an electronics company. // *JOSE.* - 2008., V. 14.- №3. - P.275-283.
3. Hjortskov N., Rissen D., Blangsted A.K. et al. The effect of mental stress on heart rate variability and blood pressure during computer work. // *European Journal Applied Physiology.* - 2004. -V.92. -№ 1-2. - p.84-89.
4. Классина С. Я. Комплекс реабилитационных воздействий для компенсации последствия психозомоционального напряжения // *Физиология человека.* -2007. - Т. 33. -№ 5. - С. 54-62.
5. Медведев В.И. Адаптация человека. Спб. : Институт мозга человека РАН. 2003. 583 с.
6. Тернова Л.В., Чайченко Г.М., Горго Ю.П., Поляню І.В. Дослідження здатності людини до зорового розпізнавання образів різноорієнтованих у просторі // *Вісник Черкаського державного університету. Актуальні проблеми фізіології.* - 1998. - Вип. 2. - С. 112-116.
7. Макаrchук М.Ю., Чікіна Л.В., Філімонова Н.Б., Глушак С.О. Оптимізуючий вплив вирішення просторових задач на функціональний стан людини // *Вісник Київського університету (серія Біологія).* - 2003. - Вип. 41. - С. 143-144.
8. Кальниш В.В., Швець А.В., Левит Й.Р. Гендерні особливості надійності операторської діяльності // *Журн. АМН України.* - 2009. - Т.15. - №4. - С.755-768.
9. Філімонова Н.Б. Комп'ютерна експрес-методика для вивчення психофізіологічного стану людини // *Культура здоров'я. Збірник науково-методичних праць.* - Херсон., 2000. - С. 204-209.

INFLUENCE OF MENTAL ROTATION OF OBJECTS ON THE STATE OF PSYCHOPHYSIOLOGICAL FUNCTIONS OF WOMEN

Chikina L.V., Fedorchuk S.V., Trushina V.A., Yanchuk P.I., Makarchuk M.Yu.

Scientific research institute of a name of Peter Bogach, Educational centre of science "Institute of biology"
The Kiev national university of name Taras Shevchenko, Kiev, Ukraine
e-mail: lychikina@yandex.ru

At a continuous work with computer systems which became an integral part of modern human life, such work at deficiency of time and complexity of jobs always is accompanied somewhat by a psychoemotional strain which in dependence on its duration, forces may break normal activity of main physiological systems of an organism of the person [1, 2, 3]. Therefore the problem of normalization of a psychophysiological state of the person under these conditions in the last decade became one of central actions in system of rehabilitational procedures [4]. Together with it, restoration of poststressful violations is at present insufficiently investigated also rehabilitational procedures which are put into practice, not always are effective, in particular and consequently, that thus the sex of the person is not taken into account [5]. Carried out by us before research of ability to mental rotation of objects as one of sorts of nonverbal intellection for examinees of different age and a sex have shown, that the procedure of such testing somewhat is capable to compensate consequences of different sorts of a psychophysiological and psychoemotional strain [6,7]. Therefore in the given work we tried to research as the complex of the similar problems developed by us influences main psychophysiological parameters for tested women as, for such examinees the psychoemotional stress at usage of computer technologies shows most strongly [8].

36 students-female age of 18-20 years of faculty of psychology of the Kiev national university of name Taras Shevchenko have taken part in work as examinees. The state of main psychophysiological functions estimated with the help of the complex of computer programs which were developed on the establishment of the updated procedures of Makarenko N.V. and Chajchenko G.M. [9]. During the first 30 minutes of testing studied quotient of force of the nervous system, a function level of the nervous system, a velocity of simple sensomotor response, an average speed of response of a choice, a speed of response of a choice of a dextral hand, a speed of response of a choice of the left hand, the functional motility of nervous processes, work capacity of a brain, a parameter of accuracy of response to the moved object, criteria of advancing and delay, volume of a short-term memory. At once after completion of this trochlea of tests all examinees during the subsequent 30 minutes fulfilled the complex of three sorts of mental rotation tasks [6].

Analysis of the obtained outcomes has shown, that mental rotation of objects has essential influence on a state of main psychophysiological functions of examinees. The proof of it may be that after execution of the complex of jobs for mental rotation of objects, stages of latency of simple and complex sensomotor responses is significant the speed of response of a choice has decreased, has increased also. The procedure of mental rotation also has increased work capacity of a brain and has increased volume of a short-term memory. Thus for examinees it is significant the quotient of force of the nervous system that may specify an activation of course of nervous processes has decreased. Therefore it is possible to accept, that mental rotation is the potent factor which is capable, optimizing the functional state of the nervous system for women who were subject to an emotional strain to improve a state of all organism of the person. The offered complex of spatial definitions can be recommended as a rehabilitational method for compensation of consequences of an emotional and psychophysiological strain.

References

1. Taelman J., Vandepuit S., Vlemicx E., Spaepen A., Van Huffee S. Instantaneous changes in heart rate regulation due to mental load in simulated office work. // *Eur. J. Applied Physiol.* - 2011. - 111(7). - P. 1497-1505.
2. Orisa R., Virtanen M., Luukaala T., Tarvainen M. Perceived mental stress and reactions in heart rate variability - a pilot study among employees of an electronics company. // *JOSE*. - 2008. - 14 (3). - P. 275-283.
3. Hjortskov N., Rissen D., Blangsted A.K. et al. The effect of mental stress on heart rate variability and blood pressure during computer work. // *European Journal Applied Physiology*. - 2004. - 92 (1-2). - P.84-89.
4. Klassina S.J. the complex of rehabilitational effects for compensation of a consequence психоэмоционального strains//*Human physiology*.-2007. - 33 (5). -P. 54-62.
5. Medvedev V.I. Acclimatization of the person. Спб.: Institute of a brain of the person of the Russian Academy of Science. 2003. - 583 p.
6. Ternova Л.В., Chajchenko G.M., Gorgo YU.P., Poljanko I.V. Research of ability of the person to visual pattern recognition of objects with different orientation in space.//*the Bulletin of the Cherkassk state university. Actual problems of physiology*.. - 1998. - 2. - P.112-116.
7. Makarchuk M.Yu., Chikina L.V., Filimonova N.B., Glushak S.O. Optimizing influence of solution of regional(spatial) problems on the functional state of the person.//*the Bulletin of the Kiev university (a series Biology)*. - 2003. - 41. - P.143-144.
8. Kal'nysh V.V., Shvets A.V., Levit I.R. Sexual features of reliability of operator activity.//*Magazine of Academy of medical sciences of Ukraine*. - 2009. - 15(4)- P. 755-788.
9. Filimonova N.B. Computer procedure for learning a psychophysiological state of the person.//*Culture of health. The collection of scientific - methodical transactions*es.. - Kherson, 2000. - N.204-209.

АДАПТАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ К ИЗМЕНЕНИЮ УСЛОВИЙ РЕАЛИЗУЕТСЯ ЧЕРЕЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОТОКОВ САХАРОВ И НИТРАТОВ

Чиков В.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики
КазНЦ РАН, Россия, Республика Татарстан, Казань, Россия
e-mail: vichikov@bk.ru

В последние годы активно обсуждается роль C/N отношения в регуляции метаболизма растения [1-4]. Большинство исследований в этой области сосредоточено на отдельных частных реакциях метаболизма азота, ферментных системах и их генетического обеспечения. Предлагаются различные механизмы интеграции регуляторных процессов в целом растении. Среди них: тургорные [5], неорганический фосфат или отдельных углеродных метаболитов [6], белковые переносчики [7] и гормональные вещества [1]. Большое значение отводится NO-сигнальной системе [8]. В качестве интегрирующей структуры предлагается и флоэма, через которую осуществляется движение информационных молекул [7, 9]. Однако все эти механизмы не объединены в общую систему регуляции физиолого-биохимических процессов на уровне целого растения.

Представлен анализ особенностей изменения фотосинтеза, транспорта ассимилятов, ростовой функции и ультраструктуры листьев растения при нарушении донорно-акцепторных отношений [ДАО] между фотосинтезирующими и потребляющими ассимиляты органами, а также уровня азотного [нитратного] питания. Мы показали [10], что ключевое значение в регуляции ДАО имеет всасывающая часть корневой системы, конкурирующая с другими [в том числе и с запасующими органами] за получение продуктов фотосинтеза.

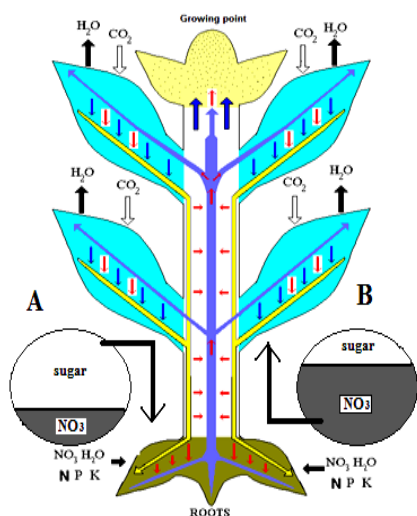


Рис.1. Схема взаимодействия потоков ассимилятов и нитратов. А – Избыток ассимилятов. Интенсификация роста корней и поглощения нитратов. В – Дефицит ассимилятов. Нитраты транспортируются вверх. Транспорт ассимилятов подавляется. Активируется рост новых побегов.

Ассимиляционный поток из листьев падает, когда уровень нитратов в апопласте увеличивается, указывая на триггерную функцию NO-сигнальной системы [11, 12]. Предложена концепция, согласно которой регуляция метаболизма растения при смене условий реализуется через взаимодействие встречных потоков нитратов и фотоассимилятов. Взаимодействие заключается в изменении степени восстановления поглощенных нитратов, приводящее к образованию NO. NO через активацию синтеза каллозы закрывает поры в ситовидных трубках и тормозит транспорт сахаров по флоэме.

Под действием NO-сигнальной системы активируются многочисленные гены [13]. Из образовавшихся в результате их экспрессии ферментов функционируют и изменяют метаболизм только те, для которых имеются, появившиеся в результате нарушения ДАО, кофакторы и субстраты. Такая реорганизация метаболизма происходит каждый новый фотопериод, в соответствии с новыми уровнями ассимилятов и нитратов в растении [14].

Действенность предлагаемой гипотезы демонстрируется на ряде примеров, когда соотношение потоков сахара/нитраты изменяется в результате засухи, изменения азотного питания, длины дня [фотопериод], освещенности.

Литература

1. Paul M.J., Foyer C.H. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 2001. V. 52, No 360, pp. 1383-1400.
2. Foyer CH, Parry M, Noctor G [2003] Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. *J Exp. Bot* 54: 585-593.
3. Krapp A, Saliba-Colombani V, Daniel-Vedel F Analysis of C and N metabolisms and of C/N integrations using quantitative genetics // *Photosynthesis Research* [2005] 83: 251-263.
4. Fritz C, Mueller C, Matt P, Feil R, Stitt M Impact of C-N status on the amino acids profile in tobacco source leaves // *Plant, Cell and Environment* [2006] 29:2055-2076.
5. Walch-Liy P., Filleur S., Gan Y., Forde B.G. Signaling mechanisms integrating root and shoot responses to changes in the nitrogen supply. *Photosynthesis Research* 2005. V. 83. Pp. 239-250.
6. Paul M.J., Pellny T.K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany*, 2003. V.54, No. 382. Regulation of Carbon Metabolism Special Issue, pp. 539-547, February 2003.
7. Ainsworth E.A., Bush D.R. Carbohydrate Export from the Leaf: A Highly Regulated Process and Target to Enhance Photosynthesis and Productivity. *Plant Physiology*, January 2011. V. 155, pp. 64-69.
8. Lamattina L. & Polaco J.C. Nitric Oxide in Plant Growth. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2006.
9. Turgenon R, Wolf S. [2009] Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* 60: 207-221.
10. Chikov V. Photosynthesis and Assimilate Transport. Moscow: Nauka, 1987.
11. Batasheva S, Abdrakhimov F, Bakirova G, Isaeva E, Chikov V. Effect of Nitrates Supplied with the Transpiration Flow on assimilate Translocation // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2007, V. 54, No 3. P. 373-380. Batasheva S, Abdrakhimov F, Bakirova G, Isaeva E, Chikov V. Effects of Sodium Nitroprusside, the Nitric Oxide Donor, on Photosynthesis and Ultrastructure of Common Flax Leaf Blades // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2010, V. 57, No 3. Pp. 376-381.
12. Besson-Bard A., J. Astier, S. Rasul, I. Wawera, C. Dubreuil-Maurizi et al. Current view of nitric oxide-responsive genes in plants // *Plant Sci.* – 2009. – V. 177. – P. 302-309
13. Chikov V.I., Bakirova G.G., Batasheva S.N., Sergeeva A.A. Effect of Defoliation or Excision of Growing Axillary Shoots on the Composition of Labeled Products of Photosynthesis in the leaves and Xylem Sap of Kidney Bean // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2005, V. 52, No 4. Pp. 459-462.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

REGULATION OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROCESSES IN AN INTACT PLANT INVOLVES INTERACTION OF FLOWS OF SUBSTANCE BULK TRANSFER

Chikov V.I.

Federal state organization of science Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Research Center,
Russian academy of Sciences, Kazan, Russian Federation
e-mail: vichikov@bk.ru

The role of C/N ratio in the regulation of plant metabolism attracts large attention (1-4), with the main focus being on some specific reactions of nitrogen metabolism, enzyme systems and their genetic control. Different mechanisms could provide an integration of regulatory processes in intact plants, among them turgor (5), concentration of inorganic phosphate or individual carbon metabolites(6), protein transporters(7), and phytohormones (1), NO signal system (8). The phloem is considered as an integrative structure which provides the transport of messenger molecules(7, 9). However, there is still a lack of knowledge about the involvement of these different mechanisms into total system of the physiological and biochemical process regulation in whole plant and the trigger of the plant metabolism reorganization under environmental changes is not yet identified.

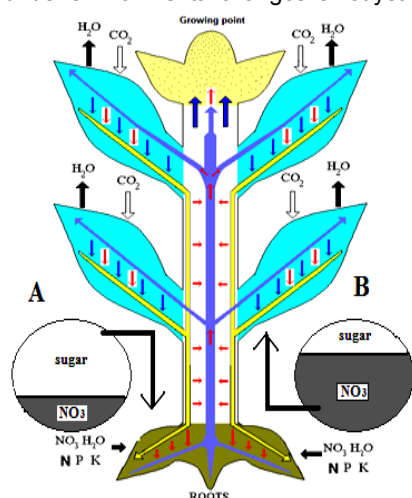


Fig. 1. The scheme of interaction of streams assimilates and nitrates. A - Surplus of products of photosynthesis. Growth of roots and absorption of nitrates increase. B - Deficiency of products of photosynthesis. Nitrates are transported upwards. New vegetative shoots are forming.

Changes in photosynthesis, metabolite transport, plant growth and leaf ultrastructure were correlated with changes of sink-source relationships (SSR) and with level of nitrogen (nitrate form) supply. We showed (10) that the root absorbing zone which competes with storage organs for photosynthetic products plays the key role in the SSR regulation. The assimilate efflux from leaves declined when the nitrate level increased in plant apoplast under model conditions indicating a triggering function of NO level (11, 12). We assume that the interaction of fluxes of nitrates and photoassimilates controls plant metabolism when environmental conditions change. This interaction involves changes in the reduction level of assimilated nitrates resulting in NO formation. Accumulation of callose activated by NO results in sealing of sieve tubepores and inhibiting of sugar transport in the phloem. NO signal system activates different genes (13); however, only availability of cofactors and substrates resulting from imbalances between demand and supply (or in SSR) will determine which enzymes will be synthesized and affect plant metabolism. Such

reorganization of metabolism occurs every new photoperiod with the changes of the photoassimilates and nitrates in plants. We propose here the possible mechanism of integration of various modes of the physiological and biochemical process regulation in whole plant based on interaction of major fluxes in plant: the upward transport of transpiration water; descending phloem transport of photosynthesized sugars (from leaves to roots); and ascending flow of nitrates from roots to shoots. Such reorganization of metabolism occurs every new photoperiod in accordance with new levels of assimilates and nitrates in plants (14). The hypothesis suggested here was tested under different experimental conditions when the ratio of sugar and nitrate fluxes varied as the result of drought, changes in nitrogen supply, day light length and intensity.

References

1. Paul M.J., Foyer C.H. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 2001. V. 52, No 360, pp. 1383-1400.
2. Foyer CH, Parry M, Noctor G [2003] Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. *J Exp. Bot* 54: 585-593.
3. Krapp A, Saliba-Colombani V, Daniel-Vedele F Analysis of C and N metabolisms and of C/N integrations using quantitative genetics // *Photosynthesis Research* [2005] 83: 251-263.
4. Fritz C, Mueller C, Matt P, Feil R, Stitt M Impact of C-N status on the amino acids profile in tobacco source leaves // *Plant, Cell and Environment* [2006] 29:2055-2076.
5. Walch-Ly P., Filleur S., Gan Y., Forde B.G. Signaling mechanisms integrating root and shoot responses to changes in the nitrogen supply. *Photosynthesis Research* 2005. V. 83. Pp. 239-250.
6. Paul M.J., Pellny T.K. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany*, 2003. V.54, No. 382, Regulation of Carbon Metabolism Special Issue, pp. 539-547, February 2003.
7. Ainsworth E.A., Bush D.R. Carbohydrate Export from the Leaf: A Highly Regulated Process and Target to Enhance Photosynthesis and Productivity. *Plant Physiology*, January 2011. V. 155, pp. 64-69.
8. Lamattina L. & Polaco J.C. Nitric Oxide in Plant Growth. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2006.
9. Turgenon R, Wolf S. [2009] Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* 60: 207-221.
10. Chikov V. Photosynthesis and Assimilate Transport]. Moscow: Nauka, 1987.
11. Batasheva S., Abdрахimov F., Bakirova G., Isaeva E., Chikov V. Effect of Nitrates Supplied with the Transpiration Flow on assimilate Translocation // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2007, V. 54, No 3. P. 373-380. Batasheva S., Abdрахimov F., Bakirova G., Isaeva E., Chikov V. Effects of Sodium Nitroprusside, the Nitric Oxide Donor, on Photosynthesis and Ultrastructure of Common Flax Leaf Blades // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2010, V. 57, No 3. Pp. 376-381.
12. Besson-Bard A., J. Astier, S. Rasul, I. Wawera, C. Dubreuil-Maurizi et al. Current view of nitric oxide-responsive genes in plants // *Plant Sci.* – 2009. – V. 177. – P. 302-309.
13. Chikov V.I., Bakirova G.G., Batasheva S.N., Sergeeva A.A. Effect of Defoliation or Excision of Growing Axillary Shoots on the Composition of Labeled Products of Photosynthesis in the leaves and Xylem Sap of Kidney Bean // ISSN 1021-4437, Russian Journal of Plant Physiology, 2005, V. 52, No 4. Pp. 459-462.

АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ФИТОФТОРОЙ

Шпирная И.А., Цветков В.О., Мещерякова Е.С., Ибрагимов Р.И.

Башкирский государственный университет, кафедра биохимии и биотехнологии, Россия
e-mail: i-shia@yandex.ru

Картофель относится к культурам, в значительной степени поражаемым фитопатогенами. Восприимчивость картофеля к бактериальным и грибным заболеваниям обусловлена особенностями его вегетации. Богатые углеводами, влагой ботва и клубни представляют собой благоприятную среду для развития самых разных возбудителей заболеваний, в т.ч. и грибов *Phytophthora infestans*. Фитофтороз – самое вредоносное заболевание картофеля в большинстве стран-производителей этой культуры.

Для расщепления полимеров растительного организма фитопатогены используют различные гидролитические ферменты: их состав и активность у микроорганизма может варьировать в зависимости от типа субстрата. Известно, что в ряде случаев гидролазы самих растений также могут использоваться патогеном с целью усвоения питательных веществ и «экономить» таким образом энергетические ресурсы микроорганизма для формирования инфекционных структур и спор.

Объектами исследований служили сорта картофеля, различающиеся по устойчивости к фитофторозу: сорт Невский (среднеустойчивый) и Луговской (устойчивый). Из предварительно обеззараженных клубней вырезали цилиндры (Васюкова и др., 2008), на которые наносили суспензию зооспор возбудителя фитофтороза (2×10^4 спор на цилиндр). В качестве контроля использовали клубни, обработанные дистиллированной водой. Через 72 часа после инокуляции в клубнях определяли активность амилаз, пектиназ, протеиназ по интенсивности гидролиза соответствующих субстратов в геле агарозы (Шпирная и др., 2009).

Показано, что в клубнях картофеля контрастных по устойчивости сортов имеются существенные различия в ферментативной активности (табл.1). Отмечена общая тенденция к снижению амилолитической активности при заражении, что вероятно является приспособительной реакцией растения, направленной на торможение развития патогена. Оказалось, что в незараженных клубнях сорта Невский активность ферментов, расщепляющих крахмал гораздо выше (более 2-х раз), чем в клубнях сорта Луговской. По-видимому, высокая активность амилаз является благоприятным фактором для развития патогена, который, как известно не способен синтезировать ферменты этого типа (Беккер, 1988).

Таблица 1

Активность гидролитических ферментов в клубнях картофеля, зараженных фитофторой

Вариант опыта	Гидролазы, Е/г массы		
	амилазы	пектиназы	протеиназы
Сорт Невский			
контроль	16,84±1,3	6,9±0,8	4,98±0,77
заражение	11,2±0,9	11,5±1,0	6,92±0,58
Сорт Луговской			
контроль	6,18±0,3	6,9±0,9	6,92±0,26
заражение	4,8±0,5	6,9±0,5	12,5±1,23

Пектиназная активность в клубнях присутствует как в контрольных, так и в зараженных клубнях, однако в менее устойчивом сорте Невский наблюдается ее повышение при заражении. Напротив, инфицирование не влияет на активность пектиназ в клубнях более устойчивого сорта Луговской. При инокуляции патогеном протеолитическая активность повышается в клубнях как устойчивого, так и восприимчивого сортов, что может быть связано как с интенсификацией белкового обмена при стрессе, вызванном заражением, так и с присутствием в тканях зараженных клубней ферментов фитопатогена. В целом, при заражении клубней восприимчивого сорта активность всех исследуемых ферментов возрастает.

Таким образом, регуляция активности гидролитических ферментов в тканях картофеля при заражении грибными патогенами может служить одним из важных факторов, определяющих уровень устойчивости сорта.

Литература

1. Васюкова Н.И., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Валеева Т.А., Озерецковская О.Л. (2008). Активизация защитных свойств элиситоров с помощью системных сигнальных молекул при взаимодействии картофеля и возбудителя фитофтороза // Прикладная биохимия и микробиология. 2 (44): 236-240.
2. Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И. (2009). Определение активности гидролаз и их ингибиторов по гидролизу субстрата в геле агарозы // Прикладная биохимия и микробиология. 4 (45): 497-501.
3. Беккер Э. (1988). Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 230 с.

ACTIVITY OF HYDROLYTIC ENZYMES IN POTATO TUBERS AT INFECTION OF PHYTOPHTHORA

Shpirnaya I.A., Tsvetkov V.O., Meshcheryakova E.S., Ibragimov R.I.

Bashkir State University, Chair of Biochemistry and Biotechnology, Russia
e-mail: i-shia@yandex.ru

Potato is one of the cultures, which are able to be infected by phytopathogens. Sensitivity of potato to bacteriological and fungal diseases is caused by the vegetation specialties. Carbohydrates-rich and water-rich haulm and tubers is good environment for growth of very different pathogens, including *F. infestans* fungi. Phytophthora is most malicious potato disease in many countries – manufacturers of this culture.

There are different hydrolytic enzymes used by phytopathogens to cleave polymers of plant organism: their content and activity in microorganism may vary depending of substrate type. It's known, that sometimes plants self hydrolases also can be used by pathogen for assimilation of nutrients, therefore cause an "economy" of energetic resources of microorganism for formation of pathogenic structures and spores.

Our objects of researches were potato sorts with different resistance against of phytophthora: Nevskiy sort (medium-resistant) and Lugovskoy (resistant). From the pre-sterilized tubers we cut out cylinders (Kladnitskaya, 2008), on which was placed suspension of zoospores of phytophthora infectors (2×10^4 spores per cylinder). As a control we used tubers, which were processed with distilled water. After 72 hours of inoculation we measured activity of amylases, pectinases, and proteases in tubers as an intensity of hydrolysis of respective substrate at agarose gel (Shpirnaya et al, 2009).

It's shown, that potato tubers of different resistance sorts has essential differences of enzymes activity (table 1). It shows general trend of decreasing of amylolytic activity at infection, which may be plant adaptive reaction, aimed at decreasing of pathogen growth. In non-infected tubers of Nevskiy sort activity of enzymes, cleaving starch, essentially higher (to 2 times), than in tubers of Lugovskoy sort. Must be, high activity of amylases is a good factor for pathogen growth, which, as it's known, can not synthesize enzymes of this type (Becker, 1988).

Table 1

Activity of hydrolytic enzymes in potato tubers, infected by phytophthora

Variant of test	Hydrolases, U per g of mass		
	amylases	pectinases	proteases
Nevskiy sort			
Control	16,84±2,0	6,9±0,8	4,98±0,77
Infection	11,2±0,9	11,5±1,0	6,92±0,58
Lugovskoy sort			
Control	6,18±0,3	6,9±0,9	6,92±0,26
Infection	4,8±0,5	6,9±0,5	12,5±1,23

Pectolytic activity in tubers is presented both in control and infected tubers, however in lower-resistant Nevskiy sort was shown it's increasing at infection. In contrast, infecting not affects on activity of pectinases in tubers of more resistant Lugovskoy sort. At pathogen inoculation proteolytic activity increases in tubers both of resistant and sensitive sorts, that may be related both with intensification of protein metabolism at stress, caused by infection, and with presence of phytopathogen enzymes in infected tubers tissues. In general, at infection of tubers of sensitive sort an activity of all researched enzymes increases.

Thus, regulation of activity of hydrolytic enzymes in potato tissues at infection of fungal pathogen may be used as one of essential factors, which determine the level of resistance of sort.

References

1. Vasjukova N.I., Chalenko G.I., Gerasimova N.G., Valueva T.A., Ozereckovskaja O.L. (2008). Aktivizacija zavitnyh svojstv jelisitorov s pomow'ju sistemnyh signal'nyh molekul pri vzaimodejstvii kartofelja i vozbuditelja fitoforoza // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 2 (44):236-240.
2. Shpirnaya I.A., Umarov I.A., Shevchenko N.D., Ibragimov R.I. (2009). Opredelenie aktivnosti gidrolaz i ih inhibitorov po gidrolizu substrata v gele agarozy // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 4 (45): 497-501.
3. Bekker J. (1988). Fiziologija i biohimija gribov. M.: Izd-vo Mosk. un-ta, 230 s.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА *CLC* У ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL

¹Шувалов А.В., ¹Орлова Ю.В., ¹Халилова Л.А., ¹Мясоедов Н.А., ^{1,2}Беляев Д.В., ^{1,3}Балнокин Ю.В.

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

² Московский физико-технический институт

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва

e-mail: laursen1243@mail.ru

Для галофитов – растений засоленных мест обитания, важнейшей адаптационной стратегией выживания является регуляция ионных потоков. Благодаря такой регуляции растения в условиях хлоридного засоления поддерживают водный и ионный гомеостаз на клеточном уровне и уровне целого растения. Наиболее распространенным, наряду с Na^+ , является Cl^- . Одними из основных претендентов на роль регуляторов концентраций Cl^- в клетках галофитов являются Cl^-/H^+ -антипортеры. Cl^-/H^+ -антипортеры относятся к семейству *CLC* (chloride channels), включающему также и анионные каналы.

Функционирование Cl^-/H^+ -антипортера продемонстрировано нами в мембранах клеток корня *S. altissima*. Исследование, проведенное нами на мембранах, разделенных в линейном градиенте плотности йодиксанола, показало наиболее интенсивный Cl^-/H^+ -обмен в мембранах аппарата Гольджи. Cl^-/H^+ -обмен был обнаружен также в тонопласте (Балнокин с соавт., в этом сборнике). В представленной работе для изучения роли Cl^-/H^+ -антипортеров в хлоридном обмене у галофитов и их вкладе в Cl^- -гомеостатирование клеток была поставлена задача определить нуклеотидные последовательности кДНК кодирующих их генов. Решение этой задачи поможет оценить их вклад в солеустойчивость, определить тканевую и внутриклеточную локализацию продуктов этих генов.

Исследования проводили на растениях *S. altissima*, выращенных в водной культуре в условиях умеренного засоления (100 мМ NaCl). Основные использовавшиеся методы: программный и визуальный анализ нуклеотидных последовательностей (Oligo, Blast, BioEdit), ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), молекулярное клонирование фрагментов ДНК в плазмидные векторы, 3'- и 5'- RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends), секвенирование ДНК.

Так как геном *S. altissima* не секвенирован, для выявления экспрессирующихся генов *CLC* использовали вырожденные праймеры. Праймеры были подобраны к консенсусной последовательности полученной при выравнивании различных генов *CLC* следующих растений: *Oryza sativa*, *Nicotiana tabacum*, *Glycine max*, *Thellungiella halophita*, *Citrus trifoliata*, *Zea mays*, *Arabidopsis thaliana*, *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum*. Используя подобранные праймеры, методом ОТ-ПЦР с тотальной РНК, выделенной из корней *S. altissima*, амплифицировали кДНК размером ~300 п.н. Этот фрагмент лигировали в вектор pTZ57 и клонировали в *E.coli*, затем секвенировали. Анализ клонированной кДНК в BLASTN и BLASTX показал ее сходство с *CLC* генами других растений. Используя полученную последовательность кДНК, выбрали специфичный прямой праймер для амплификации 3'-конца и использовали его с тотальной РНК *S. altissima* для получения шести достоверно различавшихся последовательностей кДНК *CLC*. Полученные фрагменты кДНК размером ~1500 п.н. клонировали в вектор pJET 1.2. Из 100 полученных трансформантов *E.coli* выявлено 28, содержащих вставку подходящего размера (~1500 п.н.), 20 из которых подвергли секвенированию. Была показана высокая степень сходства всех полученных последовательностей с последовательностями *CLC* других растений. Из двадцати секвенированных последовательностей шесть имели достоверные различия. Вместе с тем, несмотря на различия, все они являются высококонсервативными. Используя эти последовательности, выбрали праймеры для амплификации 5'-концов *CLC*, экспрессирующихся в корнях *S. altissima*. В последующем планируется получить полноразмерные кДНК *CLC* *S. altissima* и проанализировать их экспрессию в различных органах в зависимости от условий засоления.

Полученные данные указывают на экспрессию в корнях *S. altissima* в условиях засоления различных генов *CLC*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00987-а.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ISOLATION OF *CLC* GENES FROM *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL. EXPRESSED IN SALINE CONDITIONS

¹Shuvalov A.V., ¹Orlova Y.V., ¹Khalilova L.A., ¹Myasoedov N.A., ^{1,2}Belyaev D.V., ^{1,3}Balnokin Y.V.

¹ Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences¹

² Moscow Institute of Physics and Technology

³ Lomonosov Moscow State University, Russia, Moscow

e-mail: laursen1243@mail.ru

Halophytes, plants of saline habitats, regulate their ion fluxes to survive chloride excess and to maintain their water and ion homeostases at cellular and whole plant levels. Both Na⁺ and Cl⁻ are the most abundant ions. The Cl⁻/H⁺ antiporters are the main candidates to regulate Cl⁻ content of halophyte cells. The Cl⁻/H⁺ antiporters belong to the CLC (chloride channels) protein family that also includes anion channels.

The Cl⁻/H⁺ antiport was demonstrated by us in membranes of *S. altissima* root cells with the iodixanol-fractionated membrane fractions enriched by Golgi membranes having the highest rates of it. The Cl⁻/H⁺ antiport across tonoplast was also detected (see Balnokin et al. in these proceedings). To investigate the roles of the Cl⁻/H⁺ antiporters in antiport and cellular homeostasis of chloride in halophytes the cDNA nucleotide sequences of their genes needed to be determined. These sequences may help to understand the impact of the genes in salt resistance and to determine the tissue specificity of their expression and the subcellular localization of the antiporters.

The work was done on moderately salinized (100 mM NaCl) water culture of *S. altissima*. The principal methods used were computer and manual analysis of nucleotide sequences (Oligo, Blast, BioEdit), RT-PCR, DNA cloning in plasmid vectors, 3' RACE and 5' RACE (Rapid Amplification of cDNA ends), DNA sequencing.

Since the *S. altissima* genome is largely unknown, degenerate primers were used to isolate the expressed *CLC* genes. The RT-PCR primers were designed based on the consensus sequence derived from alignment of the *CLC* genes from the following species: *Oryza sativa*, *Nicotiana tabacum*, *Glycine max*, *Thellungiella halophita*, *Citrus trifoliata*, *Zea mays*, *Arabidopsis thaliana*, *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum*. RT-PCR with these primers and total RNA isolated from roots of *S. altissima* produced a cDNA of 300bp, that was then cloned in pTZ57 and sequenced. It proved to be similar to *CLC* genes from other plants. This cDNA sequence, in turn, was used to design a specific direct primer and to amplify 3' ends of cDNAs. The amplification produced a band of expected size of 1500 bp that was cloned in pJET1.2. One hundred clones were obtained and out of them, 20 clones with inserts of about 1500 bp were sequenced. Out of the sequenced clones, six different *CLC* clones were found that were nevertheless highly conserved. Using these sequences, the primers to amplify 5' ends of *CLC* genes expressed in *S. altissima* roots were designed. The cloning of full-length *CLC* cDNAs and analyses of their tissue- and salinity expression patterns are further planned.

These data present evidence of various *CLC* genes expression in salinized *S. altissima* roots.

This work is supported by Russian Foundation of Basic Research № 12-04-00987-a.

ПРОСТАГЛАНДИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ КАК СОСТАВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЙ И АДАПТИВНОЙ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЙ СИСТЕМ

Шульга Д.А., Чупахин В.И., Кудрявцев К.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия
e-mail: kudr@org.chem.msu.ru

Простагландиновые рецепторы принадлежат к трансмембранным GPCR-рецепторам и передают сигналы внутрь клетки после связывания простагландинов (ПГ). ПГ через соответствующие рецепторы оказывают защитное действие на слизистую оболочку желудка (СОЖ) при воздействии на организм стресса, некротизирующих агентов, нестероидных противовоспалительных препаратов [1]. ПГ E₂-типа (ПГЕ₂) эффективно осуществляют цитопротективное влияние на СОЖ. Фармакологические исследования выявили четыре вида ПГЕ₂ рецепторов (EP1 – EP4). Активация EP1 рецепторов снижает действие ulcerогенных факторов и содействует адаптивной гастропротекции под действием мягких раздражителей [1]. Физиологический отклик на активацию ПГЕ₂ рецепторов связывают с ингибированием секреции пепсина (EP1), сокращением желудка (EP1), стимуляцией дуоденальной щелочной секреции (EP3/EP4), подавлением транслокации бактерий из-за уменьшения сокращений кишечника (EP4), а также стимулированием секреции слизи (EP3/EP4) [1]. ПГЕ₂ рецепторы, несомненно, могут рассматриваться как биологические мишени для разработки противоязвенных препаратов. Однако эффективный процесс разработки таких лекарств ограничен недостатком структурных данных для ПГЕ₂ рецепторов. В настоящей работе было проведено моделирование по гомологии ПГЕ₂ рецепторов, разработаны 3D-компьютерные модели для всех четырёх видов ПГЕ₂ рецепторов и осуществлён докинг известных EP лигандов. Были изучены различные оценочные функции (ОФ) и найдена ОФ, ранжирующая предсказываемые параметры связывания лигандов с ПГЕ₂ рецепторами в соответствии с известными экспериментальными данными. Результаты моделирования ПГЕ₂ рецепторов и докинга лигандов могут быть визуализированы (Рис.) и будут использованы для возможного обоснования гастропротективной активности нового класса низкомолекулярных органических соединений [2].

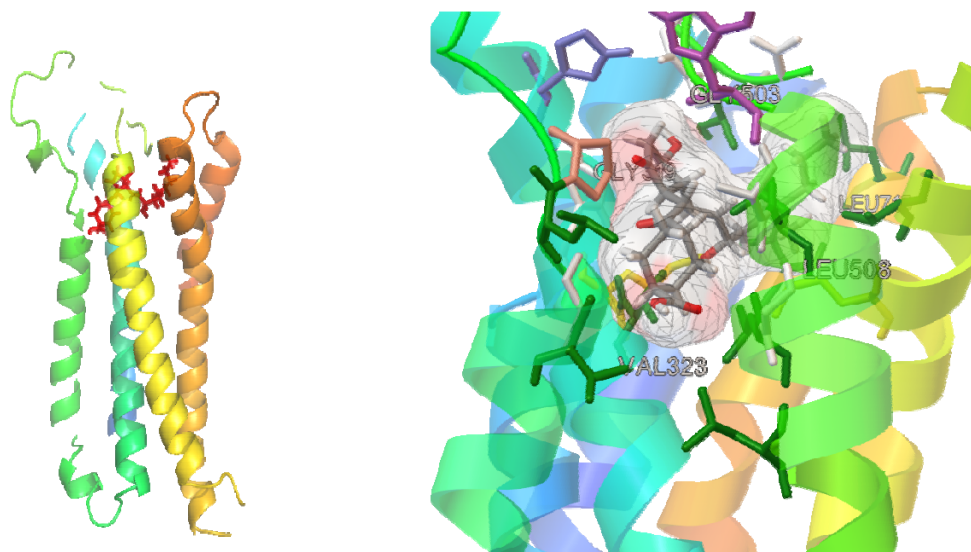


Рис. Рассчитанное положение EP1 агониста ONO-DI-004 в структуре EP1 рецептора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного контракта № 11.519.11.2032.

Литература:

1. Takeuchi K., Kato S., Amagase K. (2010). Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity. *J Pharmacol Sci.* 114: 248 – 261.
2. Kudryavtsev K.V., Kucherenko M.I., Falalyeyeva T.M., Beregovaya T.V., Ostapchenko L.I. (2012). Novel drug-like small molecules protect from stress-induced gastric ulceration in vivo. *Eur J Clin Invest.* 42(Suppl. 1) : 6.

PROSTAGLANDIN RECEPTORS AS COMPONENTS OF GASTROPROTECTIVE AND ADAPTIVE GASTROPROTECTIVE SYSTEMS

Shulga D.A., Chupakhin V.I., Kudryavtsev K.V.

M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Moscow, Russia
e-mail: kudr@org.chem.msu.ru

Prostaglandin receptors belong to GPCRs (guanine nucleotide binding protein coupled receptors) and transmit signals into cell upon prostaglandins (PGs) binding. Protective effect of PGs for gastrointestinal mucosa against stress, necrotizing agents, nonsteroidal anti-inflammatory drugs is well recognized and realized through corresponding receptors [1]. E₂ type PG (PGE₂) is particularly effective in gastric cytoprotection and four subtypes of PGE₂ receptors (EP1 – EP4) have been determined by pharmacological studies. Activation of EP1 receptors attenuates ulcerogenic stimuli and mediates adaptive gastric cytoprotection induced by mild irritants [1]. Physiological response to PGE₂ receptors activation is associated with inhibition of pepsin secretion (EP1), gastric contraction (EP1), stimulation of duodenal alkaline secretion (EP3/EP4), or suppression of bacterial translocation due to inhibition of intestinal contraction (EP4) as well as stimulation of mucus secretion (EP3/EP4) [1]. PGE₂ receptors are considered as biological targets for antiulcer therapeutics development. Efficient drug discovery in this area is limited by the lack of structural data for PGE₂ receptors. In our research homology models of PGE₂ receptors have been developed for all four subtypes of PGE₂ receptors. Using these models we performed docking of known EP ligands. Several scoring functions were evaluated and the one was selected appropriately ranging predicted results for EP ligands binding with experimental data. Modeling and docking results could be visualized (Fig.) and will be used for rationalization of gastroprotective activity of novel small molecules class recently disclosed by one of us [2].

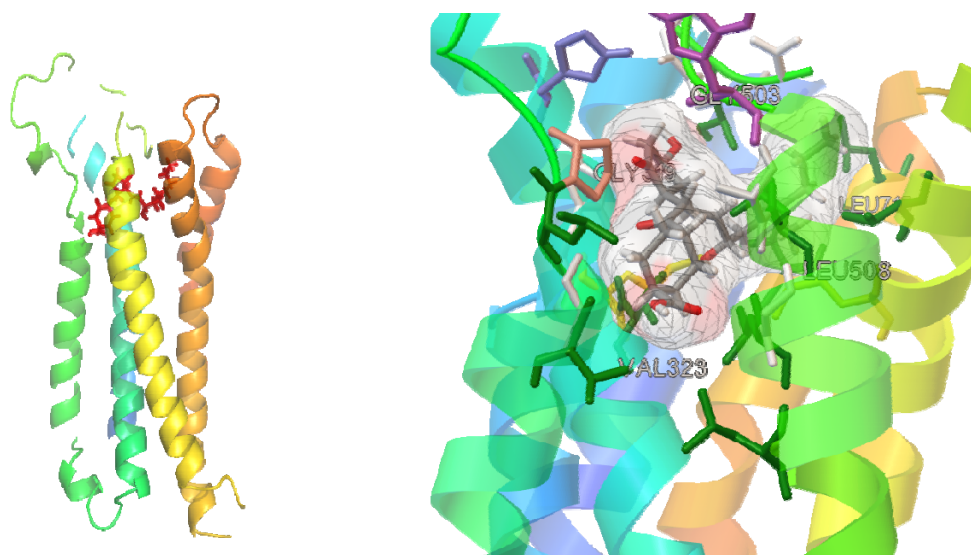


Fig. Predicted binding mode of EP1 agonist ONO-DI-004 with EP1 receptor.

Acknowledgements: This study was supported by the State Contract No. 11.519.11.2032.

References

1. Takeuchi K., Kato S., Amagase K. (2010). Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity. *J Pharmacol Sci.* 114: 248 – 261.
2. Kudryavtsev K.V., Kucherenko M.I., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Ostapchenko L.I. (2012). Novel drug-like small molecules protect from stress-induced gastric ulceration in vivo. *Eur J Clin Invest.* 42 (Suppl. 1) : 6.

О НЕКОТОРЫХ АСПЕКТАХ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РАДИОАДАПТАЦИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Юшкова Е.А., Зайнуллин В.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

Интенсивное развитие ядерных технологий, крупнейшие радиационные аварии на АЭС («Три-Майл-Айленд» (США), «Чернобыльская» (Украина), «Фукусима-1» (Япония) и др.), а также загрязнение окружающей среды радионуклидами предопределили существенное изменение радиозоологической ситуации на нашей планете. В этой связи большое значение имеют исследования, касающиеся оценки биологических эффектов, включая генетическую радиоадаптацию, действия ионизирующих излучений на популяции организмов.

Под явлением радиоадаптации понимается феномен увеличения радиоустойчивости особей, входящих в хронически облучаемые популяции, к дополнительному облучению высокими дозами. В экспериментах на дрозофиле были выявлены основные механизмы генетической радиоадаптации. Ключевую роль в повышении радиорезистентности животных играют клеточные системы защиты и отвечающие за их реализацию гены. В исследованиях по выявлению радиоадаптивных реакций у мутантных линий *Drosophila melanogaster* было обнаружено, что значимое снижение чувствительности к последующему острому воздействию радиации тесно сопряжено с активацией генов репарации (*mus209*, *mus210*, *mus309*), детоксикации свободных радикалов (*sod*) и контроля клеточного цикла (*mei-41*). Многие из этих генов имеют гомологов у млекопитающих и человека.

Формирование адаптационных возможностей популяций к действию ионизирующего излучения осуществляется также за счет транспозиционной активности мобильных генетических элементов. В экспериментах с модельными популяциями дрозофилы, показано, что в ответ на острое облучение в дозе 3 Гр частота повреждений ДНК и апоптоза в клетках особей, поддерживаемых в условиях хронического облучения в малых дозах (10 сГр) на протяжении нескольких поколений и отличающихся наличием в генотипе мобильных *I*-элементов, значимо снижается. Это объясняется способностью некоторых элементов, в частности *I*-элементов, активировать процессы индуцибельной репарации и рекомбинации при длительном воздействии низкоинтенсивного облучения, что подготавливает клетки к последующему облучению в острой дозе.

Таким образом, экспериментально подтверждено, что проявление радиоадаптации генетически детерминировано и обусловлено активацией определенных генов репарации и мобильных элементов.

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



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ON SOME ASPECTS OF GENETIC RADIOADAPTATION *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Yushkova E.A., Zainullin V.G.

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia
e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

The intensive development of nuclear technology, the large-scale radiation accidents at nuclear power stations ("Three-Mile Island" (USA), "Chernobyl" (Ukraine), "Fukushima-1" (Japan), etc.) as well as pollution of the environmental by radionuclides predetermined the significant change of radioecological situation on the Earth. In this connection high profile are researches relating to the assessment of biological effects, including genetic radioadaptation, response to influence of ionizing radiation on the populations of organisms.

Under phenomenon radioadaptation understood phenomenon of increased radioresistance of individuals from chronically irradiated populations, to additional an irradiation in a high doses. In experiments on drosophila the basic mechanisms of genetic radioadaptation have revealed. Key role in increase radioresistance of animals play systems cellular defense and are responsible over their realizaiton genes. In studies to detection radioadaptive reactions in the mutant lines of *Drosophila melanogaster* was found that the significant decrease in sensitivity to subsequent exposure an acute radiation closely is associated with the activation of repair genes (*mus209*, *mus210*, *mus309*), detoxification of free radicals (*sod*) and cell cycle control (*mei-41*). Many of these genes have homologues in mammals and man.

The formation of adaptive capabilities of populations to the action of ionizing radiation perhaps realized through transposition activity of mobile genetic elements. In experiments with model populations of drosophila it is shown that in response to an acute irradiation at a dose of 3 Gy the frequency of DNA damage and apoptosis in the cells of individuals supported in conditions of a chronic irradiation in low doses (10 cGy) for several generations and different presence in the genotype of mobile *I*-elements significantly are reduced. This explained the ability of certain elements, in particular the *I*-elements, activate the processes of inducible repair and recombination under exposure a chronic irradiation in low doses, which prepares the cells to subsequent exposure irradiation in an acute dose.

Thus, it is experimentally confirmed that the appearance of radioadaptation genetically determined and is due to the activation of certain repair genes and transposable elements.

This work was supported by financial support grants of the Ural Branch (№ 12-I-4-2006) and Siberian Branch (№ 12-C-4-1008) of the Russian Academy of Sciences.

MOLECULAR STRATEGIES FOR THE REGULATION OF THE COLD RECEPTOR TRPM8 BY ITS NATURALLY OCCURRING SHORT SPLICE VARIANTS

**Fernández J.A.¹, Skryma R.², Bidaux G.², Magleby K.L.³,
Scholfield C.N.⁴, McGeown J.G.¹, Prevarskaya N.², Zholos A.V.^{1,5}**

¹Center for Vision and Vascular Science, Queen's University Belfast, Belfast BT12 6BA, United Kingdom

²Laboratory of Cell Physiology, INSERM U800, Lille University of Science and Technology, Villeneuve d'Ascq 59655, France

³Department of Physiology and Biophysics, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida 33101, USA

⁴Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

⁵Department of Biophysics, Institute of Biology, Taras Shevchenko Kiev National University, Kiev 01601, Ukraine
e-mail: a.zholos@univ.net.ua

Ion channels are ubiquitous membrane-spanning proteins allowing the passage of ions across biological membranes, which are otherwise impermeable to ions. About 200 different ligand- and voltage-gated ion channels mediate diverse functions ranging from electrical activity of the brain and heart to cell growth and neurotransmitter release. Fine-tuning of their activity according to the constantly changing physiological needs and environmental conditions is thus required for maintaining an optimal cellular responsiveness. Such "adaptive" behaviour is widely spread among various ion channels, and some notable examples include regulation of ligand-gated channels through the desensitisation process, modulation of the voltage range of activation and inactivation kinetics of voltage-gated ion channels and adaptation of mechanosensitive channels. Although the molecular and biophysical mechanisms underlying such adaptive behaviour are diverse, the ultimate common outcome is altered gain in their specific signal transduction pathway.

Transient receptor potential (TRP) non-selective cation channels form a novel, diverse, and very large superfamily of mammalian ion channels (1). Many TRP members function primarily as cellular sensors, by coupling various environmental physical and chemical factors (e.g. temperature, osmotic pressure, pH, mechanical forces, natural ligands and environmental chemical irritants) to changes in membrane potential, cell excitability and intracellular calcium signals. Interaction of the full-length channels with isoforms produced by alternative splicing is emerging as an important and widely-spread mechanism of regulation of TRP expression and function. Some of these isoforms, termed "short" isoforms, are particularly interesting examples of biological regulation. They consist of only a partial N-terminal region of the full-length channel and thus they cannot form functional channels themselves, yet they are capable of specific interaction with the full-length channel and modulation of its activity.

We have recently cloned from prostate cancer cells two such short splice variants of the primary cold and menthol receptor TRPM8 (2). These short isoforms, termed short TRPM8 α (sM8 α) and short TRPM8 β (sM8 β), generated two different N-terminal derived proteins, sM8-6 (produced by both sM8 α and sM8 β) and sM8-18 (produced by sM8 α only). Short TRPM8 isoforms interacted in a temperature-dependent manner with the C-terminus of the full-length TRPM8 channel and reduced channel open probability to $4.8 \pm 1.1\%$ (sM8 α , $n=5$) and $5.5 \pm 0.6\%$ (sM8 β , $n=10$) of control, apparently mainly due to stabilisation of the closed state of the channel (3). Detailed single-channel analysis of TRPM8 gating was performed in the cell-attached configuration using HEK293 cells co-expressing wild-type TRPM8 and sM8-6 proteins encoded by the sM8 β splice variant. Using the general 7-state TRPM8 gating mechanism that describes TRPM8 regulation by voltage and temperature (4), we found that inhibition of TRPM8 by sM8-6 closely resembles inhibition by increased temperature. Specifically, inhibition by sM8-6 compared with a 10°C increase in temperature moved 12 of the 12 rate constants describing the 7-state model in the same direction, which is inconsistent with chance alone ($P=0.00024$). This effect was different from chemical inhibition of TRPM8 by its blockers clotrimazole and BCTC (5).

In conclusion, we postulate that two different classes of TRPM8 inhibition exist, termed H-type (heating-like inhibition) and B-type (BCTC-like inhibition). Molecular data implying presence of the TRPM8 temperature-sensing module in the C-terminus (6) and our present results suggest that naturally occurring TRPM8 short isoforms may regulate cellular responsiveness to cold by exploiting the temperature-sensitive channel machinery.

Acknowledgements: this work was supported by the European Social Fund (to AVZ, JGM, CNS, and JAF) and by National Institutes of Health Grant AR32805 (to KLM).

References

1. Venkatachalam K. and Montell C. (2007). TRP Channels. *Annu Rev Biochem* 76: 387-417.
2. Talavera K., Nilius B. and Voets T. (2008). Neuronal TRP channels: thermometers, pathfinders and life-savers. *Trends Neurosci* 31: 287-295.
3. Bidaux G., Beck B., Zholos A., Gordienko D., Lemonnier L., Flourakis M., Roudbaraki M., Borowiec A.S., Fernandez J., Delcourt P., Lepage G., Shuba Y., Skryma R. and Prevarskaya N. (2012). Regulation of activity of Transient Receptor Potential Melastatin 8 (TRPM8) channel by its short isoforms. *J Biol Chem* 287: 2948-2962.
4. Fernandez J.A., Skryma R., Bidaux G., Magleby K.L., Scholfield C.N., McGeown J.G., Prevarskaya N. and Zholos A.V. (2011). Voltage- and cold-dependent gating of single TRPM8 ion channels. *J Gen Physiol* 137: 173-195.
5. Fernandez J.A., Skryma R., Bidaux G., Magleby K.L., Scholfield C.N., McGeown J.G., Prevarskaya N. and Zholos A.V. (2012). Short isoforms of the cold receptor TRPM8 inhibit channel gating by mimicking heat action rather than chemical inhibitors. *J Biol Chem* 287: 2963-2970.
6. Brauchi S., Orta G., Salazar M., Rosenmann E. and Latorre R. (2006). A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels. *J Neurosci* 26: 4835-4840.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE FIRST POLISH RECORD OF *BATRACHIUM* × *FELIXII* EVIDENCED BASED ON MOLECULAR ANALYSIS

Magdalena Jopek, Joanna Zalewska-Gałosz

Institute of Botany of Jagiellonian University, Krakow, Poland
e-mail: surowkamagdalena@gmail.com

Interspecific hybridization is an important source of plant diversity. In some cases hybridization can result in formation of stabilized hybrids (1), which are often vigorous and long-persistent, even in the absence of one or both parental species (2,3). Also in genus *Batrachium* interspecific hybridization is one of the important factors shaping taxonomic diversity. Unfortunately morphological identification of *Batrachium* hybrids is difficult and often debatable. Molecular tools, recently commonly applied also in taxonomy, allow more efficiently tests of the origin of different morphotypes and track the hybridization events in *Batrachium* history. In a light of the current state of knowledge *Batrachium* × *felixii* is a hybrid between *B. trichophyllum* and *B. circinatum*. The hybrid distribution is limited to Asia and Russian part of Europe. During the present study putative *Batrachium* × *felixii* individual from Poland together with set of potential parental species were molecularly analyzed. The hybrid origin was confirmed by direct sequencing of nuclear (ITS) and two chloroplast regions: *rpl32-trnL* and *rps12-rpl20* intergenic spacers. Additionally PCR-RFLP of ITS region was also performed. Study proved that *B. ×felixii* occurs in Poland and therefore its distribution can be wider than it was expected until now.

Acknowledgements: The study was financially supported by National Science Centre, decision no DEC-2011/01/B/NZ8/00099.

References

1. Kaplan Z. (2010): Hybridization of *Potamogeton* species in the Czech Republic: diversity, distribution, temporal trends and habitat preferences. – *Preslia* 82: 261–287.
2. Preston C. D., Hollingsworth P. M. & Gornall R. J. (1998): *Potamogeton pectinatus* L. × *P. vaginatus* Turcz. (*P. ×bottnicus* Hagstr.), a newly identified hybrid in the British Isles. – *Watsonia* 22: 69–82.
3. Zalewska-Gałosz J., Ronikier M. & Kaplan Z. (2010): Discovery of a new, recurrently formed *Potamogeton* hybrid in Europe and Africa: molecular evidence and morphological comparison of different clones. – *Taxon* 59: 559–566.

**ПАТОЛОГИЯ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ
АДАПТАЦИЙ**

**PATHOLOGY OF ONTOGENETIC
ADAPTATIONS**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

Adaptive Strategies of Living Systems

АДАПТАЦІЙНІ ЗМІНИ В СЕРЦІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ НЕКРОЗІ МІОКАРДА

Бабасева А.Г., Чиж М.О., Слета І.В., Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Під ремоделюванням серця після інфаркту міокарда мають на увазі адаптивну модифікацію структури і функції органа. Експериментальний некроз серцевого м'яза використовується як модель інфаркту міокарда для досліджень, направлених на вивчення процесу ремоделювання серця і дослідження препаратів кардіотропної дії.

Мета роботи: встановити характерні особливості процесу ремодуляції серця після локального кріонекрозу міокарда.

Експериментальну модель некрозу міокарда (НМ) створювали хірургічним способом на безпородних щурах масою 180-250 г під ефірним наркозом на спонтанному диханні. Кріовплив на серце проводили автономним азотним кріоінструментом. Після цього грудну порожнину швидко і герметично ушивали.

Кріовплив на серце при оперативному доступі в 4-5 міжребер'ї кріоаплікатором з діаметром 3 мм і експозицією 15 сек призводив до утворення на бічній поверхні лівого шлуночка серця зон заledenіння, діаметр яких відповідав розміру кріоаплікатора. Глибина кріопошкодження серця тварин складала $0,28 \pm 0,02$ мм.

Після моделювання НМ на ЕКГ спостерігалось зниження амплітуди зубців R, поява q зубця і негативних зубців T в I і aVL відведеннях, що свідчило про розвиток у тварин субепікардіального НМ. Зміни ЕКГ, відмічені безпосередньо після операції, зберігалися і до 30-ї доби спостереження. У контрольних тварин (з торакотомією без кріовпливу на серце) грубих порушень в електрокардіограмах виявлено не було.

Дослідження гістологічних препаратів серця щурів після кріовпливу дають підставу стверджувати, що ремоделювання міокарда відбувається по класичному шляху - від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця.

По ЕКГ визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС) в хвилину і показники серцевого ритму: VLF - потужність в діапазоні дуже низьких частот (0,0033-0,04 Гц); LF - потужність в діапазоні низьких частот (0,04-0,15 Гц); HF - потужність в діапазоні високих частот (0,15-0,40 Гц) і SDNN - стандартне відхилення RR інтервалів.

Транзиторне зниження варіабельності серцевого ритму (BCP) після некрозу міокарда є прогностичною характеристикою реакції нервової системи на гостру фазу некрозу. Вважається, що виражене зменшення BCP є наслідком зменшення чутливості клітин синусного вузла до нейромодуючих впливів.

Після кріодеструкції міокарда спостерігається зниження потужності спектру, а в процесі ремоделювання міокарда, починаючи з 7-ї доби, спостерігається відновлення цього показника. Спектральні параметри варіабельності серцевого ритму можуть мати діагностичне значення у визначенні величини зони некрозу міокарду. Кріодеструкція міокарда призводить до посилення впливу парасимпатичної ланки нервової системи. Перспективи подальших досліджень в даному напрямі: аналіз BCP може бути використаний для доклінічних випробувань препаратів кардіотропної дії, зокрема їх впливи на ремоделювання міокарда.

Прижиттєву мікроскопію серця проводили за допомогою контактного мікроскопа ЛЮМАМ К-1 в режимі люмінесценції після внутрішньовенного введення флуоресцеїна натрія. Показники мікросудинного русла міокарда розраховували за допомогою комп'ютерної програми Bio Vision 4.0.

Діаметр капілярів міокарда правого шлуночку через 1 годину після операції зменшувався на 36% в порівнянні з нормою ($8,49 \pm 0,09$ мкм). На 14-ту добу діаметр мікросудин і відносна площа судинного русла збільшувалися, але до норми не поверталися.

Структурні зміни в серцевому м'язі при НМ розповсюджувалися далеко за межі зони кріовпливу. На периферичних ділянках міокарда в області правого шлуночку діаметр капілярів зменшувався в порівнянні з нормою.

На 14-ту добу в центральній зоні некрозу міокарда спостерігалися одиничні судини невеликого діаметра, створюючи нетиповий для серця рисунок. По периметру зона кріонекрозу була оточена мікросудинами більшого діаметра, ніж в нормі.

Одержані результати по адаптаційній ремодуляції серця після локальної кріодеструкції передбачається використати як базові при дослідженні впливу пептидних комплексів серця на цей процес.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION CHANGES IN HEART AT EXPERIMENTAL MYOCARDIAL NECROSIS

Babaieva G.G., Chizh M.O., Sleta I.V., Galchenko S.Ye., Sandomirsky B.P.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Remodeling of heart after myocardial infarction means adaptive modification of structure and functions of organ. Experimental necrosis of cardiac muscle is used as a model of myocardial infarction for researches for the studying of cardiac remodeling and preparation of cardiotropic action.

The research aim is to establish the peculiarities of remodulation of heart after local myocardial cryonecrosis.

The experimental model of myocardial necrosis (MN) was surgically created in breedless rats of 180-250 g under ether anesthesia on spontaneous breathing. Cryoeffect on heart was performed by nitrogen cryoinstrument. Then the chest cavity was rapidly and tightly insured.

Cryoinfluence on heart with surgical access in 4-5 intercostals space by cryoapplicator with a 3 mm diameter and 15 sec exposure led to the formation on the side of the left ventricle of heart areas of glaciation, the diameter of which fitted cryoapplicator. Cryodamage depth of animals' heart was $0,28 \pm 0,02$ mm.

After modeling of MN on the ECG there was observed reduction of amplitude of R wave, the appearance of q-wave and negative T wave in I and avL leads, indicating the development of subepicardial MN in animals. ECG changes, revealed immediately after surgery and maintained to the 30 th observation day. In control animals (with thoracotomy without cryoinfluence on heart) gross violations of electrocardiograms were not found.

Histological studies of rat heart after cryoinfluence give reason to believe that myocardial remodeling occurs in the classical way - from aseptic inflammation to the formation of connective tissue scar.

There were determined by ECG heart rate (HR) per minute and heart rate parameters: VLF - power within the range of very low frequency (0,0033-0,04 Hz); LF - power within the range of low frequencies (0,04-0,15 Hz); HF - power within high frequency range (0,15-0,40 Hz) and SDNN - standard deviation of RR intervals.

Transient decrease in heart rate variability (HRV) after myocardial necrosis is a prognostic characteristic response of nervous system to acute phase of necrosis. It is considered that expressed reduction of HRV is the result of decreasing the cell sensitivity of sinus node neyromodulative influences.

After myocardial cryodestruction power spectrum reduction is observed, and during myocardium remodeling since the 7th day recovery of this index has been revealed. Spectral parameters of heart rate variability may have diagnostic value in determination of myocardial necrosis size. Myocardial cryodestruction leads to increase of influence of the parasympathetic nervous system level. Perspectives of further research in this field are: analysis of HRV can be used for preclinical testing of drugs of cardiotropic actions, including their effects on myocardial remodeling.

Intravital microscopy of the heart was conducted with a contact microscope LYUMAM K-1 in luminescence regimen after intravenous injection of sodium fluorescein. Indicators of myocardial microvascular bed were calculated with software Bio Vision 4.0.

The diameter of right ventricular capillaries in 1 hour after surgery decreased by 36% compared to the norm ($8,49 \pm 0,09$ mm). On the 14 th day diameter of microvessels and relative vascular bed area increased, but did not turn to the norm.

Structural changes in cardiac muscle at MN spread far beyond the zone of cryoinfluence. In the peripheral areas of myocardium in the right ventricle the diameter of capillaries decreased if compared to the norm.

On the 14 th day in the central zone of myocardial necrosis single small diameter vessels, creating an atypical image for the heart were observed. Along the perimeter the cryonecrosis zone was surrounded by microvessels of larger diameter than normal ones.

The obtained results of heart adaptation remodulation after local cryodestruction are supposed to be used as the basic ones in the study of influence of cardiac peptide complexes on this process.

МОДУЛЯЦИЯ СИСТЕМЫ КОФЕРМЕНТА А: МЕХАНИЗМЫ И ТЕХНОЛОГИИ ДОСТИЖЕНИЯ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА

²Башун Н.З., ¹Омельянчик С.Н., ¹Гуринович В.А., ¹Гроховская Т.Ч., ¹Лукиенко Е.П.,
²Канунникова Н.П., ¹Шевалье А.А., ¹Катковская И.Н., ¹Мойсеенок А.Г.

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Гродненский филиал, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

e-mail: val@biochem.unibel.by

Проблемы достижения и потенцирования нейропротекторного действия при использовании природных соединений и ксенобиотических лекарственных средств постоянно актуализируются в связи с ростом ишемической патологии мозга и устойчиво высоким уровнем нейродегенеративных патологических процессов, возрастанием удельного веса неврологической патологии в связи с увеличением продолжительности жизни в экономически развитых странах. В последние годы особое внимание обращено на биофункции витамина В₅ – пантотеновой кислоты, незаменимого компонента системы биосинтеза кофермента ацетилирования (CoA), в частности, в связи с генетически детерминированным дефектом ключевого фермента биосинтеза CoA при т.н. синдроме «Pantothenate kinase associated neurodegeneration» (PKAN). Помимо этого выявлен высокий протективный эффект предшественника CoA – Д-пантенола (PL) при моделировании фокальной ишемии мозга (1) и его клиническом использовании для предупреждения неврологических осложнений при оперативном лечении артериальных аневризм головного мозга (2).

Определенной проблемой включения CoA-зависимых механизмов нейропротекции в ЦНС (биосинтез нейромембран, ацетилхолина, энергетический уровень и стабилизация антиоксидантного потенциала нейронов) является достижение метаболически и патогенетически адекватного соотношения фракций CoA (CoA-SH/ацетил-CoA, структура ацил-CoA и, вероятно, CoA-SH/CoA-SS-CoA и/или CoA-S-S-белок, смешанные дисульфиды). Ингибирование пантотенаткиназы физиологическими концентрациями CoA-SH, некоторыми ацил-CoA и дефосфо-CoA ограничивает возможности использования прямых инициаторов биосинтеза CoA, таких как пантотенат, 4'-фосфо-пантотенат (PPA), PL или пантетин. Применение последнего представляется достаточно перспективным с учетом доказанной его эффективности в моделях PKAN у *Drosophila* и клетках dPANK/Fbl/TM3 человека, что сопровождалось ростом ацетилирования тубулина и гистонов (3).

Проведенное моделирование нейродегенеративной патологии с использованием бактериального липополисахарида (или его применения на фоне алюминиевого нейротоксикоза), холинотоксина AF64A, амилоидного β-пептида, фокальной ишемии мозга, хронического эмоционально-болевого стресса и ишемически-реперфузионного синдрома, выявило патогенетическую взаимосвязь развивающегося окислительного стресса (ОС) и нарушений системы CoA.

Развитие нейродегенеративного патологического процесса сопровождается нарушением системы глутатиона и тиолдисульфидного баланса в структурах головного мозга, что эффективно предупреждается назначением витаминных предшественников CoA. Назначение PL в модели фокальной ишемии мозга уменьшает проявления ОС, уменьшает зону инфаркта и степень выраженности неврологического дефицита. Выявлена высокая чувствительность системы глутатиона и биосинтеза CoA в гиппокампе при ОС и нейротоксикозе. Исследования биодоступности производных ПАК в ЦНС свидетельствуют о высокой «пантотенотропности» гиппокампа, что предполагает роль системы CoA в качестве мишени нейропротекции или подверженности нейродегенеративной патологии.

Механизмы протективного действия предшественников CoA изучены на изолированных синапсоммах. Они включают нормализацию редокс-состояния глутатиона и синапсоммальных белков, уровня общих фосфолипидов и активности Na⁺, K⁺-АТФазы нейромембран, увеличение показателей их интегральности. Остается неясным вопрос роли промежуточных продуктов биосинтеза CoA, таких как PPA, 4'-фосфо-пантетеин и, вероятно, дефосфо-CoA в цепи патогенетических нарушений при генерализации ОС и развитии нейродегенеративной и постишемической патологии. Апробированы новые возможности модуляции биосинтеза CoA путем применения физиологических субстанций липоевой кислоты, сукцината, производных карнитина. Сохраняется альтернатива применения Д-гомопантотената (эффективного ноотропа) как способа достижения эффекта «ингибирования/деингибирования» системы биосинтеза кофермента.

Литература

1. Онуфриев М.В., Степанicheв М.Ю., Лазарева Н.А., Катковская И.Н., Тишкина А.О., Мойсеенок А.Г., Гуляева Н.В. (2010) Нейропротекторные свойства пантенола: исследование на модели окклюзии среднетерминальной артерии у крысы // *Нейрохимия*. 27(2): 170-175.
2. Скороход А.А., Олешкевич Ф.В., Федюлов А.С., Мойсеенок А.Г. (2001) Патент РБ N 7743.
3. Siudeja K., Srinivasan B., Xu L., Rana A., de Jong J., Nollen E.A.A., Jackowski S., Sanford L., Hayflick S., Sibon O.C.M. (2011) Impaired Coenzyme A metabolism affects histone and tubulin acetylation in *Drosophila* and human cell models of pantothenate kinase associated neurodegeneration. *EMBO Mol Med*. 3: 1-12.

MODULATION OF COENZYME A SYSTEM: MECHANISMS TO ATTAIN NEUROPROTECTIVE EFFECT

²Bashun N.Z., ¹Omelyanchik S.N., ¹Gurinovich V.A., ¹Grokhovskaya T.Ch.,
¹LukienkoYe.P., ²Kanunnikova N.P., ¹Shevalye A.A., ¹Katkovskaya I.N., ¹Moiseenok A.G.

¹ Institute of Bioorganic Chemistry, NAS of Belarus, Grodno Branch,

² Ya.Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

e-mail: val@biochem.unibel.by

The problems of attainment and potentiation of a neuroprotective effect by the use of natural compounds and xenobiotic drugs are being constantly topicalized in relation to growth of ischemic brain pathology, a persistently high level of neurodegenerative pathologic processes and an elevated proportion of neurologic pathology in relation to increased life-span in economically developed countries. Lately particular attention have been paid to biofunctions of vitamin B₅, pantothenic acid, an essential component in the biosynthetic system of coenzyme of acetylation (CoA), particularly in relation to the genetically determined defect of the key enzyme in CoA biosynthesis under the so-called syndrome of pantothenate kinase associated neurodegeneration (PKAN). In addition to this, a high protective effect was found of the CoA precursor, D-panthenol (PL), in models of focal brain ischemia (1) and of its clinical use to prevent neurologic complications in surgical treatment of brain arterial aneurysms (2).

A definite problem in incorporation of CoA-dependent neuroprotection mechanisms into the CNS (biosynthesis of neuromembranes, acetylcholine, an energy level and stabilization of a neuronal antioxidant potential) is attainment of a metabolically and pathogenetically adequate ratio of CoA fractions (CoA-SH/acetyl-CoA, acyl-CoA structure, and, probably, CoA-SH/CoA-SS-CoA and/or CoA-S-S-protein, mixed disulfides). Inhibition of pantothenate kinase by physiological concentrations of CoA-SH, some acyls-CoA and dephospho-CoA limits the use of direct inducers of CoA biosynthesis, such as pantothenate, 4'-phosphopantothenate (PPA), PL or pantethine. Application of the latter seems to be sufficiently promising with consideration for its proved efficiency in models of PKAN on *Drosophila* and human dPANK/Fbl/TM3cells, which was accompanied by growth of tubulin and histone acetylation (3).

The models of neurodegenerative pathology using bacterial lipopolysaccharide (or its application in aluminium neurotoxicosis), AF64A cholinotoxin, amyloid beta-peptide, focal brain ischemia, chronic emotional and algesic stress and the ischemic-reperfusion syndrome showed pathogenetic relationships between developing oxidative stress (OS) and disturbances in the CoA system.

The development of a neurodegenerative pathologic process is accompanied by abnormalities in the glutathione system and the thiol disulfide balance in brain structures, which was effectively prevented by treatment with vitamin CoA precursors. The application of PL in a model of focal brain ischemia alleviated OS manifestations, reduced the infarction zone and the extent of neurologic deficiency.

A high sensitivity of glutathione and CoA biosynthetic system was found in the hippocamp under OS and neurotoxicosis. Studies on bioavailability of PA derivatives in the CNS indicate a high "pantothenotropicity" of the hippocamp, which suggests a role of the CoA system as a neuroprotection target or susceptibility to neurodegenerative pathology.

The mechanisms of a neuroprotective action of CoA precursors were studied using isolated synaptosomes. They include normalization of glutathione and synaptosomal proteins redox state, total phospholipid levels and neuromembranous Na⁺-K⁺-ATPase activity and enhancement of their integrity parameters. Unclear is the problem of the role of CoA intermediate biosynthetic products, such as PPA, 4'-phosphopantethein and, probably, dephospho-CoA in the chain of pathogenetic changes under generalization of OS and development of neurodegenerative and post-ischemic pathologies. Novel potentialities were tested in modulation of CoA biosynthesis using physiological substances of lipoic acid, succinate, carnitine derivatives. Application of D-homopantothenate (effective nootropic) can still be used as an alternative method to achieve inhibition/deinhibition of the coenzyme biosynthetic system.

References

1. Onufriev M.V., Stepanichev M.Yu., Lazareva N.V., Katkovskaya I.N., Tishkina A.O., Moiseenok A.G., Gulyaeva N.V. (2010) Panthenol as neuroprotectant: study in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *Neurochemical J.* 4(2): 148-152.
2. Skorokhod A.A., Oleshkevich F.V., Fedulov A.S., Moiseenok A.G. (2001) Patent of the Republic of Belarus No 7743.
3. Siudeja K., Srinivasan I.B., Xu L., Rana A., de Jong J., Nollen E.A.A., Jackowski S., Sanford L., Hayflick S., Sibon O.C.M. (2011) Impaired Coenzyme A metabolism affects histone and tubulin acetylation in *Drosophila* and human cell models of pantothenate kinase associated neurodegeneration. *EMBO Mol Med.* 3: 1-12.

ВИКОРИСТАННЯ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ ТА КАЛЬЦИТОНІНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ СТРУКТУРНИХ ЗМІН В КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЗА УМОВ ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА НЕДОСТАТНОСТІ ГОНАД

Білець М.В.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", Полтава, Україна
e-mail: bilec_marina@mail.ru

Відомо, що остеогенез знаходиться під нейрогормональним контролем. Статеві гормони та кальцитонін відіграють одну з провідних ролей в гормональній регуляції метаболізму кісткової тканини (КТ). Дефіцит статевих гормонів, особливо естрогенів, призводить до втрати кісткової маси - менопауза або оваріоектомія супроводжується зниженням кісткової щільності приблизно на 15% (1-3). Кальцитонін володіє гальмівним впливом на активність остеокластів, тому використовується як інгібітор кісткової резорбції (2,3). Мета даної роботи – дослідити можливість використання статевих гормонів та кальцитоніну для корекції структурних змін в кістковій тканині нижньої щелепи за умов емоційного стресу, недостатності гонад та їх сполученого впливу.

Експерименти виконані на 177 статевозрілих щурах Вістар обох статей. Емоційний стрес (ЕС) відтворювали за методом Є.А. Юматова, недостатність гонад (НГ) - за методом Я.Д. Кіршенблата. Корекцію метаболічних змін в кістковій тканині проводили напередодні моделювання емоційного стресу введенням per os чоловічих та жіночих статевих гормонів шляхом використання препаратів: "Андріол" (10 мг/кг) (Schering, Німеччина) та "Фемостон" (10 мг/кг) (Solvay Pharmaceuticals, Нідерланди). Дозу препаратів розраховували, виходячи з мінімальної терапевтичної дози для тварин, а також з урахуванням вмісту відповідних гормонів у препаратах (Западно І.П., 1983; Поворознюк В.В. та ін., 2004). Корекцію кальцитоніном проводили напередодні моделювання ЕС введенням підшкірно препарату кальцитоніну лосося "Міакальцик" (0,2 мг/кг) (Novartis, Норвегія). В кістковій тканині визначали показники мінеральної фази (кальцій, фосфор, їх співвідношення) та органічного матриксу (вуглеводні похідні глікопротеїнів: фукоза, N-ацетилнейрамінова кислота; та протеогліканів: гексуронової кислот, фракції глікозаміногліканів).

Поєднаний вплив ЕС та НГ призвів до максимального підвищення рівня N-ацетилнейрамінової кислоти в КТ нижньої щелепи у щурів обох статей: в 1,3 рази - у самців, в 1,7 рази - у самок. Тільки поєднана дія ЕС та тестектомії призвела до достовірного підвищення рівня фукози в КТ самців порівняно з інтактними ($1,37 \pm 0,08$ та $1,72 \pm 0,06$; $P < 0,05$). Групи щурів обох статей з поєднаною дією ЕС та НГ характеризуються достовірним підвищенням в 1,9 рази рівня гексуронової кислот у самців і в 1,5 рази у самок в КТ нижньої щелепи порівняно з інтактними тваринами, що значно перевищує показники в інших групах тварин. Поєднана дія ЕС та НГ призвела до достовірного підвищення в 1,4 рази рівня гіалуронової кислоти в КТ нижньої щелепи у самців, у самок відповідно - в 1,2 рази. Крім цього, поєднана дія ЕС та НГ супроводжувалась достовірним підвищенням в 1,5 рази рівня хондроїтинсульфатів в кістковій тканині нижньої щелепи самців, а у самок - в 1,3 рази порівняно з інтактними щурами. Показники мінеральної фази КТ нижньої щелепи - вміст кальцію та фосфору за умов ЕС суттєво не змінилися у тварин обох статей, але співвідношення кальцію і фосфору достовірно підвищилось в 1,4 рази у самців після тестектомії, що свідчить про відносне зменшення концентрації фосфору в кістковій тканині ($2,48 \pm 0,12$ та $1,72 \pm 0,20$; $P < 0,05$). У самок в КТ коефіцієнт кальцій / фосфор знизився в 1,5 рази в групі тварин із поєднаною дією ЕС та НГ ($1,81 \pm 0,29$ та $2,80 \pm 0,10$; $P < 0,05$), що відображає більшу втрату кальцію порівняно з втратою фосфору. Таким чином, на метаболічні зміни в КТ під дією патогенних чинників суттєво впливають статеві особливості реактивності організму.

Нами встановлено, що поєднана дія ЕС та НГ, на відміну від їх парціальної дії, підсилює структурні зміни в КТ нижньої щелепи її резорбцію, про що свідчить максимальне підвищення вмісту вуглеводних похідних неколагенових білків, співвідношення органічного та мінерального компонентів КТ, а також зміна рівня кальцію та фосфору. Отже, поєднана дія вказаних патогенних факторів підсилює катаболізм органічного матриксу КТ та порушує структурну організацію мінеральної фази КТ у тварин обох статей порівняно з їх парціальною дією. Корекція метаболічних змін у КТ нижньої щелепи за допомогою статевих гормонів та кальцитоніну за умов НГ, ЕС та їх поєднаної дії сприяла нормалізації вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти, гексуронової кислот, хондроїтин-сульфатів та гіалуронової кислоти.

Таким чином, статеві гормони та кальцитонін ефективно усуває структурно-метаболічні розлади, ініційовані емоційним стресом та недостатністю гонад в кістковій тканині нижньої щелепи та здійснюють антирезорбтивний вплив на цю ділянку скелету.

Література

1. Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и костно-мышечная система. – К., 2004. – 512 с.
2. Корж Н.А., Дедух Н.В. Профилактика остеопороза и остеопоротических переломов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2010, №3. – С.120-124.
3. Риггз Лоренс Б., Мелтон III Джозеф Л. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. – СПб.: ЗАО "Изд-во БИНОМ", 2000. – 560 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

USE OF SEX HORMONES AND CALCITONIN FOR CORRECTION OF STRUCTURAL CHANGES IN LOWER JAW'S BONE TISSUE UNDER CONDITION OF EMOTIONAL STRESS AND GONAD INSUFFICIENCY

Bilets M.V.

Higher State Educational Institution of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine
e-mail: bilec_marina@mail.ru

It is known that osteogenesis is under neurogormonal control. Sex hormones and calcitonin play one of leading role in the hormonal regulation of bone tissue (BT) metabolism. Deficiency of sex hormones, especially estrogens, lead to loss of bone mass. Menopause or ovariectomy is accompanied the loss of bone density approximately on 15% (1-3). Calcitonin has negative influence to activity of osteoclasts and can be used as an inhibitor of bone resorption (2,3). The aim of the research is to study the possibility of the use of sex hormones and calcitonin for the correction of structural changes in the lower jaw's bone tissue under emotional stress and gonad insufficiency. Experiments are executed on 177 rats of Vistar of both sexes. Emotional stress (ES) was reproduced after the method of E.A. Yumatov, insufficiency of gonad (IG) - after the method of Ya.D. Kirshenblat. The correction of metabolic changes in bone tissue was reproduced by introduction of per os of male and female sex hormones by the use of drug preparations: "Andriol" (10 mkg/kg) (Schering, Germany) and "Femoston" (10 mkg/kg) (Solvay Pharmaceuticals, Holland). A correction calcitonin was reproduced by hypodermic introduction of salmon calcitonin of "Miakalcik" (0,2 mkg/kg) (Novartis, Norway). Indicators of bone tissue metabolism (content of hexuronic acids, chondroitin-sulfates, N-acetylneuraminic acid, fucosa, concentration of calcium and phosphorus and their correlation) were determined in the bone tissue of lower jaw.

Combined action of the emotional stress and gonade insufficiency increased of N-acetylneuraminic acid level in BT of lower jaw for rats of both sexes: in 1,3 times - for males, in 1,7 times - for females. Only the combined action of ES and testectomy increased of fukosa level in BT of males by comparison to intact rats ($1,37 \pm 0,08$ and $1,72 \pm 0,06$; $R < 0,05$). The groups of rats of both sexes with the combined action of ES and IG are characterized a reliable increasing in 1,9 times of hexuronic acids level in 1,5 times for females in BT of lower jaw by comparison to intact animals. The combined action of ES and IG resulted in a reliable increase in 1,4 times of hyaluronic acid level in BT of lower jaw for males, for females accordingly - in 1,2 times. Except for it, the combined action of ES and IG was accompanied a reliable increase in 1,5 times of chondroitin-sulfates level in bone tissue of lower jaw of males, and for females - in 1,3 times by comparison to intact rats. Indexes of mineral phase of BT of lower jaw are content of calcium and phosphorus was not changed for rats of both sexes, but correlation of calcium and phosphorus was increased in 1,4 times for males after testectomy, that testifies to the relative diminishing of concentration of phosphorus in bone tissue ($2,48 \pm 0,12$ and $1,72 \pm 0,20$; $R < 0,05$). For females in BT coefficient calcium/phosphorus was reduced in 1,5 times in the group of animals with the combined action of ES and IG ($1,81 \pm 0,29$ and $2,80 \pm 0,10$; $R < 0,05$), that represents the greater loss of calcium by comparison to the loss of phosphorus. Thus, the sexual features of organism reactivity influence substantially to the metabolic changes in BT under the action of pathogenic factors. It is set by us, that the combined action of ES and IG increased structural changes in BT of lower jaw, its resorption. Correction of metabolic changes in BT of lower jaw by sex hormones and calcitonin under combined action of IG, ES normalized of content of hexuronic acids and N-acetylneuraminic acid, chondroitin-sulfates and hyaluronic acid. Thus, sex hormones and calcitonin inhibit structural and metabolic disorders in the lower jaw's bone tissue, which was stimulated of emotional stress and insufficiency of gonad.

References

1. Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и костно-мышечная система. – К., 2004. – 512 с.
2. Корж Н.А., Дедух Н.В. Профилактика остеопороза и остеопоротических переломов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2010, №3. – С.120-124.
3. Риггз Лоренс Б., Мелтон III Джозеф Л. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. – СПб.: ЗАО "Изд-во БИНОМ", 2000. – 560 с.

ЗОЛОТЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЖИВОТНЫХ КЛЕТОК

Богатырёв В.А., Дыкман Л.А., Староверов С.А., Бибикова О.А., Прилепский А.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия
e-mail: bog@ibppm.sgu.ru

Золотые наночастицы в медико-биологических исследованиях используются благодаря их уникальным физико-химическим свойствам: оптическим и поверхностно-химическим. Оптические (плазмонно-резонансные) свойства золотых наночастиц обеспечивают высокую светимость вследствие резонансного светорассеяния и использование в световой темнопольной микроскопии как оптических зондов. Из-за химической инертности коллоидное золото является одним из наиболее биосовместимых наноматериалов. В то же время, обладая большой сорбционной емкостью и способностью связывать некоторые химические группировки (тио-группы), золотые наночастицы могут быть использованы как носители лекарственных веществ (1).

Целью данной работы было исследование действия комплекса противоопухолевого препарата проспидина и золотых наночастиц (ЗНЧ) диаметром 45 нм на животные клетки: человеческие опухолевые клетки HeLa и клетки почек эмбрионов свиньи SPEV-2. Исследование влияния комплекса проспидин-коллоидное золото на дыхательную активность клеток проводили с помощью колориметрического (МТТ) теста. Определение жизнеспособности флуоромикроскопическими методами проводили по контролю нарушения барьерной функции клеточных мембран окраской проспидием йодистым (PI) и по состоянию нуклеиновых кислот, окрашиваемых акридиновым оранжевым.

Выявлено, что проспидин в комплексе с коллоидным золотом угнетает жизнеспособность опухолевых клеток, что проявляется в снижении дыхательной активности и изменении соотношения живых и мертвых клеток. Чистый проспидин в малых концентрациях (4 мг/мл) угнетает дыхательную активность на 10%, но в комплексе с золотыми наночастицами (4.5×10^{10} ЗНЧ/мл) вызывает угнетение дыхания не менее чем на 60%. Показано проникновение комплексов внутрь клеток, накопление в цитоплазме (но не в ядре) и преимущественное накопление ЗНЧ в живых клетках. При постоянном соотношении проспидин/ЗНЧ, вносимых дозах 10^4 и 2×10^4 ЗНЧ/кл. и времени инкубации 24 часа количество PI-позитивных (некротических) клеток не превышает 1% от общего количества клеток в поле зрения, в то время как в контроле эта величина составляет десятые доли процента. В то же время, если в контроле клетки образовывали типичный монослой с клетками веретенообразной формы, то в условиях опыта плотность заполнения была менее 50%, и большинство клеток имело округлую форму.

Проведенные наблюдения позволяют подтвердить цитостатическое (не цитотоксическое) действие проспидина. Использование техники комбинированной микроскопии (флуоресцентной и темнопольной) позволяет оценивать гетерогенность популяции клеток по морфофизиологическим параметрам.

Литература

1. Dykman L.A., Bogatyrev V.A., Shchyogolev S.Yu., Khlebtsov N.G. Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties, biomedical Applications. – М.: Nauka, 2008. – 319 p.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

GOLD NANOPARTICLES AS A TOOL FOR STUDYING OF ADAPTOGENIC PROPERTIES OF ANIMAL CELLS

Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Staroverov S.A., Bibikova O.A., Prilepskiy A.Yu.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia
e-mail: bog@ibppm.sgu.ru

Gold nanoparticles are used in biomedical research due to their unique physicochemical properties. These particles are employed in dark field microscopy as the optical probes due to the optical (plasmon-resonance) properties which provide high emittance by the resonant light scattering. The colloidal gold is one of the most biocompatible nanomaterials in case of the chemical inertness. At the same time the gold nanoparticles can be used as carriers for drug delivery, having a high sorption capacity and the ability to bind certain chemical groups (thio-groups) (1).

The goal of the study has been to investigate the influence of the complex consists of the anticancer drug prospidin and the gold nanoparticles (GNP) with an average diameter of 45 nm onto animal cells. HeLa and SPEV-2 cell lines have been obtained as biological objects. The investigation of the influence of the prospidin-colloidal gold complex on the respiratory activity of the cells has been performed by colorimetric (MTT) test. The determination of the cell viability by fluorescent microscopy has been carried out to monitor the breaches of the cell membranes barrier function by staining with propidium iodide (PI) and acridine orange as nucleic acid staining.

We have found that the complex prospidin-colloidal gold inhibits the viability of the tumor cells, resulting in the decrease of the respiratory activity and the changing the ratio of the live and dead cells. Pure prospidin in low concentrations (4 mg/ml) decreases the respiratory activity by 10%, while the drug complex (4.5×10^{10} GNP/ml) induces the significant respiratory decrease no less than 60%. We have showed the penetration of the complex into the cells, the accumulation into the cytoplasm (but not into the cell nucleus) and the accumulation of the GNP into the living cells substantially.

The number of the PI-positive (necrotic) cells does not exceed 1% of the total cells amount in field of vision in constant proportion prospidin/GNP and incubation time above 24 hours. The same quantity exceed tenth of a percent in the control sample. The cells filled density in the experimental sample has been less than 50% and the majority of the cells have been spherical, whereas the cells in the control sample have formed the typical monolayer with the spindle-shaped cells.

The observations allow confirmation of the cytostatic (not cytotoxic) prospidin activity. The use of combined microscopic facility (fluorescence and dark field) allows estimation of the cell population heterogeneity by the morphophysiological parameters.

References

1. Dykman L.A., Bogatyrev V.A., Shchyogolev S.Yu., Khlebtsov N.G. Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties, biomedical Applications. – M.: Nauka, 2008. – 319 p.

ОРГАНОСПЕЦИФИЧНИЙ АДАПТИВНИЙ ВПЛИВ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ ШКИРИ

**Богатирьова О.О., Борисенко І.Г., Белочкіна І.В., Дюбко Т.С.,
Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П.**

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Системна реакція запалення, індукована гормонами стресу та прозапальними цитокінами у відповідь на термічну травму, носить адаптивний характер. Актуальність адаптивного та патогенетично обґрунтованого підходу до корекції як метаболізму, так і процесу репаративної регенерації у постраждалих з термічною травмою не викликає сумніву. При такому підході не виникає конфлікту між терапією, що проводиться, та можливостями організму. Одним з таких підходів може бути використання регуляторних пептидів.

Мета роботи: встановити вплив пептидного комплексу кріоконсервованих фрагментів шкіри новонароджених поросят на процес загоєння холододових ран у щурів та на метаболічну активність фібробластів шкіри в культурі.

Пептидний комплекс шкіри поросят (ПКШП) одержували з кріоконсервованих фрагментів шкіри шляхом їх інкубації в фізіологічному розчині протягом 60 хв, фільтрування та видалення термолабільних білків. Холодову травму тваринам наносили охолодженням в рідкому азоті мідним аплікатором діаметром 10 мм, експозиція становила 60 с. ПКШП вводили щурам у черевну порожнину по 1 мл один раз на добу. Концентрація пептидів становила 100 мкг/мл. Фібробласти шкіри новонароджених щурів культивували в живильному середовищі DMEM/F12 з додавання сироватки плодів крупної рогатої худоби та антибіотиків. В дослідні зразки вносили концентрат ПКШП до кінцевої концентрації пептидів 0,1 і 1 мкг/мл, в контрольні – еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Метаболічну активність клітин оцінювали по відновленню нетоксичного редокс-індикатора alamar Blue.

Вважається, що використання препаратів, які містять вільні пептиди, в клінічній практиці утруднене перш за все через їх швидке розщеплення протеазами крові, цереброспінальної рідини і інших біологічних середовищ. Проте в зв'язаному стані, в першу чергу з альбуміном сироватки крові, такі пептиди не піддаються деградації і можуть, після введення в організм, поступати в незміненому вигляді до відповідних органів і клітин. Додавання ПКШП до сироватки крові щурів або розчину альбуміну суттєво впливало на спектральні характеристики білка, що може служити доказом взаємодії компонентів ПКШП з альбуміном або білками сироватки крові щурів.

Хроматографічні дослідження показали, що пептидний склад шкіри щурів залежить від різновиду впливу на шкіру. На хроматограмах екстрактів нативної шкіри щурів реєструвався пік, який відповідає пептидам з м.м. більшої 10000, і два піки, що відповідають пептидам з м.м. 1438 й 1087. При введенні ПКШП нативним тваринам протягом 3-х та 7-и діб спостерігалися відповідні зміни в пептидному складі шкіри. На хроматограмах екстракту механічно травмованої шкіри реєструвалися три додаткових піки з більшими молекулярними масами, а саме 1999, 5515, 7447. Максимальна кількість піків спостерігалася при холододовій травмі та ультрафіолетовому опроміненні шкіри.

Введення тваринам ПКШП прискорювало та нормалізувало процес загоєння ран і впливало на пептидний склад екстракту шкіри щурів з холододовою травмою. Одержані за допомогою 3D спектроскопії дані свідчать, що якісний аналіз пептидного складу тканинних екстрактів може бути використаний при вивченні пептидної регуляції процесу загоєння ран.

Встановлено також, що у тварин, яким вводили ПКШП нормалізувалася реакція імунної системи на холододову травму. При цьому показники лейкоцитарного індексу інтоксикації зменшувалися більш швидкими темпами у тварин, яким вводили пептиди.

При додаванні ПКШП в середовище культивування фібробластів спостерігалася більш раннє утворення моношару. Метаболічна активність клітин в присутності ПКШП в обох концентраціях збільшувалася в середньому на 20%. Також ПКШП позитивно впливав на проліферативну та метаболічну активність фібробластів після короткострокової гіпотермії.

Таким чином можна вважати, що ПКШП оптимізує адаптаційні можливості як на клітинному, так і організменному рівні при холододовій травмі.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ORGANOSPECIFIC ADAPTIVE SKIN INFLUENCE OF PEPTIDE COMPLEX

***Bogatyryova O.O., Borisenko I.G., Belochkina I.V., Dyubko T.S.,
Galchenko S.Ye., Sandomirsky B.P.***

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Total reaction of inflammation induced by stress hormones and proinflammatory cytokines in response to thermal injury is adaptive in nature. Adaptive and pathogenetic relevance based approach to correction of metabolism as well as the process of reparative regeneration in patients with thermal injury is beyond doubt. In this approach, there is no conflict between the therapy and body features. Using of regulatory peptides can be the one of these approaches.

The aim of this work: to establish the influence of peptide complex of cryopreserved skin fragments of newborn piglets on the healing process of cold wounds in rats and metabolic activity of skin fibroblast in culture. Peptide complex of piglets skin (PCPS) obtained from cryopreserved skin fragments by their incubation in saline for 60 min, filtering and removal of thermally labile proteins.

Cold injury to animals applied by copper applicator of 10 mm diameter cooled in liquid nitrogen, exposure was 60 s. PCPS were injected to rats in the abdominal cavity of 1 ml once a day. The concentration of peptides was 100 micrograms / ml. Fibroblasts of newborn rat's skin cultured in DMEM/F12 with added of embryonic bovine serum and antibiotics. Into the samples there was introduced concentrate of PCPS to the final concentration of peptides 0.1 and 1 mg / ml, in the control - the equivalent volume of saline. Metabolic activity of cells was evaluated by recovery of nontoxic redox indicator alamar Blue.

It is believed that using in clinical practice the products containing free peptides is difficult especially by their rapid decomposition of blood proteases, cerebrospinal fluid and other biological media. However, the bound state, primarily to blood serum albumin, these peptides do not degrade and may come in unchanged form to the relevant organs and cells after entering the body. Addition of PCPS to blood serum of rat or albumin solution essentially influenced the spectral characteristics of the protein that can serve as evidence of the interaction of PCPS components with albumin or serum proteins in rats.

Chromatographic studies have shown that the peptide composition of rat skin depends on a variety of the effects on the skin. In the chromatogram of rats native skin extracts there was detected a peak which corresponds to peptides with MM more than 10,000, and two peaks which correspond to peptides with MM 1438 and 1087. Entering PCPS to the native animals during 3 and 7 days and there were relevant changes in peptide composition of the skin. In the chromatograms of mechanically injured skin extracts there were recorded three additional peaks with higher molecular masses, i.e. 1999, 5515, 7447. The maximum number of peaks was observed in the cold injury and ultraviolet irradiation of the skin.

Introduction of PCPS to the animals was accelerated and normalized the wound healing process and impact to the composition of the peptide extract of rat skin with cold injury. Obtained by using 3D spectroscopy data show that the qualitative analysis of peptide composition of tissue extracts can be used in the study of peptide regulation of the healing process of wounds.

Also there was established that in animals injected with PCPS response of the immune system to cold injury normalized. This performance of leukocytic index of intoxication decreased more rapidly in the animals injected with peptides.

Adding the PCPS to fibroblasts culture medium there was observed an earlier monolayer formation. Metabolic activity of cells in the presence of both concentrations of PCPS increased on average by 20%. PCPS is also positively influenced the proliferative and metabolic activity of fibroblasts after short-term hypothermia.

Thus we can assume that PCPS optimizes an adaptive capacity both at cellular and organism level in the cold injury.

ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ, ВЕТЕРИНАРИИ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Варламов В.П., Албулов А.И.

Центр «Биоинженерия» Российской Академии Наук, Москва, Россия
e-mail: varlamov@biengi.ac.ru
ЗАО «Биопрогресс», Московская обл., пос. Биокombинат, Россия
e-mail: info@bioprogress.ru

Хитозан это природный поликатионный полисахарид, обладающий целым рядом преимуществ перед синтетическими полимерами, а именно: низкой токсичностью, биосовместимостью, биodeградируемостью. Благодаря этим свойствам хитозан его производные находят широкое применение в создании БАДов для профилактики многих заболеваний, в получении пленок, волокон, наночастиц, микрокапсул с включенными лекарственными препаратами, радипротекторов, средств защиты растений и др. (1-4). Свойства хитозана и проявляемая им активность существенно зависят от степени очистки и от основных физико-химических характеристик: молекулярной массы (ММ), степени ацетилирования, заряда, размера частиц, степени кристалличности. Молекула хитозана позволяет варьировать эти параметры в широком диапазоне. При получении хитозана пищевого или медицинского назначения важным моментом является понижение процентного содержания минеральных примесей до 0,08-0,12% и примесного белка до 0,1%. Обычно проводится понижение ММ с помощью химического или ферментативного гидролиза и фракционирование по ММ в различных диапазонах ММ: 3-20, 15-35, 30-100, 80-200 и выше 200 кДа. Для специальных целей могут быть получены низкомолекулярные хитозаны и индивидуальные олигомеры (n=3-7) с индексом полидисперсности не выше 1,2. Такие низкомолекулярные хитозаны показали антибактериальные свойства при защите сельскохозяйственных животных и птиц от туберкулеза (5).

Литература

- 1 Svirshchevskaya E.V., Alekseeva L.G., Reshetov P.D., Phomicheva N.N., Parphenyuk S.A., Ilyina, A.V., Zueva V.S., Lopatin S.A., Levov A.N., Varlamov V.P. (2009). Mucoadjuvant properties of lipo- and glycoconjugated derivatives of oligochitosans. *European J. of Med. Chemistry*, 44: 2030-2037.
- 2 Ilyina A.V., Zagorskaya D.S., Levov A.N., Albulov A.I., Kovacheva N.R., Varlamov V.P. (2009). The use of enzymatic preparation for the production of low molecular-weight chitosan from the king crab hepatopancreas. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45(4): 374-379
- 3 Mestechkina N.M., Bezborodova O.A., Ilyina A.V., Levov A.N., Kleimenov S.Yu., Nemtsova E.R., Yakubovskaya R.I., Shcherbuehin V.D., Varlamov V.P. (2011). Effect of polysaccharides on biological activity of human lactoferrin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(6): 640-647
- 4 Il'ina A.V., Zubareva A.A., Kurek D.V., Levov A.N., Varlamov V.P. (2012). Nanoparticles based on succinylchitosan with doxorubicin: preparation and properties. *Nanotechnologies in Russia*, 7 (1-2): 85-92
- 5 Albulov A.I., Schmidt E.V., Varlamov V.P., Ostanina E.S., Golub Yu.S., Golub O.Yu., Krschizanskaya E.V. (2007) The activity of chitosan against tuberculosis. *Veterinary and feeding*, 4 : 10-12

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHITOSAN-BASED PREPARATIONS FOR MEDICINE, VETERINARY AND FOOD INDUSTRY

Varlamov V.P., Albulov A.I.

Centre "Bioengineering" of Russian Academy of Sciences, Pr. 60-Letiya Oktyabrya 7/1, 117312, Moscow, Russia
e-mail: varlamov@biengi.ac.ru
ZAO "Bioprogress" Company, 141142, Moscow Region, pos. Biokombinat, Russia
e-mail: info@bioprogress.ru

Chitosan is a cation polysaccharide, possessing several benefits, as compared with synthetic polymers, namely – low toxicity, biocompatibility, biodegradation ability and availability. In this connection the growing interest to this natural biopolymer can be observed. The chitin/chitosan system has been thoroughly explored by scientists in its origin, composition, structure and chemical-physical properties. Chitosan is widely used in pharmaceutical and cosmetic industry, as well as in food, agricultural and some other industries (1-4). A potential standardization of the most common analyzing methods has been widely discussed during the past years but has been tackled finally. The technology was developed for standartization of crab chitosan quality, basing on two principles: polymer fractionating according to molecular mass, and purification from protein and mineral admixtures by washing with deionized water. Technological scheme of correction included the following stages: chitosan dissolving, purification from protein admixtures, fractionating according to molecular mass, purification of fractions from mineral admixtures, chitosan extraction from the solution, repeated purification from mineral admixtures, drying, further modification of the product (for instance – enzymatic hydrolysis). Such step-by-step treatment allows to reduce the content of mineral admixtures to 0,08-0,12 %, protein admixtures to 0,1%, as well as to extract chitosan fractions with molecular mass (MM) in the range of 3-20, 15-35, 30-100, 80-200 and above 200 kDa. For special aims individual chitosan oligomers and low-molecular mass (LMM) chitosans could be obtained with MM less than 20 kDa and polydispersity index 1.2-1.3 (according to HPLC). Our investigation showed that LMM chitosans with high degree of deacetylation possessed antibacterial properties and may be used for protection agricultural animals and birds against tuberculosis (5).

References

1. Svirshchevskaya E.V., Alekseeva L.G., Reshetov P.D., Phomicheva N.N., Parphenyuk S.A., Ilyina, A.V., Zueva V.S., Lopatin S.A., Levov A.N., Varlamov V.P. (2009). Mucoadjuvant properties of lipo- and glycoconjugated derivatives of oligochitosans. *European J. of Med. Chemistry*, 44: 2030-2037.
2. Ilyina A.V., Zagorskaya D.S., Levov A.N., Albulov A.I., Kovacheva N.R., Varlamov V.P. (2009). The use of enzymatic preparation for the production of low molecular-weight chitosan from the king crab hepatopancreas. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45(4): 374-379
3. Mestechkina N.M., Bezborodova O.A., Ilyina A.V., Levov A.N., Kleimenov S.Yu., Nemtsova E.R., Yakubovskaya R.I., Shcherbushin V.D., Varlamov V.P. (2011). Effect of polysaccharides on biological activity of human lactoferrin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(6): 640-647
4. Il'ina A.V., Zubareva A.A., Kurek D.V., Levov A.N., Varlamov V.P. (2012). Nanoparticles based on succinylchitosan with doxorubicin: preparation and properties. *Nanotechnologies in Russia*, 7 (1-2): 85-92
5. Albulov A.I., Schmidt E.V., Varlamov V.P., Ostanina E.S., Golub Yu.S., Golub O.Yu., Krschizhanovskaya E.V. (2007) The activity of chitosan against tuberculosis. *Veterinary and feeding*, 4 : 10-12

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА (НОСОГЛОТОЧНОЙ И КИШЕЧНОЙ) У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ В ПЕРИОД ОБОСТРЕНИЯ

Веселова Ж.В., Козлова Л.С., Джигоев Ю.П., Попкова С.М.

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, Иркутск, Россия.
e-mail: jei.ja@mail.ru

В последние десятилетия отмечен выраженный рост аллергических заболеваний (АЗ), не имеющий тенденции к снижению [3; 6], это связано как с изменениями окружающей среды, так и с образом жизни [3;4]. Патологическую основу аллергических болезней составляет аллергическое воспаление, обусловленное сенсибилизацией организма и наследственным предрасположением к их развитию [1; 2]. В настоящее время атопия рассматривается как врожденная склонность к гиперпродукции IgE – повышенная чувствительность к экзогенным аллергенам проявляющаяся атопической бронхиальной астмой (АБА), атопическим дерматитом, аллергическим ринитом (АР) и другими аллергическими состояниями [1]. Наиболее часто встречаемыми из группы АЗ, после атопического дерматита, является сочетание АБА с АР. По данным ВОЗ АР страдает 10 – 25%, АБА 1 – 18%. Распространенность АР в России составляет от 12,7 до 24%, АБА в России – от 5,6 до 12% [5; 7]. Проявление сезонного аллергического ринита связано с воздействием аллергенов пыльцы растений и проявляется в периоды сезонного цветения деревьев и трав. Исследования Российских и зарубежных авторов говорят о том, что триггером аллергической реакции могут быть бактерии, нарушающие баланс в носоглоточном и кишечном биотопах человека. Основным направлением нашей работы являлось изучение роли видового разнообразия кишечной и носоглоточной микробиоты в течение аллергических заболеваний у детей в период обострения, что позволило правильно оценить первичность патогенеза воспалительного процесса и назначить адекватное лечение с учетом выявленной микрофлоры в носоглоточной биоте.

Исследования проводились в аллергоцентре клиники ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН г. Иркутска и лаборатории микробиологии. Под наблюдением находилось 36 детей в возрасте от 0 до 18 лет, страдающих АБА и АР. Материалы исследования: носоглоточная и кишечная микробиота. Верификация диагноза АБА и АР проводилась по рекомендации «GINA», АР – «ARIA» 2008 г.

У детей с АБА и АР в периоды обострения в 55,6% случаев обнаружен значительный дефицит бифидобактерий в кишечнике, что указывает на дисбаланс микрофлоры. В 94,4% случаев также наблюдалось отклонение показателей по лактобактериям. В зеве в 76,5% случаев были обнаружены энтерококки, из них *E.faecium* в зеве встречался в 23,5%, а *E.faecalis* в 52,9%, которые в носоглотке являются возбудителями и не характерны для данного биотопа, хотя типичны для кишечника и у тех же самых лиц не превышали копрологической нормы. Род *Enterobacter* был представлен *E.cloacae* и *E.gergociae* в количестве превышающем норму (11,1% и 5,6% соответственно). Нетипичный для данных биотопов *S.aureus* в кишечнике встречался всего в 5,6% случаев, а в носе и зеве выявились высокие показатели (90,9% и 64,7%). Из нехарактерных микроорганизмов были обнаружены грибы рода *Candida* в кишечнике и зеве (16,7% и 5,9%). В посевах из носа были обнаружены возбудители *S.epidermidis* (18,2%), в зеве встречались *Str.bremmet* и *Str.pyogenic* (5,6% и 35,3%). Другие стафилококки и стрептококки в исследуемых биотопах не были выявлены. Дети, с подобным состоянием кишечника и носоглотки, как показала клиническая практика, имели более тяжелое течение АЗ, что в существенной степени сказывалось на качестве их жизни.

Таким образом, проведенное комплексное бактериологическое исследование у детей с АБА в сочетании с АР в период обострения, позволило обосновывать адекватный подход к терапии, учитывая роль микробиологических нарушений в двух значимых биотопах организма (кишечник и носоглотка) в формировании БА+АР у детей.

Литература

1. Балаболкин И.И., Булгакова В.А. (2011). Клиническая аллергология детского возраста с неотложными состояниями, рук-во для врачей. Москва: «МИА».
2. Намазова-Баранова Л.С. (2010-2011). Аллергия у детей: от теории к практике. Москва: Союз педиатров России.
3. Паттерсон Р., Грэммер Л.К., Гринбергер П.А. (2000). Аллергические болезни: диагностика и лечение. Москва: ГЭОТАР-Медиа. – с. 768.
4. Попкова С.М., Кичигина Е.Л., Ракова Е.Б., Анганова Е.В., Немченко У.М. (2009). Региональные особенности микробной экологии у детей Иркутской области, пособие для врачей. Иркутск: РИО ИРИУВа. – с. 36.
5. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. (2012). Аллергология и иммунология. Москва: «ГЭОТАР-Медиа».
6. Чепель Э., Хейни М., Мисхах С., Сновден. (2008). Основы клинической иммунологии. Москва: ГЭОТАР-Медиа.- с. 416.
7. Чучалин А.Г. (2008). Клинические рекомендации. Бронхиальная астма. Москва: «Атмосфера». – с. 224.

RELATIONS OF HUMAN MICROBIOTA (NASOPHARYNGEAL AND INTESTINAL) AT CHILDREN WITH ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA AND ALLERGIC RHINITIS DURING THE EXACERBATION

Veselova Zh.V., Kozlova L.S., Dzhioev Yu.P., Popkova S.M.

FSSFE «Scientific Center of the Family Health and Human Reproduction Problems» SB RAMS, Irkutsk, Russia
e-mail: jei.ja@mail.ru

In recent decades a pronounced increase in allergic diseases is marked (AD), with no tendency to decrease [3, 6], due to both environmental changes and the way of life [3, 4]. Pathological basis of allergic disease is allergic inflammation caused by sensitization of the organism and the genetic predisposition to their development [1, 2]. Currently, atopy is regarded as an inherent tendency to overproduction of IgE - hypersensitivity to exogenous allergens manifested as atopic asthma (ABA), atopic dermatitis, allergic rhinitis (AR) and other allergic conditions [1]. The most common of a group of AD after atopic dermatitis, is a combination of ABA with the AR. According to the WHO 10 - 25% of population suffers AR, 1 - 18% ABA. The prevalence of AR in Russia ranges from 12.7 to 24%, ABA in Russia - from 5.6 to 12% [5, 7]. The manifestation of seasonal allergic rhinitis is associated with exposure to pollen allergens and manifests itself in periods of seasonal flowering trees and grasses. Studies of the Russian and foreign authors suggest that bacteria may be the trigger of an allergic reaction, upsetting the balance in the nasopharyngeal and intestinal human habitats. The main focus of our work was to study the role of species diversity of the intestinal and nasopharyngeal microbiota for allergic diseases in children during an exacerbation, which made it possible to properly assess the primacy of the pathogenesis of inflammation and prescribe adequate treatment, taking into account flora identified in the nasopharyngeal biota.

The studies were conducted in the clinic allergic centre FSSFE "SCFHHRP" SB RAMS, Irkutsk and laboratory of micro ecology. We observed 36 children aged from 0 to 18 years with the ABA and AR. Subjects: nasopharyngeal and intestinal microbiota. Verification of the diagnosis of ABA and AR carried out by the recommendation «GINA», AR - «ARIA» 2008.

In children with ABA and AR during exacerbation in 55.6% of cases were found a significant deficit of bifidobacteria in the intestine, indicating that an imbalance of microflora. In 94.4% of cases the deviation of lactobacilli was also observed. In the throat enterococci were found in 76.5% of cases, *E. faecium* met in 23.5% and *E. faecalis* in 52.9% that in the nasopharynx are pathogens and not specific to this habitat, although typical for intestines and the same persons do not exceed the scatological norms. The genus *Enterobacter* was presented with *E. cloacae* and *E. gergociae* in an amount exceeding normal rate (11.1% and 5.6% respectively). Unusual for these habitats *S. aureus* in the intestines was met only in 5.6% of cases, nose and throat revealed high rates (90.9% and 64.7%). Of the atypical microorganisms were detected fungi of the genus *Candida* in the gut and throat (16.7% and 5.9%). At nose inoculations were detected *S. epidermidis* (18,2%), at throat - *Str. brevmomet.* and *Str. pyogenic* (5,6% and 35,3%). Other staphylococci and streptococci in the studied habitats have not been identified. Children with a similar condition of the intestine and nasopharynx, as shown by clinical experience, had more severe AS, which substantially affected the quality of their lives.

Thus, our comprehensive bacteriological examination in children with ABA in conjunction with AR during exacerbation allowed to justify an adequate approach to therapy, taking into account the role of microecological violations in two important habitats of the body (intestine, and nasopharynx) in the formation of BA + AR in children.

References

1. Balabolkin I.I., Bulgakova V.A. (2011). Clinical Allergology in childhood with medical emergencies, Guide for physicians. Moscow: MIA.
2. Namazova-Baranova L.S. (2010-2011). Allergies at children: from theory to practice. Moscow: Union of pediatricians of Russia.
3. Patterson R., Grammer L.K., Grinberger P.A. (2000). Allergic diseases: diagnosis and treatment. Moscow: GEOTAR-Media. – P. 768.
4. Popkova S.M., Kichigina E.L., Rakova E.B., Anganova E.V., Nemchenko U.M. (2009). Regional features of the microbial ecology at children of the Irkutsk region, manual for physicians. Irkutsk: RIO IRIUV. – P. 36.
5. Khaitov R.M., Iliina N.I. (2012). Allergology and Immunology. Moscow: GEOTAR-Media.
6. Chepel E., Khyeini M., Miskhakh S., Snovden. (2008). Fundamentals of Clinical Immunology. Moscow: GEOTAR-Media. – P. 416.
7. Chuchalin A.G. (2008). Clinical recommendations. Bronchial asthma. Moscow: Atmosphere. – c. 224.

ВПЛИВ ЕТАНОЛУ НА ЛІПІДНИЙ ТА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА У ЩУРІВ

*Вишневецька А.Г., Шелест Д.В., Шевченко А.Є.,
Галкін М.О., Ковальова В.А.*

Навчально-науковий центр „Інститут біології”, Київ, Україна
e-mail: alina.vishnevskaya@gmail.com

Однією з найактуальніших проблем сучасної медицини є виразкова хвороба шлунка. Це хронічне рецидивуюче захворювання, при якому в результаті порушень нервових і гуморальних механізмів в шлунку утворюється виразка. Ця хвороба є однією з найпоширеніших у світі.

На сьогоднішній день прийнято вважати, що виразкова хвороба є поліетіологічним захворюванням. Однією із причин її виникнення є вживання міцних алкогольних напоїв. Відомо, що алкоголь стимулює кислотоутворюючу діяльність шлунка, в результаті чого посилюються агресивні властивості шлункового соку, крім того, порушує бар'єрну функцію слизової оболонки, а також при тривалому вживанні міцних алкогольних напоїв знижується резистентність слизової оболонки.

Результати експериментальних та клінічних дослідів дозволяють обґрунтовано стверджувати, що у механізмі розвитку толерантності до дії етанолу важливу роль відіграють характерні фізико-хімічні зміни ліпідного складу.

У багатьох роботах показано, що етанол здатний зв'язуватись із зовнішньою поверхнею мембран клітин. Важлива роль тут належить гліколіпідам та глікопротеїнам біологічних мембран, оскільки саме полярні полісахаридні ділянки зв'язують етанол та виконують роль своєрідних посередників у реалізації мембранних ефектів етанолу. Зв'язування молекул етилового спирту із зовнішньою поверхнею мембран, їх проникнення між полярними головами молекул фосфоліпідів призводить до зменшення щільності упаковки останніх в мембрані та збільшення її текучості.

Відомо, що текучість біологічних мембран багато у чому залежить від ступеню насиченості жирнокислотних залишків у молекулах фосфоліпідів та вмісту холестеролу. Це дозволяє розглядати збільшення вмісту холестеролу та зменшення кількості ненасичених жирних кислот в біологічних мембранах як один з адаптивних механізмів, що дозволяє збільшити толерантність мембран до „флюїдируючої” дії етанолу.

Необхідно розглядати виразкову хворобу з позицій системних захворювань, в основі яких лежить ураження всіх органів системи травлення, а також нервової, гуморальної, імунної та інших систем організму. Гістологічно було доведено залучення підшлункової залози до процесів ульцерогенезу. Тому необхідне більш детальне вивчення процесів, що відбуваються у підшлунковій залозі за умов розвитку виразки шлунка.

Метою нашої роботи було охарактеризувати ліпідний та жирнокислотний стан клітин підшлункової залози за умов етанолової експериментальної виразки шлунка у щурів.

У досліді використовували білих нелінійних щурів масою близько 200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Етанолові ураження слизової оболонки шлунка отримували за методом Окабе. Ліпіди екстрагували хлороформ – метанольною сумішшю за методом Кейтса. Вміст полярних ліпідів та холестеролу досліджували хроматографічним методом на пластинках Silufol. Кількісне оцінювання проводили за допомогою денситометра. Метиллові ефіри жирних кислот отримували додаванням метилового розчину гідроксиду калію. Аналіз метилових ефірів жирних кислот здійснювали на газовому хроматографі Varian Star 1 (USA).

В результаті наших досліджень у клітинах підшлункової залози щурів за умов етанолової виразки шлунка вміст холестеролу збільшився у 1,9 рази, а вміст вільних жирних кислот - у 1,3 рази.

За умов етанолової моделі експериментальної виразки шлунка у клітинах підшлункової залози відзначено зменшення вмісту фосфатидилінозитолу у 1,5 рази, фосфатидилсерину - у 2,2 рази, фосфатидилетаноламіну – у 1,3 рази, та збільшення вмісту лізофосфатидилхоліну у 2,7 рази.

Відповідно змінилось співвідношення фосфоліпідів/холестерол. Виявлені зміни свідчать про адаптацію клітин підшлункової залози щурів до дії етанолу. Такі порушення нормального функціонування ліпідних мембран ведуть до зміни їх фізико-хімічних властивостей, що, в свою чергу відображається на функціонуванні мембранозв'язаних ферментів та сигнальних систем клітин підшлункової залози.

Встановлено суттєве збільшення вмісту насичених жирних кислот у клітинах підшлункової залози за умов етанолової моделі виразки шлунка, що можливо є пристосувально-захисною реакцією, спрямованою на активізацію системи антиоксидантного захисту та гальмування процесу вільно-радикального окиснення ліпідів.

Таким чином, отримані результати експериментальних досліджень свідчать про структурні перебудови ліпідному та жирнокислотному складі клітин підшлункової залози за умов етанолової моделі виразки шлунка у щурів. Такі зміни можуть бути наслідком адаптації клітин до дії етанолу та активації вільно-радикального окиснення.

EFFECTS OF ETHANOL ON THE LIPID AND FATTY ACIDS COMPOSITION OF PANCREATIC CELLS UNDER THE EXPERIMENTAL GASTRIC ULCERATION IN RATS

*Vyshnevskaya A., Shelest D., Shevchenko A.,
Galkin M., Kovaleva V.*

Teaching and Research Center "Institute of Biology", Kyiv, Ukraine
e-mail: alina.vishnevskaya@gmail.com

One of the most urgent problems of the modern medicine is a gastric ulcer. This is a chronic relapsing disease in which violations of nervous and humoral regulation in stomach result in the formation of the gastric ulcer. This disease is one of the most common in the world.

Today, it is assumed that peptic ulcer is a polyetiological disease. One of the reasons for its occurrence is the use of strong alcoholic beverages. It is known that alcohol stimulates gastric acid-forming activity, which leads to enhanced aggressive properties of gastric juice. In addition, it alters barrier function of the mucous membrane and, when being taken continuously, reduces the resistance of the mucous membrane.

Results of experimental and clinical research suggest that specific physical and chemical changes in lipid composition play important role in the mechanism of tolerance to ethanol.

It is shown, that ethanol is able to interact with the outer surface of cell membranes. An important role here is played by glycolipids and glycoproteins of biological membranes, as the polar polysaccharides bind ethanol and act as intermediaries in realization of membrane effects of ethanol. Binding of ethanol molecules to the outer surface of membranes and penetration between the polar heads of phospholipids lead to a decrease in the density of packing of phospholipids in the membrane and to increase of its fluidity.

Fluidity of biological membranes in many aspects depends on the degree of saturation of fatty acid residues in the molecules of phospholipids and cholesterol content. This allows us to consider increasing content of cholesterol and reducing number of unsaturated fatty acids in biological membranes as one of the adaptive mechanisms that can increase the tolerance of the membranes to "fluidizing" effect of ethanol.

Gastric ulcer should be considered from the standpoint of systemic diseases, which are based on destruction of all organs of the digestive system together with damage of nervous, endocrine, immune and other systems. Histologically was proven involvement of the pancreas in the process of ulcer development. Therefore, the processes occurring in the pancreas upon the development of gastric ulcers should be studied in more details.

The aim of our study was to characterize the lipid and fatty acid composition of the cells of the pancreas under conditions of ethanol-induced experimental gastric ulcers in rats. Nonlinear white rats about 200 g, weight were used in the experiments. Animals were kept on a standard diet of the vivarium. Ethanol damage of gastric mucosa was performed as described by [Okabe]. Lipids were extracted in chloroform - methanol mixture according to [Kates]. The content of polar lipids and cholesterol was evaluated by chromatography on Silufol plates. Quantitative evaluation was performed using densitometer. Methyl esters of fatty acids were obtained by adding methanol solution of potassium hydroxide. Methyl esters of fatty acids were analyzed on a gas chromatograph Varian Star 1 (USA).

Our data indicates that cholesterol content in the cells of the pancreas of rats under ethanol-induced experimental ulceration was increased in 1.9 times and the content of free fatty acids - in 1.3 times.

Level of phosphatidylinositol was decreased in 1.5 times, level of phosphatidylserine - in 2.2 times, level of phosphatidylethanolamine - in 1.3 times; content of lysophosphatidylcholine was increased in 2.7 times.

Phospholipids / cholesterol ratio was changed accordingly. Revealed changes indicate adaptation of pancreatic cells to the effects caused by ethanol. Such violations of the normal functioning of lipid membranes lead to changes of their physical and chemical properties, which in turn reflects on the functioning of membrane-associated enzymes and signaling systems of the pancreatic cells.

We also found significant increase of saturated fatty acids content in pancreatic cells under explored model of gastric ulcers. This increase may be an adaptive-defensive reaction aimed to enhance antioxidant defense system and to prevent free radical oxidation of lipids.

Thus, results of our experimental studies indicate structural reorganization of lipid and fatty acid composition of cells in the pancreas under ethanol model of gastric ulcer in rats. Such changes may appear due to the adaptation of cells to effects caused by ethanol and by activation of free radical oxidation.

АДАПТАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ У СИСТЕМІ ГЕМОСТАЗУ ЗА СИСТЕМНОГО ЧЕРВОНОГО ВОВЧАКА

Вовк Т.Б., Бурлова-Васильєва Н.К.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", Київ, Україна
e-mail: burlova@mail.ru

Системний червоний вовчак (СЧВ) – мультисистемне захворювання сполучної тканини, яке характеризується гетерогенною поліклональною аутоантитільною відповіддю. Вагомим ускладненням за цієї патології є патологічне тромбоутворення. У хворих розвивається варіабельна клінічна картина, яка характеризується широким спектром і різноманітними проявами, неоднозначним клінічним прогнозом, а також відповіддю на терапію, яка проводиться (1-4). Метою даної роботи була характеристика стану системи гемостазу та пошук можливих компенсаторно-адаптаційних механізмів гемостазу за СЧВ.

Загальний аналіз плазми крові хворих на СЧВ виявив дещо завищений рівень фібриногену, накопичення розчинних фібрин-мономерних комплексів та значне зниження активності протеїну С. Ступінь агрегації тромбоцитів за присутності АДФ перевищував норму на 20 %. Такі показники свідчать про активацію системи зсідання крові та загрозу розвитку тромботичних ускладнень.

Тести	Донори	Хворі на СЧВ
Фібриноген, г/л	$2,36 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,9$
Розчинні фібрин-мономерні комплекси, мг/мл	0	$0,005 \pm 0,001^*$
Протеїн С, %	$100,1 \pm 1,3$	$52,2 \pm 19,2^*$
Агрегація тромбоцитів, %	$51,4 \pm 1,3$	$62,3 \pm 2,4^*$
АЧТЧ, %	$100 \pm 0,36$	$193,3 \pm 9,2^*$

Табл. Показники системи гемостазу у хворих на системний червоний вовчак. * - $P < 0,05$

Проте, за даними хронометричного тесту АЧТЧ, час зсідання плазми крові у хворих значно подовжений, що можна пояснити накопиченням лупус-антикоагулянтів. Швидкість активації протромбіну екзогенними активаторами екамуліном та активатором з отрути гадюки Рассела за присутності IgG, виділених з плазми крові хворих, знижується на 43% та 48% відповідно у порівнянні з нормою (* - $P < 0,05$). Отримані дані свідчать про активацію адаптаційних механізмів гемостазу до зростаючої загрози тромботичних ускладнень.

Література

1. Aringer M., Hiepe F. (2011). Systemic lupus erythematosus. Rheumatol. 70 (4): 313–23.
2. Doruk Erkan (2006). Lupus and thrombosis. J Rheumatol. 33: 1715–1717.
3. Galli M., Luciani D., Bertolini G. and Barbui T. (2003). Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. Blood. 101: 1827–1832.
4. Levi M., Poll T., Buller H.R. Bidirectional relation between inflammation and coagulation // Circulation. – 2004. – 109. – P. 2698–2704.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION PROCESSES IN HAEMOSTASIS SYSTEM IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Vovk T.B., Burlova-Vasilieva N.K.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, ESC "Institute of Biology", Kyiv, Ukraine
e-mail: burlova@mail.ru

Systemic lupus erythematosus (SLE) is multisystem disease of connective tissue characterized by heterogeneous polyclonal autoantibody response. A significant complication of this pathology is abnormal clot formation. Patients have variable clinical presentation characterized by a wide range and variety of symptoms, ambiguous clinical prognosis and response to treatment (1-4). The aim of this work was to study the state of haemostasis system in order to find potential compensatory-adaptive mechanisms of haemostasis under SLE.

General blood analysis of patients with SLE showed slightly enhanced level of fibrinogen, accumulation of soluble fibrin-monomeric complexes and a significant reduction in protein C activity. Platelet aggregation in the presence of ADP was increased by 20%. These data indicate the activation of coagulation and the risk of thrombotic complications.

Tests	Donors	Patients with SLE
Fibrinogen, g/ml	2,36 ± 0,1	2,6 ± 0,9
Soluble fibrin-monomeric complexes, mg/ml	0	0,005 ± 0,001*
Protein C, %	100,1 ± 1,3	52,2 ± 19,2*
Platelet aggregation, %	51,4 ± 1,3	62,3 ± 2,4*
Activated partial thromboplastin time, %	100 ± 0,36	193,3 ± 9,2*

Table. Indexes of haemostasis in patients with systemic lupus erythematosus. * - P < 0,05

However, according to the chronometric test (aPTT), plasma clotting time in patients with SLE was significantly prolonged, which can be explained by the accumulation of lupus-anticoagulant. Prothrombin activation rate by exogenous activators ekamulin and activator from Russell viper venom in the presence of IgG, isolated from plasma of patients with SLE was decreased by 43% and 48% respectively compared with the norm (* - P < 0,05). These data suggest activation of adaptive mechanisms of haemostasis to the growing risk of thrombotic complications.

References

1. Aringer M., Hiepe F. (2011). Systemic lupus erythematosus. *Rheumatol.* 70 (4): 313–23.
2. Doruk Erkan (2006). Lupus and thrombosis. *J Rheumatol.* 33: 1715–1717.
3. Galli M., Luciani D., Bertolini G. and Barbui T. (2003). Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood.* 101: 1827–1832.
4. Levi M., Poll T., Buller H.R. Bidirectional relation between inflammation and coagulation // *Circulation.* – 2004. – 109. – P. 2698–2704.

АКТИВНІСТЬ 2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ У ЛІМФОЦИТАХ ТИМУСУ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ВВЕДЕННІ ОЦТОВОКИСЛОГО ЦИНКУ

Войтенко В.В., Компанець І.В., Степанець І.О., Білюк А.А., Колесарев О.В.

Навчально-науковий центр "Інститут біології"
Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: vvvoitenko@yahoo.com

Хронічна дія алкоголю спричинює розвиток цілого ряду патологічних процесів практично у всіх органах організму, порушуючи обмін речовин. При алкоголізмі значних уражень зазнає імунна система, зокрема, порушується баланс продукції про- і протизапальних цитокінів (1). При дії етанолу в організмі виникає дефіцит цинку, результатом чого є порушення функціонування багатьох цинк-залежних ферментів. Імунна система є дуже чутливою до дефіциту цинку, що може проявлятися виникненням алергічних реакцій, зниження стійкості до інфекційних захворювань, лімфопенії й атрофії тимусу (2). Важливою системою протівірусного захисту клітин є система 2',5'-олігоаденілату, яка індукується інтерфероном, ключовим ферментом якої є 2',5'-олігоаденілат-синтетаза (2',5'-ОАС) (3). Перспективним для лікування алкоголізму є застосування препаратів цинку з метою корекції клітинного метаболізму, зокрема оцтовокислого цинку, що має найнижчу токсичність.

Метою даної роботи було оцінити активність інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-ОАС у лімфоцитах тимусу щурів на моделі хронічної алкогольної інтоксикації, викликаній 28-добовим введенням етанолу, а також при введенні препарату оцтовокислого цинку. Щурам перорально вводили 40 %-й розчин етанолу з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу протягом 28 діб (1 група). Щурам другої групи паралельно з етанолом вводили оцтовокислий цинк у дозі 0,2 г на 100 г маси тварини.

Активність 2',5'-ОАС у лімфоцитах тимусу алкоголізованих щурів знижувалась найбільше (на 75%) на ранніх термінах експерименту (на 14 добу), на пізніших термінах вона зростала на 57% і 31% на 21-у і 28-у добу, відповідно, хоча і не досягала рівню контролю (рис. 1). Введення оцтовокислого цинку щурам контрольної групи не впливало на активність ферменту на всіх термінах дослідження. Дія цього препарату на фоні алкогольної інтоксикації була найбільш ефективною при його введенні на пізніх етапах експерименту: 21-у і 28-у добу активність 2',5'-ОАС підвищувалась на 81% і 30%, відповідно, на причому в останньому випадку виявлялася тенденція до нормалізації цього показника.

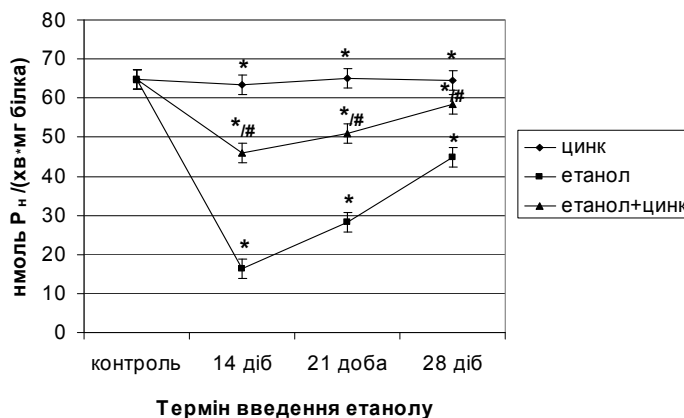


Рис. 1. Динаміка зміни активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимусу щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та при введенні оцтовокислого цинку

* - $P \leq 0,05$ відносно контролю, # - $P \leq 0,05$ відносно тварин, який вводили лише етанол

Зниження активності 2',5'-ОАС при хронічній алкогольній інтоксикації може бути наслідком пригнічення синтезу інтерферону, який індукує цей фермент, а також може бути пов'язаним із виникненням дефіциту цинку в організмі, який є необхідним для тетрамеризації і наступної активації цього ферменту. Оскільки 2',5'-ОАС є цинк-залежним ферментом, збільшення її активності при введенні оцтовокислого цинку на фоні дії етанолу, ймовірно, є результатом стабілізації структури даного ферменту. Причиною цього також може бути посилення синтезу інтерферону лімфоцитами, оскільки є дані, що цинк індукує продукцію деяких цитокінів, зокрема інтерферону (2).

Література

1. Nagy L.E. Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease // *Experimental Biology and Medicine*. – 2003. – vol. 228. – P. 882-890.
2. Fukada T., Yamasaki S., Nishida K., Murakami M., Hirano T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling // *J. Biol. Inorg. Chem.* - 2011. -vol. 16, No 7. - P. 1123-1134.
3. Content J. Mechanisms of induction and action of interferons // *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.*-2009.-71, №1-2.-P.51-71.

2',5'-OLIGOADENYLATE-SYNTHETASE ACTIVITY IN RAT THYMUS IN CONDITIONS OF CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION AND ACETIC ZINC INTRODUCTION

Voytenko V.V., Kompanets I.V., Stepanets I.A., Kolegaev O.V., Biluk A.A.

Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" of Taras Shevchenko Kyiv University, Kyiv, Ukraine
e-mail: vvoytenko@yahoo.com

Chronic alcohol action causes the development of quite a number of pathological processes in all organs, disturbing the metabolism. The immune system is significantly injured in conditions of chronic alcoholism, the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines production is disturbed, in particular (1). The ethanol action leads to the zinc deficit, the results in abnormalities of function of numerous zinc-dependent enzymes. Immune system is very sensitive to zinc deficit, that may be evident in allergic reactions appearing, the decrease of tolerance to infectious diseases, lymphopenia and thymus atrophy (2). The 2',5'-oligoadenylate system is the important part of cell antiviral protection system, that is induced by interferon. The 2',5'-oligoadenylate-synthetase (2',5'-OAS) is the key enzyme of this system (3). The use of zinc preparations is perspective for alcoholism treatment for the purpose of cell metabolism correction. The acetic zinc is the less toxic among these preparations.

The aim of this work was the estimation of interferon-induced 2',5'-OAS activity in rat thymus lymphocytes in conditions of chronic alcohol intoxication, caused by 28-daily ethanol consumption and at acetic zinc introduction. Rats were orally introduced by 40 % ethanol (2 ml per 100 g of mass) once a day pending 28 days (1-st group). The rats of second group were introduced by acetic zinc jointly with ethanol (0.2 g per 100 g of mass).

The 2',5'-OAS activity in thymocytes of alcoholised rats was more decreased (on 75%) at early termini of experiment (at 14-th day), at late termini it rises on 57% and 31% at 21-st day, accordingly, although, didn't reach the control level (fig. 1). The acetic zinc introduction didn't influence on enzyme activity at all termini of experiment. The action of this preparation against a background of alcohol intoxication was most effective at its introduction at late stages of experiment: the 2',5'-OAS activity increased on 81% and 30%, accordingly, at 21-st and 28-th days, and at the last term the tendency of this index normalization was observed at that.

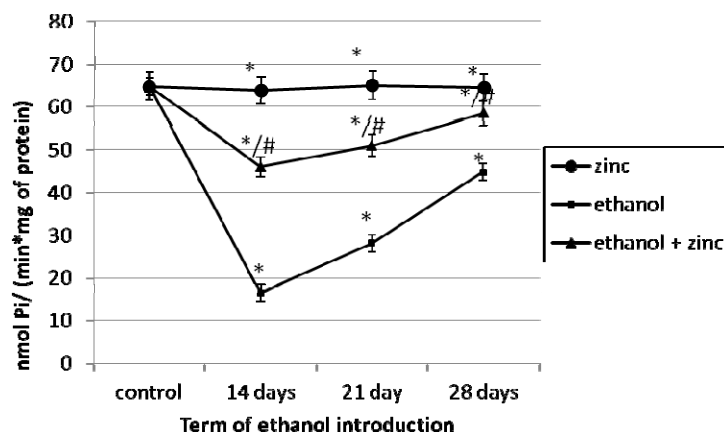


Fig. 1. The dynamics of 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity changing in rat thymus lymphocytes at chronic alcohol intoxication and acetic zinc introduction

* – $P \leq 0,05$ comparative to the control (intact animals), # – $P \leq 0,05$ comparative to the group of animals that consumed ethanol only

The decrease of 2',5'-OAS activity in conditions of chronic alcohol intoxication may be the result of interferon synthesis inhibition, the interferon can induce this enzyme. It also may be connected with zinc deficit development, that is necessary for enzyme tetramerization and subsequent activation. As far as 2',5'-OAS is the zinc-dependent enzyme, the increase of its activity in condition acetic zinc introduction to alcoholised rats, probably, is the result of stabilization of its structure. It may be the effect of the augmentation of interferon synthesis by lymphocytes, since zinc is known to induce the production of some cytokines, interferon in particular.

References

1. Nagy L.E. Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease // *Experimental Biology and Medicine*. – 2003. – vol. 228. – P. 882-890.
2. Fukada T., Yamasaki S., Nishida K., Murakami M., Hirano T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. –vol. 16, No 7. – P. 1123-1134.
3. Content J. Mechanisms of induction and action of interferons // *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg.* – 2009. – 71, №1-2. – P.51-71.

ВЛИЯНИЕ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ 1,5-БЕНЗОДИАЗЕПИНОНА-2 НА БОЛЕВОЙ ПОРОГ У КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ИХ ОРГАНИЗМА СУЛЬФАТОМ РТУТИ

*Гамма Т.В., Катюшина О.В., Коренюк И.И., Епишкин И.В.,
Хусаинов Д.Р., Шилина В.В., Черетаев И.В.*

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: tgamma@yandex.ru

В настоящее время бензодиазепины широко используются в анестезии и психофармакологии. Популярность их применения объясняется эффективностью, широким терапевтическим спектром и достаточной безопасностью, однако, они вызывают привыкание и ряд других побочных эффектов. Обнаружено, что некоторые вещества бензодиазепинового ряда сохраняют свое специфическое действие в сверхнизких концентрациях (СНК) от 10^{-12} до 10^{-14} М и, что важно, не проявляют побочного действия, наблюдаемого при введении терапевтических доз этих веществ. Кроме того, их действие зависит не только от дозы вводимого вещества, но и от условий, в которых организм обитает. К таким условиям относят повышенную концентрацию тяжелых металлов, которая может заметно изменять не только физиологическое состояние организма, но и его реакцию на влияние различных фармпрепаратов. Поэтому целью настоящей работы было изучение влияния 1,5-бензодиазепинона-2 (1,5-БДА) в дозах 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} М на проявление болевых реакций у крыс при интоксикации их организма сульфатом ртути.

Исследования были выполнены на 50 белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Животные были разделены на 5 групп, по 10 особей в каждой. Для изменения функционального состояния организма трем группам крыс ежедневно в течение 7 дней внутрибрюшинно однократно вводили сульфат ртути (HgSO_4) в дозе 20 мг/кг. Затем интоксигированным крысам вводили 1,5-БДА по 0,2 мл в СНК 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} М соответственно. Контрольной группе крыс вводили физиологический раствор. Противоболевое действие веществ исследовали с помощью теста «электростимуляция». В условиях теста у животных измерялся болевой порог (БП) – минимальное раздражение электрическим током (V), которое вызывало болевые ощущения (одергивание конечностей, вокализацию).

Полученные результаты показали, что при интоксикации организма крыс сульфатом ртути БП увеличивался по сравнению с контролем на 71% ($p \leq 0,01$), то есть, болевая чувствительность у крыс в данных условиях снижается. Применение 1,5-БДА в концентрациях 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} М на фоне интоксикации организма крыс сульфатом ртути вызвало увеличение БП на 41%, 67%, 96% ($p \leq 0,01$) соответственно по сравнению с контролем, то есть обнаружена обратная зависимость – с уменьшением концентрации наблюдалось увеличение анальгетического действия вещества. 1,5-БДА в концентрации 10^{-14} М по сравнению с сульфатом ртути снижает болевую чувствительность у крыс на 25 % ($p \leq 0,01$). Таким образом, наши данные свидетельствуют об обезболивающем действии СНК 1,5-БДА даже в условиях отравления организма крыс сульфатом ртути.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT ULTRA-SMALL CONCENTRATION OF 1,5-BENZODIAZEPINONA-2 ON PAIN THRESHOLD AGAINST A BACKGROUND OF MERCURY SULPHATES INTOXICATION IN RATS

*Gamma T.V., Katyushina O.V., Korenyuk I.I., Epishkin I.V.,
Khusainov D.R., Shilina V.V., Cheretaev I.V.*

Taurida National University by V.I. Vernadsky, Simferopol, Ukraine
e-mail: tgamma@yandex.ru

Currently, benzodiazepines are widely used in anesthesia and psychopharmacology. Their popularity due to efficiency, a wide range of therapeutic and sufficient security, but they have some side effects. Some substances benzodiazepine was found to retain their specific action in the ultra-small concentrations (USC) from 10-12 to 10-14 M and, importantly, they don't exhibit the side effect of therapeutic doses of these substances. In addition, their effect depends on the dose of the substance and also on the conditions of organisms. These conditions can include high level of heavy metals, which can significantly change not only the physiological state of the body, but also its reaction to the influence of various chemical substances including pharmaceutical ones. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of 1,5-benzodiazepinona-2 (1,5-BDA) (in concentration 10-12, 10-13, 10-14 M) in the expression of pain responses in rats against a background of mercury sulfate intoxication.

Studies were carried out on 50 white male rats weighing 200-250g. The animals were divided into 5 groups of 10 animals each group. To change the functional state of rats three groups were injected during seven days intraperitoneally mercury sulfate (HgSO_4) in the dose 20 mg/kg. Then, intoxicated rats were administered of 0.2 ml of the 1,5-BDA USC 10-12, 10-13, 10-14 M, respectively. Control group of rats was injected with saline. Analgesic action of substances was investigated using a test «electrical stimulation». Animals was measured pain threshold (PT) - the minimum electric current stimulation (V), which caused pain (withdrawal of the limbs, vocalization).

The obtained results showed increasing BT against a background of mercury sulphates compared to controls by 71% ($p \leq 0,01$) so pain sensitivity of the rats under these conditions is reduced. The use of 1,5-BDA in the concentration 10-12, 10-13, 10-14 M against a background of mercury sulphates intoxication is increased BP 41%, 67%, 96% ($p \leq 0,01$), respectively, compared with the control, so an inverse relationship was found - with a decrease in concentration, an increase in analgesic action of the substance. 1,5-BDA in the concentration 10-14 M in comparison with mercury sulfate reduced pain sensitivity in rats by 25% ($p \leq 0,01$). Thus, our findings suggested that the analgesic effect of 1,5-BDA USC appear even against a background of mercury sulfate intoxication in rats.

НЕИНВАЗИВНИЙ МЕТОД ДІАГНОСТИКИ АДАПТАТИВНОГО КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ

Дегтяренко Т.В., Богданова О.В.

ПДПУ ім. К.Д. Ушинського, Український НДІ медицини транспорту МЗ України, Одесса, Україна
e-mail: matanya@ukr.net

Порушення стану імунологічної реактивності організму (ІРО) спостерігається при різних видах патології, і вони виступають доклінічним проявом дезадаптаційних реакцій в організмі людини. Імунодіагностика стану адаптивного імунітету має значний інтерес для практичної медицини, але проблема розробки найсучасніших методів досліджень за допомогою валідних неінвазивних імунологічних методів залишається невирішеною.

Нами розроблено новий інфекційно-безпечний метод дослідження адаптивного клітинного імунітету, в якому отримання діагностичного матеріалу (слини та епітелію слизової оболонки ротової порожнини) здійснюється неінвазивним шляхом. Оцінка стану імунологічної реактивності організму на підставі дослідження стану адаптивного імунного гомеостазу проводилася за допомогою імуногістохімічного непрямого ПАП-методу з використанням моноклональних антитіл і, слід зазначити, що ця технологія досі не застосовувалася для досліджень слини і відбитків епітелію ротової порожнини. Нами отримано Патент України на корисну модель «Спосіб неінвазивної імунодіагностики стану клітинного адаптивного імунітету» [1].

Новий спосіб імунодіагностики дозволяє оцінити стан ІРО за всіма ланками імунологічного захисту на підставі визначення функціональної активності рецепторного апарату імунокомпетентних клітин, а саме: CD 4 (експресован на рецепторах тимоцитів, моноцитів, макрофагів, гранулоцитів), CD 11 (експресован на рецепторах лейкоцитів – моноцитах, макрофагах, нейтрофілах), CD 16 (експресован на рецепторах гранулоцитів, макрофагів), CD 7 (модифікатор адгезії, індуктор секреції цитокинів), CD45 (активатор ендотеліальних та епітеліальних клітин під час запалення), CD 150 (підсилювач проліферації епітеліальних клітин та секреторних імуноглобулінів).

Приймаючи до уваги те, що імунологічні порушення попереджують розвитку клінічних ознак патологічних процесів доцільно здійснювати застосування нового неінвазивного методу імунодіагностики для дослідження стану адаптивного імунітету з метою орієнтованої імунопрофілактики.

Література

1. Дегтяренко Т.В., Богданова О.В., Богданов К.Г. «Спосіб неінвазивної імунодіагностики стану клітинного адативного імунітету», патент № 67099, від 25.01.2012, Бюл. № 2

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

NON-INVASIVE METHODS OF DIAGNOSTIC ADAPTATIVE CELLULAR IMMUNITY

Degtyarenko T.V., Bogdanova A.V.

South-Ukrainian State Pedagogical University named K.D. Ushinsky, Ukrainian Research Institute
of Transport Medicine Ministry of Health of Ukraine, Odessa, Ukraine
e-mail: matanya@ukr.net.

Violation of immunological reactivity (IR) is observed in various types of pathology, and they are pre-clinical desadaptative reactions in humans. Immunodiagnostic of adaptative immunity has a significant interest for practical medicine, but the problem of developing methods modern research using valid non-invasive immunological methods is not decide.

We have developed a new infection-safe method for studying the cellular adaptative immunity which a diagnostic material (saliva and oral mucosa epithelium) is non-invasive method. Assessment of immunological reactivity on the basis of investigation of adaptative immune homeostasis conducted by indirect immunohistochemical PAP-method using monoclonal antibodies and it should be noted that this technology has not conform for studies of saliva and imprint of epithelium of the mouth. We received Patent of Ukraine for useful model "Method of non-invasive immunodiagnostics of adaptative cell immunity" [1].

A new way to evaluate the immune status for all links of immune protection based on determining the functional activity of receptors of immunocompetent cells, namely: CD 4 (expression receptors on thymocytes, monocytes, macrophages, granulocytes), CD 11 (expression on receptors on leukocytes - monocytes macrophages, neutrophils), CD 16 (expression on receptors on granulocytes, macrophages), CD 7 (adhesion modifier, inducer of cytokines secretion), CD45 (activate endothelial epithelial cells, during inflammation), CD 150 (amplifier proliferation epithelial cell and immunoglobulin's secretion) .

Taking into account that the immunological violation is developing sooner, then the clinical signs of pathological processes appropriate to use a new non-invasive method to study adaptative immunity for immunoprophylaxis.

References

1. *Дегтяренко Т.В., Богданова О.В., Богданов К.Г.* «Спосіб неінвазивної імунодіагностики стану клітинного адатативного імунітету», патент № 67099, від 25.01.2012, Бюл. № 2

ВИЗНАЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ПОХІДНИХ МАЛЕМІДУ І ДИГІДРОПІРОЛУ ЗА ДОПОМОГОЮ МТТ - ТЕСТУ НА КУЛЬТУРІ КЛІТИН КОЛОРЕКТАЛЬНОЇ АДЕНОКАРЦИНОМИ COLO – 205

Деніс Є. О., Ніколаєнко Т.В., Гарманчук Л. В., Рибальченко В. К.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Злоякісні новоутворення залишаються актуальною медичною проблемою. Класичні агенти хіміотерапії хоч і бувають вельми ефективними, часто демонструють високу токсичність. Останніми роками завдяки досягненням молекулярної біології клітини формується новий клас препаратів, дія яких спрямована не на ураження генетичного матеріалу, а на елементи сигнальних каскадів, що регулюють проліферативну активність клітин. Їх називають «таргетними», тобто «націленими» препаратами, оскільки вони здатні проявляти цілеспрямовану активність по відношенню до конкретної ланки каскаду.

Рецепторні тирозинкінази часто фігурують як важливі учасники проліферативної сигналізації, і тому можуть виявитись перспективною мішенню для таргетних протипухлинних препаратів. Деякі похідні дигідропіролу та малеміду характеризуються такою просторовою структурою молекули, що робить їх здатними блокувати АТФ-зв'язуючий сайт протеїнкіназ. Така особливість дозволяє розглядати їх як інгібітори протеїнкіназ, і відповідно, як потенційні протипухлинні сполуки.

Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка синтезовані похідні малеміду – 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (надалі MI1), і дигідропіролу – 1,4-заміщений 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (надалі D1) (1). Цим сполукам притаманна антипроліферативна активність показана на низці культур трансформованих та ракових клітин. MI1 пригнічує і розвиток пухлин прямої кишки у щурів при канцерогенезі індукованому диметилгідразином (2).

Тому, доцільним видавалося визначити деякі механізми інгібуючої дії MI1 та D1 на популяції злоякісно трансформованих одноклітинних клітин. З даною метою було використано лінію клітин колоректального раку людини Colo-205 (3), люб'язно надану д-ром І.Гутом (Лондонський університет). За допомогою проведення МТТ-тесту (колориметричного тесту, в основу якого покладено здатність мітохондріальних ферментів живих клітин відновлювати жовті солі тетразолію у кристалічний МТТ-формазан лілового кольору) здійснювалась кількісна оцінка виживання клітин Colo-205 за впливу D1 та MI1 в широкому діапазоні концентрацій. Результатами проведеного випробування стало визначення цитотоксичності запропонованих сполук на культуру клітин Colo-205 (рис.1., рис.2). Речовина MI1 продемонструвала дещо більшу ступінь цитотоксичності ніж речовина D1. Разом з тим, за морфологічними даними відмічається ефективніше спричинення апоптозу похідним малеміду та зменшення популяції прикріплених до субстрату клітин, у порівнянні з D1. Отримані попередні дані потребують подальшого більш детального дослідження.

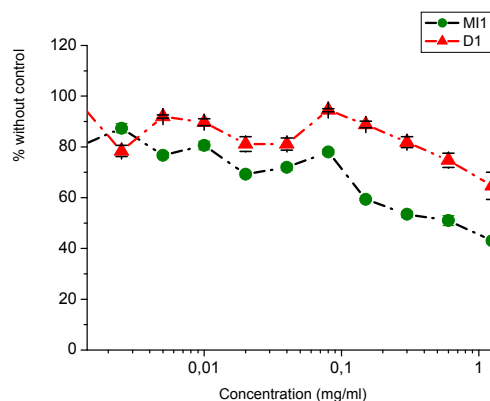
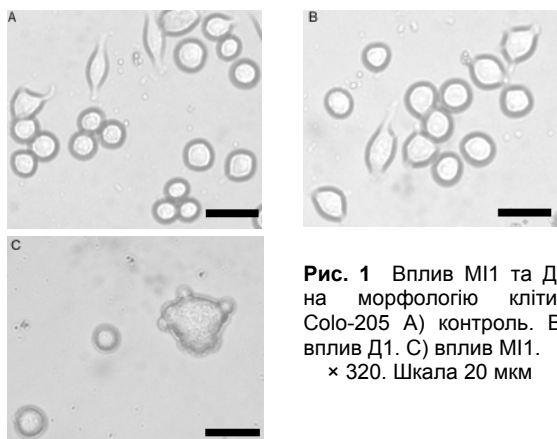


Рис. 2 Графік залежності виживання клітин від концентрації речовин в середовищі інкубації.

Література

1. Pat. 22204 (UA). Compound of 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one having anticancer activity: G.G. Dubinina, Yu. M. Volovenko – 21.02.2006. Appl. U200601855. 25.04.2007.
2. Lynchak O., Ostrovskaya G., Rybalchenko V. (2009) Effects of new maleimide derivate on the 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. Gut "GASTRO 2009 UEGW/WCOG, London". 58: A334.
3. Semple T.U., et al. (1978) Tumor and lymphoid cell lines from a patient with carcinoma of the colon for a cytotoxicity model. Cancer Res. 38: 1345-1355.

THE DETECTION OF CYTOTOXICITY OF MALEMIDE AND DIHYDROPYRROLE DERIVATES WITH THE MTT-TEST IN THE COLORECTAL ADENOCARCINOMA CELL CULTURE COLO – 205

Denis E.O., Nikolaenko T.V., Garmanchuk L.V., Rybalchenko V.K.

Taras Shevchenko's National University, Kyiv, Ukraine

Malignant neoplasms remain one of the actual medical problems. The traditional chemotherapy agents can be very effective, but often demonstrate a high level of cytotoxicity. The new type of drugs is forming now due to the advances of modern cell biology. Action of these substances aims not the damage of the genetic material but the links of signal transduction, which are involved in proliferative activity of the cells. These drugs are called "target", because they demonstrate the activity focused on the separate element of the cascade.

The receptors with tyrosine kinase activity are known as important participants in the proliferative signalization and can be the promising target for such "target" medications. Some derivatives of dihydropyrrole and malemide are characterized by a molecule spatial structure, which make them able to block ATP-binding site of protein kinases. Such feature make it possible to examine these drugs as protein kinase inhibitors and, consequently, promising antitumor agents.

The derivate of malemide – 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pirol-2,5-dion (MI1) and the derivate of dihydropyrrole- 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one (D1) (1) were synthesized at research and production biochemical center of Taras Shevchenko's national university. These substances have demonstrated clear antiproliferative activity of different degrees on the transformed and cancer cell cultures and inhibited the development of colon tumors in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats (2).

That's why it was advisable to detect some mechanisms of inhibiting effect MI1 and D1 on the populations of malignant transformed cells of one type. For this purpose we used the cell line of the human colorectal cancer Colo-205 (3), which was kindly provided by I.Goot, PhD (University of London). With MTT-test (the colorimetric test, which is based the ability of mitochondrial enzymes to reduce the yellow salts of tetrazolium to the crystal MTT-formazan, which is violet) the quantity of alive Colo-205 cells after impact of different concentrations of MI1 and D1 was measured. The detection of the cytotoxicity of the proposed substances on the Colo-205 cell culture has become the result of the conducted investigation (Fig.1, Fig.2). The MI1 substance demonstrated higher level of cytotoxicity than D1 substance. According to the morphological data it was observed the increased level of apoptosis induction by MI1 and the decrease in the population of the attached to the substrate cells in comparison with DI. Previous data, which were obtained, require more detail research.

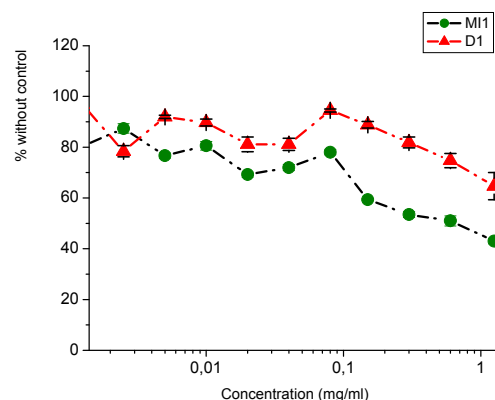
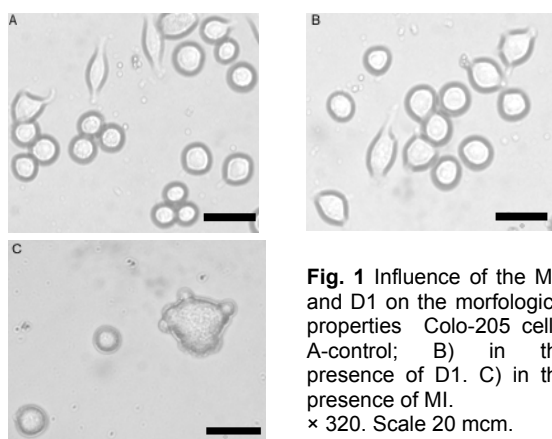


Fig. 2 The graph of dependence between the amount of alive cells and the substance concentration in the medium

References

1. Pat. 22204 (UA). Compound of 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one having anticancer activity: G.G. Dubinina, Yu. M. Volovenko – 21.02.2006. Appl. U200601855. 25.04.2007.
2. Lynchak O., Ostrovska G., Rybalchenko V. (2009) Effects of new malemide derivate on the 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. Gut "GASTRO 2009 UEGW/WCOG, London". 58: A334.
3. Semple T.U., et al. (1978) Tumor and lymphoid cell lines from a patient with carcinoma of the colon for a cytotoxicity model. Cancer Res. 38: 1345-1355.

ОЦІНКА АДАПТАЦІЙНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ ОРГАНІЗМУ У ПРАЦЮЮЧИХ В УМОВАХ ЕКСПОЗИЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Дмитруха Н.М., Лагутіна О.С.

ДУ "Інститут медицини праці НАМН України", м. Київ, Україна
e-mail: dmytrukha@ukr.net

Важкі метали відносяться до небезпечних забруднювачів навколишнього середовища, які, навіть, у малих концентраціях здатні накопичуватись в організмі та негативно впливати на функціонування багатьох органів і систем, що призводить до зниження його адаптаційних можливостей та погіршення стану здоров'я [1-3].

Метою дослідження була оцінка стану імунної системи та індивідуальних адаптаційних можливостей організму працівників, що зазнають експозиції важкими металами в умовах виробництва.

Обстежені 22 робітники заводу художнього скла (ЗХС), 28 працівників типографії (ПТ) та 47 механізаторів сільського господарства (МСГ). Контрольну групу складали 20 чоловік, які не мали професійного контакту з важкими металами. Вік обстежених осіб був 34-55 років. Вміст важких металів у крові визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії. У всіх групах виконано загальний аналіз крові, визначені показники, що характеризують неспецифічну резистентність, клітинну та гуморальну ланки імунної системи за стандартними методами [4]. Тип адаптаційної реакції визначали за методом Гаркаві Л. та ін. [5].

За результатами хімічного аналізу в крові робітників ЗХС був підвищений вміст свинцю, у групі ПТ дещо збільшений рівень кадмію, а у МСГ встановлені підвищені рівні свинцю та кадмію. Дослідження периферичної крові у робітників ЗХС не виявило суттєвих відмінностей показників порівняно з контрольною групою. У працюючих в типографії встановлено збільшення кількості лейкоцитів, моноцитів та паличко-ядерних нейтрофілів. У групі МСГ було визначено помірний моноцитоз та зменшення кількості нейтрофілів.

При обстеженні імунної системи у робітників ЗХС та ПТ встановлено стимуляцію фагоцитарної і бактерицидної активності нейтрофілів, збільшення числа Т-хелперів та зниження Т-супресорів, підвищення рівнів Ig M, Ig G та ЦІК. Ці дані можуть свідчити про наявну стимуляцію імунної відповіді. Встановлені порушення імунної системи у механізаторів характеризувались пригніченням фагоцитарної активності нейтрофілів, зниженням вмісту комплементу, зменшенням відносної кількості Т-лімфоцитів, Т-хелперів, збільшенням чисельності Т-супресорів, В-лімфоцитів та рівнів Ig G, Ig M, ЦІК в крові. Пригнічення показників неспецифічної резистентності, Т-клітинної ланки та стимуляція гуморальної імунної відповіді у групі МСГ свідчить про порушення імунорегуляторних механізмів, формування вторинного імунodefіциту та розвитку аутоімунного процесу. Розрахунки, які були виконані на основі аналізу периферичної крові, показали, що в контрольній групі у 100,0% були встановлені адаптаційні реакції фізіологічного типу (тренування – 10,0% і спокійної активації – 90,0%). У робітників ЗХС реакції фізіологічного типу визначені у 58,8% осіб (тренування – 17,6%, активації – 41,2%), а нефізіологічного – у 41,2% (переактивації – 35,3%, хронічний стрес – 5,9%). У працівників типографії адаптаційні реакції організму характеризувались як фізіологічні у 75,0% (тренування – 17,8%, активації – 57,2%), нефізіологічні – у 25,0% (переактивації – 21,4%, хронічний стрес – 3,6%). У групі МСГ фізіологічні адаптаційні реакції виявлені у 45,2% (тренування – 16,8%, активації – 28,4%), нефізіологічні реакції встановлені у 54,8% осіб (гострий стрес – 4,8%, переактивації – 50,0%). За даними [5] фізіологічні реакції є ознакою стійкої адаптації організму до умов існування та наявності достатніх резервних можливостей, а нефізіологічні вказують на знижені адаптаційні здібності організму. Отже, визначені фізіологічні реакції у більшості робітників ЗХС та ПТ можуть свідчити про наявність в організмі достатніх адаптаційних можливостей. Нефізіологічні реакції, які були виявлені у більшості механізаторів, можуть бути ознакою напруги і свідчити про зниження пристосувальних можливостей їхнього організму.

Таким чином, отримані результати дозволяють дійти висновку, що професійна експозиція важкими металами впливає на захисні та адаптаційні можливості організму працівників. Визначення типів індивідуальних адаптаційних реакцій на основі аналізу периферичної крові може бути використано у якості інтегрального показника здоров'я працюючих та вказувати на необхідність проведення більш детального обстеження, зокрема, імунної системи, та застосування своєчасних профілактичних заходів.

Література

1. Кундіев Ю. И., Трахтенберг И.М. (2007). Химическая безопасность в Украине. Ежегодные чтения, посвященные памяти Е. И. Гончарука. К.: Авицена, 71 с.
2. Паранько Н. М., Белицкая Э. Н., Карнаух. С. Г. и др. (2002). Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения. Днепропетровск: Полиграфист, 143 с.
3. Профілактична токсикологія та медична екологія. Вибрані лекції для науковців, лікарів та студентів. за аг. Ред. акад. Трахтенберга І.М.. (2010). - Київ: ВД «Авіцена», 248 с.
4. Медицинские лабораторные технологии. Справочник под ред. А. И. Карпищенко (2002). Санкт Петербург: Интермедика, 2: 204-225.
5. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколов М.А. (1990). Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону. 223 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EVALUATION OF ADAPTATION POSSIBILITIES IN WORKERS EXPOSED TO HEAVY METALS

Dmytrukha N.N., Lagutina O.S.

SI "Institute for Occupational Health NAMS of Ukraїne", Kyiv, Ukraine
e-mail: dmytrukha@ukr.net

Heavy metals belong to the dangerous environment pollutants that, even in low concentrations are able to accumulate in the organism and negatively influence on function of many organs and systems that results in the decline of organism adaptation possibilities and leading to the health disorders [1-3].

The aim of the study was assessment the state of immune system and determination the type of adaptation reactions in workers organism occupationally exposed to heavy metals.

It was examined: 22 workers of glass manufacture (GM), 28 workers of printing-house (PH) and 47 operators of agricultural machine (AM). The control group comprised 20 individuals who had not professional contact with heavy metals. The age of persons was 34-55 years. Blood lead and cadmium levels were measured by atomic absorption spectroscopy analysis. The analysis of blood, assessment of nonspecific resistance state, cellular and humoral immune components was studied by standard methods. [4]. The type of individual reaction of adaptation was determination on the basis of leukocyte analysis by Harkavi L. [5].

According to the results of chemical analysis the lead blood level was higher in workers GM, content of cadmium was increased in PH workers, but in the AM operators were established elevated blood levels of lead and cadmium. Investigation of peripheral blood indexes showed no significant differences from control in workers of GM. Blood analysis in workers of PH showed increase of leukocytes, monocytes and neutrophils compared with control. In the group of AM operators was detected monocytosis and neutrophils reduction. The set stimulation of phagocyte and bactericidal activity of neutrophils, increased numbers of T-helper and T suppressor reduction, increased levels of Ig M, Ig G and CIC was established in workers of GM and PH. These data indicate a stimulation of the immune system response. The immune system disorders in AM operators characterized as suppression of phagocyte activity of neutrophils, decrease of complement titer, reduction of the relative number of T-lymphocytes, T-helper cells, increased number of T-suppressor, B-lymphocytes and IgG, IgM, CIC levels. The inhibition of nonspecific resistance, T-cellular response and stimulation of humoral immune response in group of AMO show disturbance of immune regulatory mechanisms, the formation of secondary immunological deficit and the development of autoimmune process.

The calculations based of peripheral blood analysis showed that the physiological type of adaptation reactions was determinate in 100 % persons of control group (reaction of training - 10,0 % and quiet activation - 90,0%). In workers of glass manufacture the reaction of physiological type was in 58,8 % (training - in 17,6 %, activation - in 41,2 %), and nonphysiological - in 41,2 % (reactivation - 35,3%, chronic stress - 5,9 %). In workers of PH, which had metals blood level significantly lower than in other professional groups, adaption reactions were characterized as physiological in 75,0% persons (training - 17,8 %, activation - 57,2 %), while non- physiological - in 25,0 % (reactivation - 21,4%, chronic stress - 3,6%). In group of AM operators, which were exposed to lead and cadmium, physiological adaptation reactions were determinate in 45,2% persons (training - 16,8%, activation - 28,4%), nonphysiological - in 54,8 % persons (acute stress - 4,8%, reactivation - 50,0%). According to the data [5] physiological reactions are the sign of adaptation and the presence of sufficient reserves possibilities, while nonphysiological reactions specify the reduced of organism adaptation capabilities. Thus, certain physiological reactions in the majority of GM and PH workers may indicate the presence in the organism of sufficient adaptation possibilities. The nonphysiological reactions which were established in most agricultural workers can be the sign of reduction of adaptive capabilities of organism.

Thus, the obtained results lead to the conclusion that occupational exposure to heavy metals may affect the resistance and adaptation possibilities of the workers organism. Definitions of individual reaction of adaptation

based on the peripheral blood analysis can be used as an integral indicator of workers health and indicate a need for more detailed examination, including the immune system and the application of timely preventive measures.

References

1. Kundiev Y.I., Trachtenberg I.M (2007). Chemical safety in Ukraine. The annual readings in memory of E.. Goncharuk. K.: Avicenna, 71 p.
2. Paranko N.M., Belitskaya E.N., Karnaukh. S., et al (2002). Heavy metals of the environment and their effects on the immune status of the population. Dnepropetrovsk: printers, 143.
3. Preventive toxicology and medical economics. Selected lectures for scientists, physicians and students. Ed. by acad. I. Trachtenberg (2010). - Kyiv: PH "Avitsena", 248 p.
4. Medical laboratory technology. Handbook. red. I. Karpishchenko (2002). St. Petersburg: Intermedika, 2: 204-225.
5. Harkavi L.X., Kvakina E.B., Ukolov M.A. (1990). Adaptive response and resistance of the organism. Rostov-na-Donu. 223 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА КАК СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ ЧЕЛОВЕКА

Донченко Е.В.

Клиника Экологической Медицины, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: donchenko@d-med.org

При оценке эффективности различных методов лечения подчас возникают сложности. Оценка динамики течения заболевания, эффективности проводимого лечения методами лабораторной диагностики часто бывает осложнена с одной стороны, сложностью процессов, протекающих в организме, с другой, попыткой привязать те или иные диагностические параметры к заболеванию конкретного органа.

Благодаря существующему в организме закону гомеостаза или постоянства среды, мною замечено, что некоторые лабораторные показатели при развивающемся заболевании какое-то время могут оставаться в нормальных пределах (например, Hb, количество эритроцитов, билирубин, креатинин, мочевина и т.п.) Это связано с тем, что закон постоянства среды- закон гомеостаза работает на поддержание основных параметров в организме неизменными некоторое время, пока есть ресурсы, даже при развивающемся заболевании. Это ведёт к затруднению диагностики начальных стадий заболевания.

В связи с этим, подчас больной продолжает жаловаться на здоровье, а лабораторные данные могут не показывать отклонение от нормы. При этом делают ошибочные выводы. Оценка изменений адаптивных возможностей организма по программе «Омега-М» может служить интегративным показателем, который отражает вероятность развития, а при наличии болезни может показать насколько проводимое лечение эффективно.

Экологическая медицина человека – это новое направление. Основные положения: 1) Человек – это единая, целостная система; 2) Болезнь – это адаптивная реакция организма. 3) Лечение должно быть направлено на помощь организму в реализации всех этапов этой адаптивной реакции, в этом случае процесс заканчивается выздоровлением. 4) Организм должен быть обеспечен всеми необходимыми нутриентами для достижения оптимального баланса. 5) Для поддержания здоровья имеет большое значение психологическая установка человека.

Направление Экологической медицины человека существует уже более 18 лет и более 15000 пациентов получили лечение, эффективность которого при различных заболеваниях составляет от 70 до 90%.

Помимо клинко-лабораторных и инструментальных методов диагностики, нами использовался метод оценки адаптивного ресурса по программе «Омега-М».

У 20 больных с полиорганной патологией, ср.возраст 62±5,2 лет мы проводили исследование до начала, в процессе лечения и по окончании курса. Длительность лечения составляла от 1 мес. до 6 мес. В этой группе были больные, у которых отмечалось сочетание желчнокаменной болезни и аутоиммунного тиреоидита с атеросклеротическими изменениями сосудов, заболеваниями суставов.

Следует отметить, что у всех пациентов отмечались очень низкий уровень адаптации и значительно сниженный интегративный показатель здоровья до начала лечения. В первые три недели от начала лечения эти показатели могли еще несколько снизиться, отражая, очевидно, включение адаптивных механизмов и истощение ресурсов. Однако в дальнейшем, при продолжающемся лечении, у 90% пациентов уровень адаптации и интегративный показатель здоровья повысились, что согласовывалось с улучшением клинко-лабораторных и инструментальных данных.

Таким образом, оценка адаптивного ресурса в период лечения пациентов с полиорганной патологией может оказаться хорошим дополнительным методом диагностики и оценки эффективности лечения.

Литература

1. Донченко Е.В. Желудочно-кишечный тракт. Эффективные методы лечения. СПб. 2011. 176
2. Донченко Е.В. Средства и методы экологической медицины в лечении и профилактике хронических заболеваний внутренних органов. Автореферат по выполненным научным работам на соискание учёной степени доктора медицинских наук. СПб. 2008. 31 с.
3. Донченко Е.В. Влияние физиологических процессов на психические реакции у больных хроническими заболеваниями внутренних органов. Новые подходы к лечению. // 1-й Международный конгресс «Новые медицинские технологии». 08 – 12.07.2001. С. 239.
4. Донченко Е.В. Экоэкологический подход к лечению хронических заболеваний. // IV вестник Санкт-Петербургской государственной академии им. И.И. Мечникова. С. 186-188. 2003.
5. Донченко Е. В. // Ecological Human Medicine in the Treatment of Intoxication Syndrome in Case of Malignant Tumor. // Международный медицинский симпозиум «Euromedica-2009». Hannover // http://www.congress-euromedica.de/abstrakt2009/ecological_human_medicine_in_the_treatment_of_intoxication_syndrome_in_case.html
6. Донченко Е.В. Экологическая медицина человека в лечении атеросклеротических поражений аорты, коронарных мозговых артерий, артерий нижних конечностей. // 5-й Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине» 29.06.2009 – 03.07.2009. Санкт-Петербург. С. 220.
7. Donchenko E.V., Shcherbakova I.V., Sleptsov R.V. // Effectiveness Of Ecological Human Medicine In The Treatment Of Diseases Of The Internal Organs// Международный медицинский симпозиум «Euromedica-2010». 03.06.2010.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ANALYSIS OF ADAPTIVE CAPABILITIES OF A HUMAN BODY AS A WAY OF ASSESSMENT OF HUMAN ECOLOGICAL MEDICINE TECHNIQUES EFFICIENCY

Donchenko E.V.

Clinic For Human Ecological Medicine, Saint-Petersburg, Russia
e-mail: donchenko@d-med.org

Sometimes there appear difficulties, when assessing the efficiency of different methods of treatment.

The assessment of dynamics of disease state and efficiency of treatment provided with the help of laboratory diagnosis methods is sometimes complicated by the difficulty of processes proceeding in the body on the one hand, and by the attempt to bind testing parameters to a disease of a certain organ on the other.

Thanks to the existence of homeostasis or physiologic equilibration law, I have noted that some laboratory parameters may stay within the normal limits even if the disease is progressing (for example, Hb, RBC, bilirubin, creatinin, BUN parameter, etc.) This is connected with that fact that the physiologic equilibration law works allows the basic parameters to stay unchanged, while the body possesses several resources. This makes it difficult to detect the initial stages of disease.

In connection with this, sometimes the patients continue to complain about their health, while the laboratory data is within the normal limits. In such cases doctors sometimes make incorrect conclusions. The assessment of changes of adaptive capabilities of human body according to the program "Omega-M" may serve as an integral parameter, which reflects the possibility of disease development, and if the patient is already ill, it can show the level of treatment efficiency.

Human ecological medicine is a new approach, which is based on following aspects:

- A human body is a single, integral system;
- A disease is an adaptive reaction of a body;
- The treatment should be focused on the possibility to help a human body to implement all the stages of adaptive reaction. In this case patient's health will be fully restored;
- The body should be provided with all necessary nutrients in order to achieve balance;
- A mental set of a patient plays a great role.

This approach exists about 18 years and more then 15 000 of patients have been treated using this approach. The efficiency of the approach in different cases has made 70-90%.

Besides clinical laboratory and instrumental methods of diagnosis we have used the method of adaptive resource assessment in accordance with the "Omega-M" program.

We have examined 20 patients, the average age of which has made $62 \pm 5,2$ years. All patients suffered from multiple organ pathology. We have examined them at the beginning of treatment process, during the treatment process, and at the end of the course. The duration of treatment process has made 1-6 months.

The group of patients has included the patients with combination of cholelithiasis, Hashimoto thyroiditis, atherosclerotic aneurysm, arthropathy.

It is necessary to note that all patients were characterized by low level of adaptation and low integral health parameter. During the first three weeks these parameters have reduced much more, reflecting the introduction of adaptive mechanisms and deterioration of resources. But further in the course of treatment the integral parameter of health and the level of adaptation of 90% of patients have been increased, which was confirmed by improved clinical laboratory and instrumental data.

Thus the assessment of adaptive resource during the treatment of patients with multiple organ pathology may become a good additional method of diagnosis and treatment efficiency assessment.

References

1. *Donchenko E.V.* Gastrointestinal tract. Effective methods of treatment. SPb. 2011. p. 176.
2. *Donchenko E.V.* Techniques and methods of ecological medicine applied for the treatment and prevention of chronic diseases of internal organs. Author's abstract based on scientific works. SPb. 2008. p. 31
3. *Donchenko E.V.* Influence of physiological processes on mental reaction of patients with chronic diseases of internal organs. New methods of treatment. // First International Congress. New medical technologies. 08 – 12.07.2001. p. 239.
4. *Donchenko E.V.* Endoecological approach to the treatment of chronic diseases. // IV reporter St.Petersburg State Medical Academy named after I.I.Mechnikov. p. 186-188. 2003.
5. *Donchenko E.V.* // Ecological Human Medicine in the Treatment of Intoxication Syndrome in Case of Malignant Tumor. // International medical symposium «Euromedica-2009». Hannover // www.congress-euromedica.d/ecological_human_medicine_in_the_treatment_of_intoxication_syndrome_in_case.html
6. *Donchenko E.V.* Human ecological medicine in the treatment of arterial sclerotic disease. // 5th International congress «Weak and super weak fields and irradiation in biology and medicine» 29.06.2009 – 03.07.2009. SPb. p. 220.
7. *Donchenko E.V., Shcherbakova I.V., Sleptsov R.V.* // Effectiveness Of Ecological Human Medicine In The Treatment Of Diseases Of The Internal Organs// «Euromedica-2010». 03.06.2010.

АКТ1 КІНАЗА У РОЗВИТКУ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ: ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Капустян Л., Крупська І., Рожко О., Бобик В., Сидорик Л.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: l.m.kapustian@imbg.org.ua

Akt, серин-треонінова кінза, є критичним ферментом сигнальних шляхів, залучених до чисельних клітинних процесів. У ссавців відомо три ізоформи Akt кінзи – Akt1, Akt2 та Akt3. Показано, що у серці активація Akt1 призводила до збільшення розміру клітин та захисту від апоптозу, що є сприятливим для ураженого серця. Роль Akt1 в регуляції виживання клітин та апоптозу в експериментальних моделях серцевої недостатності викликає останнім часом найбільший інтерес. Нами було досліджено можливі зміни в експресії Akt1 кінзи та її активної фосфорильованої форми (фосфо-Akt1, S473) в міокарді мишей при розвитку серцевої недостатності на експериментальних моделях індукованого міокардиту та ДКМП-подібного захворювання, розроблених у нашій лабораторії. Нами не було виявлено суттєвих змін у рівні експресії Akt1 при обох видах серцевої патології. В той же час ми спостерігали значне зниження фосфорилування Akt1 в міокарді мишей на останній стадії серцевої недостатності (ДКМП-подібна патологія) на відміну від гострої стадії (експериментальний міокардит). На сьогодні відома важлива регуляторна роль молекулярних шаперонів в стрес-індукованому сигналінгу при різних автоімунних та серцево-судинних захворюваннях. Молекулярні шаперони можуть підтримувати свої білки-мішені в активному чи неактивному стані. Найбільший інтерес представляє молекулярний шаперон Hsp60 у світлі недавно виявленої його антиапоптичної функції в кардіоміоцитах. Базуючись на попередньо проведеному нами біоінформатичному пошуку можливого формування функціонального комплексу між молекулярним шапероном Hsp60 and Akt1 кінзаю ми вперше детектували цю взаємодію методом ко-імунопреципітації як у нормальному, так і в ураженому міокарді. Ми припускаємо можливе залучення цитоплазматичного Hsp60 в регуляцію активності Akt1 при прогресії серцевої недостатності.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

AKT1 KINASE AT HEART FAILURE PROGRESSION: AN EXPERIMENTAL STUDY

Kapustian L., Kroupskaya I., Rozhko O., Bobyk V., Sidorik L.

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: l.m.kapustian@imbg.org.ua

Akt, a serine-threonine kinase, is a critical enzyme in signal transduction pathways involved in multiple cellular processes. There are three Akt isoforms in mammals – Akt1, Akt2 and Akt3. In the heart, Akt1 activation has been demonstrated to increase cell size and decrease apoptosis and it is thought to be beneficial for the failing heart. The role of Akt1 in regulation of cell survival and apoptosis in experimental models of heart failure has been a major recent interest. We investigated possible changes of expression of Akt1 kinase and its active phosphorylated form (phospho-Akt1, S473) in myocardium at progression of heart failure using experimental mouse models of inducible myocarditis and DCM-like pathology developed in our laboratory. We have not found significant changes in the level of Akt1 expression in both kinds of heart pathology. At the same time we have observed significant decrease in Akt1 phosphorylation in mouse myocardia at the final stage of heart failure (DCM-like pathology) but not at acute stage (experimental myocarditis) compared with normal ones. It was shown the important regulatory role of molecular chaperones in stress-induced signalling at different autoimmune and cardio-vascular diseases. Thereby the molecular chaperones can maintain their target proteins in active or inactive conformations. Molecular chaperon Hsp60 is one of the highest scientific interest due to revealed lately its antiapoptotic function in cardiomyocytes. Based on bioinformatics prediction of possible functional complex formation between molecular chaperone Hsp60 and Akt1 kinase we have detected this interaction for the first time by co-immunoprecipitation method in normal myocardium and under pathology as well. We suggest a possible involvement of cytoplasmic Hsp60 in regulation of Akt1 activity in the progression of heart failure.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ КОГНИТИВНОЙ СФЕРЫ ПОДРОСТКОВ ОТ УРОВНЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Кириллова А.В., Панова С.А., Янцев А.В., Алиева З.К.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: shakataka@mail.ru

По современным данным детских психологов и психиатров до 15% детей и подростков страдают нарушениями внимания, гиперактивностью, нарушениями памяти и обучения, вызванными неврологическими причинами различного происхождения. Эти первичные нарушения создают для подростков серьезные проблемы в семье и школе, формируя, впоследствии, различные формы девиантного поведения – оппозиционное отношение к старшим, жестокость, агрессивность, употребление алкоголя и наркотиков. Актуальность проблемы возникновения и развития дефицита внимания и гиперактивности определяется высокой частотой данного нарушения в подростковой популяции и его большой социальной значимостью.

В развитии нарушений внимания и гиперактивности важную роль играют генетические факторы, а также органическое повреждение головного мозга в перинатальном периоде, ведущее к появлению нейроморфологических изменений, затрагивающих, главным образом, лобную кору и базальные ганглии головного мозга (хвостатое ядро, бледный шар), преимущественно правого полушария. Установлено, что объем двигательной активности в течение суток является постоянной величиной, имеющей выраженные видовые и индивидуальные особенности. Он определяется генетически, но может моделироваться факторами среды, в том числе и социальными. Постоянство двигательной активности поддерживается благодаря спонтанной активности, входящей наряду с облигатной в общую двигательную активность.

На основании критериев оценки уровня общей двигательной активности вся совокупность испытуемых была разделена на три группы: с высокой (ВДА), средней (СДА) и низкой (НДА) двигательной активностью. С целью выявления зависимости когнитивной сферы от уровня двигательной активности с испытуемыми проведены тесты на определение основных свойств внимания.

В результате исследования были получены итоговые показатели, характеризующие испытуемых выделенных групп. Анализ вариаций основных свойств внимания позволил выявить статистически значимые различия в изучаемых группах испытуемых. Наиболее низкий уровень устойчивости, распределения, избирательности и колебания внимания наблюдается у подростков с высокой двигательной активностью. С целью выявления особенностей взаимосвязи характеристик когнитивной сферы испытуемых, отличающихся по уровню двигательной активности, был проведен корреляционный анализ по Спирмену. В результате анализа был установлен ряд закономерностей, которые указывают не только на сходство между испытуемыми выделенных групп, но и на существенные различия. Отмечена положительная корреляционная связь между показателями распределения внимания и устойчивостью внимания и динамикой работоспособности (0,46) в группе учащихся с высокой двигательной активностью. В группе испытуемых со средней двигательной активностью выявлена положительная корреляция между показателями устойчивости внимания и устойчивости внимания и динамикой работоспособности (0,52), а также избирательностью внимания и устойчивостью внимания и динамикой работоспособности (0,46). Что касается группы учащихся с низким уровнем двигательной активностью, то в ней наблюдаются статистически значимые отрицательные взаимосвязи между показателями концентрации внимания и колебания внимания (-0,51). Выявлена достоверная зависимость показателей когнитивной сферы учащихся от уровня двигательной активности. Подросткам с высоким уровнем двигательной активности характерен низкий уровень показателей устойчивости ($10,22 \pm 0,78$), распределения ($10,66 \pm 0,98$), избирательности ($13,4 \pm 0,76$) и колебания внимания ($3,5 \pm 0,29$). Обнаружены статистически значимые положительные корреляции в группе учащихся с высокой двигательной активностью между показателями распределения внимания и устойчивостью внимания и работоспособностью (0,46).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INVESTIGATION OF THE DEPENDENCE OF ADOLESCENTS COGNITIVE SPHERE FROM THE LEVEL OF MOTOR ACTIVITY

Kirillova A.V., Panova S.A., Yancev A.V., Aliyeva Z.K.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: shakataka@mail.ru

According to the modern data of child psychologists and psychiatrists to 15% of children and adolescents suffer violations of attention, hyperactivity, impaired memory and learning, caused by neurological causes of different origin. These initial disturbances cause for teenagers serious problems in the family and school, forming, subsequently, the various forms of deviant behavior - oppositional attitude toward senior, cruelty, aggressiveness, alcohol and drug use. Urgency of the problem of the emergence and development of attention deficit hyperactivity disorder is determined by a high frequency of the violation in the teenage population and its great social importance.

In the development of violations of attention and hyperactivity important role of genetic factors, and also the organic brain damage in the perinatal period, leading to the emergence morphological changes, affecting mainly the frontal cortex and the basal ganglia of the brain, mostly of the right hemisphere. It is established, that the volume of the motor activity during the day is a constant, which has expressed specific and individual features. This volume determined genetically, but can be modeled by environmental factors, including social. The constancy of motor activity is maintained due to the spontaneous activity, which is included along with an obligate the overall physical activity.

On the basis of the criteria of assessment of the level of total motor activity of all the subjects were divided into three groups: high (HMA), medium (MMA) and low (LMA) motor activity. With the purpose of revealing the dependence of cognitive sphere of the level of motor activity of the subjects tested on the definition of the basic properties of attention.

As a result of research were obtained outcome indicators, characterizing the subjects selected groups. The analysis of variations of the basic properties of attention allowed to reveal the statistically significant differences in the studied groups of subjects. The lowest level of stability, distribution, selectivity and fluctuations attention is observed in adolescents of HMA group. With the purpose of revealing peculiarities of interrelation of characteristics of cognitive sphere of the subjects, which differ by the level of motor activity, was used Spearman's correlation analysis. As a result of the analysis set out a number of patterns that indicate not only the similarity between the subjects selected groups, but also to a significant difference. The positive correlation between the indices of the distribution of attention and sustainability of the attention and the dynamics of working capacity ($r = 0,46$) was found in the HMA group. In the MMA group was found a positive correlation between the indicators of the sustainability of attention and stability of attention and dynamic efficiency ($r = 0,52$), as well as between selective attention and stability of attention and dynamics performance of ($r = 0,46$). As for the groups of students with a low level of physical activity, it is observed a statistically significant negative relationship between the indices of concentration of attention and fluctuations of attention ($r = - 0,51$). Found a reliable association of cognitive sphere of the students on the level of motor activity. Adolescents with a high level of motor activity is characterized by the low level of sustainability indicators (of $10,22 \pm 0,78$, respectively), distribution ($10,66 \pm 0,98$), selectivity ($13,4 \pm 0,76$) and the fluctuations of the attention ($3,5 \pm 0,29$). Found a statistically significant positive correlation in the group of students with a high physical activity between the indices of the distribution of attention and stability of attention and working ability ($r = 0,46$).

СОСТОЯНИЕ МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ АЭРОКРИОТЕРАПИИ (-120°C) ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Ломакин И.И., Кудогоцева О.В., Марченко В.С., Луценко Д.Г., Шило А.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков
e-mail: iilomakin@mail.ru

Соотношение сосудистых элементов в системе микроциркуляции каждого органа, имеет большое значение. Экстремальная аэрокриотерапия (ЭК) также оказывает воздействие на органы и системы, вовлеченные в регуляцию гомеостатических, в том числе и терморегуляторных, процессов. Это, в первую очередь, центральная нервная, нейроэндокринная и сердечно-сосудистая системы, регулирующие развитие немедленных адаптационных реакций на внешние факторы воздействия. В то же время, подверженные прямым регуляторным влияниям высших (нервных) центров регуляции сосудистые реакции в различных функциональных системах организма в условиях воздействия направленного экзогенного стрессового фактора взаимосвязаны и взаимозависимы.

Целью данного исследования явилось изучение реакции микроциркуляторной системы в дерме на воздействие ЭК (-120°C) в условиях экспериментальной алкогольной интоксикации (Ал).

Экспериментальные исследования *in vivo* проведены на белых беспородных крысах-самцах 12 мес в соответствии с "Общими принципами экспериментов на животных", одобренными II Национальным конгрессом по биотехнике (Киев, 2004 г.). Алкоголизация проводилась не менее 120 суток. ЭК проводилась на установке для экстремальной криотерапии с температурой -120°C (четыре сеанса по 1,5 минуты). Температуру кожных покровов измеряли цифровым инфракрасным термометром Mikrolife IR 1DE1. Непосредственно после ЭК температура на поверхности бедра составляла 21,7±0,2°C, передней брюшной стенки - 24,2±0,4°C, головы - 21,6±0,2°C, ректальная - 36,4±0,1°C. Состояние фасциального микрогемодикуляторного русла подкожной клетчатки исследовали методом контактной биомикроскопии с фото и видеорегистрацией. Фото- и видеоизображения анализировали с помощью компьютерной программы "Fram", предназначенной для расчетов морфометрических характеристик объекта, а также фрактальной размерности D, которая характеризует микроархитектуру сосудистого русла, скорость и характер кровотока и состояние форменных элементов крови в сосудах, т.е. является интегральным показателем состояния микрогемодикуляторного русла органа. Значения D рассчитывали как угловой коэффициент прямой, которая аппроксимирует зависимость пикселей заданного цвета биообъекта от площади рамки, в которую они попадают. Увеличение размерности к 2,0 указывает на увеличение активной общей площади (разветвленности) сосудистой поверхности, определяющей объем обменных процессов. При интерпретации данных основывались на положениях теории обобщенного броуновского движения, в котором фигурирует величина H (показатель Херста), которая связана с D простым соотношением: $dir-D = H$. При этом, если $H \sim 1,0$, то наблюдаемая микроциркуляция характеризуется ламинарным потоком крови, а микроангиоархитектоника имеет четко очерченную, сглаженную топологию, эвклидову геометрию сосудистого русла. Если $H \sim 0,5$, то функциональная микроангиоархитектоника абсолютно стохастична, поток крови неупорядоченный, неравномерный, а геометрия сосудов напоминает фиксированные траектории движения броуновских частиц, нетрадиционно хаотична. Размерность H, которая лежит в интервале между 0,5-1,0, соответствует состоянию саморегулирующегося органа, т.е. персистентного. Антиперсистентное состояние системы нестабильно, имеет тенденцию к разрушению или перестройке, соответствует значениям H в интервале 0- 0,5. В настоящее время показатели H и D используются в клинической практике для оценки характера происходящих в органах изменений при патологических процессах.

В условиях Ал микроскопическая картина фасциального микрогемодикуляторного русла отличается от нормы проявлениями дисциркуляции: на фоне снижения количества функционирующих сосудов и уменьшения общей площади сосудистого покрытия (14,8±1,4), сопровождающегося изменением диаметра и соотношением количества крупных и мелких сосудов, отмечались как явления замедления внутрисосудистого кровотока, так и усиления кровотока, наблюдались спазмированные микрососуды и капилляры, заполненные плазмой без форменных элементов. После проведения сеансов ЭК у животных с Ал на вторые сутки отмечалось увеличение видимой площади микрососудистого русла (21,4±2,6) до показателей в контрольной группе (24,6±4,1), нарастание капиллярного кровотока и относительное повышение его площади в общей площади контролируемого микрососудистого русла. Отмечалось увеличение процентного соотношения количества капилляров и синусоидов от общей площади сосудистого русла: 22,5±4,5 у контрольной группы, 14,7±2,1 при Ал, 18,2±2,6 после ЭК в группе с Ал. Показатель H отражает динамические изменения состояния микроциркуляторного русла в соответствии с функциональным состоянием регуляторных систем, указывает на снижение процессов саморегуляции микроциркуляторной системы при экспериментальном Ал. Показатель H, равный 0,57±0,14 при Ал, может свидетельствовать о неустойчивости системы и неупорядоченном кровотоке в системе микроциркуляторного русла, т.е. системы отрицательно коррелированы. Учитывая, что показатель H находится на границе пределов $1>H>0,5$ и $0<H<0,5$, можно оценивать состояние системы микроциркуляции, как сохраняющую способность к самоподдержанию на фоне происходящих функциональных адаптационных перестроек в общей системе регуляции, так как система кровоснабжения дермы представляет собой подсистему, которая полностью приспособлена к её структуре и функции.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

STATE OF MICROHEMOCIRCULATION IN THE PROCESS OF ORGANISM ADAPTATION TO EXTREME AEROCRYOTHERAPY (-120°C) APPLICATION UNDER EXPERIMENTAL ALCOHOLIZATION

Lomakin I.I., Kudokotseva O.V., Marchenko V.S., Lutsenko D.G., Shylo O.V.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Kharkiv
e-mail: iilomakin@mail.ru

The ratio of vascular elements in the microcirculation of every organ is of great importance. Extreme cryotherapy (EC) also has an effect on the organs and systems involved in the regulation of homeostatic processes including the thermoregulatory ones. First of all it is central nervous, neuroendocrine and cardiovascular system, regulating the development of immediate adaptive responses to external influences. At the same time, the vascular reactions subjected to direct regulatory influence of the higher (nerve) centers in different functional systems of the body under the effect of directional exogenous stress factors are interrelated and interdependent.

The purpose of this research was to study the reactions of the microcirculatory system in the derma on the effect of EC (-120°C) under the experimental alcohol intoxication (AI).

Experiments were carried out on 12 month male white breedless rats in accordance with the "General principles of animal experiments", approved by the II National Congress of Bioethics (Kiev, 2004). Alcoholization was carried out at least for 120 days. EC was carried out in the apparatus for extreme cryotherapy with the temperature about -120°C (four 1.5 minutes sessions). Skin temperature was measured by a digital infrared thermometer Mikrolife IR1DE1. Immediately after the EC the surface temperature of the thigh was $21,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, the anterior abdominal wall - $24,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, the head - $21,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, rectal - $36,4 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. The condition of fascial microhemocirculation bed of subcutaneous tissue was investigated by contact biomicroscopy with photo and video recording. Photos and videos were analyzed then by a computer program "Fram", designed for the calculation of morphometric characteristics of the object and the fractal dimension D, which characterizes microarchitectonics of vascular bed, velocity and peculiarities of blood flow and blood cells condition in blood vessels, i.e. is an integral indicator of microhemocirculation bed condition of organs. D values were calculated as the slope of the line, which approximates the dependence of the pixels of a given colour on the object from the area of frame into which they fall. Increasing the dimension up to 2.0 indicates an increase in the active total area (branching) of the vascular surface, which determines the level of metabolic processes. When interpreting the data we based on the general theory of Brownian motion, in which the value of H (Hurst) is associated with D by the simple relation: $\text{dir-D} = H$. In this case, if $H \sim 1.0$, the observed microcirculation is characterized by laminar blood flow and microangioarchitectonics has well-defined, smoothed topology and Euclidean geometry of the vascular bed. If $H = 0.5$, the functional microangioarchitectonics is completely stochastic, the disordered blood flow is uneven, and the geometry of blood vessels resembles the fixed trajectory of the Brownian particles motion and is non-traditional chaotic. The dimension of H, which lies between 0.5-1.0, corresponds to the self-regulating organ, i.e. is persistent one. Antipersistent state of the system is unstable, tends to the destruction or alteration and corresponds to the values of H in the range 0 - 0.5. At present time H and D are used in clinical practice to assess the peculiarities of changes occurring in the organs during pathological processes.

The microscopic picture of AI fascial microhemocirculation bed differs from the normal by manifestations of circulatory distress: on the background of the reduced number of operating vessels and a decreased total area of vascular coverage ($14,8 \pm 1,4$), accompanied by a change in the diameter and the ratio of the number of large and small vessels, the phenomenon as slowing the intravascular blood flow and increase in blood flow, the spasm microvessels and capillaries filled with plasma without blood cells were observed. After the EC sessions in animals with AI on the second day there was the increase of the visible area of microvascular bed ($21,4 \pm 2,6$) to the parameters in the control group ($24,6 \pm 4,1$), the growth of capillary blood flow and the relative increase in its area in the total area of controlled microvascular bed. The increase in the percentage of the number of capillaries and sinusoids of the total area of the vascular bed were noted: $22,5 \pm 4,5$ in the control group, $14,7 \pm 2,1$ for AI, $18,2 \pm 2,6$ after the EC in the group with AI. The H reflects the dynamic changes in the state of microcirculation bed in accordance with the functional state of regulatory systems and indicates a decrease in self-regulation processes of the reduced microcirculatory system under experimental AI. The H equal to $0,57 \pm 0,14$ under AI, may indicate the instability of the system and disordered blood flow in the microcirculation bed, i.e. systems are negatively correlated. Considering that the H locates within the boundaries between $1 > H > 0.5$ and $0 < H < 0.5$, one may assess the condition of the microcirculation, as preserving ability to self-maintenance on the background of functional adaptation rearrangements in general system of regulation, as the system of blood supply of the derma is a subsystem that is fully adapted to its structure and function.

ВЛИЯНИЕ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИСУДОРОЖНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЦНС ПОСЛЕ СУДОРОГ

Мамалыга М.Л.

Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН, Москва, Россия
e-mail: mamalyga83@mail.ru

Изучение индивидуально-типологических особенностей адаптивных перестроек в организме и их связи с репаративными возможностями в постсудорожный период остается актуальной задачей современной нейрофизиологии и медицины. Хорошо известна защитная роль адаптации организма к гипоксии при различных функциональных нарушениях, в том числе и при судорожных состояниях (Агаджанян Н.А. и др., 2001; Старых Е.В., Федин А.И. 2002; Караш Ю.М. и др., 2004). Однако мало изучена связь эффективности противосудорожных препаратов, по-разному модулирующих активность моноаминергических (МА-ергических) систем, с восстановительными процессами в мозге после судорог и индивидуальными адаптивными возможностями организма к гипоксии. В связи с этим цель настоящего исследования заключается в изучении влияния фенитоина и габапентина на судорожную готовность и динамику восстановления содержания РНК в системе нейрон-глия центральных МА-ергических ядер мозга в постсудорожный период у животных с высокими и низкими адаптивными возможностями к гипоксии. Исследования проведенные нами ранее показали, что среди адаптированных к гипоксии высоко- (ВУ) и низкоустойчивых (НУ) животных можно выделить три основные группы: ВУ и НУ с высокими адаптивными возможностями и НУ с низкими адаптивными возможностями [Мамалыга М.Л., 2004].

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Wistar. Судороги вызывали введением животным обеих групп 1% пентилентетразола (коразола). Содержания РНК определяли через 12 и 24 час после судорог. Установлено, что противосудорожная эффективность каждого из примененных препаратов у неадаптированных ВУ и НУ животных одинакова. Как показано нами ранее, после завершения сеансов адаптации у животных с высокими адаптивными возможностями происходит активация МА-ергических систем [Мамалыга М.Л., 2007, 2011]. Введение на этом фоне исследованных препаратов повышает их эффективность, о чем свидетельствует увеличение пороговых доз коразола. У животных с низкими адаптивными возможностями, после завершения сеансов адаптации наблюдается снижение активности МА-ергических систем, а эффективность на этом фоне фенитоина и габапентина не изменяется.

Однако, несмотря на выявленные различия, характер восстановления постсудорожных внутриклеточных изменений в ЦНС зависит как от индивидуальных особенностей организма, так и от специфики действующих препаратов. Так, введение после судорог неадаптированным ВУ животным фенитоина не сопровождается изменением содержания РНК в нейронах и сателлитной глии компактной зоны черной субстанции, тогда как у адаптированных данный препарат вызывает увеличение (на 24%) содержания РНК в цитоплазме нейронов. Габапентин наоборот, снижает содержание РНК в глиоцитах ВУ неадаптированных животных и не изменяет его в системе нейрон-глия адаптированных крыс.

У неадаптированных НУ животных с высокими адаптивными возможностями фенитоин, введенный в постсудорожный период, увеличивает содержание РНК в нейронах черной субстанции, тогда как у адаптированных изменений не происходит. Действие габапентина также различается у НУ неадаптированных крыс и адаптированных с высокими адаптивными возможностями. Его введение животным первой группы сопровождается снижением, а второй - увеличением содержания РНК в нейронах. Диаметрально противоположный характер сдвигов обнаружен в черной субстанции у животных с низкими адаптивными возможностями при введении им исследованных препаратов на фоне адаптации. Фенитоин приводит к увеличению (на 27%) содержания РНК в нейронах, а габапентин к его снижению (на 31%). В глиоцитах оба препарата снижают содержание исследованных макромолекул.

Исследование клеточных структур другого МА-ергического ядра (синего пятна) также выявило особенности проявления противосудорожных веществ у адаптированных и неадаптированных животных. Так, введение в постсудорожный период неадаптированным ВУ животным фенитоина сопровождается увеличением содержания РНК в нейронах и глиоцитах синего пятна (на 27 и 18% соответственно). У адаптированных крыс увеличение содержания РНК обнаружено только в глиальных клетках-сателлитах. Габапентин по-разному влияет на восстановление внутриклеточных изменений в постсудорожный период у неадаптированных и адаптированных ВУ животных. У НУ животных с высокими и низкими адаптивными возможностями действие фенитоина не приводит к изменению содержания РНК в системе нейрон-глия синего пятна. Тогда как введение габапентина сопровождается его снижением (на 27%) в глиоцитах.

Таким образом, установленный в данном исследовании факт, что сочетание адаптивной и фармакологической коррекции судорожной готовности является более эффективным, чем каждый из этих подходов в отдельности, соответствует основному положению адаптационной медицины, который состоит в том, что комбинация фармакологической и адаптационной защиты составляет одну из главных перспектив этой науки. Вместе с тем, эффективность восстановления внутриклеточных процессов после судорог, по-видимому, не может быть реализована любыми противосудорожными препаратами, снижающими судорожную готовность. Поэтому при назначении указанных препаратов в каждом конкретном случае следует учитывать не только их прямое предназначение, снижать судорожную готовность, но и модулирующее влияние на МА-ергические системы.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF ADAPTATION TO HYPOXIA ON THE EFFICIENCY OF DRUGS ANTISEIZURE AND RESTORATION INTRACELLULAR CHANGES IN CNS AFTER SEIZURE

Mamalyga M.L.

Scientific Centre of Cardiovascular Surgery named after A.N. Bakulev of Russian Academy of Medical Science, Moscow, Russia
e-mail: mamalyga83@mail.ru

One of actual problems of neuropharmacology consists in search of preparations not only reducing convulsive readiness of an organism, but also quickly restoring functionalities-metabolic CNS during the postconvulsive period. Well-known a protective role adaptation of an organism to a hypoxia from various functional disturbances, including at convulsive conditions. However there is a little clear a communication of efficiency of anticonvulsant preparations variously modulating activity monoaminergic (MA-ergic) systems with regenerative processes in a brain after cramps and individual adaptive opportunities of an organism to a hypoxia. Therefore, the purpose of the present research consists in studying influence of phenytoin and gabapentin on convulsive readiness, a metabolism of monoamines in CNS, and also dynamics of restoration of maintenance RNA in system neuron-glya central MA-ergic nucleus of a brain during the postconvulsive period at animals with high and low adaptive opportunities to a hypobaric hypoxia.

Researches are executed on rats-man of line Wistar. Clonic cramps caused introduction to animal both groups of corazol of 1 %. Maintenances of monoamines and RNA defined in 12 and 24 hour after a convulsive attack. Researches are lead with keeping the basic bioethical rules.

The received results have shown, that anticonvulsant efficiency of phenytoin and gabapentin is enlarged at the animals well adapted a hypoxia and does not change at rats with low adaptive opportunities. At animals of the first group, the applied preparations variously modulate a condition MA-ergic systems. Phenytoin basically enlarges the maintenance of dophamin (DA) and a serotonin (ST), and also their metabolites in a hippocampus, a hypothalamus and a mesencephalon. Gabapentin enlarges the maintenance of noradrenalin on the average a brain and a hypothalamus, but reduces the maintenance DA and ST in the majority of the investigated structures of a brain. Besides phenytoin, unlike gabapentin, promotes intensive restoration of intracellular maintenance RNA after cramps. It is established, that fast restoration of intracellular changes after cramps cannot be realized by any anticonvulsive preparations reducing convulsive readiness. Therefore at purpose of the specified preparations it is necessary to consider not only their direct reserving to reduce convulsive readiness, but also modulating influence on MA-ergic systems, that, apparently, predetermines realization of reparation opportunities of cellular structures of a brain during the postconvulsive period.

РИТМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

*Мирошник Б.Ю., Мороз М.М., Гостева Ю.В.,
Мартынюк В.С., Нурищенко Н.Е.*

ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко
e-mail: mavis@science-center.net, mariam1.618@mail.ru, mby.sci@gmail.com

В настоящее время алкоголизм рассматривается как особый вид патологии, который характеризуется наркотической зависимостью к алкоголю. В результате такой зависимости у человека развиваются устойчивые метаболические, физиологические, психологические и ментальные нарушения. Известно, что при различных функциональных расстройствах происходит десинхронизация биологических ритмов организма, в том числе и при хронической алкоголизации. В первую очередь нарушается суточный ход метаболических и физиологических процессов. Однако в реальности временная организация процессов в живом организме характеризуется широким спектром периодов - от микроритмов, составляющих доли секунды, до многосуточных, сезонных и многолетних периодов, синхронизированных гео- и гелиофизическими явлениями. Одним из наиболее интересных является диапазон внутрисуточных ритмов, амплитуда которых модулируется суточными и многодневными периодами. Как показывает анализ литературных данных, внутрисуточная организация физиологических и метаболических процессов у человека и животных, находящихся в условиях хронической алкоголизации, изучена недостаточно. Плохо изучен также вопрос о чувствительности биоритмов у алкоголиков к воздействию различных экологических факторов. Поэтому целью данного исследования является изучение нарушений внутрисуточной структуры ритмической активности у белых беспородных крыс, которые длительное время употребляют алкоголь.

Исследования проводили на белых беспородных самках крыс весом 150-200 г. Группы животных отбирали на основе их предпочтения в потреблении воды или раствора спирта. Контрольную группу составили животные, демонстрирующие полный отказ от потребления алкоголя. Экспериментальную группу животных составили крысы, предпочитающие алкоголь воде. Хроническую алкоголизацию животных осуществляли добавлением в воду, этилового спирта, концентрация которого возрастала в течение месяца от 5 до 40% и в последующем не менялась. Животные потребляли раствор этанола во время их нахождения в клетках для содержания. Внутрисуточную активность животных исследовали с помощью автоматизированной системы регистрации движения животных в колесе, позволяющей непрерывно регистрировать двигательную активность в течение суток. Скорость движения животных оценивали в относительных единицах за одну секунду. В суточных экспериментах животные находились в колесе в обычных условиях освещенности и условиях депривации пищи и воды. Такие условия являются слабо стрессующими и не наносят заметного вреда животным, но при этом в интегральном ритме двигательной активности крыс существенно ослабляются ритмы потребления пищи и воды. Математический анализ временных рядов двигательной активности животных проводили на основе Фурье-преобразования. Анализ экспериментальных результатов проводили на основе общепринятых алгоритмов статистической обработки данных.

Спектральный анализ двигательной активности крыс позволил выявить набор периодов от нескольких минут до 12 часов. Широкий спектр периодов с разными фазами и амплитудами формирует сложную "шумоподобную" структуру ритма двигательной активности животных. В контрольной группе крысы в течение первых месяцев эксперимента демонстрировали слабую выраженность суточного ритма, что, вероятно, связано с влиянием самой процедуры исследования, сопровождающейся депривацией животных от воды и пищи. В то же время, временная организация активности животных, подвергающихся хронической алкоголизации в течение первых месяцев эксперимента, отличалась большей упорядоченностью. Одновременно с этим наблюдалось достоверное увеличение амплитуды внутрисуточных двигательных паттернов на фоне повышенной вероятности выявления суточной периодичности, по сравнению с контрольной группой. Периодичность внутрисуточных паттернов была неустойчивой, поэтому в спектре соответствующие периоды были малыми по амплитуде. Такие изменения во временной организации активности животных, вероятно, вызваны упрощением структуры биоритмов на фоне повышения тревожности и внутренней патологической синхронизации физиологических процессов. Последующее пребывание животных в эксперименте показало восстановление суточной периодичности в контрольной группе крыс к 5-му месяцу и нарушение таковой у животных, длительно потребляющих алкоголь. Дальнейшие исследования предполагают более детальное изучение ритмической организации активности животных с помощью современных алгоритмов вейв-лет анализа, а также изучение чувствительности крыс к периодическому действию электромагнитных полей разных частотно-амплитудных диапазонов и режимов периодического воздействия.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

RHYTHMIC ORGANIZATION OF RATS LOCOMOTOR ACTIVITY UPON CHRONIC ALCOHOLISM

**Miroshnik B.Yu., Moroz M.M., Gosteva Yu.V.,
Martynyuk V.S., Nurischenko N.E.**

ESC "Institute of Biology," Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: mavis@science-center.net, mariam1.618@mail.ru, mby.sci@gmail.com

Nowadays alcohol is seen as a kind of pathology that is characterized by addiction to alcohol. As a result of it the stable metabolic, physiological, psychological and mental disorders are developed. It is known that the various functional disorders including chronic alcoholism leads to desynchronization of biological rhythms of the body. First of all the diurnal variation of metabolic and physiological processes are disordered. But in reality, a temporary organization of processes in a living organism characterized by a wide range of periods - from microrhythms comprising a split second before multidurnal, seasonal and long-term periods that are synchronized with geo- and geiophysical phenomena. The range of diurnal rhythm, which the amplitude is modulated by the diurnal and multi-day periods, is of great scientific interest. The analysis of literature lead us to the conclusion, that diurnal organization of physiological and metabolic processes in humans and animals in conditions of chronic alcohol abuse, has been insufficiently studied. The question of biorhythms sensitivity to the effects of various environmental factors are also poorly understood for alcoholics. Therefore, the aim of this study is to investigate violations of the structure of the diurnal rhythm of activity in white rats, which had a long period of alcoholization.

Studies were performed on white mongrel rats weighing 150-200 females, the groups of animals were selected based on their preferences in the consumption of water or alcohol. Control group consisted of animals that demonstrate a complete rejection of alcohol consumption. Experimental group of animals were rats preferring alcohol for water. Chronic alcoholism animals was carried out by adding ethanol to the water. The solution concentration increased during the month from 5 to 40% and thereafter remained unchanged. Animals consumed ethanol solution during their stay in cages for the content. Diurnal activity of the animals examined by automated system of animals movement registration in a cage, allowing continuously recorded locomotor activity during the day. The speed of the animals was assessed in arbitrary units per second. In the daily experiments, animals were in the wheel under normal lighting conditions and terms of deprivation of food and water. Such conditions are a little stressful and do not cause significant harm to animals, but in the integral rhythm of rats locomotor activity significantly attenuated the consumption of food and water. Mathematical analysis of time series of animals locomotor activity was carried out based on the Fourier transform. Analysis of experimental results conducted on the basis of generally accepted statistical data processing algorithms.

Spectral analysis of rats locomotor activity revealed a range of periods from several minutes to 12 hours. A wide range of periods with different phases and amplitudes forms "noise-like" structure of rhythm of animals locomotor activity. During the first months of experiment the rats in the control group showed a weak expression of circadian rhythm, which is probably due to the influence of the study procedure, accompanied animals from deprivation of food and water. At the same time in the first months of the experiment, the temporal organization of animals activity exposed to chronic alcohol abuse differed more regularity. Also there was a significant increase in the amplitude of diurnal movement patterns on a background of increased likelihood of daily periodicity, compared with the control group. Frequency of diurnal pattern was unstable, so the spectrum of the corresponding periods were small in amplitude. Such changes in the temporal organization of animals activity, probably due to simplification of the structure of biological rhythms accompanied by increased anxiety and abnormal internal synchronization of physiological processes. The subsequent presence of animals in the experiment showed the restoration of the daily periodicity in the control group of rats after 5-th month and the violation of it for the group of long-term alcohol consumers. Further research suggest a more detailed study of the rhythmic organization of animals activity with advanced algorithms of wavelet analysis and study of the sensitivity of rats to intermittent magnetic fields of different frequency and amplitude ranges and modes of periodic action.

КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ АДАПТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В НЕРВНОМ АППАРАТЕ ГЛАЗА ПРИ СТРЕСС-ВЫЗВАННОЙ НЕЙРОПАТИИ

Михейцева И.Н.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.В.П.Филатова НАМН» Одесса, Украина
e-mail: mda@soborka.net

В результате многолетнего изучения физиологической роли и механизма действия гормона эпифиза мелатонина стало очевидным, что именно этот компонент нейроэндокринной системы является ответственным за адаптационные изменения физиологического состояния млекопитающих в их ответе на сезонные и суточные колебания, а также другие меняющиеся условия внутренней и внешней среды [1]. Эпифиз последние годы также рассматривается как нейроэндокринный центр защиты организма от различных стрессов, а мелатонин - как основной антистрессорный внутренний агент организма [2]. Кроме эпифизарного мелатонина в организме существует экстрапинеальный мелатонин. Благодаря большому количеству продуцирующих его по всему организму клеток и широте спектра биологического влияния, мелатонин может рассматриваться как сигнальная молекула координации функций клеток и межклеточных связей в норме и патологии.

В настоящем исследовании было изучено влияние мелатонина на структурные и нейрофизиологические изменения нервного аппарата глаза у экспериментальных животных при хроническом адреналиновом стрессе. Системное введение адреналина крысам в течение 1,5 месяцев по разработанной нами схеме [3] вызвало у них нейро-оптикопатию, которая подтверждена гистоморфологически. У животных отмечено снижение плотности нейронов в ганглиозном слое сетчатки. Подобные изменения характерны для первичной глаукомы у людей. Хроматографические исследования выявили у экспериментальных крыс с нейропатией в экстрацеллюлярном пространстве глаза, непосредственно прилежащем к сетчатке, аминокислотный дисбаланс в сторону преобладания аминокислот возбуждающего действия. Отмечено увеличение концентрации возбуждающих глутамата и аспартата и снижение концентрации тормозных ГАМК и глицина в сравнении с глазами контрольных животных. Именно повышение возбуждающей составляющей в нейромедиаторном составе нервной ткани может вести к усилению апоптотической гибели нейронов. Ускоренная гибель ганглиозных клеток сетчатки путем апоптоза наблюдается при глаукомной нейропатии. Введение крысам с экспериментальной глаукомной нейропатией препарата мелатонина в дозе 300 мкг в течение месяца вызвало повышение выживаемости нейронов ганглиозных клеток сетчатки. Исследование аминокислотного состава стекловидного тела в глазах животных, получавших мелатонин, выявило снижение дисбаланса концентрации аминокислотных нейромедиаторов за счет повышения уровня тормозных ГАМК и глицина, а также суммарного снижения фракции возбуждающих аминокислот (глутамат+аспартат) в сравнении с глазами животных с нейропатией без лечения мелатонином.

Таким образом, сниженные при хроническом адреналиновом стрессе у крыс адаптационные возможности организма были в значительной степени увеличены введением стресс-протекторного, эссенциального для млекопитающих адаптогена мелатонина. В результате экспериментальной терапии мелатонином зафиксирована коррекция структурных и нейрофизиологических изменений в нервном аппарате глаз животных со стресс-вызванной нейропатией, а именно повышение выживаемости нейронов сетчатки и уменьшение дисбаланса возбуждающих и тормозных нейромедиаторов.

Литература

1. *Анисимов В.Н.* Мелатонин и его место в современной медицине // Рос. мед. журн. – 2006. – т.14, №4. – С.269-274.
2. *Арушанян Э.Б.* Антистрессорные возможности мелатонина // В кн. Мелатонин в норме и патологии – 2004 – С.198–222.
3. *Михейцева И.Н.* Спосіб моделювання хронічного підвищеного внутрішньочесного тиску у щурів // Патент №38446, зареєстр. 12.01.2009-Бюл.№1.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CORRECTION WITH MELATONIN OF ADAPTIVE PROCESS IN EYE NEURONAL APPARATUS FOR STRESS-INDUCED NEUROPATHY

Mikheyitseva I.N.

The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NMAS, Odessa, Ukraine
e-mail: mda@soborka.net

As a result of long-term study of physiological role and mechanism of action of epiphysis hormone melatonin became obvious, that exactly this component of the neuroendocrine system is responsible for the adaptive changes of the physiological state of mammals in their answer for seasonal and circadian fluctuation and other changing conditions of internal and external environment [1]. Epiphysis the last years also regarded as a neuroendocrine center of organism protection from different stresses, and melatonin as basic antistress internal agent of the body [2]. Except epiphyseal there is extrapineal melatonin in the body. Due to plenty of producing it cells through the body and breadth of biological influence spectrum melatonin can be considered as a signal molecule of co-ordination of cell functions and intercellular connections at the norm and pathology.

In our research melatonin influence was studied on the structural and neurophysiologic changes of nervous apparatus of the eye for experimental animals at chronic adrenalin stress. System introduction of adrenalin to the rats during 1,5 months on the chart worked out by us [3] caused for them neuro-opticopathy, confirmed by gisto - morphologically. For animals the decline of neuron closeness was marked in the ganglionic layer of the retina. Similar changes are characteristic for people primary glaucoma.

Chromatographic researches revealed for experimental rats with neuropathy in extracellular space of the eye, directly adherent to the retina, amino acid disbalance toward to predominance of amino acids of exciting action. An increase of the level of excitatory glutamate and aspartat and a decrease of concentration of inhibitory GABA and glycine there were marked by comparison to the eyes of control animals. Exactly the increase of exciting constituent in neuromediator composition of nervous tissue can conduce to strengthening of apoptosis death of neurons. Speed-up death of ganglionic cells of the retina by an apoptosis is observed at glaucoma neuropathy.

Introduction to the rats with experimental glaucoma neuropathy of melatonin in a dose 300 mkg during a month caused the increase of survival of ganglionic neurons of the retina. Study of amino acid composition of vitreous body in the eyes of animals, getting melatonin, revealed the decline of disbalance of concentration of amino acid neurotransmitters due to the increase of inhibitory GABA and glycine level, and also total decline of excitatory amino acids fraction (glutamate+ aspartate) by comparison to the eyes of animals with neuropathy without melatonin treatment.

Thus, adaptive possibility of the body decreased at chronic adrenalin stress in the rats was enhanced by introduction of stress-protective, essential for mammalian adaptogen melatonin. As a result of experimental therapy with melatonin the correction of structural and neurophysiologic changes in the eye neuronal apparatus in animals with stress-induced neuropathy was fixed, namely the increase of survival of the retina neurons and the reduction of excitatory and inhibitory neurotransmitter's disbalance.

References

1. *Анисимов В.Н.* Мелатонин и его место в современной медицине// Рос. мед. журн. – 2006. – т.14, №4. – С.269-274.
2. *Арушанян Э.Б.* Антистрессорные возможности мелатонина/В кн. Мелатонин в норме и патологии – 2004–С.198–222.
3. *Михейцева И.Н.* Спосіб моделювання хронічного підвищеного внутрішньочного тиску у щурів // Патент №38446, зареєстр. 12.01.2009-Бюл.№1.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ У ЧЕЛОВЕКА

¹Паелович С.А., ¹Безруков В.Ф., ²Пайкова Л.Н.

¹ Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

² ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии» АМН Украины, Харьков, Украина
e-mail: sapavlovich@gmail.com

Такие поведенческие эмоциональные признаки как тревожность и депрессивность, выполняют адаптивную функцию, поскольку способствуют возможностям человека реагировать на определенные изменения окружающей среды. Изучение их изменчивости в популяции крайне важно, так как высокие уровни тревожности и депрессивности ассоциированы со многими патологическими состояниями человека.

Нами был проведен популяционный анализ изменчивости этих признаков. Были обследованы группы лиц юношеского возраста – учащихся школ и высших учебных заведений. Также были обследованы группы лиц с патологиями – пациентов психиатрической клиники. Уровни тревожности и депрессивности определяли с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методик.

Выявлен половой диморфизм: показатели уровней тревожности и депрессивности значимо выше у лиц женского пола, причем для разных возрастных групп – от 13 до 22 лет. По сравнению с юношами девушки имеют более высокие показатели личностной тревожности, которая отражает конституциональные, устойчивые особенности организма к восприятию разного рода стрессоров.

Выявлена связь степени проявления реактивной (ситуативной) и личностной тревожности с определенными фенотипическими маркерами, имеющими четкую зависимость от генотипа. В частности, для подобного анализа использовали ФТК-тест определения индивидуальной чувствительности к фенилтиокарбамиду, ассоциированной с геном hTAS2R38. В литературе имеются данные о связи этого признака со многими соматическими и психическими заболеваниями (1).

Показатели личностной и реактивной тревожности достоверно выше для лиц, сенситивных к ФТК (тестеров), причем эта связь наблюдается и у девушек и у юношей. Подобные ассоциации наблюдали и у лиц мужского пола с патологическими состояниями: алкогольной зависимостью и социофобиями. Среди лиц с социофобиями повышена частота тестеров и для них же характерны высокие уровни личностной тревожности, субклинической и клинической тревоги и депрессии. Среди лиц с алкогольной зависимостью повышена частота нетестеров. Также в группе с патологиями частота тестеров достоверно повышена среди лиц с высоким уровнем личностной тревожности.

Таким образом, популяционный анализ изменчивости эмоциональных признаков позволяет выявить закономерности проявления этих признаков в различных группах, половые особенности степени их проявления, а также особенности выраженности признаков в различных фенотипических группах.

Литература

1. Duffy VB, Davidson AC, Kidd JR, Kidd KK, Speed WC, Pakstis AJ, Reed DR, Snyder DJ, Bartoshuk LM. Bitter receptor gene (TAS2R38), 6-n-propylthiouracil (PROP) bitterness and alcohol intake // *Alcohol Clin Exp Res*. 2004 Nov;28(11):1629-1637.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

VARIABILITY OF EMOTIONAL CHARACTERS ASSOCIATED WITH PATHOLOGICAL CONDITIONS IN HUMAN

¹Pavlovich S.A., ¹Bezrukov V.F., ²Paikova L.N.

¹ Kyiv National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine

² SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Addiction," Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail sapavlovich@gmail.com

Almost all behavioral emotional traits like anxiety and depression, are adaptive, because they contribute to human capacity to respond to certain environmental changes. The population analysis of their variability is extremely important, as high levels of anxiety and depression are associated with many pathological conditions of man.

We carried out a population analysis of variability of these traits. We examined a group of individuals (adolescence) - in schools and universities. We also examined the group of individuals with abnormalities of behaviour (patients of psychiatric clinics). Levels of anxiety and depression were determined using generally accepted in the medical and biological research techniques.

Revealed sexual dimorphism of anxiety and depression manifestation: the levels of these traits were significantly higher in females. It was observed for different age groups. - from 13 to 22 years. Compared with boys girls have higher levels of anxiety, which reflects the constitutional, stable characteristics of an organism to perceive different kinds of stressors.

The relationship between the degree of manifestation of reactive (situational) and personal anxiety with specific phenotypic markers, which have a clear dependence on the genotype, was found. In particular, this analysis was performed with FTC test determining individual sensitivity to phenylthiocarbamide associated with gene hTAS2R38. There are a lot of published data on the relationship of this trait with many physical and mental illness (1) ..

Indicators of personal and reactive anxiety were significantly higher for those sensitive to the FTC (tasters), and this relationship was observed both in girls and boys. Similar association was also observed in males with pathological conditions: alcohol dependence and social phobia. Among individuals with social phobia increased frequency tasters; these groups also have higher levels of personal anxiety, subclinical and clinical anxiety and depression. Among individuals with alcohol dependence we find the increased frequency of non-tasters. In the group with abnormal behaviour the frequency of tasters was increased significantly among those with a high level of personal anxiety.

Thus, the population analysis of the emotional traits variability let us to reveal some patterns of occurrence of these symptoms in different groups, sexual differences in their manifestations, and special features of their manifestation in different phenotypic groups.

References

1. Duffy VB , Davidson AC , Kidd JR , Kidd KK , Speed WC , Pakstis AJ , Reed DR , Snyder DJ , Bartoshuk LM . Bitter receptor gene (TAS2R38), 6-n- propylthiouracil (PROP) bitterness and alcohol intake // *Alcohol Clin Exp Res*.2004 Nov;28(11):1629 -37.

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К КОМПОНЕНТАМ ЭКЗОТОКСИНА ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

¹Панина А.А., ²Алиев Т.К., ¹Топорова В.А., ³Шемчукова О.Б.,
³Позднякова Л.П., ⁴Бикетов С.Ф., ³Свешников П.Г.

¹Учреждение РАН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³АО Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Москва, Россия

⁴ФГУП Государственный научный центр прикладной микробиологии, Оболensk, Московская обл., Россия
e-mail: panina@mx.ibch.ru

Сибирская язва, вызываемая заражением микроорганизмами *Bacillus anthracis*, представляет собой одно из наиболее опасных заболеваний и широко распространено во многих странах Азии, Африки и Южной Америки. Очаги сибирской язвы есть и на территории России. Кроме того, по оценкам экспертов в области биобезопасности, сибирская язва, наряду с чумой и оспой, также является наиболее мощным и доступным инфекционным агентом для биотерроризма.

Терапия антибиотиками может оказаться неэффективной, особенно для предотвращения токсемии и сепсиса, главных причин гибели инфицированных людей (1-4). Рекомбинантные антитела, обладающие способностью селективно нейтрализовать компоненты экзотоксина сибирской язвы, могут служить эффективным и безопасным средством для предотвращения развития болезни и, в комбинации с лечением антибиотиками или без них, могут значительно уменьшить последствия инфекции (5, 6).

Конечной целью проекта является разработка антител с высокой нейтрализующей способностью против белковых антигенов, отвечающих за развитие заболевания после заражения человека бациллами сибирской язвы.

С использованием гибридной технологии создан представительный набор моноклональных антител (мАт) к компонентам экзотоксина *B. anthracis*: протективному антигену (ПА) и летальному фактору (ЛФ). Из панели гибридом было выбрано по два клон, производящих нейтрализующие моноклональные антитела, демонстрирующие высокую эффективность связывания с антигенами в наномолярном диапазоне. Так, константы диссоциации находятся в диапазоне 1×10^{-8} М до 7.4×10^{-10} М (для анти-ПА антител) и в диапазоне 6.4×10^{-8} to 1.5×10^{-9} М (для анти-ЛФ антител).

Анализ биологической активности выделенных моноклональных антител проводился как на мышах (анти-ПА и анти-ЛФ), так и на линии макрофагов (анти-ПА). Сравнение терапевтической эффективности различных антител проводилось после подкожного заражения спорами *B. anthracis* 71/12 (по Ценковскому) в 0.2 М NaCl в количестве 10^{-10} . Показано, что защита мышей лучшими мАт против ЛФ и ПА соответствует показателям выживаемости 3.7 ± 1.4 и 9.3 ± 4.0 , соответственно. Доля выживших животных от общего числа при введении анти-ЛФ антител составила 30%, а при введении анти-ПА антител – 60%.

В качестве промежуточного этапа гуманизации была проведена химеризация указанных антител. Для этого гены, кодирующие мышинные переменные домены, были объединены с человеческими константными доменами (IgG1 C_H1 для тяжелых цепей и каппа-доменом для легких цепей). Полученные химерные гены были клонированы в вектор, конструкция которого позволяет получить антитела в виде Fab'-фрагментов в бактериальной системе экспрессии. Секретируемые в культуральную среду Fab'-фрагменты были очищены металл-аффинной хроматографией и подвергнуты иммунохимическому анализу. Определение констант диссоциации химерных Fab'-фрагментов и сравнение их с исходными мышинными антителами показало, что химеризация антител не имела отрицательного влияния на антиген-связывающие свойства. Активность химерного анти-ЛФ-Fab'-фрагмента ($K_D = 1.3 \times 10^{-9}$ М) была эквивалентна активности «родительского» антитела ($K_D = 1.5 \times 10^{-9}$ М), в то время как химерный анти-ПА-Fab'-фрагмент продемонстрировал даже более сильную аффинность, чем исходное антитело ($K_D = 1.9 \times 10^{-10}$ М и $K_D = 7.4 \times 10^{-10}$ М, соответственно). Эти данные показывают, что полученные химерные антитела представляют хороший стартовый материал для последующей гуманизации.

Литература

1. Leppla, S.H. 1995. Anthrax toxin. In: *Bacterial toxins and virulence factors in diseases. Handbook of natural toxins*. Eds Moss, J., Iglewski, B., Vaughan, M. and Tu, A., Dekker, New York, NY, v. 8, pp. 543-572.
2. Agrawal, A., J. Lingappa, S. H. Leppla, S. Agrawal, A. Jabbar, C. Quinn, and B. Pulendran. 2003. Impairment of dendritic cells and adaptive immunity by anthrax lethal toxin. *Nature* **424**:329-334
3. Moayeri, M., and S.H. Leppla. 2004. The roles of anthrax toxin in pathogenesis. *Curr. Opin. Microbiol.* **7**: 19-24
4. Turnbull, P.C.B. 1990. Terminal bacterial and toxin levels in the blood of guinea pigs dying of anthrax. Proceedings of the International Workshop on Anthrax. *Salisbury Med. Bull. Spec. Suppl.* 68:53-55.
5. Little, S.F., B.E. Ivins, P.F. Fellows, and A.M. Friedlander. 1997. Passive protection by polyclonal antibodies against *Bacillus anthracis* infection in guinea pigs. *Infect Immun.* 65:5171-5175.
6. Zhao, P., X. Liang, J. Kalbfleisch, H. M. Koo, and B. Cao. 2003. Neutralizing monoclonal antibody against anthrax lethal factor inhibits intoxication in a mouse model. *Hum. Antib.* 12: 129-135

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CLONING AND SEQUENCING OF GENES ENCODING THE MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST LETHAL FACTOR AND PROTECTIVE ANTIGEN OF BACILLUS ANTHRACIS

¹Panina A.A., ^{1,2}Aliev T.K., ¹Toporova V.A., ³Shemchukova O.B.,
³Pozdnyakova L.P., ⁴Biketov S.F., ³Sveshnikov P.G.

¹ M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy
of Sciences, Moscow, Russia

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Chemical department, Moscow, Russia

³ Russian Research Center for Molecular Diagnostics and Therapy, Moscow, Russia

⁴ State Center for Applied Microbiology, Obolensk, Moscow region, Russia
e-mail: panina@mx.ibch.ru

Anthrax caused by *Bacillus anthracis* microorganisms poses one of the most severe threats to the society among all hazards caused by biological agents. The antibiotics treatment may turn insufficient especially to protect from septicemia and toxemia, the major cause of death for infected individuals (1-4). Recombinant antibodies possessing properties to selectively neutralize the components of anthrax exotoxin can serve as effective and safe way to counteract the disease progression, and in combination with antibiotics or not may eradicate the consequences of infection and disease progression (5, 6).

The main objective of the project is the development of low-immunogenic antibodies with high neutralization potential to protect against anthrax challenges.

The representative set of monoclonal antibodies (mAb's) was raised by using the mouse hybridoma technology to the components of *B. anthracis* exotoxin, protective antigen (PA) and lethal factor (LF).

The mAb's were isolated from ascitic fluid and subjected to immunochemical analysis. Using the indirect and competitive immunoassays, the set of mAb's was characterized in terms of their biochemical constants. The dissociation constants of the mAb's ranged from 1×10^{-8} M to 7.4×10^{-10} M (anti-PA) and 6.4×10^{-8} to 1.5×10^{-9} M (anti-LF).

The analysis of biological activity of isolated mAb's was performed in mice (anti-PA and anti-LF) and on the macrophage cell line (anti-PA). The comparison of therapeutic efficacy of different anti-PA and anti-LF antibodies was studied by subcutaneous challenge with 10^{-4} *B. anthracis* 71/12 (Cencovsky) spores in 0.2 ml saline. It was shown that mice protection with the best-performing mAb's anti-LF and anti-PA resulted in 3.7 ± 1.4 and 9.3 ± 4.0 survival rates, respectively. The number of cured animals pre-treated with anti-LF antibodies equalled 30%, while the corresponding parameter for the mice protected against endospore challenge with anti-PA antibodies reached 60%.

The genes coding for the variable domains of the named antibodies were isolated and the mAb's were chimerized by means of replacing murine constant regions with human IgG1 C_H1 and kappa light chain domains. The resulting chimeric constructs were assembled as Fab' fragment expression units in *E. coli* expression vector designed for the product secretion and targeting to the cultural medium. The chimeric Fab' fragments were expressed, purified using metal-affinity chromatography, and subjected to immunochemical analysis. The determination of K_D of the chimeric Fab' fragments and the comparison of these values with the affinity of their monoclonal murine counterparts showed that the chimerization of antibodies had no negative impact on their antigen-binding properties. The chimeric anti-LF antibody (K_D= 1.3×10^{-9} M) has activity equivalent to its "parent" antibody (K_D= 1.5×10^{-9} M), while the chimeric anti-PA antibody demonstrates even stronger affinity to PA (K_D= 1.9×10^{-10} M), as compared to its murine analogue (K_D= 7.4×10^{-10} M). These data indicate that the chimeric antibodies obtained present good starting material for humanization.

References

1. Leppla, S.H. 1995. Anthrax toxin. In: *Bacterial toxins and virulence factors in diseases. Handbook of natural toxins*. Eds Moss, J., Iglewski, B., Vaughan, M. and Tu, A., Dekker, New York, NY, v. 8, pp. 543-572.
2. Agrawal, A., J. Lingappa, S. H. Leppla, S. Agrawal, A. Jabbar, C. Quinn, and B. Pulendran. 2003. Impairment of dendritic cells and adaptive immunity by anthrax lethal toxin. *Nature* **424**:329-334.
3. Moayeri, M., and S.H. Leppla. 2004. The roles of anthrax toxin in pathogenesis. *Curr. Opin. Microbiol.* **7**: 19-24.
4. Turnbull, P.C.B. 1990. Terminal bacterial and toxin levels in the blood of guinea pigs dying of anthrax. Proceedings of the International Workshop on Anthrax. *Salisbury Med. Bull. Spec. Suppl.* 68:53-55.
5. Little, S.F., B.E. Ivins, P.F. Fellows, and A.M. Friedlander. 1997. Passive protection by polyclonal antibodies against *Bacillus anthracis* infection in guinea pigs. *Infect Immun.* 65:5171-5175.
6. Zhao, P., X. Liang, J. Kalbfleisch, H. M. Koo, and B. Cao. 2003. Neutralizing monoclonal antibody against anthrax lethal factor inhibits intoxication in a mouse model. *Hum. Antib.* 12: 129-135.

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ ЩУРІВ НА СТУПІНЬ ДЕСТРУКТИВНОГО ПОРУШЕННЯ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

*Подпалова О.М., Нурищенко Н.Є., Цейслер Ю.В., Пелюх Л.І.,
Андрейченко С.В., Мартинюк В.С.*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: nnurish@mail.ru

Зловживання алкоголем призводить, як відомо, до розвитку цілого ряду захворювань, серед яких традиційно виділяють цироз печінки та алкогольну енцефалопатію. Як виявилось, довготривалий вплив алкоголю викликає зміни навіть в скелетних м'язах, які раніше вважалися досить стійкими до дії зовнішніх факторів. Натепер встановлено, що ускладнення алкоголізму супроводжується розвитком алкогольних міопатій у біля 60% хворих. Однак механізми розвитку цих важких клінічних станів, що проявляються у зниженні маси м'язів, їх слабкості, забрудненні ходи, судомомах, залишаються мало вивченими.

Важлива роль у забезпеченні функціонування скелетного м'язу належить ферменту креатинкінази. Креатинкіназа – це тканиноспецифічний фермент скелетного м'язу, що може виходити в кровоток при їх деструктивних змінах. Метою дослідження було вивчення активності креатинкінази в плазмі крові хронічно алкоголізованих щурів для оцінки їх деструктивних порушень.

Щури отримували алкоголь протягом 4 і 6 місяців в зв'язку з тим, що хронічна алкогольна міопатія розвивається досить повільно. Активність креатинкінази в плазмі крові визначали згідно протоколу для стандартного набору NAC Liquid 100 (Erba Lachema, Чеська Республіка). В основі методу лежить процес відновлення НАДФ в каскаді ферментативних реакцій, який починається з реакції креатинфосфату плазми крові з АДФ, що каталізується креатинкіназою. Зміну активності ферменту оцінювали за зміною швидкості росту оптичної густини дослідного зразка на довжині хвилі $\lambda=340$ нм.

Показано, що через 4 місяці після початку алкоголізації щурів спостерігається підвищення активності креатинкінази в плазмі крові майже на 100% ($p<0,05$) порівняно з контролем (див. рис.). Збільшення терміну споживання алкоголю до 6 місяців вело до подальшого збільшення активності ферменту – більш ніж на 200% порівняно з контролем і на 100% порівняно з показником для тварин, що вживали алкоголь 4 місяці. Цей факт можна пояснити руйнуванням мембран м'язових клітин під впливом підвищення продукції вільних радикалів при хронічному впливі алкоголю.

Отримані результати свідчать, що хронічне вживання алкоголю призводить до пошкодження скелетних м'язів щурів, що ускладнюється при подовженні строку споживання етанолу.

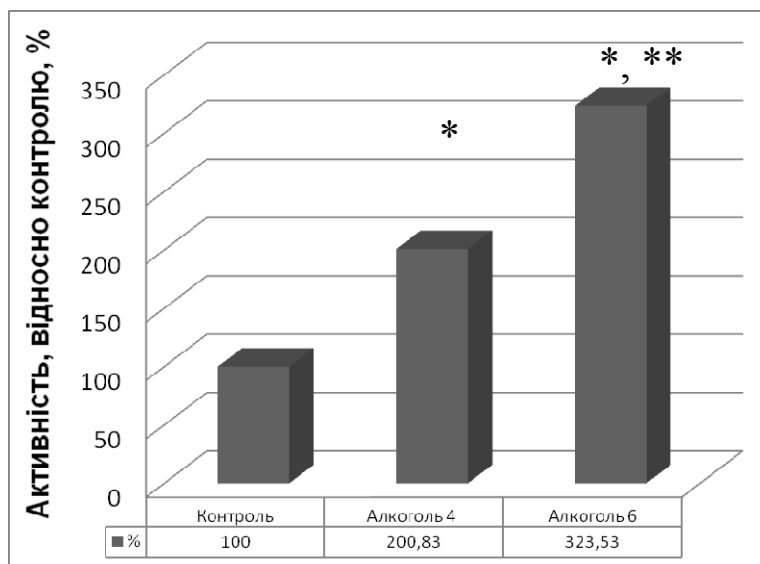


Рис. Вплив хронічної алкоголізації на активність креатинкінази в плазмі крові щурів (Алкоголь 4, Алкоголь 6 – показники активності (%) у тварин, що піддавалися алкоголізації 4 і 6 місяців відповідно). * - достовірні відмінності відносно контрольних значень, $p<0,05$; ** - достовірні відмінності відносно значень показнику у тварин, що піддавалися чотирьохмісячній алкоголізації, $p<0,05$.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF CHRONIC ALCOHOLISATION OF RATS ON SKELETAL MUSCLE DESTRUCTIVE SHIFTS

*Podpalova O.M., Nuryshchenko N.E., Tseyslyer Yu.V., Pelyukh L.I.,
Andreychenko S.V., Martynyuk V.S.*

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kiev, Ukraine
e-mail: nnurish@mail.ru

Chronic alcohol consumption is a major factor for several human diseases. Excessive alcohol ingestion is damaging and gives rise to a number of pathologies. Most organs of the body are affected such as the liver, gastrointestinal tract, brain and other. However, skeletal muscle appears to be particularly susceptible, giving rise to the disease entity alcoholic myopathy. Alcoholic myopathy is far more common (60 % of alcoholics) than liver disease such as cirrhosis or gastrointestinal tract pathologies and encephalopathy. Alcoholic myopathy is characterized by muscle weakness, convulsions, difficulties in gait and locomotion. However, the mechanisms of these severe clinical conditions remain poorly understood.

Important role in functioning of skeletal muscle belongs to enzyme creatine kinase. Creatine kinase - a tissue specific enzyme of skeletal muscle that can go into the bloodstream when muscles are destructively changed. The aim of the study was to investigate the activity of creatine kinase in plasma of a chronic alcohol-exposure rats to assess their muscle destructive disorders.

Rats received alcohol for 4 and 6 months due to the fact that chronic alcoholic myopathy develops very slowly. The activity of creatine kinase in plasma was determined according to the protocol for the standard set of NAC Liquid 100 (Erba Lachema, Czech Republic). The method is based on the reduction of NADP in the cascade of enzymatic reactions that begins with the interaction of plasma creatine with ADP, catalyzed by creatine kinase. Enzyme activity was assessed by changes in the rate of the test specimen at the wavelength $\lambda=340$ nm.

It is shown that rats fed alcohol for 4 months had a nearly 100% ($p < 0.05$) increase in creatine kinase activity compared with control-fed rats (Figure). Extension of alcohol intake to 6 months led to a further increase in enzyme activity - more than 200% ($p < 0.05$) compared with the control and 100% ($p < 0.05$) compared with the rate for animals that drank alcohol 4 months. This fact can be explained by destruction of the membranes of muscle cells under the influence of increasing production of free radicals under chronic alcohol consumption.

Thus, our data may suggest that chronic alcohol abuse leads to destructive changes in rat's skeletal muscle that become stronger with the extension of the ethanol consumption term.

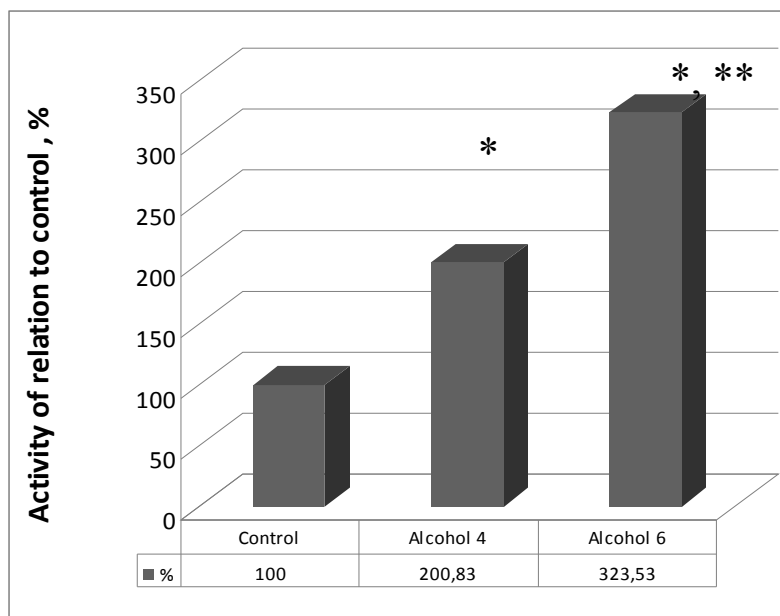


Fig. Impact of chronic alcoholisation on creatine kinase activity in the plasma of rats. Notes: Alcohol 4, Alcohol 6 - indicators of activity (%) in animals subjected alcoholisation during 4 and 6 months respectively). * - significant differences relative to control values, $p < 0.05$; ** - significant differences relative to values in rats with four month alcoholisation, $p < 0.05$

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У ТКАНИНАХ СЕЛЕЗІНКИ, ТИМУСУ, ПУХЛИНИ ЩУРІВ ДО І ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ ПУХЛИНИ ТА ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТУ

Раєцька Я.Б., Моргасенко О.О., Остапченко Л.І.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: raetska@ya.ru

На сьогодні вивченню впливу іонізуючого опромінення на регуляторну систему циклічних АМФ і ГМФ за умов злоскісного росту присвячено ряд досліджень (1), але участь цих молекул у механізмах виникнення та розвитку пухлин остаточно не з'ясовано. Тому важливо дослідити ключові компоненти системи циклічних нуклеотидів за умов пухлинного процесу та при радіотерапії. В якості об'єкту нами були обрані, крім клітин карциноми Герена, також лімфоцити селезінки й тимусу щурів, оскільки вони характеризуються високою радіочутливістю.

В досліджах використовували білих лабораторних щурів-самців масою 130 ± 10 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. Тваринам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20%-ної суспензії пухлинних клітин на 0,9%-му розчині NaCl, отриманих від щура-донора. Групі тварин щоденно, протягом 7-ми днів після прищеплення пухлини і до локального опромінення перорально вводили антиоксидантний препарат АММІВІТ («Львівський фарм. завод», Україна) у дозі 30 мг/кг маси тварин. На 8-му добу після прищеплення пухлину піддавали локальному рентгенівському опроміненню в терапевтичних дозах на апараті РУМ-17. Тварин декапітували через 1, 3 та 7 днів після локального опромінення. Вміст циклічних нуклеотидів визначали в цитозольній фракції лімфоїдних клітин. Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами статистики.

Нами було встановлено, що пухлинний процес (трансплантована карцинома Герена щурів) супроводжується зниженням вмісту цАМФ і підвищенням вмісту цГМФ у клітинах селезінки, тимусу і особливо в пухлині щурів. Локальне опромінення пухлини в дозі 10 Гр призводить до ще більшого зниження цАМФ і підвищення рівню цГМФ у досліджуваних органах. Слід зазначити, що радіотерапія сприяє пригніченню пухлинного процесу, але при цьому зазнають ушкоджень здорові органи і організм у цілому. Тому метою наших подальших досліджень було встановлення можливості корекції пошкоджуючої дії радіації на організм із використанням біологічно-активних препаратів. АММІВІТ – вітамінний концентрат з кісточок винограду, до складу якого входить 12 вітамінів групи В, вітамін С, основні амінокислоти і мікроелементи в оптимальних для організму співвідношеннях, що забезпечує його надзвичайно високу фізіологічну активність (2). Можна припустити, що спостережувані результати свідчать про зменшення деструктивного впливу радіотерапії на здорові органи та покращення функціональної активності лімфоїдних клітин селезінки та тимусу опромінених щурів, що стимулюється введенням АММІВІТу. Це підтверджує його антиоксидантні та радіопротекторні властивості. Було виявлено, що в кінцеві терміни досліджень введення препарату АММІВІТ щурам із прищепленою карциномою Герена незначно впливає на рівень циклічних нуклеотидів. Можливо, для покращення результатів введення даного препарату повинно бути в більшій концентрації, а також не тільки до, а й під час опромінення.

Література

1. Little B. Radiation carcinogenesis // Carcinogenesis. – 2008. – Vol. 21, №3. – P.397-404.
2. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Ральченко И.В. и др. Влияние комбинации витаминов-антиоксидантов на гемостаз при экспериментальной гипероксидации // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005. - Т. 68, №3. - С. 34-36.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CYCLIC NUCLEOTIDES DETERMINATION IN RATS' SPLEEN, THYMUS, TUMOR TISSUES BEFORE AND AFTER THE TUMOR IRRADIATION AND INTRODUCTION OF ANTIOXIDANT DRUG PER OS

Raetska Ya.B., Morgaienko O.O., Ostapchenko L.I.

ESC "Institute of Biology" of Kyiv National Taras Shevchenko University, Kyiv, Ukraine
e-mail: raetska@ya.ru

Nowadays a lot of reports are dedicated to investigation of ionizing radiation's effects on the cyclic AMP (cAMP) and cyclic GMP (cGMP) regulatory system under tumor genesis, although the role of these molecules has not been discovered completely yet (1). So it remains important to research the key chains of cyclic nucleotides system on condition of tumor formation under the radiotherapy. Not only Guerin's carcinoma cells but also spleen and thymus lymphocytes were taken for experiments because of their high radiation sensitivity.

In our experiments, we used white male rats, 130 ± 10 g body wt, kept in vivarium conditions and fed a standard diet. The animals were inoculated with Guerin's carcinoma by injection 20% cell suspension (0.9% NaCl) obtained previously from the rat-donor. The cell suspension was injected subcutaneously into the hind limb femur area. The group of animals was administered with the antioxidant drug Ammivit ("Lviv pharm plant", Ukraine) per os daily during a week after tumor inoculation before the local irradiation. At the 8th day the animals were administered by local X-radiation with therapeutic doses by «PYM-17». The rats were decapitated on the 1st, 3rd and 7th day after the local irradiation. The cyclic nucleotides content was determined in cytosol fraction of lymphoid cells. Data obtained were calculated with the standard methods of statistics.

The tumor formation was observed to follow with cAMP level decreasing and cGMP increasing in spleen, thymus and especially rat tumor cells. The local irradiation of tumor with dose 10 Gy led to more significant attenuation of cAMP and rise of cGMP contents in organs mentioned above. It's noticeable that radiotherapy facilitates suppression of tumor genesis and on the other hand the healthy organs and whole organism are disordered. So the goal of our investigation was to determine the possible way to correct the destructive effect of irradiation using biologically active drugs. Ammivit is physiologically active substance from grape seeds, which contains 12 vitamins of B group, ascorbic acid, main amino acids and microelements in optimal ratio for organism (3). Our results suggest that destructive influence on healthy organs under radiotherapy and improvement of spleen and thymus lymphocytes of rat irradiated were observed to decrease due to Ammivit introduction. Data obtained confirm antioxidant and radio protective characteristics of Ammivit. It was established that expiration terms of Ammivit introduction into rats with experimental Guerin's carcinoma did not influence significantly on cyclic nucleotides level. The possible way to optimize the effect of this drug is introduction in higher concentration and also not only before irradiation but after the exposure to radiation too.

References

1. Little B. Radiation carcinogenesis // Carcinogenesis. – 2008. – Vol. 21, №3. – P.397-404.
2. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Ральченко И.В. и др. Влияние комбинации витаминов-антиоксидантов на гемостаз при экспериментальной гипероксидации // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005. - Т. 68, №3. - С. 34-36.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ АКТИВНІСТЮ Н,К-АТФази ТА РІВНЕМ ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО pH У ПРОЦЕСАХ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАРІННЯ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБІ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ

¹Строцька Є.А., ²Романенко М.С., ²Коркушко О.В.,
¹Преображенська Т.Д., ¹Остапченко Л.І.

¹ «Інститут біології», Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ, Україна

² ДУ «Інститут Геронтології НАМН України», Київ, Україна
e-mail: strotska@ukr.net

Відомо, що активність Н,К-АТФази апікальних плазматичних мембран парієтальних клітин відображує стан кислотопродукуючої функції шлунка [1]. Проте, на сьогоднішній день залишається не розкритим зв'язок між активністю Н,К-АТФази та показниками добового ритму кислотопродукуючої функції шлунка у осіб похилого віку. Метою роботи було встановити наявність зв'язку між активністю Н,К-АТФази та циркадним ритмом pH у осіб похилого віку при виразковій хворобі дванадцятипалої кишки (ВХ ДПК).

У дослідженні приймало участь 33 здорових осіб (15 молодих людей (20-34 роки) та 18 людей похилого віку (60-74 роки)), а також 39 хворих із загостренням ВХ ДПК (15 молодих (20-34 роки) та 24 хворих похилого віку (60-74 роки)), які проходили обстеження у відділенні Інституту Геронтології НАМН України. Активність Н,К-АТФази у біопсійному матеріалі визначали за стандартним методом і розраховували за кількістю Фн, який відщеплюється в результаті гідролізу АТФ [2]. Добовий ритм інтрагастрального pH вивчали методом добового моніторингу pH у тілі шлунка.

Результати показали, що для осіб молодого віку, хворих на ВХ ДПК з вищою активністю ферменту (>120 нмольФн/хв·мг білку) відповідав нижчий базальний та нічний рівень pH ($1,7 \pm 0,1$ та $1,3 \pm 0,1$, відповідно). Проте для молодих осіб з нижчою активністю ферменту (<120 нмольФн/хв·мг білку) було виявлено вірогідно нижчі показники як базального, так нічного pH ($2,1 \pm 0,2$ та $2,5 \pm 0,5$, відповідно, $p < 0,05$). У хворих на ВХ ДПК похилого віку при вищому рівні активності ферменту (>120 нмольФн/хв·мг білку) виявлено вірогідну вищу інтрагастральну кислотність у базальний та нічний періоди ($1,9 \pm 0,1$ та $2,2 \pm 0,5$, відповідно, $p < 0,05$), в порівнянні з хворими похилого віку на ВХ ДПК, які мали нижчий рівень активності ферменту (<120 нмольФн/хв·мг білку).

Таким чином, отримані результати вказують на існування зв'язку між активністю Н,К-АТФази та показниками добового ритму кислотопродукуючої функції соляної кислоти у шлунку у процесах фізіологічного старіння при ВХ ДПК.

Література

1. Щербинина М.Б. Язвенная болезнь: современный взгляд на вопросы патогенеза // Лікування та діагностика – 2005. – №2/3. – С. 26-34.
2. Asano S., Tega Y., Konishi K. et al. Functional expression of gastric H, K-ATPase and site-directed mutagenesis of the putative cation binding site and the catalytic center // J.Biol.Chem. – 1996. – Vol. 271. – P.2740-2745.

THE RELATIONSHIP BETWEEN GASTRIC H, K-ATPase ACTIVITY AND CIRCADIAN VARIATIONS OF GASTRIC pH IN PHYSIOLOGICAL PROCESSES OF AGEING UNDER DUODENAL ULCER

¹Strotska E.A., ²Romanenko M.S., ²Korkushko O.V.,
¹Preobrazhenska T.D., ²Ostapchenko L.I.

¹ Institute of Biology, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

² State Institute of Gerontology NAMN of Ukraine, Kyiv, Ukraine

e-mail: strotska@ukr.net

It is known, that the H,K-ATPase activity of parietal cell apical plasma membranes images the state of acid stomach production in the stomach [1]. However, it is unclear whether gastric H, K-ATPase activity is associated with circadian variations characteristics of gastric pH in elderly patients with duodenal ulcer. The aim of this study was demonstrating a relationship between the activity of the gastric H,K-ATPase and the circadian variations of gastric pH in elderly patients with duodenal ulcer (DU).

The study was carried in 33 healthy subjects (15 subjects aged 20-34 years and 18 subjects aged 60-74 years) and 39 patients with DU (15 patients aged 30-34 years and 24 patients aged 60-74 years), were observed in the department of the State Institute of Gerontology NAMN of Ukraine. H,K-ATPase activity was determined using a standard method, based on measuring the amount of Pi on the hydrolytic reaction in the gastric biopsy specimens [2]. 24-hour pH monitoring in the gastric corpus was performed to study the circadian rhythm of gastric acidity.

Young DU patients with higher enzyme activity (>120 nmol Pi (mg min)) showed lower gastric pH during both the basal period and night-time ($1,7 \pm 0,1$ та $1,3 \pm 0,1$, respectively) while patients with lower H,K-ATPase activity (<120 nmol Pi (mg min)) showed basal and night acidity ($2,1 \pm 0,2$ and $2,5 \pm 0,5$, respectively, $p < 0,05$). In elderly DU patients with higher enzyme activity (>120 nmol Pi (mg min)) as compared to patients with lower H,K-ATPase activity (<120 nmol Pi (mg min)) we found lower basal and night-time pH ($1,9 \pm 0,1$ та $2,2 \pm 0,5$, respectively, $p < 0,05$). These data indicate a relationship between the activity of the gastric H, K-ATPase and parameters of circadian variations of gastric pH in physiological processes of ageing under duodenal ulcer.

References

1. Sherbinina M.B. Yazvennaya bolezni: sovremenny vzglyad na voprosi patogeneza // Likuvannya ta diagnostika – 2005. – №2/3. – P. 26-34.
2. Asano S., Tega Y., Konishi K. et al. Functional expression of gastric H, K-ATPase and site-directed mutagenesis of the putative cation binding site and the catalytic center // J.Biol.Chem. – 1996. – Vol. 271. – P.2740-2745.

АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ В РІЗНИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ ТА ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ РІЗНИХ ФОРМ КВЕРЦЕТИНУ

Торгалю Є.О., Остапченко Л.І.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: alisa210@meta.ua

Надлишкової генерації активних форм кисню, яка лежить в основі багатьох цереброваскулярних патологій, протистоїть антиоксидантна система. Глутатіонова антиоксидантна система, перешкоджає накопиченню токсичних продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), відіграє важливу роль в детоксикації, деградації і виведення з організму чужорідних органічних субстанцій [1]. Важливою складовою вище зазначеної системи є глутатіонпероксидаза та глутатіонредуктаза – ключові ферменти у механізмах захисту клітин від впливу екзогенних та ендогенних вільних радикалів, що виникають у відповідь на геморагічний інсульт.

Метою нашого дослідження було вивчити вплив ліпофлаону та кверцетину на активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази у тканинах мозку, селезінки та нирок при експериментальному геморагічному інсульті.

У досліді використовували білих щурів масою 180 ± 10 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Геморагічний інсульт у щурів викликали шляхом введення у внутрішню капсулу головного мозку аутогенної крові [2]. Ліпофлаон вводили внутрішньовенно, а кверцетин перорально у дозі 10 мг/кг протягом 7 діб. Активність глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] за накопиченням окисленого глутатіону (GSSG), активність глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.2] по зниженню НАДФН при 37°C протягом 8 хв. [3]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою аналітичного пакету програм "Statistica" з використанням критерію Ст'юдента (t).

Нами було досліджено глутатіон-залежну ферментативну систему за умов експериментального геморагічного інсульту. При дослідженні активності глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази в гомогенатах різних органів спостерігалось зниження у селезінці, нирках та мозку. Встановлений факт може вказувати на ініціацію процесів ліпопероксидації та накопичення продуктів ПОЛ, які, в свою чергу, можуть бути причиною подальшого розвитку патології [4]. В досліджених органах за умов розвитку геморагічного інсульту відбувається активізація процесів декомпенсації антирадикального захисту. За цих умов знижуються активність досліджуваних ферментів, що може бути однією із причин порушення проліферації клітин. В результаті проведених досліджень нами встановлено, що введення ліпофлаону призводило до достовірної зміни активності глутатіонпероксидази. Активність глутатіонпероксидази в усіх досліджуваних органах зростала майже в два рази порівняно з групою тварин, яким не вводили препарат. При застосуванні препарату кверцетину спостерігали аналогічні зміни. Активність глутатіонредуктази після введення ліпофлаону відновлювались до контрольних значень у мозку та нирках і підвищувалась у селезінці майже в 4 рази у порівнянні з групою тварин, яким не вводили препарат. Аналогічні зміни спостерігались при введенні препарату кверцетину.

В результаті досліджень нами встановлено, що введення ліпофлаону приводило до достовірного зростання активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази у мозку, селезінці та нирках. Встановлене підвищення активності може свідчити про активацію процесів знешкодження продуктів пероксидного окислення ліпідів, ксенобіотиків в результаті реакцій нуклеофільного заміщення та приєднання, а також, про участь ферментів в ендогенному метаболізмі, що забезпечує локальний захист організму, збільшуючи стійкість клітини й організму в цілому.

Література

1. Мищенко Н.П. Патологические механизмы геморрагического инсульта и пути дифференцированной терапии / Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт. 2007. - № 21. - С.10-15.
2. Ярош О.К. Метод відтворення інтрацеребральної геморагії у білих щурів. / Ярош О.К., Кириченко С.В., Данілов М.М. - Журн. кровообіг та гомеостаз. 2005. - №1. С.77-81.
3. Власова С. Н. Активность глутатион-зависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / Власова С. Н., Шабунина Е.И., Персегина И. А. - Лаб. дело. – 1990. - №8. – С. 19 – 22.
4. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / Барабой В.А. - Успехи совр. биол. – 1991. – Т. 3, вып. 6. – С. 923-931.

ACTIVITY GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN DIFFERENT ORGANS OF RATS AT EXPERIMENTAL MODELS HEMORRAGIC STROKE IN THE CONDITIONS OF INTRODUCTION OF DIFFERENT FORMS OF QUERCETIN

Torgalo E.O., Ostapchenko L.I.

Kyiv National Taras Shevchenko, Kyiv, Ukraine
e-mail: alisa210@meta.ua

To the surplus generation of active forms of oxygen, that is the basis of many cerebrovascular pathologies, the antioxidant system resists. Glutathione the antioxidant system, prevents to the accumulation of toxic foods of peroxide oxidation of lipids, plays an important role in a detoxication, degradations and leadingouts from the organism of foreign organic substances [1]. The important constituent of the higher marked system is glutathioneperoxidase and glutathionoreductase are key enzymes in the mechanisms of defence of cages from influence of exogenous and endogenous free radicals that arise up in reply to a hemorrhagic stroke.

The aim of our research was to learn influence of lipoflavon and quercetin on activity of glutathioneperoxidase and glutathionoreductase in fabrics of brain, spleen and buds at an experimental hemorrhagic stroke.

In experience used white rats of 180 ± 10 g, that was contained on the standard ration of vivarium. A hemorrhagic stroke for rats was caused by introduction to the internal capsule of cerebrum of autogenic blood [2]. Lipoflavon entered intravenously, and quercetin peros in a dose 10 mg/kg during the 7 days. Activity of glutathioneperoxidase [1.11.1.9] on the accumulation of oxidized glutathione (GSSG), activity of glutathionoreductase [1.6.4.2] on the decline of NADPH at 37°C during 8 min [3]. Statistical treatment of results was conducted by means of analytical package of softwares "Statistica" with the use of criterion of Student (t).

The glutathione-dependent system was investigational by us in the conditions of experimental hemorrhagic stroke. At research of activity of glutathionoreductase and glutathioneperoxidase in homogenate of different organs there was a decline in a spleen, buds and brain. The fixed fact can specify on initiation of processes of lipid peroxidation and accumulation of product POL, that, in turn, can be reason of further development of pathology [4]. In investigational organs on conditions of development of hemorrhagic stroke there is activation of processes of decompensation of antiradical defence. At these terms go down activity of the investigated enzymes, that can be one of reasons of violation of proliferation of cages. As a result of undertaken studies it is set by us, that introduction of lipoflavon caused the reliable change of activity of glutathioneperoxidase. Activity of glutathioneperoxidase in all investigated organs grew almost in two times comparatively with the group of animals preparation was not entered that. Analogical changes looked after at application of preparation of quercetin. Activity of glutathionoreductase after introduction of lipoflavon recommenced to the control values in a brain and buds and rose in a spleen almost in 4 times by comparison to the group of animals preparation was not entered that. Analogical changes were observed at introduction of preparation of quercetin. As a result of researches it is set by us, that over introduction of lipoflavon brought to the reliable height of activity of glutathioneperoxidase and glutathionoreductase in a brain, spleen and buds.

The set increase of activity can testify to activating of processes of rendering of products POL, as a result of reactions and also, about participating of enzymes in endogenous metabolism that provides local defence of organism, increasing firmness of cage and organism on the whole.

References

1. *Mischenko N.P.* Physiopathology mechanisms of hemorrhagic stroke and way of the differentiated therapy/Magazine of neurology and psychiatry. Stroke. 2007.- № 21.- C.10-15.
1. *Yarosh O.K.* Method of reflections hemorrhagic stroke at white rats. / Magazine circulation of blood that homoeostasis. 2005. - №1. C.77-81.
2. *Vlasova S. N.* Activity of glutathione-dependent enzymes of red corpuscles at the chronic diseases of liver for the children/Lab. ref. b. - 1990. - № 8. - C. 19 - 22.
3. *Baraboy V.A.* Mechanisms of stress and peroxide oxidization of lipids/Successes of mod. biology - 1991.-T.3,№.6.-C.923-931.

ФУНКЦИОНАЛЬНА АРИТМІЯ ПІД ЧАС ВИКОНАННЯ ЗАВДАНЬ НА УЯВНУ РОТАЦІЮ З ЗАЛУЧЕННЯМ КОРОТКОЧАСНОЇ ПАМ'ЯТІ

Федорчук С.В., Чікіна Л.В., Трушина В.А., Макачук М.Ю.

НДІ фізіології імені академіка Петра Богача, ННЦ "Інститут біології",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: fedorchuks@yahoo.com

Зміни серцевої діяльності вважаються не тільки проявами емоційного стресу або емоційного збудження при розумовому навантаженні, але і наслідком адаптаційної перебудови кровообігу відповідно до характеру розумової діяльності [1]. Дослідження уявної ротації дає можливість вивчати когнітивні процеси у людини, що не пов'язані із другою сигнальною системою [2]. Метою нашого дослідження було вивчення функціонального стану серцево-судинної системи під час виконання завдань на уявну ротацію геометричних об'єктів з залученням короточасної пам'яті і визначення зв'язків ефективності виконання вправ на уявну ротацію з функціональною аритмією.

В дослідженні як обстежені брали участь 36 осіб жіночої статі віком 18-20 років, у контрольну групу ввійшли 15 студенток 19-20 років. З метою визначення функціонального стану серцевої системи реєстрували електрокардіограму (ЕКГ) за допомогою портативного кардіографа фірми "Medisana" (Німеччина). Одноразове вимірювання показників ЕКГ у обстежених проводили за 10 хв і за 5 хв (фон 1 і фон 2) до початку тестування, безпосередньо перед виконанням завдань і після окремих психофізіологічних тестів. Психофізіологічне тестування проводилося з використанням комп'ютерних експрес-методик [3, 4]. Було проведено дві серії досліджень: 1) контроль - 1.5-годинне перебування в експериментальній обстановці без виконання роботи; 2) експериментальне дослідження з психофізіологічним навантаженням, у тому числі - з використанням завдань на уявну ротацію геометричних об'єктів.

Серед обстежених із нестабільним проявом аритмії (n=17) було виділено три підгрупи. Лише у окремих обстежених (22%) відбувалося зменшення кількості аритмій впродовж тестування, що можливо пов'язане із зниженням вагусних впливів в проміжках між виконанням тестів, тобто із зменшенням напруження під час розумового навантаження, що співпадає з літературними даними про редукцію дихальної аритмії під впливом розумового навантаження [5]. Проте, у більшості обстежених із нестабільним проявом аритмії (50%) впродовж тестування відбувалося збільшення кількості аритмій. Тобто, під час виконання тестів психоемоційне напруження зростало, а в проміжках між тестами спостерігалася превалювання парасимпатичних впливів. У 28% обстежених кількість аритмій змінювалася без чітко вираженої тенденції. Зниження дихальної аритмії при підвищенні ЧСС в умовах інформаційного навантаження за даними літератури [5] пов'язується із зменшенням впливу парасимпатичної системи і, крім того, із зниженням ефективності переробки інформації. У проведеному дослідженні показником ефективності переробки інформації вважалася кількість помилок при виконанні завдань на уявну ротацію.

За результатами проведених досліджень значуще зниження ефективності переробки інформації спостерігалася при різноспрямованих коливаннях аритмії і тільки під час виконання III тесту на уявну ротацію, тобто ротацію геометричних об'єктів із залученням короточасної пам'яті. Відмінностей у кількості помилок при виконанні I і II тесту на уявну ротацію між виділеними групами не спостерігалася. Тобто, ефективність виконання вправ на уявну ротацію без залучення короточасної пам'яті за результатами проведених досліджень не була пов'язана з рівнем функціональної аритмії. Підвищення ефективності переробки інформації, тобто найменша кількість помилок, при виконанні III тесту на уявну ротацію відбувалося при зменшенні кількості аритмій. У обстежених із збільшенням рівня дихальної аритмії впродовж психофізіологічного тестування спостерігалася середня ефективність переробки інформації.

Таким чином, ефективність виконання вправ на уявну ротацію з залученням короточасної пам'яті за результатами проведених досліджень була пов'язана з функціональним станом серцево-судинної системи, зокрема - із рівнем функціональної аритмії. Висока ефективність виконання вправ на уявну ротацію з залученням короточасної пам'яті характеризувалася зменшенням кількості аритмій впродовж психофізіологічного навантаження. Збільшення помилок при виконанні вправ на уявну ротацію з залученням короточасної пам'яті спостерігалася при коливаннях рівня функціональної аритмії.

Література

1. Федоров Б.М., Стрельцова Е.Н., Себекина Т.В., Синицына П.М. Влияние напряженной умственной работы в стрессорных условиях на сердечную деятельность, гемодинамику и кровообращение головного мозга // Физиология человека. - 1986. - Т. 12, № 1. - С. 65.
2. Stepanova K., Vavrecka M., Lhotska L. Changes in strategy during the mental rotation task and its correlation with EEG. // Clinical Neurophysiology. - 2012.-123. (3) - P. e10.
3. Філімонова Н.Б. Комп'ютерна експрес-методика для вивчення психофізіологічного стану людини // Культура здоров'я. Збірник науково-методичних праць. Херсон. 2000. С. 204-209.
4. Тернова Л.В., Чайченко Г.М., Горго Ю.П., Поляно І.В. Дослідження здатності людини до зорового розпізнавання образів різноорієнтованих у просторі // Вісник Черкаського державного університету. Актуальні проблеми фізіології. - 1998. - Вип. 2. - С.112-116.
5. Станкус А.И., Соколов Е.Н. Вариабельность сердечного ритма при информационных нагрузках // Физиология человека, Т.10, №5 - 1984, С.852-858.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

FUNCTIONAL ARRHYTHMIA AT REALIZATION OF MENTAL ROTATION TASKS WITH INVOLVEMENT OF SHORT-TERM MEMORY

Fedorchuk S.V., Chikina L.V., Trushina V.A., Makarchuk M.J.

Scientific research institute of physiology of a name of academician Peter Bogach,
Educational centre of science " Institute of biology ",
The Kiev national university of name Taras Shevchenko
e-mail: fedorchuks@yahoo.com

Modifications of cardiac activity are considered not only exhibitings of an emotional stress or a contagious excitation at a mental load, but also a corollary of adaptable rearrangement of a circulation according to character of cerebration [1]. Research of mental rotation enables to study mental processes at the person who are not connected to the second alarm system [2]. The purpose of our research was study of a functional state of a cardiovascular system during realization of problems on mental rotation of geometrical plants with recruitment phenomenon of a short-term memory and definition of connections of efficacy of realization of exercises on mental rotation with a functional arrhythmia. As examinees took part in research 36 students of a female in the age of 18-20 years, control bunch have made 15 students of a female 19-20 years. With the purpose of definition of a functional state of a cardiac system recorded the electrocardiogram (ECG) with the help of the portable cardiograph of firm " Medisana " (Germany). One-time gauging of parameters ECG at examinees carried out for 10 minutes and for 5 minutes (a background 1 and a background 2) prior to the beginning of testing, directly ahead of realization of the representation and after separate psychophysiological tests. Psychophysiological testing was carried out with use of computer procedures [3, 4]. It was carried out two series of researches: 1) monitoring - 1.5 hours of stay in experimental circumstances without realization of work; 2) an experimental research with a psychophysiological load, including - with use of representations for mental rotation of geometrical plants.

Among examinees with astable exhibiting an arrhythmia (n=17) it was secured three subgroups. Only at separate tested (22 %) decrease of an amount of arrhythmias was observed at testing that is probably connected to a drop of vagal influences in interspaces between realization of tests, that is with decrease of a strain during a mental load that coincides with the literary data about a reduction of a respiratory arrhythmia under influence of mental strain [5]. Though, the majority of examinees with astable exhibiting an arrhythmia (50 %) during testings had augmentation of amount of arrhythmias. That is, during realization of tests psycho-emotional strain has increased, and in interspaces between tests predominance parasympathetic influences was observed. At 28 % of examinees the amount of arrhythmias varied without precise the expressed tendencies. The drop of respiratory arrhythmia at raise of heart rate (HR) in conditions of information load according to the literature [5] contacts to decrease of influence parasympathetic systems and, besides with drop of efficacy of processing of the information. In the research carried out by us by a parameter of efficacy of processing of the information the amount of errors was considered at realization of problems on mental rotation. By results of the carried out researches the significant drop of efficacy of processing of the information was observed at oscillations of arrhythmia and only during realization of III test for mental rotation, that is rotation of geometrical plants with involvement of short-term memory. Differences in an amount of errors at realization I i II tests for mental rotation between discharged bunches it was not observed. That is, efficacy of realization of exercises on mental rotation without recruitment phenomenon of short-term memory by results of the carried out researches was not connected to a level of functional arrhythmia. The raise of efficacy of processing of the information, that is the least amount of errors, at realization III the test for mental rotation descended at decrease of amount of arrhythmias. At examinees with augmentation of level of a respiratory arrhythmia during psychophysiological testing average efficacy of processing of the information was observed.

Thus, efficacy of realization of exercises on mental rotation with recruitment phenomenon of short-term memory by results of the carried out researches was connected to functional state of cardiovascular system, in particular - with level of functional arrhythmia. High efficacy of realization of exercises on mental rotation with recruitment phenomenon of short-term memory was characterized by decrease of amount of arrhythmias during psychophysiological load. The augmentation of errors at realization of exercises on mental rotation with recruitment phenomenon of short-term memory was observed at oscillations of level of functional arrhythmia.

References

1. Feodorov B.M., Strel'tsova E.N., Sebekina T.V., Sinitsyna P.M. Influence of the intense brainwork in stressful conditions on cardiac activity, a hemodynamics and a circulation of a brain//Human physiology. - 1986. - Thom 12, № 1. - P. 65.
2. Stepanova K., Vavrecka M., Lhotska L. Changes in strategy during the mental rotation task and its correlation with EEG.//Clinical Neurophysiology. - 2012.-123. (3) - P. e10.
3. Filimonova N.B. Computer procedure for study of a psychophysiological state of the person//Culture of health. The collection of scientific - methodical transactionses. - Kherson. - 2000. - P. 204-209.
4. Ternova L.V., Chajchenko G.M., Gorgo J.P., Poljanko I.V. Research of ability of the person to a visual pattern recognition variously oriented in space// The bulletin of the Cherkassy state university. Actual problems of physiology. - 1998. - Issue 2. - P.112-116.
5. Stankus A.I., Sokolov E.N. Variability of a cardiac rhythm at information loads//Human physiology.-1984. - Thom 10, № 5 - P. 852-858.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦНС ПО ПАРАМЕТРАМ ПРОСТОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ БОЛЬНЫХ ЭПИЛЕПСИЕЙ

¹Филимонова Н.Б., ²Пайкова Л.Н., ¹Павлович С.А.

¹Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина, г. Киев

²ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии» АМН Украины, Харьков
e-mail: filimonova@univ.kiev.ua

Одними из основных причин социальной дезадаптации больных эпилепсией являются не только эмоциональные, но и когнитивные нарушения. Причины последних разные. Так, в случае локализации патологического очага в лобных долях возникают нарушения в когнитивной сфере, что приводит к трудности программирования действий, принятия решений (Королёва Н.Ю. и соавт., 2010).

Для оценки психофизиологического состояния больных эпилепсией до и после лечения был использован комплекс компьютерных тестов, разработанных на кафедре физиологии человека и животных ННЦ "Институт биологии" КНУ имени Тараса Шевченко. Значимые изменения психофизиологических показателей были обнаружены только для показателей функциональный уровень системы (ФУС) и уровень функциональных возможностей (УФВ) (Рис.1). Это - показатели оценки функционального состояния ЦНС на основе характеристик простой двигательной реакции по методике Лоскутовой (Лоскутова Т.Д., 1975). Величина ФУС тем больше, чем выше функциональный уровень ЦНС, т.к. чем выше ее тонус, тем легче организуется функциональная система, реализующая данную реакцию. Показатель УФВ позволяет судить о способности исследуемого лица формировать адекватную заданию функциональную систему и достаточно длительно ее удерживать.

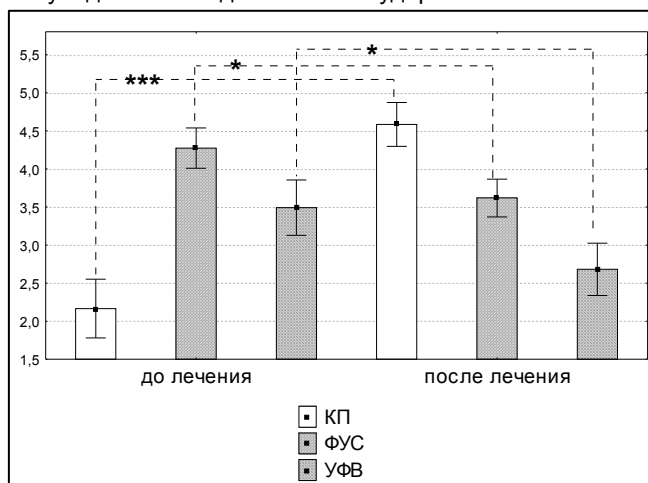


Рис.1. Показатели ФУС, УФВ и КП у больных эпилепсией до и после лечения; *** - $p < 0,001$; * - $p < 0,05$

Таким образом, у больных эпилепсией после лечения наблюдалось значимое повышение показателя кратковременной памяти (КП), что свидетельствует об улучшении когнитивных функций. Однако, значимое снижение показателей ФУС и УФВ указывают на снижение функциональных возможностей ЦНС. Возможно, это объясняется неадекватно подобранными антиэпилептическими препаратами (АЭП). Из литературы известны побочные эффекты АЭП, среди которых - неблагоприятное действие на ЦНС и на когнитивные функции больных эпилепсией (Королёва Н.Ю. и соавт., 2010). Выявлен также седативный механизм ряда АЭП, оказывающих когнитивное замедление и нарушение концентрации и переключения внимания. Так, карбамазепин обуславливает нарушение внимания, зрительного восприятия, слуховой памяти (Thompson P.J., 1997).

В результате проведенного лечения у больных снижалось число приступов, их продолжительность и тяжесть, однако в то же время использование АЭП приводило к разнонаправленным изменениям эмоционального и психофизиологического состояния, что можно объяснить многими факторами (тяжестью и длительностью заболевания, локализацией очага, адекватно подобранным лечением и др.). Компьютерное тестирование таких психофизиологических характеристик, как ФУС и УФВ у больных эпилепсией даёт возможность объективной количественной оценки как психофизиологического состояния больного, так и эффективности терапевтического действия АЭП. Использование простой, неинвазивной, недлительной компьютерной методики открывает возможность коррекции и подбора адекватных препаратов в процессе лечения больных. В связи с этим, по мнению Тодорова И.В. (2009), актуальным является лечение когнитивных расстройств на всех стадиях эпилепсии с включением наряду с АЭП ноотропов, влияющих на метаболизм и биоэнергетические процессы в нервных клетках и их взаимодействие с нейромедиаторными системами мозга.

ASSESSMENT OF FUNCTIONAL STATE UHC ON PARAMETERS SIMPLE MOTOR REACTION OF EPILEPTIC PATIENTS

¹Filimonova N.B., ²Paikova L.N., ¹Pavlovich S.A.

¹ Kyiv National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine

² SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology," Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: filimonova@univ.kiev.ua

One of principal causes of the social desadaptation epilepsy patients are not only emotional, but also the cognitive abnormalities. The causes of the last are different. So, in case of localization of the pathological locus in frontal lobes there are abnormalities in the cognitive sphere that leads to difficulty of programming of actions, decision-making (Koroleva N.Ju., 2010).

For an estimation of the psychophysiological states of the epilepsy patients before treatment have been used a complex of the computer tests developed on the chair of human physiology and animals ESC "Institute of biology" Kyiv National Taras Shevchenko University. Significant changes of the psychophysiological parameters have been found only for parameters a functional level of system (FLS) and a level of functionalities (LF) (Fig.1). These are parameters of the estimation of the CNS functional state on the basis of characteristics of a simple motor reaction on Loskutova's procedure (Loskutova T.D., 1975). The value of the FLS is greater, than higher the CNS functional level as than its tone is higher, the the functional system realizing given reaction will better be organized. The LF parameter allows estimating ability of the investigated human to form the functional system adequate to the task and is long enough it to keep.

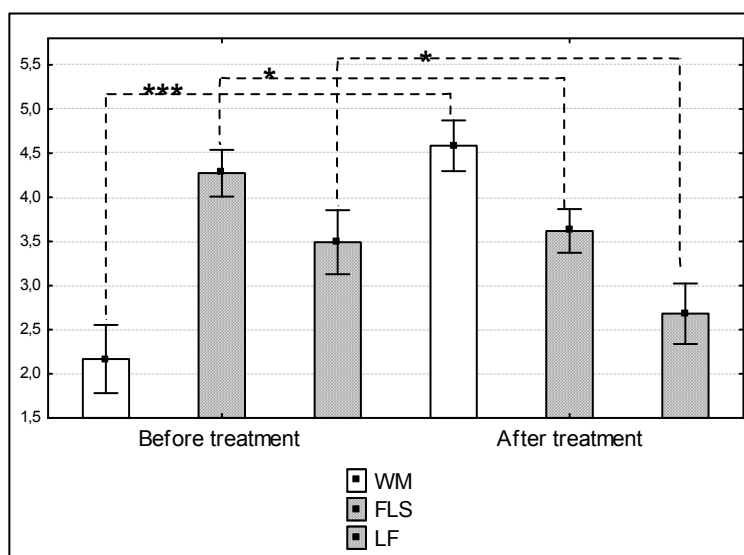


Fig.1. The parameters FLS, LF and WM at the epilepsy patients before and after treatment; *** - $p < 0,001$; * - $p < 0,05$

Thus, at epilepsy patients after treatment the significant increase of a parameter of a working memory (WM) was observed, that testifies the ascension of the cognitive functions. However, the significant decrease in parameters FLS and LS specify the decrease in CNS functionalities. Probably, it account for inadequately selected the anty epilepsy preparations (AEP). From references it is known about by-effects of the AEP, among which - unfavorable action on the CNS and on the epilepsy patients cognitive functions (Koroleva N.Ju., 2010). The sedative mechanism of some AEP, rendering the cognitive retardation and infringement of concentration and relaying of attention is revealed also. So, carbamazepine causes infringement of attention, visual perception, acoustical memory (Thompson P.J., 1997).

As a result of the treatment at patients the number of attacks, their duration and weight decreased, however at the same time use AEP led to different changes of the emotional and psychophysiological states that it is possible to explain by many factors (weight and duration of disease, localization of the locus, adequately selected treatment, etc.). Computer testing such psychophysiological characteristics as FLS and LS at epilepsy patients enables an objective numerical estimation of the psychophysiological states of the patient, and efficacy of the therapeutic effects of the AEP. Use of simple, noninvasive, incontinuous computer procedure opens an opportunity of correction and selection of adequate preparations during treatment of patients. In this connection, in Todorov I.V.'s (2009) opinion, the treatment of the cognitive distresses at all stages of the epilepsy with inclusion alongside with AEP the nootrops, which are influencing on a metabolism and bioenergy processes in the nervous cells and their interaction with neurotransmitter systems of the brain is actual.

ВПЛИВ ЕТАНОЛУ НА ВМІСТ ЦИНКУ В КЛІТИНАХ ПЕЧІНКИ ТА МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Харченко О.І., Богун Л.І.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»
e-mail: 77olgaz@gmail.com

Проблема алкоголізму протягом багатьох століть була, залишається і, очевидно, ще довго буде актуальною і важкою щодо вирішення для людства як в соціальному, так і в медичному плані. Зловживання спиртними напоями зумовлює порушення функціонування органів шлунково-кишкового тракту, печінки, підшлункової залози, серцево-судинної, імунної та ендокринної систем тощо [1].

У механізмах розвитку алкогольної інтоксикації лежать глибокі зміни метаболізму, спричинені розладом функціонування різних шляхів, порушенням водно-електролітної рівноваги, зниження вмісту певних мікроелементів в органах та тканинах хворих. Одним з найважливіших есенціальних мікроелементів, який необхідний для нормального функціонування клітини є цинк, що входить до складу великої кількості білків та ферментів. Оскільки алкоголь- та альдегіддегідрогенази (АДГ, АлДГ) – основні ферменти метаболізму етанолу – містять іони цинку, можна припустити, що цей мікроелемент відіграє певну роль у розвитку алкогольної інтоксикації.

З метою корекції дефіцитів цинку використовують його солі, серед яких низькою токсичністю характеризується оцтовокислий цинк [2]. Тому метою дослідження було визначити вміст цинку у клітинах різних органів та тканин щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та за умов введення оцтовокислого цинку.

У досліджах використовували самців білих лабораторних нелінійних щурів з початковою масою 160 г. Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних тварин відтворювали за методом [4] шляхом внутрішньошлункового введення 40° етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу протягом 21 дня. Одночасно з етанолом тварини отримували внутрішньошлунково оцтовокислий цинк у дозі 20 мг на 1 кг маси тварини [3], що значно менше середньолетальної дози для білих щурів ($LD_{50}=278\pm 49$ мг/кг). Вміст цинку у тканинах визначали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії [4].

Тварини були розділені на 3 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – щури з хронічною алкогольною інтоксикацією; 3 – щури з хронічною алкогольною інтоксикацією, яким додатково вводили оцтовокислий цинк. Проби тканин для аналізу відбирали на 4, 7, 11, 16 та 21 добу розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Клітини печінки і мозку щурів отримували загальноприйнятими методами.

В результаті досліджень нами встановлено, що за умов хронічної алкогольної інтоксикації вміст цинку у гепатоцитах щурів на 4-ту та 7-му добу знаходився у межах контрольних значень. У подальшому, на 11-ту, 16-ту та 21-шу добу вміст досліджуваного мікроелементу поступово знижувався: у 1,5; 1,7 та 1,9 разів, відповідно, у порівнянні з контролем. Введення оцтовокислого цинку за умов хронічної алкогольної інтоксикації не впливало на його вміст на 4-ту та 7-му добу експерименту та приводило до зростання вмісту цинку у гепатоцитах щурів на більш пізніх етапах дослідження: на 11-ту, 16-ту і 21-шу добу показник був у 1,3; 1,4 і 1,5 рази вищим у порівнянні з контрольними значеннями.

При дослідженні впливу етанолу на вміст цинку у клітинах мозку щурів було встановлено, що на ранніх етапах дослідження (4-та і 7-ма доба) його вміст істотно не відрізнявся від контрольних показників. У подальшому відбувалось різке падіння вмісту даного мікроелементу у 2,3; 2,2 і 2,6 разів на 11-ту, 16-ту та 21-шу добу, відповідно. При введенні оцтовокислого цинку за умов хронічної алкогольної інтоксикації нами було встановлено поступове зростання вмісту цинку протягом всіх етапів експерименту. На 11-ту, 16-ту та 21-шу добу його вміст був у 1,3; 1,2 та 1,4 рази, відповідно, вищим від контрольних значень.

Таким чином, нами встановлено, що розвиток хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується поступовим зниженням вмісту цинку у клітинах печінки і мозку щурів. Введення оцтовокислого цинку приводить не лише до поповнення утвореного дефіциту, а і до накопичення цього елементу у досліджуваних органах. Оскільки відомо, що препарати цинку володіють широким спектром біологічної дії: антиоксидантною, детоксикаційною, стрес-протекторною; імуномодулюючою, протизапальною; протианемічною, репаративною тощо, оцтовокислий цинк можна розглядати як можливий потенційний біологічно-активний засіб профілактики та лікування алкогольної залежності.

Література

1. Manzo-Avalos S., Saavedra-Molina A. Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol Consumption // Int. J. Environ. Res. Public Health. - 2010. - Vol. 7. - P. 4281-4304
2. Кудрин А.В., Жаворонков А.А. Роль микроэлементов и кальция в регуляции апоптоза // Успехи современной биологии. - 1998. - Т. 118, № 5. - С. 623-629.
3. Ещенко Ю.А. Вміст цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарата підшлункової залози // автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.б.н: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» – Київ, 2004. – 19 с.
4. Ермаченко Л.А., Ермаченко В.М. Атомно-адсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях // М.: «Чувашия», 1997 – С.48-84.

INFLUENCE OF ETHANOL ONTO ZINC CONTENT OF RAT HEPATIC AND BRAIN CELLS DURING THE DEVELOPMENT OF CHRONIC ALCOHOLIC INTOXICATION CONDITION

Kharchenko O.I., Bogun L.I

Kyiv Taras Shevchenko National University, SEC "Institute Of Biology", Kyiv. Ukraine
e-mail: 77olgaz@gmail.com

Throughout the centuries the problem of alcoholism has been emerging as actual for humanity and difficult to solve in both medical and social aspects, and it seems to remain so in the future. The spirited drink abuse leads to disturbances in the functionality of liver, pancreas, digestive, cardiac, immune, endocrine systems, and so on [1].

The deep metabolic changes underlie the mechanisms of alcoholic intoxication development, and these changes are provoked by different signaling path dysfunctions, water-electrolyte equilibrium deregulation, microelement content decline in patient tissue and organs. Zinc, which is found in great variety of proteins and enzymes, appears to be among the most important and essential microelements. Given that alcohol- and aldehydedehydrogenases (ADH, AIDH) - the main alcohol-metabolizing enzymes - are also zinc-dependent, it seems logical to conclude that the microelement mentioned plays a definitive role in the alcoholic intoxication development.

To replenish zinc bio-pools its salts are often used. Zinc acetate is the least toxic among these compounds [2]. Therefore the aim of our research was to estimate the zinc content of rat different tissue and organ cells during the chronic alcoholic intoxication development and zinc acetate addition.

In our research we were using white non-linear laboratory rat males, initially weighted 160 g. The development of animal experimental alcoholic intoxication was gained by [4], performing daily intragastric 40% ethanol introductions in the amount 2 ml per 100 g of rat weight during 21 days. At the same time the animals also received zinc acetate intragastrally in a dose of 20 mg per 1 kg of rat weight [3], which is far less than the white rat lethal dose ($LD_{50}=278\pm49$ mg/kg). The tissue zinc content was determined by the atomic adsorption microscopy [4].

The animals were split into 3 groups: 1 – control rats; 2 chronic alcoholic-intoxicated rats; 3 - chronic alcoholic-intoxicated rats, which received zinc acetate. The tissue probes for analysis were taken on 4th, 7th, 11th, 16th and 21st day of chronic alcoholic intoxication development. The cells of rat liver and brain were obtained using standard procedures.

It was shown that at the chronic alcoholic intoxication condition the zinc content of rat hepatocytes was normal at the 4th and 7th day, whereas at the 11th, 16th and 21st it decreased 1,5, 1,7 and 1,9 times lower in comparison to control respectively. The introduction of zinc acetate had no effect on the zinc amount at the 4th and 7th day of the intoxication development, but provoked the increase of such amount in rat hepatocytes at the 11th, 16th and 21st day – it was 1,3, 1,4 and 1,5 times of the control value.

Finally, while testing the ethanol influence on the rat brain cell zinc content it was demonstrated that at early experimental periods (4th and 7th day) this value was indistinguishable from the control one. Further the sharp decrease in this microelement content was observed – the value appeared 2,3, 2,2 and 2,6 times lower than control at the 11th, 16th, and 21st day respectively. The addition of zinc acetate during the chronic alcoholic intoxication condition the gradual zinc content increase through the course of the whole experiment was evident – specifically it was 1,3, 1,2 and 1,4 times of the control value at the 11th, 16th and 21st day respectively.

So we demonstrated that the chronic alcoholic intoxication condition development is accompanied by the gradual zinc content decrease in the rat liver and brain cells. The zinc acetate introduction leads to both zinc amount replenishment and its accumulation in selected organs. Given the fact that zinc supplements have the wide field of biological properties – antioxidant, detoxificant, stress-protecting, immunomodulating, anti-inflammatory, anti-anemic, reparatory, and so on – zinc acetate can be regarded as possible potent biologically active means of alcoholic dependence prevention and treatment.

References

1. Manzo-Avalos S., Saavedra-Molina A. Cellular and Mitochondrial Effects of Alcohol Consumption // Int. J. Environ. Res. Public Health. - 2010. - Vol. 7. - P. 4281-4304
2. Кудрин А.В., Жаворонков А.А. Роль микроэлементов и кальция в регуляции апоптоза // Успехи современной биологии. - 1998. - Т. 118, № 5. - С. 623-629.
3. Ещенко Ю.А. Вміст цинку в клітинах при різних функціональних станах інсулярного апарата підшлункової залози // автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.б.н: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» – Київ, 2004. – 19 с.
4. Ермаченко Л.А., Ермаченко В.М. Атомно-адсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях // М.: «Чувашия», 1997 – С.48-84.

ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МЕЖСЕНСОРНОЙ ИНТЕГРАЦИИ У ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ РАЗВИТИЯ

Черенкова Л.В., Соколова Л.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
e-mail chluvic@mail.ru

Детство является одним из важнейших этапов онтогенеза человека, поскольку в этот период происходит активное формирование интегративных функций мозга и становление системных механизмов поведенческих адаптаций. Интегративная деятельность мозга, базирующаяся на процессах межсенсорного взаимодействия [1, 2, 3], выступает основой развития перцептивных и когнитивных функций и играет ключевую роль в становлении интегральных образов среды как элементов репрезентативной системы человека, направляющей и организующей адаптивное поведение человека. Среди различных патологий онтогенетической адаптации выделяется синдром аутизма, характеризующийся спектром когнитивных и социальных дефицитов, в анамнезе которых значительное место занимают нарушения процесса межсенсорного взаимодействия. Известно, что степень реализации процессов межсенсорной интеграции зависит от параметров сенсорных сигналов и функциональных особенностей сенсорных и ассоциативных систем мозга [4, 5]. Процесс межсенсорного взаимодействия наиболее четко проявляется при тестировании в условиях рассогласования стимулов, когда определенный процент предъявляемых сочетаний будет представлять собой новую комбинацию сигналов.

Экспериментальное изучение особенностей формирования произвольной зрительно-слуховой ассоциации у детей с нарушением развития (синдром аутизма) и нормально развивающихся детей дошкольного возраста [6], показало, что только у здоровых детей этот процесс полностью отвечает всем критериям формирования межсенсорной ассоциации: при введении рассогласований возрастает и число ошибок, и время реакции. У детей же с нарушением развития процесс межсенсорной интеграции затруднен, и результатом перцептивно-моторного усвоения зрительно-слуховых сочетаний является не формирование единого комплексного сигнала, объединяющего разномодальные компоненты в некое интегральное целое с ведущим локусом, а простое механическое суммирование частей, без четкого выделения ведущего перцептивного звена — объединение неустойчивое, которое в принципе не может быть использовано в измененных условиях, а стало быть, оказывающееся неэффективным для подкрепления результатов обучения. У всех детей с нарушениями развития был выявлен низкий уровень эндогенного внимания при выполнении задачи, что делало достаточно неэффективной речевую инструкцию, направленную на прочное удержание в поле внимания условий выполнения задания на всем его протяжении. Отсюда в сложной ситуации рассогласования слуховых и зрительных стимулов ведущим признаком при распознавании фонов во многом оставался зрительный компонент ранее сформировавшегося комплексного зрительно-звукового образа. Вместе с тем было выявлено, что эффективность решения детьми задачи распознавания звуков в трудных условиях изменения характера ассоциации во многом зависит от уровня вербальной коммуникации ребенка. Способность ребенка к речепродукции и пониманию обращенной речи облегчает процесс выделения ведущего обобщенного признака интегрального мультисенсорного образа и обеспечивает условия для того, чтобы речевая инструкция выполняла свою регулирующую роль, способствуя тем самым адекватному становлению процесса межсенсорного взаимодействия.

Необходимо также обратить внимание на то, что в отличие от взрослых [7] все обследованные дети значительно хуже справлялись с выполнением задания на ассоциацию фонов с изображением жестов по сравнению с изображением геометрических фигур. Однако если применительно к здоровым дошкольникам выявленную закономерность можно связать с возрастной функциональной незрелостью систем социальной перцепции, то сохранение этой тенденции в младшем школьном возрасте у детей с аутистической симптоматикой, по-видимому, обусловлено тем, что нарушения данного спектра в целом деформируют процесс функционирования механизмов социальной перцепции — основного звена в становлении адекватной системы межличностных взаимоотношений, обеспечивающей адаптацию человека в социуме.

Литература

1. Calvert G.A. (2002) Crossmodal Processing in the Human Brain: Insights from Functional Neuroimaging Studies. *Cerebral Cortex*. 11(12): 1110–1123.
2. Sanabria D., Soto-Faraco S., Chana J., Spence Ch. (2005) Intramodal perceptual grouping modulates multisensory integration: evidence from the crossmodal dynamic capture task. *Neuroscience Letters*. 377: 59–64.
3. Koshino H., Kana R.K., Smith E.G., Bennetto L. (2007) Audiovisual speech integration and lipreading in autism. *J. Child. Psychol. Psychiatry*. 48: 813–821.
4. Neil P.A., Chee-Ruiter C., Scheier Ch., Lewkowicz D.J., Shinsuke S. (2006) Development of multisensory spatial integration and perception in humans. *Developmental Science*. 9(5): 454–464.
5. Noesselt T., Fendrich R., Bonath B., Tylla S., Heinze H.-J. (2005) Closer in time when farther in space — Spatial factors in audiovisual temporal integration. *Cognitive Brain Research*. 25: 443–458.
6. Черенкова Л.В., Соколова Л.В. (2011) Особенности формирования зрительно-слуховых ассоциаций в условиях нормы и патологии. *Психология образования в поликультурном пространстве*. 2(14): 80–88.
7. Александров А.А., Дмитриева Е.С., Станкевич Л.Н. (2009) Экспериментальное формирование зрительно-слуховых ассоциаций при распознавании фонов. *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 95(8): 850–856.

FEATURES OF FORMATION OF PROCESSES OF INTERSENSORY INTEGRATION AT CHILDREN WITH DEVELOPMENT INFRINGEMENT

Cherenkova L.V., Sokolova L.V.

The St.-Petersburg state university, St.-Petersburg, Russia
e-mail chluvic@mail.ru

The childhood is one of the important stages of man ontogenesis, because in this period is active form integrative brain functions and formation of systemic mechanisms of behavioral adaptations. The integrative activity of the brain which are based on the processes of multisensory interaction [1, 2, 3], acts as a development basis perceptual and cognitive functions and plays a key role in the development of integrated environmental as the elements of representative system of rights, guiding and organizing adaptive behavior. Among various pathologies ontogenetic adaptation the syndrome of autism characterized by a spectrum cognitive and social deficits, in which anamnesis the important place is occupied with disturbance of process of multisensory interaction is allocated. It is known that degree of realization of processes of multisensory integration depends on parameters of sensory signals and functional features of sensory and associative systems of the brain (4, 5). Process of multisensory interaction is most clearly seen when testing in the conditions of a mismatch of stimulus when the certain percent of shown combinations will represent a new combination of signals.

An experimental study of the characteristics of spontaneous formation of visual-auditory associations in children with developmental disabilities (autism syndrome) and normally developing preschool children [6], has shown that only at healthy children this process completely answers all criteria of forming multimodal association: the introduction of mismatches increases both number of errors, and reaction time. At children with disturbances of development process of multisensory integration is difficult, and the result of perceptual-motor learning of visual-auditory combination is not forming a complex signal combining different modalities in some parts the integral complex with the leading locus, and mere mechanical summation of parts, without a clear allocation of lead perceptual link —the association is unstable, which in principle can't be used in the changed conditions, and so, appearing ineffective to reinforce of results of training. All children with development disorders have been identified low level of endogenous attention to the task, which made quite ineffective verbal instruction, designed to hold firm to the attention of the conditions of the assignment in its entirety. Hence, in the difficult situation of mismatch of auditory and visual stimuli leading sign at recognizing phonemes largely remained the visual component of the previously formed complex visual and sound imaging. At the same time it has been revealed that efficiency of the decision of a problem children recognize sounds in difficult conditions, the changing nature of the association depends on level of verbal communications of the child. Child's ability to oral speech and to understand the turned speech facilitates process of allocation of the leading generalized sign of an integrated multisensory image and provides conditions that the verbal instruction carried out the regulating role, promoting that to adequate formation of process of multisensory interaction.

It is also necessary to note that in contrast to adults [7] all surveyed children cope much worse with an assignment on the association of phonemes with the image of gestures compared with the image of geometric shapes. However, when applied to healthy preschoolers identified pattern can be attributed to the age of functional immaturity of social perception, the continuation of this trend in the early school age children with autistic symptoms, apparently due to the fact that violations of the spectrum in the whole process distort the functioning of the mechanisms of social perception - the main component in the development of an adequate system of interpersonal relationships, ensuring the adaptation of man in society.

References

1. Calvert G.A. (2002) Crossmodal Processing in the Human Brain: Insights from Functional Neuroimaging Studies. *Cerebral Cortex*. 11(12): 1110–1123.
2. Sanabria D., Soto-Faraco S., Chana J., Spence Ch. (2005) Intramodal perceptual grouping modulates multisensory integration: evidence from the crossmodal dynamic capture task. *Neuroscience Letters*. 377: 59–64.
3. Koshino H., Kana R.K., Smith E.G., Bennetto L. (2007) Audiovisual speech integration and lipreading in autism. *J. Child. Psychol. Psychiatry*. 48: 813–821.
4. Neil P.A., Chee-Ruiter C., Scheier Ch., Lewkowicz D.J., Shinsuke S. (2006) Development of multisensory spatial integration and perception in humans. *Developmental Science*. 9(5): 454–464.
5. Noesselt T., Fendrich R., Bonath B., Tylla S., Heinze H.-J. (2005) Closer in time when farther in space — Spatial factors in audiovisual temporal integration. *Cognitive Brain Research*. 25: 443–458.
6. Cherenkova L.V., Sokolova L.V. (2011) Features of formation of visually-acoustical associations in the conditions of norm and a pathology. *Formation psychology in polycultural space*. 2(14): 80–88.
7. Aleksandrov A.A., Dmitrieva E.S., Stankevich L.N. (2009) Experimental formation of visually-acoustical associations at recognition of phonemes. *Russian physiol. journal of I. M. Setchenov*. 95(8): 850–856.

ИЗМЕНЕНИЯ В СПЕРМАТОГЕННОМ ЭПИТЕЛИИ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ МОДУЛЯЦИЕЙ ЭКСПРЕССИИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЦИТОХРОМА P450 В СЕМЕННИКАХ

Шаяхметова А.М., Бондаренко Л.Б., Блажчук И.С., Матвиенко А.В., Коваленко В.Н.

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, Украина
e-mail: anna_shayakhmetova@yahoo.com

Среди потенциальных рисков для здоровья, связанных с воздействием химических веществ, важным вопросом является их влияние на функционирование мужской репродуктивной системы. В то же время все большее значение приобретает проблема лекарственной токсичности проблема, в частности вызывают озабоченность противотуберкулезные препараты, особенно в случае совместного применения этамбутола, изониазида, рифампицина и пиразинамида. За метаболизм вышеуказанных препаратов отвечают изоферменты цитохрома P-450 2E1, 2C9, 2C19 и 3A4. Для оценки потенциальной роли биоактивации противотуберкулезных средств непосредственно в семенниках для развития тестикулярной токсичности, исследовали наличие CYP2E1, CYP2C23 (ортолог CYP2C9 и 2C19) и CYP3A2 (ортолог CYP3A4) в семенниках крыс методом обратнo-транскриптазной полимеразной реакции. Также были оценены степень фрагментации ДНК в семенниках и показатели сперматогенеза. Продemonстрировано значительное повышение экспрессии мРНК CYP2E1, CYP3A и CYP2C в семенниках после совместного введения этамбутола, изониазида, рифампицина и пиразинамида (в течение 2 месяцев в терапевтических дозах). Наличие индуцибельных изоформ цитохрома P450 в семенниках может иметь вклад в продукцию токсических метаболитов и активных форм кислорода, повреждающих различные структуры гонад. После совместного введения противотуберкулезных средств в семенниках крыс была выявлена значительная апоптотическая фрагментация ДНК. Основная часть фрагментов ДНК была в диапазоне более 1000 - 600 п.н., но также зафиксированы менее выраженные низкомолекулярные фракции с фрагментами 40-20 п.н. Такие изменения сопровождались морфологическими нарушениями в сперматогенном эпителии - снижение индекса сперматогенеза, числа сперматогоний и клеток в 12-ой стадии мейоза, возрастание случаев десквамации сперматогенного эпителия. В некоторых семенных канальцах были выявлены гигантские многоядерные клетки, что может свидетельствовать о дегенеративных изменениях в семенниках. В тестикулах крыс подопытной группы семенные канальцы располагались неравномерно, наблюдали дезорганизацию клеточных слоев и участки с отсутствием половых клеток, вероятно, вследствие клеточной гибели. Результаты данного исследования свидетельствуют, что этамбутол, изониазид, рифампицин и пиразинамид при одновременном применении могут вызывать модуляцию экспрессии генов CYP2E1, CYP2C23 и CYP3A2 в гонадах крыс-самцов. Наличие вышеуказанных изоформ в семенниках свидетельствует о том, что ксенобиотики подвергались биотрансформации непосредственно в этих органах, а взаимодействие активных промежуточных метаболитов с молекулами-мишенями, способствовало развитию нарушений в сперматогенном эпителии. Результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего исследования на CYP450- опосредованных механизмов репродуктивной токсичности ксенобиотиков.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHANGES IN RATS' SPERMATOGENIC EPITHELIUM CAUSED BY MODULATION OF CYTOCHROME P450 ISOENZYMES EXPRESSION IN TESTES

Shayakhmetova G.M., Bondarenko L.B., Blazchuk I.S., Matvienko A.V., Kovalenko V.M.

SI "Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine
e-mail: anna_shayakhmetova@yahoo.com

Among the potential health risk associated with exposure to chemical, a prominent concern is that agents may interfere with the function of male reproductive system. At the same times drug-induced toxicity is a problem of increasing significance, but has been a long-standing concern in the treatment of tuberculosis infection, especially in case of ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicine co-administration. Cytochromes P450 2E1, 2C9, 2C19 and 3A4 are responsible for metabolizing of above mentioned drugs. To asses the potential role of in situ bioactivation of antituberculosis agents by rats testes for inducing germ cell toxicity, the presence CYP2E1, CYP2C23 (ortholog of CYP2C9 and 2C19) and CYP3A2 (ortholog of CYP3A4) in testes has been demonstrated by reverse transcriptase-polimerase chain reaction. Testis DNA fragmentation and spermatogenesis indices also were measured. The significant increase of CYP2E1, CYP3A2 and CYP2C mRNA expression has been demonstrated in testes after ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicine co-administration (during 2 month in therapeutic doses). Presence of inducible cytochrome P450 isoforms in testes may have a contribution to toxic metabolites and reactive oxygen species production, which damage different structures of gonads. Significant apoptotic fragmentation of rats' testes DNA was shown after antituberculosis medication co-administration. The main fraction of DNA fragments was in range more 1000 – 600 bp, but less feebly marked low-molecular fraction with 40-20 bp fragments also was fixed. Such changes were accompanied by morphological disturbances in spermatogenic epithelium - decrease of spermatogenesis index, spermatogonium numbers and cells in 12th stage of meiosis, increase of spermatogenic epithelium desquamation accidents. In some seminiferous tubules were identified giant and multinuclear cells, which may be evidence of degenerative changes. In the treated group, seminiferous tubules irregularly outlined showed disarranged cellular layers and loss of germ cells probably due to cell death. Findings from the present study are evidence that ethambutol, isoniazid, pyrazinamide and rifampicine co-administration could lead to CYP2E1, CYP2C23 and CYP3A2 gene expression modulation in male rats gonads. The presence of above mentioned isoforms in testes suggests that xenobiotics were biotransformed directly in testes and that its reactive intermediates interacted with target molecules, which contributed to spermatogenic epithelium disorders. Results encourage for further research toward CYP450-mediated mechanisms of xenobiotics reproductive toxicity.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ АДАПТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В СОЦИУМЕ

Шепеленко И.В., Пятчанина Т.В., Коваль А.А., Дворщенко О.С.

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: nonna@onconet.kiev.ua

Заболееваемость и смертность от различных форм злокачественных новообразований занимают, по данным Всемирной организации здравоохранения, одно из ведущих мест среди неинфекционных заболеваний, приводящих к высокой смертности и инвалидизации населения планеты. Во всем мире продолжается неуклонный рост этих показателей, несмотря на значительные достижения в разработке новейших методов ранней и дифференциальной диагностики, внедрения в практику онкологических центров современных методов лечения больных раком. К последнему можно отнести новые технологии оперативного вмешательства с широким распространением органосберегающих операций, эндоскопических и лапароскопических методик, применение современных режимов лучевой терапии с новыми высокоэффективными радиомодификаторами, постоянно расширяющийся круг химиопрепаратов для проведения полихимиотерапии по усовершенствованным схемам с учетом индивидуальной чувствительности и преодоления развития синдрома химиорезистентности. Кроме того, большие надежды возлагаются на таргетную терапию, различные виды биотерапии клиницистами становятся все более востребованными.

В Украине, к сожалению, проблема борьбы с раком, несмотря на наличие долгосрочной Государственной программы по онкологии, остается в ряду крайне острых и нерешенных. Среди исключительно медицинских, экономических (уровень финансирования, развитие инфраструктуры), кадровых и др. аспектов, особое место занимает социальная сторона этой проблемы. Социальный аспект борьбы с онкологическими заболеваниями условно подразделяется на несколько составляющих. Заболееваемость и смертность от онкологических заболеваний имеют стойкую тенденцию к омоложению — все большее количество случаев регистрируют в молодом возрасте, т.е. среди трудоспособного населения репродуктивного возраста, что, в свою очередь, ведет к возрастанию уровня инвалидизации в этой возрастной группе и, соответственно, с одной стороны, к увеличению объемов социальных выплат в общегосударственном масштабе и уменьшению количества трудоспособного населения (финансово-экономические проблемы), а, с другой — к снижению уровней рождаемости с отдаленными неблагоприятными демографическими показателями.

Вместе с тем, эти сложнейшие медико-социальные проблемы требуют решения с точки зрения создания условий в обществе для адаптации онкологических больных после лечения, давшего положительный результат, и для повышения качества жизни этого контингента лиц. Именно показатель «качество жизни больного» во всем мире является индикатором социальной составляющей отношения государства к своим гражданам, имеющим диагноз «рак». В странах ЕС, США, Канаде, Японии и многих других огромное значение уделяется не только решению медицинских проблем через повсеместно действующую систему медицинского страхования, но и оказанию психологической помощи таким лицам и членам их семей. Широко распространенной является специализированная индивидуальная и групповая помощь со стороны психологов и психоаналитиков, которая в нашей стране до сих пор еще находится практически в зачаточном состоянии вообще, а в случае работы с больными раком практически встречается в единичных случаях и не имеет системного характера, утвержденных стандартов и скорее, представляет собой попытки отдельных специалистов просто давать «некие советы» таким людям, а не оказывать квалифицированную помощь на протяжении длительного периода времени. Действительно, подготовка специалистов такого профиля практически не ведется в наших медицинских университетах, поэтому подобные работы с больными проводят в основном психологи, в лучшем случае в тесном сотрудничестве с практикующим онкологом. Среди направлений работы психоаналитиков с уклоном на онкологических больных должны отрабатываться ситуации адаптации в семейной обстановке, что само по себе является исключительно важным моментом работы, поскольку именно в семье больной проводит основное время между курсами лечения; и создание благоприятного микроклимата должно способствовать предупреждению развития как психосоматических состояний, так и эмоциональных стрессовых ситуаций. Особое внимание должно уделяться тем больным, которые, получив группу инвалидности, перестают быть востребованными в обществе как активные участники трудовых отношений. Из повседневной жизни таких людей исчезает огромный пласт наработанных цепочек связей и действий, выполнение которых было обязательной составляющей их активного образа жизни, что требует обязательной замены. В противном случае у таких пациентов могут наблюдаться серьезные депрессивные состояния вплоть до когнитивных расстройств. Было бы неверным перекладывать ответственность за социальную реабилитацию таких больных либо на психоаналитиков, либо на родственников, которым и сами нуждаются в помощи психологов, либо на общественные волонтерские организации, которые, к сожалению, в Украине выполняют не только и не столько функции поддержки больных, их семей в психологическом плане, сколько во многом занимаются организацией материальной составляющей самого процесса лечения.

Таким образом, ныне в Украине процесс адаптации больных раком в социуме носит фрагментарный, нестабильный, зачастую непрофессиональный характер. Улучшение ситуации требует создания единой, государственной, регламентированной системы оказания помощи в адаптации больных данной категории.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MEDICAL AND BIOLOGICAL ADAPTATION ISSUES OF CANCER PATIENTS IN THE COMMUNITY

Shepelenko I.V., Piatchanina T.V., Koval A.A., Dvorshchenko O.S.

RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: nonna@onconet.kiev.ua

According to the World Health Organization data, morbidity and mortality from various forms of malignant neoplasms occupy one of the first places among non-communicable diseases, leading to high mortality and disability in the population of the planet. Throughout the world, the steady growth of these indices continues despite significant advances in the development of new methods of early and differential diagnosis, implementation in practice of oncology centers modern methods of cancer patients' treatment. The latter includes new surgical technologies with widespread use of organ-served operations, endoscopic and laparoscopic techniques, the application of modern modes of radiation therapy with new high-performance radiomodifiers, constantly expanding range of chemotherapeutic agents for the chemotherapy regimens for advanced schemes in the light of individual sensitivity and overcoming development of the chemoresistance syndrome. In addition, the great expectations are assigned to targeted therapy, and different types of biotherapy are becoming more popular among clinicians.

In Ukraine, despite the long-term State Program for Oncology, the problem of cancer control, unfortunately, remains in a number of very sharp and unresolved. Among the purely medical, economic (level of funding, infrastructure etc), human resources and other aspects, special place possesses the social side of this problem. The social aspect of the cancer control conventionally is divided into several components. Morbidity and mortality from cancer have a strong tendency to rejuvenation – increasing number of cases are registered at young age, that is, among the workforce population of reproductive age, which in turn leads to the increase of disability level in this age group and, consequently, on the one hand, to augment the volume of social welfare payments on national scale and reduce the number of working-age population (financial and economic problems), and on the other - to reduce birth rates with adverse long-term demographic indicators.

At the same time, these complicated medical and social problems need to be addressed in terms of creating conditions in the society to adapt cancer patients after treatment, which gave a positive result, and to improve the quality of life for this cohort of individuals. That measure "quality of life" in the world is an indicator of the social component of the state's attitude to its citizens with the diagnosis "cancer". In the EU, the USA, Canada, Japan and many other countries great attention is paid not only to address health issues through universally valid system of health insurance, but also to provide psychological assistance to such persons and their families.

Widespread is the specialized individual and group support from psychologists and psychoanalysts which in our country is practically almost in its infancy in general, and in the case of working with cancer patients is found in virtually isolated cases and has no systemic approved standards and rather is an attempt of separate specialists simply give "some advice" to such people, and not to provide skilled care for a long period of time. Indeed, the training of such spcialists is almost non-existent in our medical universities, so that such work is carried out with patients mostly by psychologists, at best, in close collaboration with the practicing oncologist. Among the areas of psychoanalysts work with focus on cancer patients, it should be practiced adaptation situations in a family setting, which in itself is an extremely important aspect of work, since it is in the family the patient spends most of the time between treatments, and creating a favorable microclimate should help to prevent the development of both additional psychosomatic events and emotional stress. Particular attention should be given to those patients who received disability and are no longer demanded in society as active participants in labor relations. Of the daily life of these people disappears huge layer of established chains of communications and actions, fulfillment of which was a compulsory part of their active lifestyle, and which requires the mandatory replacement. Otherwise, in such patients severe depression until cognitive disorders can be observed. It would be wrong to shift responsibility for social rehabilitation of these patients either on psychoanalysts or on relatives, who are themselves in need of psychologists' assistance, or on social volunteer organizations, which, unfortunately, in the Ukraine have not only and not just a function of supporting patients and their families in psychological terms, but largely are involved in the organization of the material component of the treatment process.

So, nowadays the process of adaptation of Ukrainian cancer patients in the society has fragmentary, unstable and often unprofessional nature. Improving the situation requires the establishment of common, state, regulated system to assist in the adaptation of patients of such category.

ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ БЛОКИРОВАНИИ 5HT₃ РЕЦЕПТОРОВ НА ФОНЕ ИНТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА КРЫС СУЛЬФАТОМ РТУТИ

Шилина В.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина.
e-mail: langrevik@gmail.com.

Важной защитной реакцией организма является боль, уровень которой зависит от функционального состояния систем организма, в особенности, нейромедиаторных систем. В окружающей среде существует множество факторов, вызывающих нарушение физиологического и психического состояния организма, среди них необходимо выделить химические загрязнители, такие как ртуть и ее соединения. Целью данной работы было исследовать наличие изменения болевой чувствительности крыс на фоне интоксикации их организма сульфатом ртути и блокировании 5HT₃ рецепторов.

Исследование проводилось на трех группах крыс, по 10 особей в каждой. Для моделирования интоксикации, двум группам крыс в течение 7 дней вводили однократно внутривентриально сульфат ртути в дозе 20 мг/кг («ртутные» крысы), а третьей группе крыс вводили физиологический раствор («контроль»). Для выяснения механизма одной группе «ртутных» крыс блокировали 5HT₃ рецепторы, в течение трех дней животным вводили осетрон в дозе 2 мг/кг (далее «ртутные 5HT₃»), а второй группе «ртутных» и контролю вводили физиологический раствор. Изменение параметров болевой чувствительности крыс определяли в тестах: «электростимуляция» и «горячая пластина». В тесте «электростимуляция» определяли болевой порог (значение напряжения), при котором у крыс наблюдали проявление ощущения боли: вздрагивание, подпрыгивание, звуковая реакция животного. В тесте «горячая пластина» измеряли латентный период проявления болевой реакции, показателем которой служило облизывание лап. Полученные данные были обработаны статистически по Mann-Whitney U Test.

У «ртутных» крыс в тесте «электростимуляция» выявлено увеличение болевого порога относительно контроля на 71% ($p < 0,01$), а «ртутных 5HT₃» крыс не наблюдали достоверных отличий от контроля.

В тесте «горячая пластина» у «ртутных» крыс было отмечено увеличение латентного периода на 145% ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой, а у группы «ртутных 5HT₃» крыс достоверных отличий от контроля не выявлено.

Таким образом, показано, что на фоне интоксикации организма крыс сульфатом ртути наблюдается снижение болевой чувствительности. Установлено также, что после блокирование 5HT₃ рецепторов нивелируется это эффект, что, вероятно, свидетельствует об участии серотонинергической системы в реализации болевой ответа при интоксикации организма крыс сульфатом ртути.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHANGE OF PAIN SENSITIVITY IN BLOCKING 5HT₃ RECEPTORS AGAINST A BACKGROUND OF MERCURY SULPHATE INTOXICATION IN RATS

Shylina V.V., Husainov D.R., Korenyuk I.I.

Taurida National V.I.Vernadsky University, Simferopol, Ukraine.
e-mail: langrevik@gmail.com

An important protective reaction of the organism is pain. Its intensity depends on the magnitude of the effect and on the functional state of the body systems, in particular the neurotransmitter systems. Today, there are many factors in the environment that cause physiological and mental conditions for the body. Among these factors is necessary to allocate mercury and its compounds. In this study we investigated the change of pain sensitivity in rats against a background of intoxication with sulfate mercury and blocking 5HT₃ receptors.

The study was conducted on three groups of rats each group consisting of 10 animals. During 7 days two groups of rats were injected intraperitoneally with mercury sulphate in a dose of 20 mg/kg («mercury» rats), and the third group was administered saline («control»). Following that, a group of «mercury» rats in order of blocking their 5HT₃ receptors were injected osteron during 3 days with doses of 2 mg/kg each day, these we called «mercury 5HT₃», at the same time, a second group of «mercury» and the third group «control» were injected saline. The change in pain sensitivity in these animals was determined in subsequent tests. They were called «electrical stimulation» and «hot plate». In the «electrical stimulation» test, the pain threshold was determined (PT). The index used was the voltage at which the rats showed the expression of feeling pain: wince, bouncing, a sound reaction to the animal. In the «hot plate» test, the change in pain sensitivity was measured by latent period (LP) in manifestations of pain response, measured by the licking of paws. The data obtained were processed statistically by Mann-Whitney U Test.

The «electrical stimulation» test of the «mercury» rats revealed an increase in BP relative to controls by 71% ($p < 0.01$), and rats of «mercury 5HT₃» group did not observe significant differences from control.

In the «hot plate» test of the «mercury» rats, these showed an increase of LP by 145% ($p < 0.01$) compared with the «control» group and the «mercury 5HT₃» group, significant differences from control did not be found.

Thus, the pain sensitivity was shown to increase against a backraund of mercury sulfate intoxication in rats. It was also found that blocking the 5HT₃ receptor eliminated this effect. These results may indicate that the serotonergic system is involved in the realization of the pain response intoxication with mercury sulphate in rats.

АНТИ-Hsp60 АНТИТІЛА ЗА АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

¹Яковенко Л., ¹Смалюк Ю., ¹Виджак О., ¹Капустян Л., ²Гранич В.,
²Кушнір С., ²Міхеева К., ²Радченко А., ²Сіренко Ю., ¹Сидорик Л.

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: yakovenko@ukr.net

²Національний науковий центр "Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска АМН України", Київ, Україна

Хронічні стреси є одним із основних факторів ризику розвитку артеріальної гіпертензії (АГ). В Україні за даними офіційної статистики на 1 січня 2011 року зареєстровано більше 12,1 мільйонів хворих на АГ (32,2% дорослого населення). Молекулярний шаперон/шаперонін Hsp60 - білок, експресія якого значно зростає у відповідь на різні види стресових чинників (психо-емоційний стрес, інфекції, паління тощо). Підвищений артеріальний тиск є механічним стресом для ендотелію судин. Ендотеліальні клітини, які експресують на своїй поверхні підвищені рівні Hsp60, можуть бути мішенню для перехресно-реагуючих анти-Hsp60 антитіл. Результати досліджень рівнів анти-Hsp60 антитіл за АГ протирічні, їх роль у патогенезі не визначена. Метою даної роботи було дослідження Hsp60 імунореактивності сироваток пацієнтів з АГ.

Рівні анти-Hsp60 антитіл у пацієнтів з АГ (n=45), клінічно здорових осіб, які мали родичів з АГ (n=10) та клінічно здорових донорів (n=80) визначали ELISA.

Рівень анти-Hsp60 антитіл був статистично достовірно вищим у пацієнтів з АГ (p=0.0001) та клінічно здорових осіб, які мали родичів з АГ (p=0.0054) порівняно з донорами. Анти-Hsp60 позитивні сироватки детектувались у 44,4% пацієнтів з АГ та 30% клінічно здорових осіб, які мали родичів з АГ. Не було виявлено кореляції між рівнем досліджуваних антитіл та рівнем С-реактивного білка (r=-0,21 та r=-0,58, p<0,05), креатиніну (r=0,33 та r=0,26, p<0,05), віком пацієнтів (r=0,22, p<0,05).

Ми припускаємо, що рівні анти-Hsp60 антитіл у пацієнтів з АГ можуть бути корисними для контролю ефективності терапії.

ANTI-HSP60 ANTIBODIES IN ARTERIAL HYPERTENTION

¹*Yakovenko L., ¹Smalyuk Yu., ¹Vydzhak O., ¹Kapustian L., ²Granich V.,
²Kushnir S., ²Miheeva K., ²Radchenko A., ²Sirenko Yu., ¹Sidorik L.*

¹Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: yakovenkol@ukr.net

²National Science Centre "Stragesko Cardiology Institute MAS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Chronic stress is one of the most important risk factor of arterial hypertension development. Hypertension is one of the most important causes of premature death worldwide, while more than 12.1 millions of people with hypertension (32.2% of adult population) were registered in Ukraine according to the official statistics on January, 1, 2011. Hsp60 is the molecular chaperon/chaperonin, and it's expression significantly increases in response to different kinds of stress (emotional stress, infections, smoking etc). Elevated blood pressure is a mechanical stress to endothelium. Endothelial cells which express Hsp60 on it's surface can be cross-reactive anti-Hsp60 antibodies target.

The results of the anti-Hsp60 antibodies level at hypertension progression studies are inconsistent, their role in pathogenesis is not clear. The aim of the present study was to investigate the Hsp60 immunoreactivity in patient sera arterial hypertension.

We compared the anti-Hsp60 antibodies level in patients with hypertension (n=45), clinical healthy individuals who have the relatives with hypertension (n=10), and clinical healthy blood donors (n=80). Antibodies level was determined by ELISA.

The level of anti-Hsp60 antibodies was significantly increased in patients sera with hypertension ($p=0.0001$) and clinical healthy individuals who have the relatives with hypertension ($p=0.0054$) in comparison with donors sera. Anti-Hsp60 positive sera were detected in 44.4% patients with hypertension, 30% clinical healthy individuals who have the relatives with hypertension. The analysis of the relationship between the levels of anti-Hsp60 antibodies and such parameters as ages ($r=0.22$, $p<0.05$), C-reactive protein ($r=-0.21$ and $r=-0.58$, $p<0.05$), creatinine levels ($r=0.33$ and $r=0.26$, $p<0.05$) in the blood did not find any correlation.

We suggest that the levels of anti-Hsp60 antibodies in patients with hypertension may be beneficial for control of pharmacological therapies.

STEM CELL PARTICIPATION IN SOS-RESPONSE OF THE ORGANISM: POSSIBLE MECHANISM OF ADAPTATION

Ostrovskaya Lyubov

The Russell H. Morgan Department of Radiology, Division of MR Research,
The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA
e-mail: ostrovL@yahoo.com

Stem cells have a great therapeutic potential due to their ability to participate in tissue regeneration, including vasculogenesis. They also can participate in neovascularization of growing tumors, responding to cytokine signaling from hypoxic tumor regions and treating tumor as "wound".

We have demonstrated that circulating mesenchymal stem cells (MSC) participate in tumor neovascularization. Applying MRI method, we monitored incorporation of mouse MSC, pre-loaded with iron-oxide particles, inside the tumors of two prostate cancer models with different growth rates: a) highly aggressive rat MatLyLu and b) slow-growing human PC-3. Both tumor types were grown as subcutaneous xenografts in mice.

In vivo MR imaging detected higher accumulation of MSC in MatLyLu tumors than in PC-3 tumors. The difference is potentially related to the variable aggressiveness, growth rate, and microenvironmental milieu of the two tumor types, resulting in different dynamics of vascular development and recruitment of MSC to the sites of neovascularization. Immunohistology of dissected tumors confirmed co-localization of labeled MSC with blood vessels and demonstrated their differentiation into endothelial cells.

Ex vivo MR imaging performed a few weeks after MSC injection did not demonstrate significant difference in label accumulation between two tumor types that could be a result of the contrast agent dilution and clearance due to cell division.

Our data suggest that the aggressive rapidly growing tumors depend to a greater extent upon the recruitment of MSC to form functional vasculature to sustain tumor growth, and that noninvasive MRI technology can be utilized to monitor docking and homing of MSC in solid tumors. Development of noninvasive *in vivo* techniques to detect and to track bone marrow-derived MSC in tumors is necessary for detailed studies of tumor progression and for testing various anti-tumor therapies.

Efforts are now being directed towards the design of therapeutic strategies capable to target the mechanisms sustaining cancer growth and treatment resistance, with the goal of improving the efficacy of current cancer therapies.

Possible implications to regenerative medicine and role of stem cells in mechanisms of adaptation will be discussed. Human pluripotent stem cells are not immune to mutations, nor are they maintained in optimal conditions. Consequently, these cells have both the means and motive to adapt to culture, and may evolve by the same Darwinian principles as all other living organisms.

References

1. Ostrovskaya L. (2011) MR imaging of stem cells in tumor xenografts in mice: potential application for anti-cancer therapy. Proceedings ESMRMB Congress, Leipzig/DE, October 6-8, p.21,
2. Ostrovskaya L., Hedayati M., Cornejo C., Mihalic J., Geyh A., Artemov D., DeWeese T.L., Ivkov R. (2010)
3. Stem cells-mediated delivery of magnetic nanoparticles to tumors for imaging and targeted hyperthermia. Proceedings, World Molecular Imaging Congress, Kyoto, Japan, September 8-11, p.75,
4. Ostrovskaya L., Hedayati M., Cornejo C., Kato Y, Artemov D, DeWeese T.L., Ivkov R. (2010) Nanoparticle-loaded stem cells for MR imaging and hyperthermia. Proceedings, Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB, Stockholm, Sweden, May 1-7.
5. Ostrovskaya L., Zhang J., Artemov D. (2009). Accumulation and distribution of Iron Oxide labeled stem cells in prostate cancer models. Proceedings, World Molecular Imaging Congress, Montreal, Canada, September 23-26.
6. Ostrovskaya L., Kato Y, Zhang J, Okollie B, Walczak P, Bulte JW, Artemov D. (2008). Magnetic resonance tracking of bone marrow mesenchymal stem cells in tumors: their possible role in tumor vasculogenesis. Proceedings. World Mol Imaging Congr, Nice, France, September 10-13.
7. Ostrovskaya, L., Winnard Jr, P.T., Botlagunta, B., Raman, V., Kato, Y., Okollie, B., Walczak P., Bulte, J.W.M., Artemov, D. (2008) Challenges with Mesenchymal Stem Cells Imaging in Tumor Vasculature. Joint Molecular Imaging Conference, Providence, RI, September 8-11.
8. Ostrovskaya, L., Winnard Jr, P.T., Botlagunta, B., Walczak P., Raman, V., Bulte, J.W.M., Artemov, D. (2006) Magnetic Resonance Tracking of Mesenchymal Stem Cells in Tumor Neovasculature. Proceedings, RSNA/SNM/SMI Imaging in Molecular Medicine. Hawaii, August 29-30.

АНТИ-Hsp60 АНТИТІЛА ЯК МАРКЕР БЕЗПЕЧНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ АУТОЛОГІЧНОЇ ПУПОВИННОЇ КРОВІ В КАРДІОХІРУРГІЇ НОВОНАРОДЖЕНИХ

¹Ткаченко Я.В., ²Яковенко Л.Ф., ¹Жовнір В.А., ²Капустян Л.М.,
²Сидорик Л.Л., ¹Ємець І.М., ¹Воробйова Г.М.

¹ДУ Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України, Київ, Україна

²Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: yani_t2008@ukr.net

Вступ. У кардіохірургії новонароджених вперше застосовано аутологічну пуповинну кров як альтернативу донорській крові. Переливання останньої призводить до порушень імунної системи, яка є інтегруючою у процесах відновлення організму після складної операції. Нами доведено, що об'єм пуповинної крові достатній для проведення корекції критичної вродженої вади серця у новонародженого. Останнім часом приділяється велика увага дослідженню ролі молекулярних шаперонів, зокрема, білку теплового шоку 60 (heat shock protein 60, Hsp60) та антитіл до нього у патогенезі різних захворювань, у тому числі серцево-судинних [1,2]. Метою даного дослідження було пошук маркерів безпечності та ефективності використання пуповинної крові.

Матеріали та методи. Об'єкт: 92 новонароджених з транспозицією магістральних судин (ТМС): 1 група -32п, під час операції переливали аутологічну пуповинну кров, 2 група- 60п, переливали донорську кров, контрольна група – клінічно здорові новонароджені -23п, 123 здорових донора віком від 20 до 48 років, з них 23 жінки. Методи: Анти-Hsp60 антитіла у сироватці крові виявляли методом ELISA. Антитілопозитивною вважали сироватку, оптична густина якої перевищувала середнє значення оптичної густини сироваток донорів на 2 стандартних відхилення ($m+2sd$). Очищення IgG антитіл з найбільш імунореактивних до Hsp60 сироваток донорів проводили методом афінної хроматографії на ProteinG-сефарозі. Вестерн-блот аналіз сумарних лізатів із тканин правого передсердя міокарду новонароджених з ТМС проводили за стандартною методикою. Рівень ФНП- α в надосаді культури ендотеліальних клітин МаЕС, індукованих анти-Hsp60 антитілами, визначали через 24 години інкубації методом ELISA (фірма Bioscience, Австрія).

Результати досліджень. 1. У новонароджених з ТМС 1 групи у післяопераційному періоді рівні анти-Hsp60 знаходились в межах показників контрольної групи (період спостереження 2 роки). У той час як у частини (до 23%) новонароджених 2 групи у післяопераційний період (2, 4, 8 доба після операції) спостерігалось підвищення рівнів анти-Hsp60 антитіл (антитілопозитивні сироватки). 2. Клінічно пацієнти 1 групи не мали післяопераційних ускладнень, термін перебування у стаціонарі був коротшим, ніж у пацієнтів 2 групи, які мали гіпертермію та легеневі ускладнення в післяопераційному періоді. 3. У всіх обстежених здорових донорів було виявлено анти-Hsp60 антитіла в сироватці крові, у 6,5% обстежених сироватки були антитілопозитивними, у 21% - рівні анти-Hsp60 антитіл перевищували середнє значення більше, ніж у 2 рази. 4. Методом імуноблотингу встановлено, що поліклональні анти-Hsp60 антитіла та IgG антитіла, афінно-очищені з найбільш імунореактивних до Hsp60 сироваток донорів розпізнавали в лізатах передсердь новонароджених з ТМС білок з молекулярною вагою близько 60 кДа. 4. Внесення анти-Hsp60 антитіл у культуру клітин МаЕС у концентрації 5, 10 та 20 мкг/мл супроводжувалося зниженням рівнів ФНП- α у культуральному середовищі через 24 години після інкубації. У новонароджених 2 групи, сироватки яких були анти- Hsp60 позитивними, у післяопераційному періоді виявлялись низькі рівні ФНП- α . У новонароджених 1 групи та частини новонароджених 2 групи низькі рівні анти- Hsp60 антитіл поєднувались з високими рівнями ФНП- α в сироватці крові.

Висновок. Донорська кров є потенційним джерелом анти-Hsp60 антитіл, які можуть бути залученими в розвиток хронічних запальних та аутоімунних процесів.

Література

1. Lachtman D.S. Heat shock proteins and cardiac protection // Cardiovasc. Res. -2001. - **51**.- P. 637-646.
2. Snoeck L., Cornelussen R., Van Nieuwenhoven F., Reneman R.S., Van Der Visse G. Heat Shock Proteins and Cardiovascular Pathophysiology // Physiol. Review. – 2001.- **81**, N4. - P.1461-1497.

PARAMETERS OF THE SKELETAL MUSCLE CONTRACTION DURING ACUTE ISCHEMIA

¹*Khoma O.M., ¹Nozdrenko D. M., ²Dolgoplov O.V., ¹Miroshnichenko M.S.*

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

²Institute of Traumatology and Orthopedics of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Experiments were performed on adult rats weighing 200-300 g. The duration of the experiment was 8 hours, while the acute ischemia lasted 5 hours. Blood pressure was measured using cannula inserted into the transverse colli artery. A set of tensoresistors was used as pressure sensor. Standard techniques included preparation and cannulation (for drug infusion and blood pressure measurements), tracheotomy, and laminectomy of the lumbar spinal cord.

To apply modulated stimulation of efferents in the L7-S segments, the ventral roots were cut immediately at their exit from the spinal cord. To record strength of contraction of skeletal muscle fiber bundles custom-made tensometer (Department of Biophysics, Taras Shevchenko Kyiv National University) was used.

The results show that incomplete vascular ischemia is accompanied by significant changes in the structure of muscle fibers. As a result, the possibility of adequate realization of motoneuron activity innervating the muscle was decreased. This was primarily seen as muscle inability to maintain a steady level of the force response. It was also found that incomplete vascular ischemia caused significant changes during the pre-tetanus stages of contraction. Reduction of the rate of force production made it impossible to produce controlled muscle movements, which could lead to a complete loss of control over the damaged extremity.

Pre-tetanus stimulation which causes single muscle contractions shows a linear decrease of the force response at all time intervals studied. Thus, ischemic muscle transits to a new stationary level of contraction with about 20-30% loss in the maximal force.

Thus, this adaptation property of ischemic muscle contraction can to some extent compensate the reduction in the force of ischemic muscle response and reduce the loss in muscle performance moving muscle to a new steady level of only 20-30% lower than the physiological norm. This may be a compensatory protective mechanism of the damaged muscle which allows to adequately responding to motor commands.

ПРОТИСУДОМНА ДІЯ НОВОИХ КСИЛАРАТНИХ КОМПЛЕКСІВ ГЕРМАНІЮ (IV) НА РІЗНИХ МОДЕЛЯХ СУДОМНОГО СИНДРОМУ У МИШЕЙ

Варбанець О.І.

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна
e-mail: olyakaschenko@mail.ru

Фармакотерапія багатьох невропатологічних захворювань характеризується недостатньою ефективністю, що пов'язано з одного боку з частим виникненням побічних ефектів та розвитком фармакорезистентності, а з другого – до кінця не з'ясованими механізмами розвитку захворювань. На сьогоднішній день особливу увагу привертають нейромодулятори природного походження завдяки своїм селективним властивостям, високій біодоступності та низькій токсичності. Серед них викликають інтерес нові координаційні сполуки германію з біолігандами та мікроелементами [1].

Метою нашої роботи була оцінка протисудомної активності нових *біс*(μ -ксиларато)дигідроксодигерманатів (IV) літію, натрію та калію $M_4[Ge_2(\mu-Xylar)_2(OH)_2] \cdot 4H_2O$, ($M = Li, Na, K$; H_5Xylar – ксиларова кислота), відповідно - ксигерм-1, ксигерм-2, ксигерм-3 на моделях генералізованих максимальних електрошокових (МЕШ) судом, фармакорезистентних 6-Гц-викликаних судом, а також гострих міоклонічних пентилентетразолових (ПТЗ) судом у мишей. Дослідження проводились на мишах-самцях лінії СВА масою 20-25 г. Для відтворення моделі МЕШ судом використовували електричний струм з фіксованим опором силою 50 мА, частотою 50 Гц, 0,2 мс синусоїдними стимулами. Реєстрували число мишей з тонічними судомами, загальну тривалість судом та летальність. Модель 6-Гц-викликаних судом формували шляхом транскорнеальної стимуляції електричним струмом (частотою 6 Гц, силою 32 мА і тривалістю 0,2 мс прямокутними стимулами упродовж 3 с). Досліджувані сполуки розчиняли в 0,9% розчині NaCl і вводили внутрішньочеревно (в/о) об'ємом 0,2 мл на 20 г маси тіла за 30 хв до індукції судом. Генералізовані судоми відтворювали шляхом підшкірного введення пентилентетразолу ("Sigma", США) дозою 60,0 мг/кг. В якості референт-препаратів застосовували вальпроєву кислоту («Фарма Старт», Україна) - 100, 150, 200 та 250 мг/кг за 15 хв до індукції судом та карбамазепін (КБЗ) («Дарниця», Україна) - 5, 10, 15 та 20 мг/кг, який вводили за 30 хв [2].

Результати проведеного дослідження виявили найбільш виражену протисудомну активність нового ксиларатного комплексу Ксигерм-3, який зменшував інтенсивність судомного синдрому, маючи дозозалежний ефект на моделях МЕШ та 6-Гц викликаних судом. За умов ПТЗ викликаних судом досліджувана сполука була найменш ефективною. На моделі МЕШ судом сполука з калієм найбільш ефективно захищала від виникнення та розвитку судом у дозі 1200 мг/кг. За умов моделі 6-Гц-викликаних судом Ксигерм-3 достовірно збільшував латентний період перших судом та зменшував їх довготривалість.

Отримані дані дозволяють доповнити знання про нейрофармакологічні властивості сполук германію з біолігандами і можуть слугувати базою для подальших досліджень їх механізмів та створення нових ефективних нейротропних засобів.

Література

1. Перспективи створення нових лікарських препаратів на основі комплексних сполук германію / Кресюн В.Й., Сейфулліна І.Й., Годован В.В. // Одеський медичний журнал. - 2011. - №1(123). - С. 31-35.
2. The Treatment of Epilepsy. Simon D. Shorvon, Emilio Perucca [et.al] / John Wiley & Sons: 2009.- 1116 p.

**УПРАВЛЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫМИ
ПРОЦЕССАМИ С ПОМОЩЬЮ ФИЗИЧЕСКИХ
И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

**ADAPTATION PROCESSES CONTROL USING
PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ТВЕРДЫХ ФОРМ НИЗКОДОЗОВЫХ ПРЕПАРАТОВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ СЕВЕРНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТАНЦИЙ

Аньшакова В.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, Якутск
e-mail: anshakova_v@mail.ru

Процесс создания новых лекарств и биопрепаратов является длительным и требует больших вложений – именно поэтому актуальным является поиск путей повышения эффективности уже существующих фарм- и биопрепаратов. Нами предложена механохимическая технология создания комплексов на основе полимерной матрицы природных лишайниковых олигосахаридов, пролонгирующих действие активного вещества (фармакона), повышающих его адаптогенный эффект в несколько раз, при этом снижая токсичность. Эффективную дозу фармакона при этом иногда удается уменьшить в десятки-сотни раз. Вся совокупность биотехнологических процессов протекает в одну стадию в твердой фазе, исключая такие стадии как экстракция или различные виды выпаривания и очистки, с получением продукта, который далее может быть капсулирован.

По данному принципу создана биологически активная добавка адаптогенного и актопротекторного действия, являющаяся супрамолекулярным комплексом «активного наполнителя» - лишайниковых β -олигосахаридов и корней и корневищ родиолы розовой в массовом соотношении 10:1. Особенность работы, состоит в том, что используется биосырье, которое произрастает непосредственно в нашем регионе. Оно высокоактивно, в первую очередь, благодаря тому, что содержит в 1,5-2,5 раза больше биологически активных веществ и имеет в 3-5 раз выше структурное разнообразие этих веществ (гомологи, изомеры, производные по степени окисленности), чем аналогичные виды растений в средней полосе России. Анализ результатов исследований её физиологической активности показал, что механоактивация биокомпозиата лишайниковых β -олигосахаридов с ВМЭК приводит к повышению в 1,7-2,0 раза резистентности организма лабораторных мышей линии CD-1 к действию физических нагрузок и экстремальных факторов различной природы.

По-видимому, механизмов такого эффективного биологического действия комплексов, полученных механоактивацией «активного наполнителя» (лишайниковых β -олигосахаридов) с фармаконом может быть несколько:

- лишайниковые β -олигосахариды, связывая тот или иной фармакон, транспортируя его в кровь и далее через клеточные мембраны, обеспечивают его более высокую усвояемость (до 90-95%) и, как следствие, биоактивность;

- обладая высокой сорбционной активностью по отношению не только к экзо-, но и к эндотоксинам, продуктам обмена веществ, они снижают их уровень в клетках в 1,5-2,5 раза, что также способствует повышению адаптивного потенциала и выносливости организма.

Конкурентоспособность предполагаемых к выпуску биопрепаратов обеспечивается более энерго- и ресурсосберегающей технологией переработки биосырья, высокой физиологической активностью и полным отсутствием токсичности, а также отсутствием аналогов на рынке России.

Наша продукция может быть чрезвычайно полезной для профилактики здоровья, реабилитации, для спортивной медицины, для работников вредных производств, жителей территорий с высокой степенью промышленной и транспортной загазованности. К тому же отсутствие в процессе производства жидкой спиртовой фазы и экстрагентов сразу же расширяет рынок предполагаемого сбыта – препарат могут принимать дети, пожилые люди, спортсмены.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

WORKING OUT OF BIOTECHNOLOGY OF RECEPTION OF SOLID FORMS OF LOW-DOZE PREPARATIONS OF ADAPTOGENIC EFFECT ON THE BASIS OF NORTHERN VEGETATIVE SUBSTANCES

Anshakova V.V.

North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia
e-mail: anshakova_v@mail.ru

Creation of new medicines and biological preparations is long process, it demands the big investments – for this reason search of alternative, more efficient ways of today pharmacological and biological preparations is actual. We offer mechanochemical technology for creation of adaptogenic complexes on the basis of a polymeric matrix of the natural lichen oligosaccharides prolonging action of active substance (pharmacon), raising its biological, including therapeutic, effect several times, thus reducing toxicity. The effective dose of pharmacon thus sometimes manages to be reduced in tens-hundreds times. All set of biotechnological processes proceeds in one stage in a solid phase, excepting such stages as an ex-traction or various kinds of evaporation and clearing, with reception of a product which can be further either in capsule or tablet form.

The Know-how consists in application of mechano-chemical nono- biotechnological processings of plant raw materials (not only lichen) with small additives of solid chemical reagents: on a carbohydrate part formed in technological process – (oligosaccharides from lichinan) “attaches” various pharmacon, for example, the physiologically active substances of herbs. Thus, the therapeutic effect of a preparation raises at dose reduction and by that, its toxicity and side effects decreases.

Feature of work, consists that the bioraw materials which grows immediately in our region are used. It is highly active, first of all, thanks to that contains in 1,5-2,5 times more than biologically active substances and has in 3-5 times above a structural variety of these substances (homologs, the isomers derivative on oxidation degree), than similar kinds of plants in a midland of Russia.

Competitiveness of biological preparations assumed to release is provided more energy- and resource-saving technology of processing of bioraw materials, high physiological activity and total absence of toxicity, and also absence of analogs in the market of Russia.

For the food-processing industry we develop a way of improvement of quality of liquid foodstuff, bakery products and conservation of their freshness. Result is enrichment of foodstuff by essential trace sub-stances, not hormonal physiologically active substances, rising of degree of their comprehensibility and improvement of physical and chemical indicators of foodstuff, and also augmentation of periods of storage.

Our production can be extremely useful to preventive maintenance of health, aftertreatment, for sports medicine, for workers of harmful manufactures, inhabitants of territories with high degree of an industrial and transport gassed condition. Besides absence in the course of manufacture of a liquid spirituous phase and extragents dilates at once the market of prospective sale – children, older persons, sportsmen can accept a preparation.

СТАН СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ТА ШЛЯХИ КОРЕКЦІЇ ЗА РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНОГО АПОПТОЗУ

Андрійчук Т.Р., Ракша Н.Г.

Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету
імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: tatosh62@mail.ru

Розуміння молекулярних основ протікання апоптозу, зокрема, функціонування внутрішньоклітинних каскадів, що опосередковують регуляцію даного процесу, наразі є важливою медико-біологічною проблемою, оскільки дисфункція шляхів контролю апоптозу розглядається як одна з причин розвитку серйозних патологічних порушень. Контрольована активація протеїназ відіграє провідну роль не лише в підтриманні гомеостазу в нормі, але й під час розвитку адаптаційно-захисних реакцій організму у відповідь на дію стресових сигналів (1). Неоднозначність оцінки внеску протеолітичних ферментів в ініціацію та перебіг апоптозу в окремих клітинах обумовила мету наших досліджень.

Згідно з одержаними результатами через три години після рентгенівського опромінення щурів в дозі 7,78 Гр у лімфоцитах тимусу спостерігається зростання активності ендогенних протеїназ (на 30%), що частково можна пояснити з позицій порушення реакцій тіол-дисульфідного обміну між специфічними інгібіторами та протеїназами (2, 3). Показане нами незначне зростання вмісту білкових сульфгідрильних груп за досліджуваних умов може слугувати однією з причин зсуву рівноваги у системі протеїназа-інгібітор та, відповідно, активації ферментів. Активізація клітинних протеїназ є необхідною складовою основних шляхів реалізації апоптотичної загибелі, зокрема, лізосомально-опосередкованого шляху, який, як вважають (4), є більш ранньою подією, що передуює пермеабілізації зовнішньої мембрани мітохондрій та вивільненню у цитозоль проапоптотичних факторів. Згідно з одержаними результатами на третю годину після дії променевого чинника активність лізосомальної протеїнази катепсину В у лімфоцитах тимусу зростала у 2,6 рази.

Введення піддослідним тваринам за п'ятнадцять хвилин до опромінення фармакологічного препарату «Рибоксин» обумовило наближення активності досліджуваних ферментів та вмісту сульфгідрильних груп до контрольних значень.

Таким чином, реалізація апоптотичної програми загибелі лімфоїдних клітин тимусу, викликана дією іонізуючої радіації, відбувається із залученням ряду протеолітичних ферментів. Нормалізація досліджуваних показників за використання препарату рибоксину відкриває нові перспективи щодо його застосування з метою направленої регуляції окремих ланок апоптотичного процесу.

Література

1. Vincent J. K. (1998). Proteolytic activities that mediate apoptosis. *Annual Review of Physiology*. 60: 533-573.
2. Zhivotovsky B., Burgess D.H. Orrenius S. (1996). Proteases in apoptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 52(10-11): 968-978.
3. Packard B.Z., Komoriya A. (2008). Intracellular protease activation in apoptosis and cell-mediated cytotoxicity characterized by cell-permeable fluorogenic protease substrates. *Cell Research*. 18:238-247.
4. Stoka V., Turk B., Turk V. (2001). Lysosomal Cysteine Proteases: Structural Features and their Role in Apoptosis. *Life*. 57(4/5): 347-353.

THE STATE OF PROTEOLYTIC SYSTEM AND WAYS OF CORRECTION UNDER RADIATION-INDUCED APOPTOSIS

Andriichuk T.R., Raksha N.G.

Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: tatasha62@mail.ru

Understanding of molecular bases of passing of apoptosis, in particular, functioning of intracellular cascades that mediate regulation of this process now is an important medico-biological problem, as far as dysfunction of mechanisms of apoptosis control is considered as one of the reasons for development of serious pathological disturbance. The controlled activation of proteinases plays a leading role not only in the maintenance of homeostasis at normal terms but also during development of adaptation-protective reactions in response to the action of stress signals (1). Contradiction in the impact assessment of proteolytic enzymes in initiation and development of apoptosis of separate cells determined the aim of our investigations.

According to our results the increase activity of endogenous proteinases (on 30%) in thymus lymphocytes in three hours after X-ray irradiation of rats in dose 7,78 Gy is observed, that it is partly possible to explain from position of disorders of reactions of thiol-disulfide exchange between specific inhibitors and proteinases (2, 3).

It was shown, that insignificant enhance of protein sulfhydryl groups content under investigated conditions can serve as one of the reasons for disbalance in proteinase-inhibitor system and, accordingly, activation of enzymes. Activation of cellular proteinases is the necessary part of the main pathways of apoptotic cell death realization, in particular, lysosomal-mediated pathway that, as it is considered (4), is earlier event, that precedes permeabilization of external mitochondrial membrane and release in cytosol of proapoptotic factors. According to obtained results at three hours after the action of ionizing radiation the activity of lysosomal proteinase cathepsin B in thymus lymphocytes increased in 2,6 times.

The injection of medical drug "Riboxine" fifteen minutes prior to radiation exposure caused approximation of investigated enzymes activity and content of sulfhydryl groups to the control levels.

Thus, realization of the apoptotic death program of thymus lymphoid cells, caused by the action of ionizing radiation, takes place with involving some proteolytic enzymes. Normalization of the investigated parameters for the use of riboxine opens new perspectives in relation to its application with the aim of the directed regulation of some phases of apoptotic process.

References

1. Vincent J. K. (1998). Proteolytic activities that mediate apoptosis. *Annual Review of Physiology*. 60: 533-573.
2. Zhivotovsky B., Burgess D.H., Orrenius S. (1996). Proteases in apoptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 52(10-11): 968-978.
3. Packard B.Z., Komoriya A. (2008). Intracellular protease activation in apoptosis and cell-mediated cytotoxicity characterized by cell-permeable fluorogenic protease substrates. *Cell Research*. 18:238-247.
4. Stoka V., Turk B., Turk V. (2001). Lysosomal Cysteine Proteases: Structural Features and their Role in Apoptosis. *Life*. 57(4/5): 347-353.

УПРАВЛЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫМИ ПРОЦЕССАМИ ОРГАНИЗМА С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ ПЛАСТИЧЕСКОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

Афанасьева С.В., Баулин С.И., Рогачева С.М.

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов, Россия
e-mail: kokos-best@mail.ru

Выполнение ряда работ, связанных с затратой физических сил, приводит к снижению общей физической работоспособности, увеличению случаев производственного травматизма, перенапряжению функционального состояния ЦНС, развитию стрессорных реакций. Это характерно для работников МЧС, силовых структур и спортсменов. Актуальным является поиск средств, повышающих физическую работоспособность и адаптационные способности организма к воздействию экстремальных неблагоприятных факторов. Предлагаемые сегодня лекарственные средства и БАДы не могут быть рекомендованы для широкого использования, т.к. относятся к допингам, обладают побочными эффектами и запрещены к применению. Приемлемыми для повышения физической работоспособности человека могут быть средства-адаптогены, отнесенные к группе пластических и энергетических препаратов, способных воздействовать на многочисленные гомеостатические реакции организма [1-2]. Целью работы явилось оценить в экспериментах на лабораторных животных эффективность определенных пластических и энергетических препаратов как средств повышения физической работоспособности.

Исследования проводились на белых беспородных крысах массой 200±30 г. В каждой серии экспериментов животные были разделены на контрольную и опытные группы по 10 особей в каждой. Физическую нагрузку создавали в тесте «принудительное плавание» [3]: каждое животное с грузом в 7% от своей массы три раза помещали в цилиндрический сосуд (h=80см, d=50см), заполненный водой на 60 см, каждый раз фиксировали время до отказа от плавания. Температура воды составляла 29-30°C. После второго плавания животным контрольной группы однократно пероральным путем (через зонд) вводили дистиллированную воду, а животным опытных групп - водные растворы исследуемых препаратов. Рассчитывали характеристики работоспособности: степень восстановления работоспособности; степень повышения работоспособности при заключительном заплыве. Объектами экспериментальных исследований являлись 6 фармацевтических препаратов. Регистрируемыми показателями являлись: t_1 - время первого плавания, с; t_5 - время второго плавания (после 5 минут отдыха), с; t_{40} - время третьего плавания (через 40 минут после введения препарата), с. Статистическая достоверность всех представленных результатов оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента и составляла 95%. Степень воздействия пластических и энергетических препаратов на физическую работоспособность представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Общая физическая работоспособность белых крыс при однократном внутрижелудочном введении препаратов пластического и энергетического типа действия

Образец	Восстановление работоспособности, %	Повышение работоспособности, %
Контроль	200,75	70,63
Аспаркам	183,98	75,18
Глицерофосфат Са	158,54	64,04
Контроль	122,30	65,98
Калия оротат	197,06	90,28
Метилурацил	208,79	92,98
Контроль	178,32	57,57
Эмульсия экдистена-1	178,83	65,02
Эмульсия экдистена-2	187,53	79,94

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о существенном повышающем влиянии на общую физическую работоспособность препаратов пластического и энергетического типа действия при их однократном поступлении в организм. Наибольшее влияние оказывает метилурацил. Превышение его показателей восстановления и повышения работоспособности над контрольными значениями составляет 208,79% и 92,98% соответственно. По влиянию на показатели физической работоспособности при однократном внутрижелудочном введении обследованные препараты располагаются в ряду: метилурацил > калия оротат > эмульсия экдистена-2 > аспаркам > эмульсия экдистена-1 > глицерофосфат кальция.

Литература

1. Использование лекарственных средств для восстановления и повышения работоспособности спортсменов. Информационные материалы / Под ред. Сучкова А.В. – Москва. 1990.
2. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф. и соавт. Фармакологическая коррекция утомления. Медицина. М. 1984.
3. Dawson C. Purinoreceptors / C. Dawson, S.A. Horvath// Med. Sci. Sports. - 1990.-Vol.2.- P. 51-78.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MANAGEMENT OF ADAPTABLE PROCESSES OF THE ORGANISM BY MEANS OF PREPARATIONS OF PLASTIC AND POWER TYPE OF ACTION

Afanaseva S., Baulin S., Rogachova S.

The Saratov State Technical University of Gagarin Y.A., Saratov, Russian Federation
e-mail: kokos-best@mail.ru

Performance of a number of the works connected with an expense of physical forces, leads to decrease in the general physical working capacity, increase in cases of operational injuries, an overstrain of a functional condition of TsNS, development of stressor reactions. It is characteristic for employees of the Ministry of Emergency Situations, power structures and athletes. Search of the means increasing physical working capacity and adaptable abilities of an organism to influence of extreme adverse factors is actual. Medicines offered today and BADY can't be recommended for wide use since treat dopes, possess side effects and are forbidden to application. For increase of physical efficiency of the person the means-adaptogeny carried to group of plastic and power preparations, capable to influence numerous homeostatic reactions of an organism [1-2] can be accepted. The purpose of work was to estimate in experiments on laboratory animals efficiency of certain plastic and power preparations as means of increase of physical working capacity.

Researches were carried out on white not purebred rats in weight 200 ± 30 . In each series of experiments animals were divided on control and skilled groups on 10 individuals in everyone. Physical activity created in the father-in-law «compulsory swimming» [3]: with cargo in 7 % from the weight three times placed each animal in a cylindrical vessel ($h = 80\text{cm}$, $d = 50\text{cm}$), filled with water on 60 cm, each time fixed time to the full from swimming. Water temperature made $29-30^\circ\text{C}$. After the second swimming by an animal of control group by once peroralny way (through a probe) entered the distilled water, and an animal of skilled groups - water solutions of studied preparations. Counted working capacity characteristics: extent of restoration of working capacity; extent of increase of working capacity at a final heat. Objects of pilot studies were 6 pharmaceutical preparations. Traceable indicators were: t_1 - time of the first swimming, c ; t_5 - time of the second swimming (after 5 minutes of rest), c ; t_{40} - time of the third swimming (in 40 minutes after preparation introduction), c . Statistical reliability of all presented results was estimated with t-criterion use Students and made 95 %. Extent of influence of plastic and power preparations on physical working capacity is presented in table 1.

Table 1 - The total physical efficiency of white rats after a single intragastric introduction of preparations of plastic and power type of action

Sample	Restoration of working capacity, %	Increase of working capacity, %
Control	200,75	70,63
Asparkam	183,98	75,18
Glitserofosfat Ca	158,54	64,04
Control	122,30	65,98
Potassium orotat	197,06	90,28
Metiluratsil	208,79	92,98
Control	178,32	57,57
Emulsion ekdistens-1	178,83	65,02
Emulsion ekdistens-2	187,53	79,94

Thus, researches testify to considerable influence on the general physical operability of preparations of plastic and power type of action at their single receipt in an organism. The greatest influence renders метилурацил. Excess of its indicators of restoration and working capacity increase over control values makes 208,79 % and 92,98 % respectively. On influence on indicators of physical working capacity at single intragastric introduction the surveyed preparations settle down among: Metiluratsil > potassium orotat > emulsion ekdistens-2 > asparkam > emulsion ekdistens-1 > Glitserofosfat calcium.

References

1. Use of medicines for restoration and increase of efficiency of athletes. Information materials / Under the editorship of Suchkov A.V. – Moscow. 1990.
2. Bobkov Yu.G., Vinogradov V. M. Skating rinks of Century Φ . and coauthors – Pharmacological correction of exhaustion. Medicine. M 1984.
3. Dawson C. Purinoreceptors/C. Dawson, S.A. Horvath//Med. Sci. Sports. — 1990. - Vol.2. - P. 51-78.

PRO-GLY-PRO ИЗМЕНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЮ ЦИТОКИНОВ, ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА К ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭТАНОЛА И СТРЕССА

¹Бакаева З.В., ²Сангаджиева А.Д., ²Самонина Г.Е.,
³Мезенцева М.В., ⁴Андреева Л.А., ¹Павлова С.И.

¹РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Россия

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия

³ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия

⁴Ин-т Мол.Генетики РАН, Россия

e-mail: bakaeва_z@mail.ru

Регуляторные пептиды (РП) – глипролины – обладают протекторными противоязвенными эффектами в отношении этаноловых и стрессорных повреждений слизистой оболочки желудка (СОЖ) (1). Известно, что в основе этаноловых повреждений лежат периферические механизмы ulcerogenesis и, наоборот, стрессорные язвы опосредованы центральными механизмами нарушения гомеостаза СОЖ. Цитокины регулируют развитие местных реакций в тканях, осуществляя взаимосвязь иммунной, нервной, эндокринной и других систем (2). Нами были получены данные о влиянии трипептида Pro-Gly-Pro и его ацетилированной формы на экспрессию генов цитокинов мононуклеаров периферической крови (МПК). При хроническом воспалении активация матриксных металлопротеиназ 8 и 9 приводит к непрерывному гидролизу коллагена с продукцией Pro-Gly-Pro (PGP) и в большей степени N-acetyl-Pro-Gly-Pro (Ac-PGP) (3). Это вызывает активный хемотаксис нейтрофилов в зону воспаления. В настоящем исследовании определяли: 1) корреляционную связь между экспрессией генов цитокинов в мононуклеарах периферической крови и площадью повреждения слизистой оболочки желудка, вызванного этанолом или стрессом, 2) роль цитокинов в опосредовании влияния PGP и Ac-PGP на гомеостаз СОЖ.

Этаноловые повреждения вызывали у белых беспородных крыс однократным внутрижелудочным введением 96% этанола. Стресс вызывали у крыс линии Wistar плаванием в «холодной воде» в течение 30 минут. Физиологический раствор, пептиды PGP и Ac-PGP вводили интраназально, за час до ulcerogenesis. Эвтаназию осуществляли через 1 час после окончания воздействия ulcerogenic фактора. Площадь язвенных повреждений желудков оценивали с помощью бинокулярной лупы с окуляр-микрометром в мм². Эксперименты проводили в соответствии с нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом. Определение активности мРНК 10 цитокинов в МПК проводили с использованием методов обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Статистическую обработку площади повреждений СОЖ осуществляли при помощи критерия Крускала-Уолиса, для определения корреляционной связи использовали критерий Кендалла.

PGP уменьшал площадь этаноловых и стрессорных повреждений на 38% и 59% соответственно, Ac-PGP не оказывал протекторного противоязвенного эффекта. При проведении корреляционного анализа в группе контроль была обнаружена значимая положительная связь между площадью этаноловых повреждений и экспрессией генов цитокинов: ИФН α ($R=0,77$; $p<0,05$), ИЛ-8 ($R=0,59$, $p<0,05$), ИЛ-12 ($R=0,65$, $p<0,05$). В группе PGP, наоборот, повреждения СОЖ имели отрицательную корреляцию с транскрипцией ИФН γ ($R= -0,57$; $p<0,05$), ИЛ-2 ($R=-0,65$, $p<0,05$), ИЛ-4 ($R=-0,57$, $p<0,05$). В группе Ac-PGP корреляционная связь отсутствовала. Между площадью стрессорных язв и экспрессией генов цитокинов значимая корреляционная связь была обнаружена только в опытных группах, где размеры стрессорных повреждений СОЖ положительно зависели от экспрессии гена ИЛ-8 ($R=0,44$, $p<0,05$) на фоне влияния PGP и экспрессии гена ФНО- α ($R= 0,48$, $p<0,05$) на фоне Ac-PGP.

Таким образом, внутрижелудочное введение этанола вызывает увеличение транскрипции ИФН α , ИЛ-8 и ИЛ-12: чем активнее экспрессия генов этих провоспалительных цитокинов, тем больше язвы. На фоне противоязвенного действия PGP отрицательная корреляция означает, что чем активнее была транскрипция ИФН γ , ИЛ-2 и ИЛ-4, тем менее выражен был процесс язвообразования. Повреждения СОЖ, вызванные водоиммерсионным стрессом не связаны с транскрипцией провоспалительных цитокинов мононуклеаров периферической крови. Протекторное действие PGP в отношении стрессорных язв может быть связано с его ингибирующим влиянием на экспрессию гена ИЛ-8. Увеличение транскрипции ФНО- α на фоне Ac-PGP способствует развитию стрессорных повреждений в СОЖ.

Литература

1. Самонина Г.Е., Копылова Г.Н., Умарова Б.А., Бакаева З.В., Мезенцева М.В. (2011). Некоторые механизмы противоязвенных эффектов глипролинов. *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* №4: 58-62.
2. Самотруева М.А., Теплый Д. Л., Тюренков И.Н. (2009). Пути реализации нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий. *Естественные науки.* №4: 112-130.
3. Gaggar A, Jackson PL, Noerager BD, O'Reilly PJ, McQuaid DB et al. (2008). A Novel Proteolytic Cascade Generates an Extracellular Matrix-Derived Chemoattractant in Chronic Neutrophilic Inflammation. *J. Immunol.* 180: 5662-5669.

PRO-GLY-PRO INCREASES THE RESISTANCE OF THE GASTRIC MUCOSA TO THE ETHANOL AND STRESS MODULATING THE CYTOKINE TRANSCRIPTION

¹Bakaeva Z.V., ²Sangadzhieva A.D., ²Samonina G.E.,
³Mezentseva M.V., ⁴Andreeva L.A., ¹Pavlova S.I.

¹Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Russia

²MSU named after M.V.Lomonosov, Russia

³Gamaleya Institute of epidemiology and microbiology, Russia

⁴Institute of Molecular Genetics RAS, Russia

e-mail: bakaeva_z@mail.ru

Regulatory peptides - glyprolines - have protective antiulcer effects on ethanol and stress damages of gastric mucosa. It is known that ethanol-induced damages are based on the peripheral mechanisms of ulcerogenesis, on the contrary, stress-induced damages are mediated by central mechanisms of the gastric mucosa homeostasis (1). Cytokines regulate the development of local reactions in the tissues, realizing the relationship of immune, nervous, endocrine and other systems (2). We have studied the effect of tripeptide Pro-Gly-Pro and its acetylated form on the expression of peripheral blood mononuclear cell cytokine genes. In chronic inflammation activation of matrix metalloproteinases 8 and 9 leads to continuous hydrolysis of collagen producing the Pro-Gly-Pro (PGP) with a predominance of N-acetyl-Pro-Gly-Pro (Ac-PGP) (3). These compounds cause neutrophil chemotaxis to the area of inflammation. In the study we presented: 1) the correlation between the cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells and the severity of gastric mucosal damage caused by ethanol or stress, 2) the mediating role of cytokines in the effects of PGP and Ac-PGP on the gastric mucosa homeostasis. Experiments were carried out in accordance with the regulations recommended by the European Science Foundation.

Ethanol damages was induced in the Albino rats by a single intragastric administration of 96% ethanol. Stress damage was induced in the Wistar rats by cold-water swimming for 30 minutes. Saline, PGP and Ac-PGP peptides were administered intranasally an hour before the ulcerogenesis induction. Animals were euthanized 1 hour after exposure to ulcerogenic factor. The stomach ulcerative lesions were evaluated using a binocular magnifier with ocular micrometer and expressed in mm². Determination of the mRNA of 10 cytokines in peripheral blood mononuclear cells was carried out using reverse transcription polymerase chain reaction. The statistical analysis of the gastric mucosa damaged areas was performed using the Kruskal-Wallis test and Kendall test to determine the correlation.

PGP reduced the area of ethanol and stress injuries by 38% and 59% respectively, the Ac-PGP did not have the protective antiulcer effect. In the control group significant positive correlation between the severity of ethanol lesions and cytokine gene expression was found: IFN- α ($R = 0.77$; $p < 0.05$), IL-8 ($R = 0.59$, $p < 0.05$), IL-12 ($R = 0.65$, $p < 0.05$). In a group of PGP the damage of gastric mucosa had a negative correlation with the transcription of IFN γ ($R = -0.57$; $p < 0.05$), IL-2 ($R = -0.65$, $p < 0.05$), IL-4 ($R = -0.57$, $p < 0.05$). There were no any correlations in group of Ac-PGP. Between the severity of stress ulcers and cytokine gene expression the significant correlation was found only in the experimental groups. The area of damage correlated with the gene expression of IL-8 ($R = 0.44$, $p < 0.05$) in the group receiving PGP and with the TNF- α gene expression ($R = 0.48$, $p < 0.05$) in the group receiving Ac-PGP.

Thus, intragastric administration of ethanol caused an increase in transcription of IFN- α , IL-8 and IL-12. The increase in the expression of pro-inflammatory cytokines was followed by the increase in the gastric mucosa damage. The negative correlation found in the PGP group may indicate that less ulceration is accompanied with an increase in the transcription of IFN- γ , IL-2 and IL-4. Gastric mucosal injury caused by water-immersion stress was not associated with transcription of pro-inflammatory cytokines. The protective effect of PGP against stress-induced ulcers can be related to its inhibitory effect on IL-8 gene expression. The increased transcription of TNF- α under the effect of Ac-PGP promotes the development of stress lesions in the gastric mucosa.

References

1. Samonina G.E., Kopylova G.N., Umarova B.A., Bakaeva Z.V., Mezentseva M.V. (2011). Some of the mechanisms of anti-ulcer effects glyprolines. *Vopr. Biol., Med. Pharm. Khimii*. №4: 58-62.
2. Samotrujeva M.A., Teplyi D.L., Turenkov I.N. (2009). Ways of implementation of the neuro-immuno-endocrine interactions. *Natural sciences*. №4: 112-130.
3. Gaggar A, Jackson PL, Noerager BD, O'Reilly PJ, McQuaid DB et al. (2008). A Novel Proteolytic Cascade Generates an Extracellular Matrix-Derived Chemoattractant in Chronic Neutrophilic Inflammation. *J. Immunol*. 180: 5662-5669.

ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПРОБИОТИКОВ ГРУППЫ «СИМБИТЕР» НА СЕКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ

**Береговая Т.В., Абдулахад К.Ф. Абдулахад, Цирюк Е.И., Пилипенко С.В.,
Непорада К.С., Бернык О.О., Остапченко Л.И.**

Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального университета
имени Тараса Шевченко, Киев, Украина.
e-mail: tberegova@mail.ru

Исследование желудочной секреции не теряет своей актуальности в связи с ростом кислотозависимых заболеваний. Гиперсекреторные состояния желудка лежат в основе патогенеза язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, а гипоацидные состояния рассматриваются как фактор риска развития рака желудка, которому принадлежит второе место в общей заболеваемости на рак. Ряд авторов увеличенный риск некардиального рака желудка у пациентов с гипохлоргидрией связывают не с длительной гипергастринемией, индуцированной понижением кислотности желудочного сока, а с избыточным бактериальным ростом. Теория бактериального канцерогенеза может быть прямо проверена только в экспериментальных условиях с одновременным введением антисекреторного препарата и пробиотика, восстанавливающего микробиоценоз в желудке. Целью работы было изучение секреторной функции желудка у крыс в условиях длительной гипергастринемии, индуцированной омепразолом (ОМ), и одновременного введения ОМ и мультипробиотиков группы «Симбитер».

Исследования проведены на белых нелинейных крысах, разделенных на 4 группы. Животные I (контрольной) группы получали в течение 28 дней ежедневно внутривентриально (в/вр) и перорально (п/о) по 0,2 мл воды для инъекций. Крысам II группы в течение 28 дней вводили блокатор ключевого фермента синтеза гидрохлоридной кислоты H⁺-K⁺-АТФазы ОМ («Sigma», USA) в дозе 14 мг/кг (в/б) один раз в сутки. Крысам III группы в течение 28 дней одновременно с введением ОМ п/о вводили «Симбитер® ацидофильный» концентрированный (ООО-фирма "О.Д. Пролисок") в дозе 0,14 мл/кг. Крысам IV группы в течение 28 дней одновременно с введением ОМ п/о вводили «Симбитер-форте®» (ООО-фирма "О.Д. Пролисок") в дозе 0,14 мл/кг.

Установлено, что после 28 дней введения ОМ концентрация гастрина в сыворотке крови возрастала более чем в 3 раза. Одновременно почти в 3 раза увеличивался дебит гидрохлоридной кислоты (HCl) базальной желудочной секреции. Соотношение дебита секреции HCl, стимулированной карбахолином, к дебиту базальной секреции HCl кислоты в 1,72 раза превышало аналогичное соотношение у контрольных крыс, что является свидетельством развития гиперплазии в слизистой оболочке желудка. Длительная гипоацидность желудочного сока, индуцированная ОМ, приводила к увеличению содержания свободного оксипролина, гексуроновых кислот и фукозы в пристеночной слизи, что является результатом повышенной деградации колагеновых и неколагеновых белков эпителиально-слизистого барьера. В условиях 28-ми дневного угнетения секреции HCl, вызванного введением ОМ, в желудке крыс наблюдалось существенное понижение количественных показателей посева лактобактерий, а у 40% животных они вообще не высевались. Одновременно возрастала колонизация желудка условно-патогенной микрофлорой и грибами рода *Candida*. Бактериальный спектр желудка крыс с гипоацидным состоянием расширился за счет высевания клебсиелы, энтеробактера, протей, концентрация которых достигала высокого уровня (10^4 - 10^5 КОЕ/г). Наши данные свидетельствуют о понижении колонизационной резистентности слизистой оболочки желудка у животных с 28-ми суточной гипоацидностью желудочного сока и о возможности транзита микрофлоры с кишечника в желудок восходящим путем. Таким образом, длительное угнетение желудочной секреции соляной кислоты приводит к микробиологическим нарушениям и чрезмерному росту условно-патогенной флоры, которая может стать одной из причин развития воспаления в слизистой оболочке желудка, что подтверждено данными наших исследований по содержанию продуктов липопероксидации, окисно-модифицированных белков и активности ферментов антиоксидантной защиты в гомогенате слизистой оболочки желудка. В группе крыс, которым одновременно с ОМ вводили «Симбитер ацидофильный концентрированный» и «Симбитер форте» концентрация гастрина в сыворотке крови снижалась, хотя и не достигала контрольных значений.

Базальная и стимулированная желудочная секреция HCl у крыс после 28-дневного изолированного введения ОМ и после 28-дневного комбинированного введения ОМ с мультипробиотиками была достоверно ниже, чем в группе, которой вводили только ОМ. При этом показатели контаминации желудка условно-патогенной микрофлорой практически не отличались от контроля и одновременно увеличился посев из желудка лактобактерий до показателей 10^4 КОЕ/г. также у этих животных снижалась деградация протективных белков слизи, нормализовалось про-антиоксидантное равновесие, уменьшалось содержание окисно-модифицированных белков в гомогенате слизистой оболочки желудка крыс.

Такие изменения на фоне введения мультипробиотика «Симбитер форте» в условиях 28-дневной желудочной гипоацидности могут быть связаны с активацией пробиотиком системы антиоксидантной защиты.

Сделан вывод о том, что одной из причин гиперплазии в слизистой оболочке желудка, ведущей к изменению секреторной функции желудка, является дисбактериоз в желудке, развивающийся на фоне длительной гипоацидности желудочного сока.

THE INFLUENCE OF MULTIPROBIOTICS "SYMBITER" ON SECRETORY FUNCTION OF STOMACH IN CONDITIONS OF LONG-TERM HYPERGASTRINEMIA

**Beregova T.V., Abdulahad K.F. Abdulahad, Tsyriuk O.I., Pylypenko S.V.,
Neporada K.S., Bernyk O.O., Ostapchenko L.I.**

Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" of Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Kyiv, Ukraine.
e-mail: tberegova@mail.ru

The study of gastric secretion has not lost its relevance due to the increase of acid-related disorders. Gastric hypersecretory conditions underlie the pathogenesis of duodenal ulcer, and hypoacidity states are considered as a risk factor for gastric cancer, which ranks second place in the overall incidence of cancer. Some authors believe that an increased risk of gastric cancer in patients with hypochlorhydria associated not with the long-term hypergastrinemia induced by decrease in gastric acidity, and with excessive bacterial growth. The theory of bacterial carcinogenesis can be directly tested only in experimental conditions, with the simultaneous introduction of antisecretory drug and probiotic that restores microbiocenosis in the stomach. The aim of the study was to investigate gastric secretory function in rats in conditions of prolonged hypergastrinemia induced by omeprazole (OM), and simultaneous administration of OM and multiprobiotics from group "Symbiter" (the firm "OD Prolisok").

Studies conducted on white nonlinear rats which were divided into 4 groups. Animals of I (control) group received within 28 days 0.2 ml water for injection (intraperitoneally (i.p.) and per os). The rats in the second group within 28 days simultaneously were injected blocker of synthesis of hydrochloride acid OM («Sigma», USA) at a dose of 14 mg/kg (i.p.) once a day. The rats in group III within 28 days simultaneously were injected OM and "Symbiter® acidophilic" concentrated at a dose of 0.14 ml/kg. The rats in IV group within 28 days simultaneously were injected OM and "Symbiter forte®" at a dose of 0.14 ml/kg.

It was established that in a day after 28 days of administration of OM concentration of gastrin in the blood serum increased by more than 3 times. At the same time basal gastric acid secretion is increased by almost 3-fold. Ratio of output of gastric acid secretion stimulated by carbachol to output of basal gastric acid secretion was in 1.72 times higher than this ratio in control rats, which is evidence of hyperplasia in the gastric mucosa. Long-term hypoacidity of gastric juice induced by OM resulted in an increase of free oxyproline, hexuronic acids and fucose in gastric mucus, which is the result of increased degradation of protective proteins in epithelial-mucus barrier. In the 28-day suppression of gastric acid secretion by the introduction of OM in the stomach of rats we showed significant reduction in quantitative seed lactobacilli, and 40% of the animals they are not planted. At the same time it was increased colonization of the stomach by opportunistic microflora and fungi of the genus *Candida*. Stomach bacterial spectrum of animal with hypergastrinemia enlarged due to seeding *Clebsiella*, *Enterobacter* and *Proteus*. There was registered also increased contamination of stomach by *Staphylococcus aureus*. Concentration of these opportunistic bacteria reached high level (10^4 - 10^5 cfu/g). Our findings indicate lowering of colonizational resistance of stomach mucous membrane in animals with hypergastrinemia, which may gives possibility for transit of microflora from intestine to stomach through upward current. Thus, prolonged inhibition of gastric acid leads to microecological violations and excessive growth of pathogenic flora, which may be one of the causes of inflammation in the gastric mucosa, which is confirmed by our studies on the content of lipid peroxidation products, oxide-modified proteins and activity of antioxidant enzymes in the homogenate of the gastric mucosa. In the group of rats that were injected simultaneously with the OM "Symbiter acidophilic concentrated" or "Symbiter forte" the concentration of gastrin in the blood serum decreased. Basal and stimulated gastric acid secretion in these rats were significantly lower than in the group, which was administered only OM. Intake by animals of OM and Symbiter was also accompanied by normalization of stomach contamination indices for representatives of opportunistic and normal microflora. There was no registered isolation from stomach of opportunistic bacteria with changed biological properties: hemolytic colibacillus or *Staphylococcus epidermalis* with haemolysis. Quantitative indices of seeding *Staphylococcus aureus* (10 cfu/g) and fungi from the genus *Candida* (10^3 cfu/g) decreased most significantly. Seeding of lactobacteria from stomach in this group of animals increased to 10^7 cfu/g. Also in these animals the degradation of protective mucus proteins decreased, pro-/antioxidative balance normalized and the level of oxide-modified proteins decreased in the homogenate of the gastric mucosa.

We concluded that one of the causes of hyperplasia in the gastric mucosa, leading to changes in gastric secretory function of stomach is dysbacteriosis, which develops against the backdrop of a long-term hypoacidity of gastric juice.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И СИНХРОНИЗАЦИИ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЕ ИСПЫТУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ УПРАВЛЯЕМОГО ДЫХАНИЯ С ИНДИВИДУАЛЬНО ПОДОБРАННОЙ ЧАСТОТОЙ

Бирюкова Е.А., Чужан Е.Н., Заячникова Т.В.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: biotema@rambler.ru

Изучена вариабельность сердечного ритма (ВСР) у 146-ти студентов-волонтеров женского пола в возрасте 20-25 лет с разным типом вегетативной регуляции под влиянием управляемого дыхания (УД) с индивидуально подобранной частотой (ИПЧ), которая соответствует частоте локализации максимального пика мощности в низкочастотном диапазоне спектра сердечного ритма испытуемых.

Целью первой серии исследований явилось определение индивидуально-типологических особенностей ВСР и синхронизации колебательных процессов кардиореспираторной системы (КРС) у испытуемых с разными значениями стресс-индекса (Si).

Целью второй серии исследований явилось изучение модулирующего действия УДИПЧ на показатели ВСР и синхронизации ритмов КРС испытуемых выделенных групп.

Показано, что УД, частота которого соответствует частоте максимального пика мощности в низкочастотном диапазоне спектра сердечного ритма (СР), является мощным средством управления СР и функциональным состоянием кардиореспираторной системы испытуемых с разным типом вегетативной регуляции, о чем свидетельствует оптимизация показателей ВСР, увеличение толерантности сердечно-сосудистой системы к субмаксимальной физической нагрузке и увеличение синхронизации сердечного и дыхательного ритмов.

У испытуемых-симпатотоников изменения изученных показателей происходили в наиболее ранние сроки и были выражены в большей степени; изменения ВСР нормотоников в основном регистрировали, с 5-6-х суток воздействия, а у ваготоников под воздействием УДИПЧ практически не наблюдалось изменений изученных показателей ВСР. Следовательно, модифицирующий эффект УДИПЧ в значительном степени зависит от типа вегетативной регуляции испытуемых.

Отмечено, что превентивное воздействие УДИПЧ приводит к повышению скорости восстановительных процессов, увеличению вагусных воздействий и оптимизации барорефлекторной регуляции, большей активации вегетативного контура регуляции СР после субмаксимальной физической нагрузки, что свидетельствует об оптимизации функционального состояния, увеличении адаптивных возможностей организма и увеличении толерантности к физической нагрузке организма испытуемых, однако в большей степени восстановление изученных показателей ВСР происходит у испытуемых с симпатическим типом вегетативной регуляции.

Выявлена зависимость изменений показателей ВСР испытуемых разных групп от продолжительности курса УДИПЧ: достоверные изменения изучаемых параметров зарегистрированы уже после первых сеансов, а максимальные эффекты – после 9-10-тикатного воздействия. На протяжении последующих 7-ми суток после окончания курса УДИПЧ показатели ВСР испытуемых достоверно отличались от исходных, что указывает на выраженное последствие данного фактора.

Многочисленное воздействие УДИПЧ приводит к увеличению синхронизации колебательных процессов в кардиореспираторной системе испытуемых (Рис.), однако степень синхронизации сердечного и дыхательного ритмов также зависит от типа вегетативной регуляции испытуемых: в большей степени увеличение коэффициента кросс-корреляции происходит у испытуемых-симпатотоников с исходно низкими значениями этого показателя, а в меньшей степени – у ваготоников, характеризующихся исходно высокими значениями данного коэффициента.

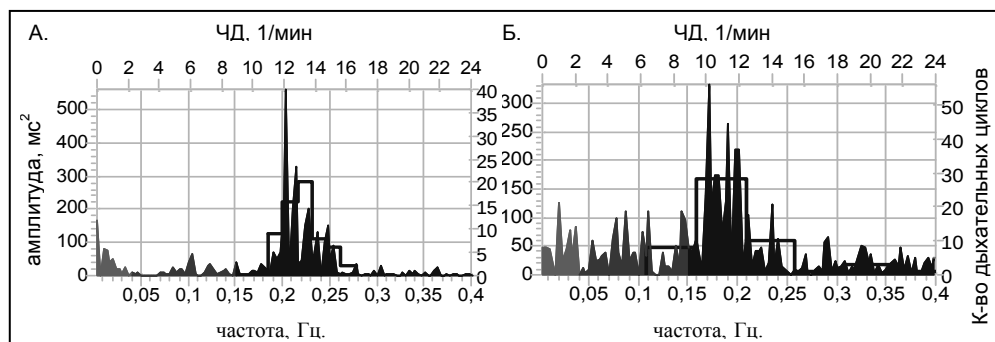


Рис. Нативные спектрограммы кардиосигнала и гистограммы дыхательного ритма у испытуемого 3. со средними значениями Si: А – до УДИПЧ, Б – после 10-тикатного УДИПЧ.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHANGES IN HEART RATE VARIABILITY AND SYNCHRONIZATION OF OSCILLATORY PROCESSES IN CARDIORESPIRATORY SYSTEM PARAMETERS UNDER THE INFLUENCE OF CONTROLLED BREATHING WITH INDIVIDUALLY ADJUSTED FREQUENCY

Birjukova E.A., Chuhan E.N., Zayachnikova T.V.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: biotema@rambler.ru

Heart rate variability (HRV) of 146 female volunteers (20-25 years old) with various types of vegetative regulation under the influence of controlled breathing (CB) with individually adjusted frequency (IFF) is studied. The controlled breathing frequency corresponds to frequency of localization of the maximum peak capacity in a low-frequency range of examinees' heart rate.

Determination of individual characteristics of HRV and oscillatory processes synchronization in cardiorespiratory system (CRS) among examinees with different stress index (Si) was the purpose of the first series of the research.

The study of modulating influence of CBITF on HRV parameters and synchronization of CRS rhythms was the purpose of the second series of the research.

It is shown that CB with frequency corresponding to the frequency of localization of the maximum peak capacity in a low-frequency range of examinees' heart rate (HR) is a powerful mechanism for controlling heart rate and modifying HRV characteristics, which is proved by higher tolerance of cardiovascular system to the submaximum physical activity and increased synchronization of heart and respiratory rhythms.

Changes of the analyzed parameters occurred in the earliest stages and were more vivid among subjects with sympathetic predominance. Changes of HRV of normotonic subjects were generally registered after 5-6 days while almost no changes were observed among subjects with vagal predominance under the CBITF influence. Therefore, modifying CBITF effect in considerable degrees depends on the type of vegetative regulation of examinees.

It is noted that preventive CBITF influence results in acceleration of regenerative processes, increase in vagal influences and optimization of baroreflexory regulation, activation of vegetative contour of HR regulation after the submaximum physical activity that is indicative of functional state optimization, increase in adaptive possibilities of a human organism and higher tolerance to physical activity among examinees. However, restoration of the studied HRV parameters mostly occurs among subjects with sympathetic predominance.

The interdependence of HRV indicators variation and duration of CBITF course is revealed: authentic changes of studied parameters are registered after the first influence, and the maximum effect is observed after 9-10 sessions. HRV indicators of the examinees considerably differed from their initial parameters for 7 days after the end of CBITF course that proves apparent post-action of this factor.

Repeated CBITF influence results in increased synchronization of oscillatory processes in cardiorespiratory system of the examinees (Fig.). However, the extent of synchronization of heart and respiratory rhythms also depends on examinees vegetative regulation type: correction of cross-correlation factor mostly occurs among *subjects with sympathetic predominance* with initially low value of this parameter, and to a lesser extent among *subjects with vagal predominance* characterized by initially high value of the analyzed parameter.

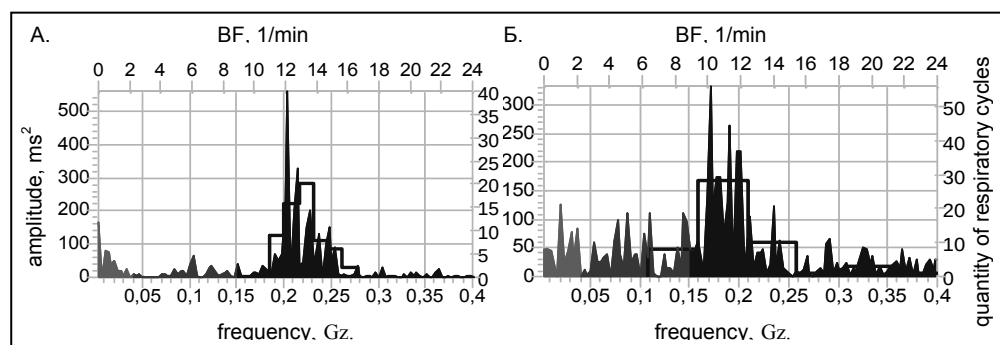


Fig. Native spectrograms of heart signal and respiratory rhythm histograms of the examinee Z. with average Si values:
A – before CBITF, B – after 10 CBITF sessions.

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНЫХ ШУМОВ ПОСТОЯННОГО И КОМБИНИРОВАННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА АДАПТАЦИЮ ГРАВИТРОПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ КОРНЕЙ КРЕСС-САЛАТА И КУКУРУЗЫ

Богатина Н.И., Шейкина Н.В.

Физико-технический институт низких температур НАН Украины, Харьков, Украина
e-mail: bogatina@ilt.kharkov.ua
Национальный Фармацевтический Университету, Харьков, Украина
e-mail: sheykina@ukr.net

Рассмотрено несколько случаев влияния постоянного и комбинированного магнитного поля на гравитропическую реакцию растений.

1. Комбинированное магнитное поле имеет переменную составляющую, которая настроена на циклотронную частоту ионов кальция.
2. Комбинированное магнитное поле имеет переменную составляющую, которая настроена на циклотронную частоту ионов калия.
3. Комбинированное магнитное поле имеет переменную составляющую, которая настроена на циклотронную частоту ионов ауксина.
4. Комбинированное магнитное поле имеет переменную составляющую, которая настроена на циклотронную частоту ионов абсцизовой кислоты.
5. Постоянное магнитное поле.

Во всех пяти случаях скорость адаптации гравитропической реакции корней к воздействию как постоянного, так и комбинированного магнитного поля различна и зависит также от других физических факторов: влажности, времени года, уровня магнитных шумов постоянной составляющей магнитного поля. В некоторых случаях адаптация не наблюдается вообще.

Особенно сильное влияние оказывает магнитный шум при уменьшении индуктивности постоянного магнитного поля и постоянной составляющей комбинированного магнитного поля. Обсуждается предложенная нами модель воздействия магнитных шумов на адаптационные процессы. Определены теоретические границы действующих частот магнитного шума и его амплитуды, как для постоянного, так и для комбинированного магнитного поля.

В целом, делается вывод, что магнитный шум помогает протеканию адаптационных процессов в здоровых клетках. В больных же клетках он может привести к необратимым явлениям.

INFLUENCE OF MAGNETIC NOISES OF STATIC AND COMBINED MAGNETIC FIELD ON ADAPTATION OF GRAVITROPIC REACTION OF CRESS AND MAIS ROOTS

Bogatina N.I., Sheykina N.V.

Institute for Low Temperature Physics and Engineering Of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail :n_bogatina@rambler.ru
National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine
e-mail: sheykina@ukr.net

A few cases of influence of static and combined magnetic-field are considered on the gravitropic reaction of plants.

1. The combined magnetic field has an alternative component that is adjusted on cyclotron frequency of ions of calcium.
2. The combined magnetic field has an alternative component that is adjusted on cyclotron frequency of ions of potassium.
3. The combined magnetic field has an alternative component that is adjusted on cyclotron frequency of ions of auxin.
4. The combined magnetic field has an alternative component that is adjusted on cyclotron frequency of ions of abscisic acid.
5. Static magnetic field.

In all five cases the influence of both static and combined magnetic-field on the roots gravitropic reaction speed of adaptation is different and depends also on other physical factors: humidity, season, level of magnetic noises of static component of combined magnetic-field. In some cases the adaptation is not observed in general.

Especially strong influence of magnetic noise level and frequency is observed while the inductance of static magnetic-field and static component of combined magnetic-field are reduced. The model of influence of magnetic noises on adaptation processes offered by us is discussed. The theoretical "windows" of operating frequencies of magnetic noise and its amplitude are defined, both for static and for combined magnetic-field.

On the whole, we can conclude that magnetic noise helps flowing of adaptation processes in healthy cells. In sick cages it can lead to the irreversible phenomena.

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ЭТАЦИДОМ НА ПЛОДЫ И ЛИСТЬЯ КОФЕ СОРТА РОБУСТА В УСЛОВИЯХ ВЬЕТНАМА

¹Буланцева Е.А., ²Ле Туан Дык, ²Нгуен Тьен Тханг,
¹Проценко М.А., ¹Хотченков В.П.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки, Институт биохимии им. А. Н. Баха
Российской Академии Наук, Москва, Россия.

e-mail: protsenko@inbi.ras.ru

²Институт тропической биологии Вьетнамской Академии наук и технологий
Хошимин, СРВ

В последние годы Вьетнам занял лидирующие позиции в мире по возделыванию плантаций и выращиванию кофе. Он занимает третье место в мире по продаже кофе, экспортируя его более, чем в 30 стран мира. Климатические особенности Вьетнама, где круглый год высокая атмосферная температура и влажность, требуют тщательного подхода к выбору препаратов, используемых при выращивании и обработке плодов кофе.

Изучали влияние обработки физиологически активным комплексным препаратом этацид на ускорение созревания и синхронизацию сбора урожая плодов кофе. Определено содержание в листьях фактора устойчивости – белкового ингибитора полигалактуроназы (БИПГ) и его действие на фермент полигалактуроназу (ПГ) некоторых грибов, патогенных для плодов тропических растений. Проведенный подбор оптимальной концентрации, способа и времени обработки препаратом позволили выявить ускорение созревания плодов кофе, о чем свидетельствовало изменение их окраски с темно-серой до ярко-красной. Обработка этацидом повышала выход и качество плодов, не влияла на их размер, препятствовала развитию физиологических заболеваний.

В листьях кофе выявлена активность БИПГ, которая не изменялась при обработке этацидом. Обнаружено ингибирующее действие БИПГ из листьев кофе на ПГ *Aspergillus* sp. (выделен с плодов манго), *Botrytis cinerea* (виноград), *Botrytis cinerea* (персик), *Fusarium solani* (томат), *Fusarium* sp. (кофе), *Fusarium* sp. (питахайя). Отсутствовало действие БИПГ на ПГ из *Cladosporium* sp. (банан) *Penicillium* sp. (авокадо).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE INFLUENCE OF GROWTH REGULATOR ETHACYDE ON ROBUSTA COFFEE FRUITS AND LEAVES IN VIETNAM

¹*Bulantseva E.A.*, ²*Le Tuan Dyk*, ²*Nguyen Tien Thang*,
¹*Protsenko M.A.*, ¹*Khotchenkov V.P.*

Federal state budget organ of science A. N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia, e-mail: protsenko@inbi.ras.ru

The Institute of Tropical Biology of Vietnam Academy of Sciences and Technology. Hoshimin-sity, SRV

In the last years, Vietnam take leading position in the world on the coffee cultivation and take third place on coffee realization with export in more than 30 country of the word. The climatic characters in Vietnam are high atmospheric humidity and temperature through the year. Such conditions require selection of particular preparations for using at the growth and the treatment of coffee fruits.

The influence of treatment with physiologically active complex preparation ethacyde on the acceleration of aging and the synchronization of yield harvest of coffee fruits was studied. The activity of resistance factor – polygalacturonase inhibiting protein (PGIP) was revealed in the coffee leaves. The effect of PGIP on the activity of the polygalacturonase (PG) of some fungi pathogenic for tropical fruits was tested. Optimal concentration, the mode and the time of treatment with the preparation was selected that result in alteration of the fruit coloration from dark-gray to brightly-red that means the acceleration of coffee fruit aging. The treatment with ethacyde increased the yield and the quality of coffee fruits but had no effect on fruit size. Physiological diseases were decreased in treated fruits.

The activity of PGIP was revealed in coffee leaves that were not changed at ethacyde treatment. The inhibiting effect of PGIP from coffee leaves on PG of *Aspergillus* sp. (isolated from mango fruits), *Botrytis cinerea* (grape), *Botrytis cinerea* (peach), *Fusarium solani* (tomato), *Fusarium* sp. (coffee), *Fusarium* sp. (pitahaya) was detected. The influence of PGIP on PG from *Cladosporium* sp. (banana) *Penicillium* sp. (avocado).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА АДАПТАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ПРИ ТРАВМЕ И ИОНИЗИРУЮЩЕМ ОБЛУЧЕНИИ

Булякова Н.В., Азарова В.С.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия
e-mail: admin@sevin.ru

Скелетная мышечная ткань обладает высокой регенерационной способностью. Однако ее адаптивные возможности определяются тяжестью воздействия повреждающих факторов (1,2). Поиск эффективных методов стимуляции восстановительных процессов в скелетной мышечной ткани до сих пор остается важной проблемой в биологии и медицине. Ранее нами и нашими коллегами был показан положительный эффект лучей He-Ne лазера на регенерацию скелетных мышц, локально облученных в дозе 10-20 Гр (3). Целью данного исследования было показать эффект лазеротерапии на адаптивные процессы в скелетных мышцах у необлученных крыс в условиях регенерации после травмы различной степени тяжести, а также у облученных ионизирующей радиацией крыс при одновременной оценке реактивных изменений в иммунной системе животных.

Исследования проведены с помощью гистологических, морфометрических и цитогенетических методов.

У необлученных взрослых крыс исследовали эффект ИК лазерного излучения (длина волны 0.89 мкм) на восстановление обеих икроножных мышц после сильной механической травмы (измельчение всей мышцы и аутотрансплантация мышечной массы *in situ*). Было проведено 5 процедур по 1 мин в течение 10 сут после операции, суммарно в дозе 1.2 Дж/см² на каждую конечность. Лазеротерапия способствовала увеличению массы 30-суточных регенератов с 0.07±0.01% в контроле до 0.12±0.01% в опыте ($p<0.01$). Лазерное излучение стимулировало формирование нервно-мышечных контактов *de novo*. В результате число регенератов, не способных к сокращению, уменьшалось с 34% в контроле до 17% в опыте. Масса тела крыс снижалась в период лазеротерапии. Однако после ее завершения масса крыс имела тенденцию к увеличению ($p<0.1$), в то время как в контроле масса не изменялась. Это свидетельствует о нормализующем эффекте лазерного излучения на биосинтетические и биоэнергетические процессы в организме в целом при такой обширной травме как полное разрушение структуры обеих икроножных мышц.

У взрослых крыс, облученных в полудозиметрической дозе (6 Гр), исследовали эффект излучения He-Ne лазера (длина волны 0.63 мкм) на регенерацию обеих икроножных мышц после их полной поперечной перерезки. При такой травме структура мышцы разрушается частично, но функциональная активность мышцы и продольное натяжение в ней утрачиваются до тех пор, пока проксимальная и дистальная культя перерезанной мышцы не срастутся. Было проведено 10 процедур по 3 мин в течение 14 сут после операции, суммарно в дозе 4.5-5.4 Дж/см² на каждую конечность. Лазеротерапия оказывала нормализующий эффект на течение реакции воспаления, стимулировала пролиферативную активность клеток, снижала деструктивные процессы в тканях, способствовала большему сохранению функционально активной мышечной ткани. Количество мышечной ткани в 30-суточных регенератах составляло 76.2±2.4% в контроле и 84.2±1.1% в опыте ($p<0.02$). Регенераты сокращались при стимуляции большеберцового нерва электрическим током. В проксимальной половине мышцы сокращения были интенсивнее, чем в дистальной половине. Улучшалось состояние иммунной системы животного. Процент клеток с хромосомными aberrациями, подсчитанными с помощью анафазного метода, снижался в тимусе с 41.0±2.1% до 28.0±4.0% ($p<0.05$), в клетках костного мозга – с 39.1±0.8% до 28.8±1.5% ($p<0.01$).

Таким образом, энергия лазерного излучения низкой интенсивности в изученных дозах и режиме воздействия повышает адаптивную способность скелетной мышечной ткани, регенерирующей после сильного повреждающего воздействия внешних факторов, как механических, так и физических. Снижение цитогенетических повреждений в облученных ионизирующей радиацией клетках тимуса и костного мозга свидетельствует о стимуляции процессов пострадикационного восстановления и об усилении адаптивных возможностей иммунной системы, принимающей, как известно, активное участие в восстановительных процессах.

Литература

1. Женева Р.П. (1974). Нервно-трофическая регуляция пластической активности мышечной ткани. М.: Наука, 239 с.
2. Попова М.Ф. (1984). Радиочувствительность и стимулирующие свойства регенерирующих тканей млекопитающих. М.: Наука, 174 с.
3. Булякова Н.В., Попова М.Ф., Зубкова С.М., Азарова В.С., Ильясова Ш.Г. (1995). Стимуляция регенерации облученных и необлученных скелетных мышц млекопитающих: Лазерная и тканевая терапия. М.: Наука, 154 с.

EFFECT OF LASER RAYS ON ADAPTIVE PROCESSES IN SKELETAL MUSCLES UNDER TRAUMA AND IONIZING RADIATION

Bulyakova N.V., Azarova V.S.

Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: admin@sevin.ru

Skeletal muscle tissue has a high regenerative capacity. However, its adaptive capabilities are determined by the degree of the damage to muscles (1,2). The search for effective methods for stimulation of skeletal muscle recovery still remains an important problem in biology and medicine. Earlier we and our colleagues showed the positive effect of He-Ne laser on regeneration of the local irradiated (at 20 Gy) traumatized skeletal muscles (3).

The aim of this study was to show the effect of laser therapy on the adaptive processes in skeletal muscles regenerating after different mechanical traumas for non-irradiated and irradiated by ionizing radiation rats. Moreover, in irradiated animals, reactive changes in the immune system were tested.

Investigations were carried out using the histological, morphometric and cytogenetic methods.

In non-irradiated adult rats, the effect of infrared laser light (wavelength of 0.89 μm) on the restoration both gastrocnemius muscles was studied after severe mechanical trauma (autotransplantation *in situ* minced gastrocnemius muscle). Five exposures, 1 min each, were performed during the first 10 days after surgery. The total dose for treatment course was 1.2 J/cm² per limb. Laser therapy promoted the increase of mass 30-day regenerates from 0.07 $\pm$ 0.01% in the control to 0.12 $\pm$ 0.01% in the experiment ($p < 0.01$). Laser radiation stimulated the formation of neuromuscular contacts *de novo*. In a result, the quantity of muscle regenerates with unregeneration contractile function decreased from 34% in the control up to 17% in the experiment. Body mass of rats decreased during laser therapy. However, after the completion of laser therapy, the mass of the rats tended to increase ($p < 0.1$), while the rat body mass in control did not change. This demonstrates the normalizing effect of laser radiation on bioenergetic and biosynthetic processes in the organism as a whole after such extensive injuries as a complete breakdown of the structure of both gastrocnemius muscles.

In adult rats exposed to semilethal dose (6 Gy,) the effect of He-Ne laser (wavelength of 0.63 μm) on the regeneration of both gastrocnemius muscles was investigated after muscle cut across. Under this injury, the muscle structure is partially destroyed, but the functional activity of the muscle and the longitudinal tension in it lost as long as the proximal and distal stumps of muscle do not grow together. Ten exposures, 3 min each, were performed during the first 14 days after surgery. Total dose was equal to 4.5-5.4 J/cm² for each limb. Laser therapy exerted a normalizing effect on the course of inflammation reaction, stimulated the proliferative activity of cells, reduced the destructive processes in the tissues, contributed to greater conservation of functionally active muscle tissue. The quantity of muscle tissue in the 30-day regenerates was equal to 76.2 $\pm$ 2.4% in controls and 84.2 $\pm$ 1.1% in the experiment ($p < 0.02$). All regenerates contracted under the stimulation of the tibial nerve with electrical impulses. The contractions in the proximal half of the muscles were more intense than in the distal one. The state of immune system was improved. The percentage of cells with chromosome aberrations calculated using anaphase method decreased in the thymus from 41.0 $\pm$ 2.1% to 28.0 $\pm$ 4.0% ($p < 0.05$), and in bone marrow cells from 39.1 $\pm$ 0.8% to 28.8 $\pm$ 1.5% ($p < 0.01$).

Taken together, this data indicate that the energy of low intensity laser radiation in the studied doses and regimens of exposures increases the adaptive capacity of regenerating skeletal muscles even after effect of severe damage external factors, both mechanical and physical. Reduction of cytogenetic damage in cells of the thymus and bone marrow exposed to ionizing radiation evidences the stimulation of postradiation recovery and strengthening the adaptive capacity of immune system which as known is actively involved in the recovery processes.

References

1. Zhenevskaya R.P. (1974). Neurotrophic regulation of plastic activity in muscle tissue. M.: Nauka, 239 pp.
2. Popova M.F. (1984). Radiosensitivity and stimulative properties of regenerating tissues in mammalia. M.: Nauka, 174 pp.
3. Bulyakova N.V., Popova M.F., Zubkova S.M., Azarova V.S., Ilyasova Sh.G. (1995). Stimulation of regeneration in irradiated and non-irradiated skeletal muscles of mammalia: Laser and tissue therapy. M.: Nauka, 154 pp.

УПРАВЛЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫМИ ПРОЦЕССАМИ РАСТЕНИЙ *AMARANTHUS L.* В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ С ПОМОЩЬЮ ГИДРОКСИЛАМИНА В ЦЕЛЯХ ПОВЫШЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СКВАЛЕНА В МАСЛЕ СЕМЯН

Воронов И.В., Шеин А.А., Поскачина Е.Р.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Российская Федерация.
e-mail: viv_2002@mail.ru

Изучение влияния различных химических агентов и выявление механизмов адаптационных возможностей растительного организма на физиологическом и биохимическом уровне у сортовых видов растений в целях селективного отбора остаётся первостепенной задачей в экологическом и сельскохозяйственном направлениях. Известно, что химические мутагены, в малых концентрациях способны вызывать различные стимулирующие эффекты, применяемые в селекции (индуцированный мутагенез), с целью повышения адаптивного потенциала в экстремальных условиях произрастания, урожайности и/или улучшения хозяйственно-ценных признаков (1). Известно, что гидроксилламин (NH_2OH) дезаминирует азотистые основания нуклеотидов и проявляют свою активность вне зависимости от состояния митотической активности клетки (2).

Цель работы – исследование физиолого-биохимических адаптивных реакций двух сортов амаранта «Чергинский» и «Янтарь», интродуцированных в условиях Центральной Якутии, при предпосевной обработке семян 0,1–1,5% растворами гидроксилламина, направленных на увеличение содержания сквалена в масляной фракции.

Показатель лабораторной выживаемости 30-ти дневных проростков исходных семян сорта «Чергинский» во всем диапазоне изученных концентраций гидроксилламина был ниже либо равен контрольному значению; для сорта «Янтарь» отмечен выраженный стимуляционный эффект (увеличение в 1,7–2,1 раз) влияния предпосевной обработки гидроксилламином на данный показатель.

После высадки в открытый грунт семена, обработанных гидроксилламином, проведены исследования физиолого-биохимических параметров вегетирующих растений и их семенного потомства. Адаптивной реакцией на действие химического агента является угнетение процессов, направленных на синтез хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в листьях растений, собранных в конце июля, что свидетельствует об уменьшении числа компонентов светособирающего комплекса и реакционных центров фотосистем I и II. Во всем диапазоне исследуемых концентраций гидроксилламина (0,1–1,5%) наблюдается тенденция к снижению содержания водорастворимых белков в листьях амаранта сортов «Чергинский» и «Янтарь». Выявлен стимуляционный эффект действия гидроксилламина в концентрациях 0,1 и 0,5% для сорта «Чергинский», выраженный в увеличении в 1,4 раза данных показателей, что указывает на сортоспецифичность рассматриваемого воздействия. На специфичность оказываемого воздействия в зависимости от сорта растения.

Показатель массы 1000 семян, независимо от концентрации гидроксилламина, не отличался от контрольных значений. При этом по содержанию сквалена в масле, полученном путем холодного отжима семян первого поколения (F1), выявлена стимулирующая концентрация гидроксилламина при предпосевной обработке семян – 1,5%, которая позволяет в экстремальных климатических условиях многолетнемерзлых грунтов в поколении F1 получать семена, содержащие до 8,7 – 8,9% сквалена в амарантовом масле, что превышает в 1,7 и 2,4 раза аналогичные значения для сортов «Янтарь» и «Чергинский» новосибирской репродукции, соответственно.

Проведенные биохимические исследования проростков семян первого поколения указывают на прямую корреляционную зависимость ($r=0.8$) между содержанием низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) и интенсивностью процессов, направленных на перекисное окисление липидов (ПОЛ), в тканях проростков семян амаранта сорта «Чергинский» при действии химического стресс-фактора – гидроксилламина, при этом в диапазоне концентраций 0,5–1,0% наблюдается активация в 1,5–2,2 синтеза НМАО на фоне ускорения в 1,1–1,3 раза процессов ПОЛ. Для проростков семян сорта «Янтарь» наблюдается разбалансировка в работе прооксидантно-антиоксидантной системы во всем диапазоне действующих концентраций гидроксилламина.

Таким образом, адаптивная реакция амаранта к действию гидроксилламина в диапазоне концентраций 0,1–1,5% проявляется в изменении физиолого-биохимических реакций и является сортоспецифичной. Выявлено, что предпосевная обработка семян амаранта сортов «Чергинский» и «Янтарь» 1,5%-ным раствором гидроксилламина способна приводить к значительному увеличению содержания сквалена в масле семян, указывая на возможность применения химического мутагенеза для улучшения хозяйственно-ценных признаков растений.

Литература

1. Дубинин Н.П. Индуцированные мутации и селекция// С.-х. биология. 1966. Т. 1. № 2.С. 189-198.
2. Сойфер В. Н. Молекулярные механизмы мутагенеза. М.: Изд. «Наука». 1969. 511 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTIVE PROCESSES MANAGEMENT OF *AMARANTHUS L.* IN THE CONDITIONS OF THE CENTRAL YAKUTIA BY MEANS OF THE HYDROXYLAMINE FOR INCREASING OF SQUALENE CONCENTRATION IN OIL OF SEEDS

Voronov I.V., Sheyin A.A., Poskachina E.R.

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia
e-mail: viv_2002@mail.ru

Studying out influence of various chemical agents on mechanisms of adaptive possibilities of a vegetative organism at physiological and biochemical level at high-quality types of plants with a view of selective selection remains a paramount task in the ecological and agricultural directions. It is known that chemical mutagens in small concentration are capable to cause various stimulating effects applied in selection (the induced mutagenesis), for the rising of adaptive potential in extreme conditions of growth, productivity and/or improvement of economic and valuable signs (1). It is known that a hydroxylamine (NH_2OH) deaminate the nitric bases of nucleotides and show the activity regardless of a condition of mitotic activity of a cell (2).

The work purpose – research of physiology-biochemical adaptive reactions of two breeds of an amaranth "Cherginsky" and "Yantar", introduced in the conditions of the Central Yakutia, at preseeded processing of seeds of 0,1-1,5 % by solutions of the hydroxylamine, referred on augmentation of the maintenance of a squalene in oil fraction.

The indicator of laboratory survival rate of 30 day sprouts of initial seeds of breed "Cherginsky" in all range of the studied concentration of a hydroxylamine was lower or is peer to control value; for a breed "Yantar" is noted the expressed stimulation effect (increasing in 1,7–2,1 times) influences of preseeded processing by a hydroxylamine on this indicator.

After disembarkation in open soil of the seeds processed by a hydroxylamine, researches of physiology-biochemical parameters of plants and their seed posterity are carried out. Adaptive reaction to action of the chemical agent is oppression of the processes referred on synthesis of a chlorophyll a and b and carotenoids in leaves of the plants collected at the end of July that testifies to decrease of number of components of a light collecting complex and the reactionary centers of photosystems I and II. In all range of studied concentration of a hydroxylamine (0,1-1,5 %) the tendency to depression of the content of water-soluble proteins in leaves of an amaranth of grades "Cherginsky" and "Yantar" is observed. The stimulation effect of action of a hydroxylamine in concentration of 0,1 and 0,5 % for a breed "Cherginsky", expressed in augmentation in 1,4 times of these indicators that points to specificity of rendered influence depending on a plant breed.

The indicator - mass of 1000 seeds, irrespective of concentration of a hydroxylamine, didn't differ from control values. Thus according to the maintenance of a squalene in the oil received by a cold extraction of seeds of the first generation (F1), stimulating concentration of a hydroxylamine is taped at preseeded processing of seeds – 1,5 % which allows in extreme climatic conditions of permafrost soil in generation of F1 to receive the seeds containing to 8,7 – 8,9 % of a squalene in oil that exceeds in 1,7 and 2,4 times similar values for grades "Yantar" and "Cherginsky" a Novosibirsk reproduction, respectively.

The carried-out biochemical researches of first generation sprouts indicate direct correlation dependence ($r=0.8$) between the maintenance of low-molecular antioxidants (LMAO) and intensity of the processes referred on lipid peroxidation (LP), in sprout tissues of an amaranth "Cherginsky" at action chemical a stress factor – a hydroxylamine, thus in a range of concentration of 0,5-1,0 % activation in 1,5–2,2 syntheses of LMAO against acceleration in 1,1–1,3 times of LP processes is observed. For sprouts of breed "Yantar" is observed disbalance in work of pro-oxidative/antioxidative system in all range of operating concentration of a hydroxylamine.

Thus, adaptive reaction of an amaranth to hydroxylamine action in a range of concentration of 0,1-1,5 % is shown in change of physiology-biochemical reactions and depends on breed. It is taped that preseeded processing of amaranth seeds of "Cherginsky" and "Yantar" of 1,5% solution of a hydroxylamine is capable to lead to significant increase in the maintenance of a squalene in oil of seeds, pointing to possibility of application of a chemical mutagenesis for improvement of economic and valuable signs of plants.

References

1. Dubinin N.P. Inducted mutations and selection // Agricultural biology. 1966. V. 1. № 2. P. 189-198.
2. Soyfer V.N. Molecular mechanisms of a mutagenesis. Moscow "Science". 1969. 511 p.

ОТВЕТНЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ СЕМЯН *AMARANTHUS L.* НА ДЕЙСТВИЕ ПРЕДПОСЕВНОГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ

Воронов И.В., Журавская А.Н., Поскачина Е.Р.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Российская Федерация
e-mail: viv_2002@mail.ru

Высокая продуктивность и экологическая пластичность многих видов растений рода *Amaranthus L.*, ценность химического состава семян и фитомассы, устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, к вредителям и болезням дает возможность отнести амарант к числу растений универсального назначения – пищевого, кормового, лекарственного и декоративного. Цель исследований – влияние предпосевного облучения семян амаранта на физиологические и биохимические характеристики его семенного потомства, выращенного в условиях криолитозоны.

Эксперимент проводили на амаранте сорта "Чергинский" с предпосевной обработкой семян γ -квантами Co^{60} в диапазоне доз от 0,5 до 1000,0 Гр. Сорт «Чергинский» имеет высокую пластичность, рекомендован для возделывания в самых разнообразных условиях, в том числе и в Якутии.

Установлено, что острое радиационное воздействие на родительские формы (Р) по-разному повлияло на физиологические и цитолого-биохимические характеристики последующих двух поколений амаранта. В поколении F_1 произошло немонокотное увеличение массы семян и изменение выживаемости 30-ти дневных проростков по всей кривой «доза-эффект», начиная с варианта 50 Гр. Поколение F_2 статистически достоверно снизило массу семян и выживаемость проростков относительно родителей.

В клетках проростков F_1 и F_2 наблюдалось статистически достоверное снижение активности пероксидазы при всех вариантах острого облучения. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) у F_1 было снижено или находилось на уровне контрольного значения, а у F_2 происходило значительное увеличение НМАО (в $10 \div 38$ раз) на фоне увеличения (в $1,3 \div 10,3$ раз) интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

Показано, что эффективности работы ДНК и белоксинтезирующих систем клеток при всех дозах облучения семян родителей у потомства первого и второго поколений изменялись немонокотно, однако общей тенденцией для F_1 и F_2 явилось увеличение геномной активности относительно контрольного значения.

Репаративная способность клеток F_1 не имела прямой достоверной зависимости от дозы облучения семян Р, тогда как у F_2 данный показатель превышал контрольные значения. Скорость деления клеток у F_1 и F_2 также изменялась нелинейно с замедлением клеточного деления в зависимости от возрастания дозы облучения родителей.

Подобные отдаленные последствия действия радиации описаны у многих видов растений (1, 2). Это связывают с тем, что геном растений вводится в состояние нестабильности за счет стресса, полученного родителями (острое облучение γ -квантами), способного возникнуть в клеточных системах в ответ на действие любых факторов определенной силы, при генетической предрасположенности или спонтанно. Одновременно фиксируется стимуляция или ингибирование биохимических процессов (3, 4). Механизм этого явления до конца не изучен, но это позволяет найти и вычленить растения по физиологическим и цитолого-биохимическим признакам с особыми качествами, необходимыми для дальнейшего отбора.

Литература

1. Мобильность генома растений. М.: Агропромиздат, 1990. 272 с.
2. Позолотина В.Н. Отдаленные последствия действия радиации на растения. Екатеринбург: Академкнига, 2003. 244 с.
3. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений, Киев, 1989. - 380 с.
4. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001, т.41. №3. С.272-289.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

RECIPROCAL PHYSIOLOGY-BIOCHEMICAL REACTIONS OF SEED SPROUTS OF *Amaranthus L.* ON ACTION PRESEEDING γ -RADIATION

Voronov I.V., Zhuravsky A.N., Poskachina E.R.

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia.
e-mail: viv_2002@mail.ru

High efficiency and ecological plasticity of many species of sort *Amaranthus L.*, value of a chemical composition of seeds and phytomass, fastness to adverse factors of environment, to wreckers and illnesses gives the chance to carry an amaranth to number of plants of universal appointment – alimentary, fodder, medicinal and decorative. The purpose of researches – influence of preseeding γ -radiation of seeds of an amaranth on physiological and biochemical characteristics of its seed posterity which has been grown up in conditions of permafrost.

Experiment carried out on a grade amaranth "Cherginsky" with preseeding processing of seeds γ -quants of Co^{60} in a range of doses from 0,5 to 1000,0 Gr. The breed "Cherginsky" has high plasticity, is recommended for cultivation in the most various conditions, including in Yakutia.

It is established that acute radiation impact on parent forms (P) variously affected physiological and physiology-biochemical characteristics of the subsequent two generations of an amaranth. In generation of F_1 there was a nonmonotonic increasing of seed mass and change of survival rate of 30 day sprouts on all curve "dose effect", since option 50 of Gr. F_2 generation statistically authentically reduced mass of seeds and survival rate of sprouts concerning parents.

In cells of sprouts of F_1 and F_2 statistically authentic depression of activity of a peroxidase was observed at all options of acute radiation. The maintenance of low-molecular antioxidants (LMAO) at F_1 was lowered or was at level of control value, and F_2 had a significant increase in NMAO (in $10 \div 38$ time) against increasing (in $1.3 \div 10.3$ times) of lipid peroxidation (LP) intensity.

It is shown that overall performance of DNA and protein synthesis systems of cells at all exposure doses of seeds of parents at posterity of the first and second generations changed not monotonously, however the general tendency for F_1 and F_2 was the increasing of genomic activity of rather control value.

Reparative ability of F_1 cells had no direct authentic dependence on an exposure dose of seeds of P whereas at F_2 this indicator exceeded control values. Rate of cell fission at F_1 and F_2 also changed not linearly with retardation of cellular division depending on ascending of an exposure dose of parents.

The similar remote consequences of action of radiation are described at many types of plants (1, 2). It bind to that the genome of plants is entered into an instability condition at the expense of a stress got by parents (acute radiation γ -quants), capable to arise in cellular systems in reply to action of any factors of a certain force, at genetic predisposition or it is spontaneous. Stimulation or inhibition of biochemical processes (3, 4) is at the same time fixed. The mechanism of this phenomenon up to the end isn't studied, but it allows to find and separate out plants on physiological and cytology-biochemical signs with the special qualities necessary for further selection.

References

1. Mobility of a genome of plants. M: Agropromizdat, 1990. 272 p.
2. Pozolotina V. N. The remote consequences of action of radiation on plants. Yekaterinburg: Akademkniga, 2003. 244 p.
3. Grodzinsky D.M. Radiobiology of plants. Kiev. 1989. 380 p.
4. Mazurik V. K., Mikhaylov V. F. Radiative induced instability of a genome // Radiative biology. Radioecology. 2001, V.41. N. 3. P. 272-289.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОМАКЛОНАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ВОЛЬФИИ БЕСКОРНЕВОЙ

Галицкая А.А., Селиванов Н.Ю., Селиванова О.Г., Соколов О.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (ИБФРМ РАН) Саратов, Россия
e-mail: selivanov@ibppm.sgu.ru

Различные виды рясковых способны развиваться в водных системах с высокой степенью антропогенного загрязнения и участвовать в процессах биodeградации органических поллютантов различной природы и/или биоаккумуляции ионов тяжелых металлов с высоким индексом обогащения (1). Внутри одной популяции растения могут в значительной степени различаться по степени устойчивости к действию внешних факторов (2). Подобная изменчивость в пределах одного биотопа определяется генетической и функциональной гетерогенностью природных популяций и позволяет формировать различные фенотипы, отличающиеся по широкому спектру признаков, в том числе по устойчивости к действию поллютантов органической и неорганической природы. Важно отметить, что в популяциях рясковых растений размножение растений происходит вегетативным путем – почкованием и основным источником появления новых фенотипов является соматическая изменчивость.

В наших экспериментах соматическую изменчивость вольфии бескорневой индуцировали синтетическим гербицидом ауксинового ряда – 2,4-D, обладающим мутагенными свойствами, и ингибитором деления клеток, а именно тубулинового цитоскелета – колхицином. Растения выращивали на 1/5 среды Гамборга В-5. Культивирование растений вольфии в присутствии 2,4-D показало, что введение его в среду в концентрации 1 – 20 мкМ приводит к заметному ускорению вегетативного размножения и к значительному приросту сырой биомассы. Однако, при увеличении концентрации до 50 – 100 мкМ наблюдается ингибирование роста и развития растений, что проявляется в ингибировании процесса почкования и появлении мутантных форм растений. Аналогичная картина наблюдается при использовании колхицина в диапазоне концентраций от 0,001 до 0,5%. В результате до 20% выживших растений проявляют фенотипическую изменчивость.

Среди наблюдаемых вариаций можно выделить три основных типа. Первый проявляется в изменении ростовых параметров – средних размеров растений вольфии. Были получены макро- и микроформы, размеры которых были соответственно в 2 раза больше и в 1,5 раза меньше размеров исходных растений. Стабильность макро- и микроформ в процессе длительного культивирования существенно отличалась, что позволяет предполагать участие разных механизмов в их образовании. Увеличенные размеры растений сохраняются при пассажах в течение многих поколений без изменения способности растений к миксотрофному (фото-гетеротрофному) типу питания. Второй тип изменений проявляется в виде образования конгломератов неразделившихся растений. Вероятно, в этом случае могут быть затронуты механизмы биосинтеза и дифференцировки клеточных стенок растений. Третий тип изменений затрагивает механизм биосинтеза пигментного аппарата и проявляется в формировании желтых и белых форм растений. Однако эти изменения не затрагивают способности вольфии к вегетативному размножению и гетеротрофному питанию.

Показано, что чувствительность вольфии к действию 2,4-D зависит от освещенности. Так, при культивировании на свету была отмечена большая токсичность ауксина: концентрация 20 мкМ обеспечивала уже вызывает ингибирование вегетативного размножения растений. В темноте токсичность 2,4-D была гораздо менее выражена и не приводит к массовой гибели растений. Образование неразделившихся форм происходит преимущественно на свету, тогда как образование крупных растений – выше при культивировании в темноте. Возможно, это связано с различиями в действии препарата при различных типах метаболизма. Выявленные фенотипические изменения проявляются на целых растениях а не в процессе регенерации из каллусной культуры (3) и сохраняются на протяжении многих поколений и пассажей. Этот факт предполагает, что изменениям подвергаются инициальные меристематические клетки, формирующие измененные растения после деления почкованием. Важно отметить, что образование аналогичных фенотипов происходит под действием соединений с разным механизмом действия.

Образование широкого набора стабильных фенотипически измененных растений вольфии можно рассматривать как проявление универсального механизма эволюции популяции водных растений в частности при адаптации их к действию ксенобиотиков. С другой стороны, образование нескольких типов фенотипически измененных клонов растений вольфии можно рассматривать как проявление генетической детерминированности процесса соматической изменчивости.

Полученные данные позволяют охарактеризовать вольфию бескорневую как перспективный биотехнологический объект и источник получения селекционных форм для фитобиоценозов с высокой продуктивностью или использования таких форм для биоремедиации водоемов и в целях биотехнологического производства.

Литература

1. Körner S., Vermaat J.E., Veenstra S. (2003) The capacity of duckweed to treat wastewater: ecological considerations for a sound design. J. Environ. Qual. 32: 1583 – 90.
2. Mazzeo N., Dardano B., Marticorena A. (1998) Interclonal variation in response to simazine stress in *Lemna gibba* (Lemnaceae). Ecotoxicology. 7: 151 – 60.
3. Slovin J.P., Cohen J. (1998) Levels of indole-3-acetic acid in *Lemna gibba* G-3 and a large *Lemna* mutant regenerated from tissue culture. Plant. Physiol. 86: 522 – 26.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

STUDY OF SOMACLONAL VARIABILITY IN ROOTLESS DUCKWEED (*WOLFFIA ARRHIZA* L.) PLANTS

Galitskaya A.A., Selivanov N.Yu., Selivanova O.G., Sokolov O.I.

State Establishment of Science the Russian Academy of Sciences' Institute of Biochemistry and Physiology
of Plants and Microorganisms (IBPPM RAS), Saratov, Russia.
e-mail: selivanov@ibppm.sgu.ru

Various species of the *Lemnaceae* are able to develop in aquatic systems that are highly polluted anthropogenically and also to participate in the biodegradation of organic pollutants of various natures and in the accumulation of heavy metal ions (1). Within one population, plants may differ substantially in the extent of their tolerance to external factors (2). Such variability within one biotope is determined by the genetic and functional heterogeneity of the population and allows various phenotypes to be formed that differ as to a wide range of traits, including tolerance to various pollutants. It is important to note that in populations of the *Lemnaceae*, plants multiplication occurs by vegetative (bud) reproduction and that somaclonal variability is the major source of new phenotypes.

In our experiments, the somaclonal variability of *W. arrhiza* was induced with 2,4-D, a synthetic herbicide with mutagenic properties, and with colchicine, an inhibitor of cell division, namely the tubulin cytoskeleton. Plants were grown on Gamborg's medium B-5 (1/5 of the initial concentration). Culturing of *W. arrhiza* in the presence of 2,4-D showed that at 1 – 20 μ M, the herbicide brought about a noticeable enhancement of vegetative reproduction and a considerable increment in raw biomass. However, when the concentration was increased to 50 – 100 μ M, the growth and development of the plants were inhibited, which was manifested as the suppression of bud reproduction and the emergence of mutant plant forms. A similar picture was observed when colchicine was used in the concentration range 0.001 – 0,5%. As a result, up to 20% of the survivor plants demonstrated phenotypic variability.

Among the variations observed, three major types could be sighted out. The first type manifested itself as a change in the growth parameters – the average sizes of the *Wolffia* plants. We obtained macro- and microforms whose sizes were 2-fold greater and 1.5-fold smaller, respectively, than the sizes of the initial plants. The macro- and microforms differed in their stability in the process of prolonged cultivation, which enables the involvement of different mechanisms in their formation to be suggested. The increased plant sizes are retained during passages throughout many generations, without any change in the plant's capacity for the mixotrophic (photo-heterotrophic) type of nutrition. The second type of changes was manifested as the formation of aggregations of undivided plants. Probably, this case involves mechanisms responsible for the biosynthesis and differentiation of plant cell walls. The third type of changes involved the mechanism of biosynthesis of the pigment apparatus and was manifested as the formation of yellow and white plant forms. However, these changes did not affect the capacity of *Wolffia* for vegetative reproduction and heterotrophic nutrition.

We showed that the sensitivity of *Wolffia* to 2,4-D depended on lighting conditions. More specifically, when the plant was cultured under light, the toxicity of the auxin was greater: a concentration as low as 20 μ M inhibited the vegetative reproduction of *Wolffia*. In the dark, the toxicity of 2,4-D was much lower and did not lead to mass plant death. The formation of undivided forms occurred mostly under light, whereas the formation of large plants we observed during cultivation in the dark. Possibly, this has to do with differences in the action of preparation for different types of nutrition. The revealed phenotypic changes are manifested in whole plants, and not the process regeneration from callus culture (3), and are retained throughout many generations and passages. This fact presupposes that the changes occur in the initial meristematic cells, when form altered plants after division by budding. It should be noted that the formation of analogous phenotypes occurs under the influence of compounds with different mechanisms of action.

The formation of a wide set of stable, phenotypically changed *Wolffia* plants can be considered to be a manifestation of a universal mechanism of aquatic plant resistance, in particular during plant adaptation to xenobiotic action. On the other hand, the formation of several types of phenotypically changed *Wolffia* clones can be considered to be a manifestation of the genetic determinancy of the somaclonal variability process.

The obtained data permit *W. arrhiza* to be characterized as a promising biotechnological object and source of obtainment of selection forms for high-performance phytobiocenoses or of the use of such forms in the bioremediation of water bodies and for the purposes of biotechnological production.

References

1. Körner S., Vermaat J.E., Veenstra S. (2003) The capacity of duckweed to treat wastewater: ecological considerations for a sound design. J. Environ. Qual. 32: 1583 – 90.
2. Mazzeo N., Dardano B., Marticorena A. (1998) Interclonal variation in response to simazine stress in *Lemna gibba* (*Lemnaceae*). Ecotoxicology. 7: 151 – 60.
3. Slovin J.P., Cohen J. (1998) Levels of indole-3-acetic acid in *Lemna gibba* G-3 and a large *Lemna* mutant regenerated from tissue culture. Plant. Physiol. 86: 522 – 26.

ВЛИЯНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

¹Гроза Н.В., ¹Дородникова Е.А., ²Гесслер Н.Н., ¹Белозерская Т.А.

¹Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
e-mail: miagkova@mail.ru

²Учреждение Российской Академии Наук Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

Оксилипины - продукты окисления природных полиненасыщенных жирных кислот - играют важную биологическую роль в регуляции адаптационных реакций микроорганизмов. Актуальной задачей является исследование влияния экзогенных ненасыщенных жирных кислот на жизненно важные процессы микроскопических грибов, а также на процессы их адаптации к действию различных факторов природной среды.

Ряд работ, проведенных на различных штаммах грибов, указывает на связь синтеза каротиноидов и других биологически активных веществ с защитой микроорганизма от фотодинамического действия активных форм кислорода (АФК), образующихся на свету. Известна также способность ненасыщенных жирных кислот регулировать процессы перекисного окисления липидов, ослабляя или усиливая оксидативный стресс, вызванный изменением длительности освещения, температуры, притока кислорода.

Штамм мицелиального гриба-аскомицета *Neurospora crassa* был выбран в качестве модели исследования. *Neurospora crassa* характеризуется наличием циклов полового размножения (образование перитециев, асков) и бесполого (образование конидий). Для исследования адаптационных реакций грибов применены полученные нами методом полного химического синтеза оксилипины: 3-HETE (3(R)-гидрокси-(5Z,8Z,11Z,14Z)-эйкозатетраеновая кислота), 18-HODE (18-гидрокси-(9Z,12Z)-октадекадиеновая кислота), которые добавляли к культуре *Neurospora crassa* в микромолярных (1-20 мкМ) и миллимолярных (10-30 мМ) концентрациях. В качестве вещества сравнения использовали природную линолевую кислоту – LA (9Z,12Z-октадекадиеновую кислоту).

В результате проведения биохимических экспериментов было выяснено, что стрессовые условия, голодание по источникам азота и углерода, стимулируют биосинтез каротиноидов у *N.crassa*. При добавлении в питательную среду оксилипинов (3-HETE и 18-HODE) до миллимолярных концентраций (10 и 30 мМ) был произведен подсчет количества образованных каротиноидов в клетках *N.crassa*. Интенсивность каротиногенеза оценивали по величине оптической плотности спиртового экстракта каротиноидов при 475 нм до и после действия света на мицелий путем повтора экспериментов для достижения статистической достоверности. Было выявлено, что 3-HETE в миллимолярных концентрациях ингибирует образование каротиноидов. Такие большие концентрации производных ненасыщенных жирных кислот, по-видимому, вызывают жировой стресс у гриба. Было показано, что 18-HODE в концентрациях 5-10 мкМ в среде способствует увеличению продукции каротиноидов, для аналогичных концентраций 3-HETE такой эффект не наблюдали. Также было выяснено при помощи динитрофенилгидразинового метода, что 3-HETE в микромолярных концентрациях в среде повышает содержание карбонильных групп в белках клеток *N.crassa*. Это косвенно указывает на развитие оксидативного стресса под влиянием данного соединения. Кроме того, добавление 3-HETE к культуре *N.crassa* приводило к ингибированию светозависимого образования конидий у гриба. По результатам этих исследований можно предположить, что оксилипин 3-HETE является усиливающим стресс фактором для гриба *N.crassa*.

EFFECT OF FATTY ACIDS ON ADAPTIVE REACTIONS OF MYCELIAL FUNGI

¹Groza N.V., ¹Dorodnikova E.A., ²Gessler N.N., ²Belozerskaya T.A.

¹ Moscow Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia
e-mail: miagkova@mail.ru

² Institute of Biochemistry named after A.N. Bach (RAS), Moscow, Russia

Oxylipins - natural oxidized polyunsaturated fatty acids - play an important biological role in the regulation of adaptive responses of microorganisms. Actual problem is to study the effect of exogenous unsaturated fatty acids on the vital processes of microscopic fungi, as well as the processes of their adaptation to the action of various factors of the environment.

A number of works carried out on different strains of fungi, shows the connection of synthesis of carotenoids and other bioactive substances to the protection of microorganisms from the photodynamic action of reactive oxygen species (ROS) generated in the light. It is known unsaturated fatty acids regulate lipid peroxidation, reducing or increasing the oxidative stress caused by changes in the duration of light, temperature and oxygen supply.

Strain mycelial ascomycete fungus *Neurospora crassa* has been chosen as a model for the study. *Neurospora crassa* is characterized by cycles of sexual reproduction (the formation of perithecia, asci) and asexual (conidia formation). To study the adaptive response of fungi we obtained oxylipins using the total chemical synthesis: 3-HETE (3(R)-hydroxy-(5Z,8Z,11Z,14Z)-eicosatetraenoic acid), 18-HODE (18-hydroxy-(9Z,12Z)-octadecadienoic acid), which were added to the culture *Neurospora crassa* in the micro molar (1-20 mM) and mili molar (10-30 mM) range of concentrations. As a substance of comparison the natural linoleic acid – LA (9Z,12Z-octadecadienoic acid) – was used.

As a result of biochemical experiments, it was found that stressful conditions, starvation for nitrogen and carbon sources, stimulate the biosynthesis of carotenoids in *N.crassa*. When we added to the culture medium oxylipins (3-HETE и 18-HODE) to mili molar concentrations (10 and 30 mM) the number of formed carotenoids was counted in the cells *N.crassa*. The intensity of carotenogenesis was assessed by the magnitude of the optical density of the alcoholic extract of carotenoids at 475 nm before and after the action of light on the mycelium by repeating experiments in order to achieve statistical significance. It was found that 3-HETE in mili molar concentrations inhibits the formation of carotenoids. Such high concentrations of unsaturated fatty acids derivatives, appears to cause fatty stress in the fungus. It was shown that 18-HODE at concentrations 5-10 mM in the medium increases the production of carotenoids. When we used similar concentrations of 3-HETE such an effect was not observed. It was also found by the method using dinitro-phenylhydrazin that 3-HETE in micro molar concentrations in the medium increases the content of carbonyl groups into proteins in *N.crassa* cells. This indirectly points to the development of oxidative stress under the influence of this compound. Furthermore, the addition of 3-HETE to the culture *N.crassa* resulted in inhibition light-dependent formation of conidia in the fungus. The results of these studies suggests that oxylipins 3-HETE is a enhancer stress factor for fungus *N.crassa*.

ВЛИЯНИЕ НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ЭМИ НА СТРЕССОВЫЕ РЕАКЦИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Громозова Е.Н., Войчук С.И., Зеленая Л.Б., Подгорский В.С.

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: svoychuk@hotmail.com

Неионизирующее электромагнитное излучение на сегодняшний день является одним из ведущих физических факторов, активно влияющим на биологические процессы, в том числе и на адаптационные реакции организмов разного эволюционного уровня. На примере дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, модельным организмом для изучения процессов в эукариотических клетках, были изучены популяционные, клеточные и молекулярно-генетические эффекты действия различных стрессовых факторов в условиях предварительного облучения культуры (ОВЧ ЭМИ 40,68МГц, 15 и 30Вт; УВЧ ЭМИ 1800МГц, 50-1000мкВт/см²; и комплексного действия факторов генерируемых видеодисплейными терминалами (ВДТ) с электронно-лучевой трубкой (ЭЛТ) и на основе TFT технологий).

Показано, что в большинстве случаев кратковременное (5 - 60 мин) воздействие излучений УВЧ и СВЧ оказывает неспецифическое протекторное действие по отношению к ряду физико-химических стрессовых факторов, аналогичное известному в радиобиологии явлению адаптивного ответа. Однако в условиях экспонирования клеток перед ВДТ были отмечены противоположные эффекты для приборов с ЭЛТ и TFT. Первые увеличивали процент погибших клеток под действием антибиотика нистатина, т.е. увеличивали чувствительность дрожжей к действию химического стрессового фактора, а вторые, напротив, снижали этот процент, таким образом, как и в случае с УВЧ и СВЧ, обладали неспецифическим протекторным действием. Во всех случаях отмечено, что наиболее выраженным биологическим действием обладает именно кратковременное облучение. Эффекты облучения при экспозициях свыше 24 ч, не позволяли выявить достоверные эффекты по реакции облученных клеток на различные стрессы, в то же время отмеченные изменения на молекулярно-генетическом, биохимическом и физиологическом уровнях, позволяют говорить об адаптивных изменениях клеток к собственно ЭМИ как действующему фактору стресса.

Таким образом, как показали проведенные исследования, реакция клеток *Saccharomyces cerevisiae* на стрессовые воздействия разной природы в условиях неионизирующего электромагнитного излучения зависит как от характеристик генератора, так и от продолжительности воздействия и может иметь адаптивный характер или же усиливать действие стрессового агента.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF NON-IONIZING EMF ON THE STRESS RESPONSE OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Gromozova E.N., Voychuk S., Green L.B., Podhorsky V.S.

Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: svoychuk@hotmail.com

Non-ionizing electromagnetic radiation is by far one of the major physical factors influencing the biological processes, including the adaptive response of organisms of different evolutionary levels. On the example of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, which is a model organism for studying processes in eukaryotic cells, have been studied population, the cellular and molecular-genetic effects of the various stress factors in a pre-irradiated culture (VHF EMF 40.68MHz, 15 and 30W; UHF EMF 1800MHz, 50-1000mkW/cm²; and complex of the factors generated by video display terminals (VDT) with cathode-ray tube (CRT) and based on TFT technology).

It is shown that in most cases, short-term (5 - 60 min) action of VHF and UHF radiation have a non-specific protective effect against some of physico-chemical stressors, similar to the adaptive response, which is the well-known phenomenon in radiobiology. However, yeast cells exposed to the VDT revealed opposite effects for devices with CRT and TFT. The first ones increased the percentage of dead cells under the action of the antibiotic nystatin, thus, increasing sensitivity of yeast to chemical stress factor, while the second ones, by contrast, this percentage decreased, and, as in the case of the VHF and UHF radiation, had a nonspecific protective effect. In all cases the most pronounced biological effects were noted after short-term exposures. The effects of irradiation over 24 hours did not allow to reveal reliable cellular effects to various stresses, while at the same time the changes in the molecular-genetic, biochemical and physiological levels were marked suggesting that cells were adapted to the action of EMF as a factor of stress.

Therefore, the response of *Saccharomyces cerevisiae* cells to the stress action of different nature under a non-ionizing electromagnetic irradiation depends on the characteristics of the generator and the duration of exposure and may cause an adaptive cellular response or increase the effects of stress factors.

РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРЫ *CHLAMYDOMONAS ACTINOSCHLORIS* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОВОЛН

Даценко А.И., Григорьева О.О., Березовская М.А.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: allegro@ukr.net

В представленной работе исследовалось влияние разового микроволнового облучения на разновозрастные культуры зеленой жгутиковой водоросли *Chlamydomonas actinochloris* Deason et Bold.

Возраст первой культуры составлял 2 суток, второй – 6 месяцев. Образцы были облучены в дозах 80 ± 3 Дж/г (нагревание до $41 \pm 0.4^\circ\text{C}$) и 122 ± 5 Дж/г ($51 \pm 1^\circ\text{C}$). Частота микроволн составляла 2450 ± 50 МГц, длина волны около 12 см. В качестве контроля использовали необлученные суспензии.

Численность культуры подсчитывалась с использованием камеры Горяева, функциональное состояние контролировалось люминесцентными измерениями. Фотолюминесценция возбуждалась излучением аргонового лазера с длиной волны $\lambda = 488$ нм и мощностью около 1 мВт. Спектры измерялись при комнатной температуре и представляли собой две полосы излучения хлорофилла с максимумами в области 740 и 683 нм. Удельная эффективность люминесценции высчитывалась как площадь под спектральной кривой и пересчитывалась на количество клеток.

Облучение в дозе 80 Дж/г мало сказывается на культурах; при 122 Дж/г воздействие более заметно.

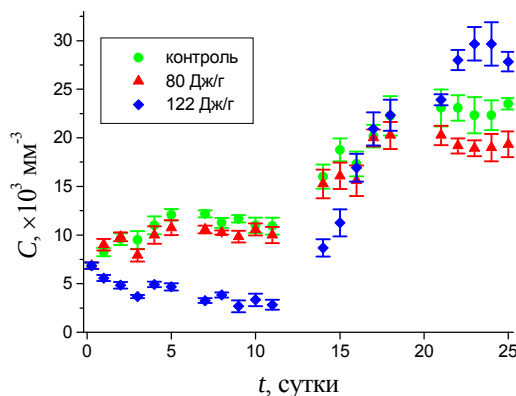


Рис. 1. Динамика численности клеток в образцах 2-суточной культуры.

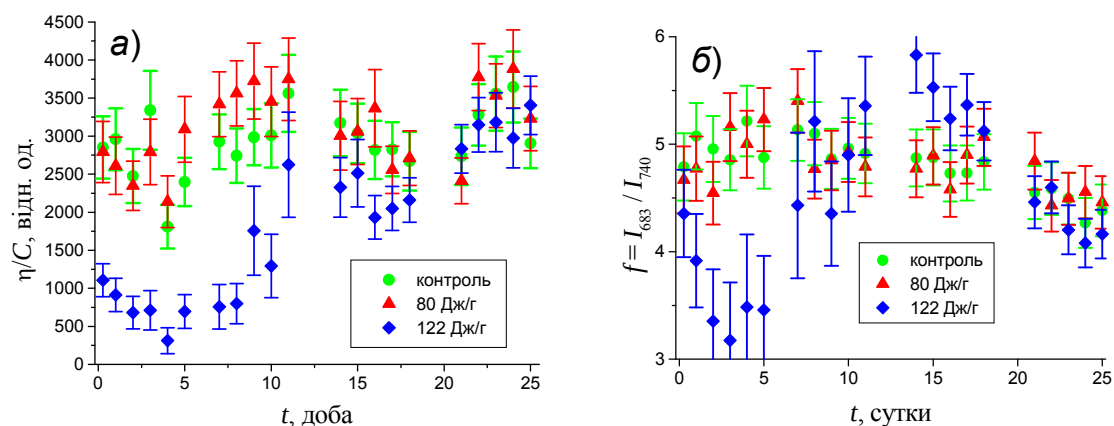


Рис. 2. Динамика удельной эффективности фотолюминесценции (а) и относительной интенсивности спектральных полос (б) 2-суточной культуры.

Так, у 2-суточной культуры временно уменьшается численность клеток (рис. 1), они теряют подвижность, снижается удельная эффективность (рис. 2, а), а также отношение интенсивностей основных полос излучения хлорофилла в спектре люминесценции (рис. 2, б), что свидетельствует об ухудшении функционального состояния растения. Впрочем, эти изменения обратимы: по прошествии времени в суспензии наряду с умирающими клетками наблюдаются подвижные особи, постепенно восстанавливаются люминесцентные параметры (рис. 2), культура догоняет по численности контрольную (рис. 1), а впоследствии даже превосходит. На конечном этапе исследований удельная эффективность люминесценции облученной суспензии была заметно больше, чем у контроля.

Результаты по 6-месячной культуре в целом похожи, однако воздействие облучения в максимальной дозе отражается на ней слабее. На люминесцентных параметрах оно отразилось с запаздыванием на одни – двое суток по сравнению с 2-суточной, а снижения количества клеток вообще не произошло.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DEVELOPMENT OF *CHLAMYDOMONAS ACTINOCHLORIS* CULTURE AFTER ACTION OF MICROWAVES

Dacenko O.I., Grigorieva O.O., Berezovskaya M.A.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: allegro@ukr.net

The influence of a single microwave irradiation on the different age cultures of *Chlamydomonas actinochloris* Deason et Bold green flagellar alga is studied in the present work.

The age of the first culture was 2 days and the second one was 6 months old. The samples were irradiated at the dose of 80 ± 3 J/g (heating up to $41 \pm 0.4^\circ\text{C}$) and 122 ± 5 J/g ($51 \pm 1^\circ\text{C}$). The non-irradiated suspensions of the same volume were used as controls. The frequency of microwaves was 2450 ± 50 MHz (12 cm wavelength).

The culture quantity was calculated using the Gorjaev chamber, the functional state was estimated from the luminescence measurements. The photoluminescence (PL) was excited by a 488-nm argon-ion laser with power about 1 mW. The spectra were measured at room temperature and looked as two bands peaked at 740 and 683 nm. The relative efficiency of luminescence was calculated as the area under the spectral curve and normalised by the cell number.

The irradiation at the 80 J/g dose negligibly affect the cultures, effect of the 122 J/g dose is more noticeable.

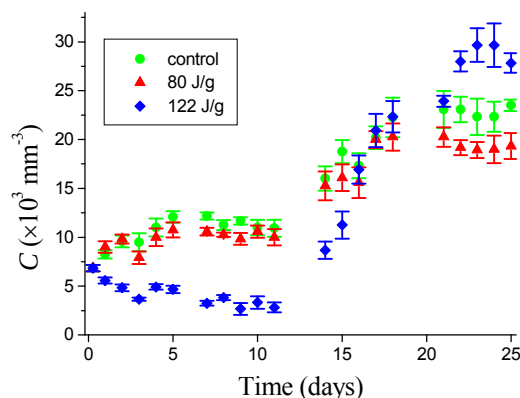


Fig. 1. Cell number dynamics in the 2-day-old culture samples after irradiation.

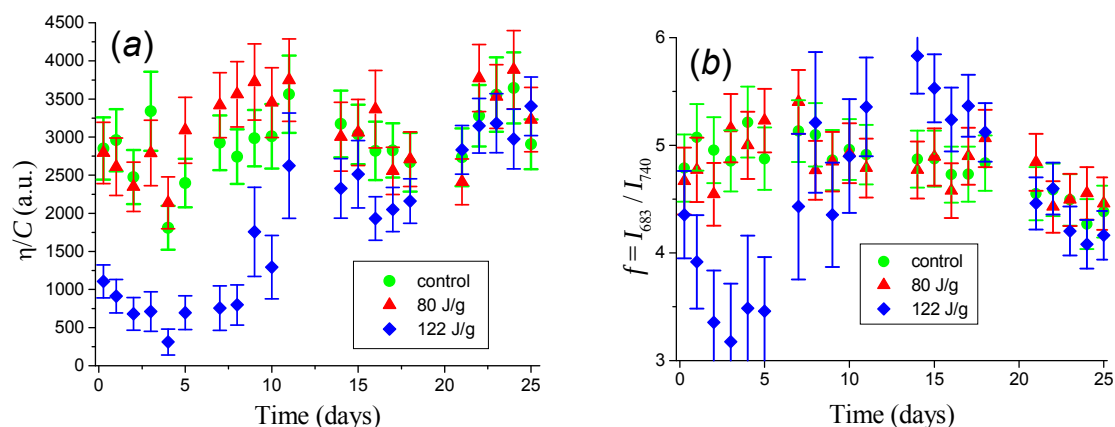


Fig. 2. The dynamics of the specific efficiency of PL (a) and the relative intensity of the spectral bands (b) for the 2-day-old culture.

Thus, the cell number of the 2-day-old culture decreases temporarily (Fig. 1), the cells lose the mobility. Both the specific efficiency (Fig. 2, a) and the intensity relation of the main bands of chlorophyll emission in the luminescence spectrum (Fig. 2, b) reduce, which is usually interpreted as worsening the functional state of a plant.

However, these modifications are reversible. As time passes, mobile individuals are observed in the suspension in addition to the dying ones. The luminescent parameters are gradually restored (Fig. 2), the irradiated culture overtakes the control one by the cell number (Fig. 1) and even predominates afterwards. The specific efficiency of the irradiated suspension luminescence is noticeably higher than the control one at the final stage of the experiment.

The results for the 6-month-old culture are generally similar. However, effect of the highest dose irradiation on the culture is found to be somewhat weaker. It affects the luminescent parameters with one-two-day delay as compared with the 2-day-old culture. And decrease in the cell number in the culture does not occur at all.

ПОВЫШЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА ПОСРЕДСТВОМ БИОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ЗРИТЕЛЬНУЮ СЕНСОРНУЮ СИСТЕМУ

Дегтяренко Т.В., Богданова А.В.

Южно-украинский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Одесса, Украина
Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, Одесса, Украина
e-mail: matanya@ukr.net.

Предпринятые нами экспериментальные и клиничко-иммунологические исследования позволили обосновать и реализовать применение у больных с макулодистрофией сетчатки (МДС) адекватного режима применения низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) при его чреззрачковом воздействии на зрительную сенсорную систему (ЗСС) с целью достижения желаемых для клиники иммунокорригирующих эффектов [1].

Установлено, что клиническая эффективность применения при МДС адекватного режима НИЛИ (по 5 сеансов излучения с длинами волн 520 нм (зелёный спектр) и 940 нм (инфракрасный спектр), мощность излучения на поверхности роговицы при чреззрачковом воздействии 0,4 мВт/см², частота повторения световых импульсов - 30 Гц, длительность импульсов - 10 мс, энергия излучения находится в диапазоне 10⁻³ - 10⁻⁴ Дж) обусловлена позитивной динамикой показателей иммунологической реактивности организма у обследованных пациентов.

Впервые установлено, что иммунокорригирующее воздействие адекватного режима низкоинтенсивного лазерного излучения при его воздействии на зрительную сенсорную систему у больных с МДС проявляется в повышении числа лимфоцитов, экспрессирующих маркеры активации, синтеза интерлейкинов и пролиферации, уменьшении числа иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих маркеры апоптоза и аутоагрессии, снижении специфической реактивности организма в отношении чувствительности к антигенам сетчатой оболочки глаза и нейромедиатору адреналину. В результате оценки воздействия адекватного режима низкоинтенсивного излучения (НИЛИ) на динамику иммунологической реактивности организма сделано заключение о значительном иммуномодулирующем влиянии низкоинтенсивной биостимуляции ЗСС на механизмы стресс-реактивности и адаптации.

Повышение адаптационных возможностей организма посредством биостимулирующего воздействия на ЗСС адекватного режима НИЛИ проявляется как в его иммунокорригирующих, так и лечебных эффектах. Предложенный способ физиологически адекватной направленной нейроиммуномодуляции заключается в биостимулирующем воздействии на зрительную сенсорную систему [2].

Литература

1. Дегтяренко Т.В., Богданова О.В., Чаура А.Г. Теоретико –методичні засади клінічного застосування спрямованої нейроімуномодуляції шляхом адекватного біостимулюючого впливу на зорову сенсорну систему// Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 2 (12). – С. 8-16
2. Дегтяренко Т.В., Богданова О.В. Спосіб впливу на імунологічну реактивність організму за допомогою різнокольорового лазерного опромінювання (НІРКЛО) зорового аналізатора // Патент України на корисну модель. – 15.11.2006. – Бюл. № 11

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

IMPROVING ADAPTATION ABILITIES BY EXPOSURE BIOSTIMULATING ON THE VISUAL SENSORY SYSTEMS

Degtyarenko T.V., Bogdanova A.V.

South-Ukrainian State Pedagogical University named K.D. Ushinsky, Odessa, Ukraine
Ukrainian Research Institute of Transport Medicine Ministry of Health of Ukraine, Odessa, Ukraine
e-mail: matanya@ukr.net.

We have taken the experimental and clinical and immunological studies in aim to justify and implement the use in patients with retinal maculodystrophy (RD), an adequate regime of low-intensive laser irradiation (LLI) with its transpuiple impact on visual sensory system (VSS) in order to achieve the desired clinical immunocorrection effects [1].

It is established that the clinical efficacy in RD adequate LLI treatment (5 sessions of radiation with a wavelength of 520 nm (green spectrum) and 940 nm (infrared spectrum), the radiation power on the surface of the cornea at 0.4 mW/cm² transpuiple exposure, the frequency of repetition light pulse - 30 Hz, pulse duration - 10 ms, the radiation energy in the range of 10⁻³ – 10⁻⁴ J) is due to the positive dynamics of indicators of immunologic reactivity in the examined patients.

For the first time found that the immunomodulation effects of an adequate treatment of low-intensity laser radiation with its impact on the visual sensory system in patients with RM is to increase the number of lymphocytes expressing activation markers, interleukin synthesis and cell proliferation, reducing the number of immunocompetent cells expressing markers of apoptosis and auto aggression, reducing the specific reactivity with respect to sensitivity to the antigens of the retina and the neurotransmitter adrenaline. As a result, assessing the impact of adequate low-level radiation treatment (LLI) on the dynamics of the immunological reactivity concluded a significant immunomodulation effect of low-intensity VSS biostimulating on the mechanisms of stress-reactivity and adaptation.

Enhancing adaptive abilities of an organism by exposure to the VSS biostimulating adequate LLI treatment is manifested in his immunocorrection and therapeutic effects. The proposed method of physiologically adequate directional neuroimmunomodulation is biostimulating effect on the visual sensory system [2].

References

1. *Дегтяренко Т.В., Богданова О.В., Чаура А.Г.* Теоретико-методичні засади клінічного застосування спрямованої нейроімуномодуляції шляхом адекватного біостимулюючого впливу на зорову сенсорну систему// Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 2 (12). – С. 8-16.
2. *Дегтяренко Т.В., Богданова О.В.* Спосіб впливу на імунологічну реактивність організму за допомогою різнокольорового лазерного опромінювання (НІРКЛО) зорового аналізатора // Патент України на корисну модель. – 15.11.2006. – Бюл. № 11.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ИНДУЦИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ У РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ЭЛИСИТОРОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Дмитриев А.П., Дяченко А.И., Перковская Г.Ю.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев
e-mail: dmyt@voliacable.com

Способность к адаптации — одно из важнейших свойств растительного организма, которое проявляется на разных уровнях его структурной организации. В процессе эволюции у растений возникли защитные механизмы, обеспечивающие устойчивость к действию биотических и абиотических стрессов. Растение способно распознавать особые метаболиты патогенов — элиситоры, которые являются антигенной детерминантой паразита. В результате такого распознавания происходит трансдукция сигнала и активация защитных реакций растения.

В последнее время предпринимаются попытки ограничить использование пестицидов путем обработки растений элиситорами. Такие элиситоры представляют собой низкомолекулярные вещества как биогенного, так и абиогенного происхождения, обработка которыми направлена не на уничтожение паразита, а индуцирование защитных свойств самого растения.

Задачей наших исследований является разработка экологически безопасной биотехнологии индуцирования адаптивного потенциала растений для снижения числа обработок посевов пестицидами и уменьшения остаточных количеств последних в продукции растениеводства.

Нами показана возможность повышения устойчивости лука (*Allium cepa*) к наиболее вредоносному заболеванию пероноспорозу путем предпосевного замачивания семян раствором биогенного индуктора, выделенного из клеточных стенок фитопатогенного гриба *Fusarium solani*.

Из мицелия фитопатогенного гриба *Botrytis allii* выделены и очищены, по крайней мере, две группы элиситоров, различающихся по химическому составу, молекулярной массе и индуцирующей активности. В качестве маркера индуцированной устойчивости использовали синтез двух фитоалексинов после обработки растений очень малыми дозами элиситоров (10^{-5} - 10^{-6} М). Результаты двухлетних испытаний показали, что опрыскивание вегетирующих растений растворами биогенных элиситоров на 50-55% снижает распространенность и степень развития болезни при искусственном инфицировании пероноспорозом.

Обработанные элиситорами растения *A. cepa* становились в результате относительно устойчивыми к широкому кругу других патогенов, т.е. приобретали неспецифическую устойчивость. Такого рода устойчивость не передается в поколениях, она является примером онтогенетической адаптации. Индуцирование устойчивости растений элиситорами можно объяснить, по-видимому, явлением геномного импринтинга. Суть которого состоит в том, что индукция транскрипции определенных генов, отвечающих, например, за синтез фитоалексинов, в предуборочный период, оставляет длительное последствие в виде способности этих генов реагировать усиленной экспрессией на очередную встречу с данным элиситором.

Поскольку элиситоры действуют по тому же принципу, по которому растения защищаются в природе, их практическое использование не будет нарушать экологическое равновесие и позволит уменьшить остаточные количества пестицидов в продукции растениеводства.

Нельзя не сказать и о недостатках этой биотехнологии индуцирования устойчивости у растений. К их числу относится в первую очередь ослабление защитного эффекта индуцирования на высоком инфекционном фоне. Хотя этот недостаток характерен и для защиты с помощью пестицидов. Известно, что в годы эпифитотий эффективность применения пестицидов оказывается менее результативной, что заставляет увеличивать число обработок посевов пестицидами.

Биотехнология индуцирования устойчивости растений не отменяет, а дополняет химический метод защиты. Поскольку растения обладают способностью распознавать и отторгать чужеродную генетическую информацию, представляется реальной возможность индуцировать устойчивость к болезням у большинства видов культурных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Национальной академии наук Украины № II-8-12 целевой программы научных исследований "Фундаментальные основы молекулярных и клеточных биотехнологий".

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOTECHNOLOGY OF INDUCED RESISTANCE IN PLANTS BY ELICITORS DERIVED FROM PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Dmitriev A.P., Dyachenko A.I., Perkovskaya G.Y.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev
e-mail: dmyt@voliacable.com

Ability to adaptation — one of the most important properties of plant organism which is shown at different levels of its structural organization. In the course of evolution plants had developed the defense responses providing resistance to biotic and abiotic stresses. The plant is capable to distinguish special metabolites of pathogens - so called elicitors which are parasite anti-gene determinant. After such recognition there is a signal transduction and subsequent activation of plant defense responses.

Recently attempts to limit use of pesticides by elicitor treatments of plants are undertaken. These elicitors are low molecular weight products of both biotic and abiotic origin, processing by which is directed not on parasite destruction, but on induction of plant innate defense responses.

Our long-term goal is to develop an ecologically safe biotechnology of adaptive potential of plants for decrease number of crops treatment by pesticides and for reduction of pesticides residual amounts in crops.

We showed possibility of induced resistance of onion (*Allium cepa*) to the most harmful disease peronosporosis by proceeding soaking of seeds with solution of the biotic elicitor derived from cell walls of a phytopathogenic fungus *Fusarium solani*.

At least two groups of elicitors were found and purified in fungus *Botrytis allii* mycelium extract, which differ in composition, molecular mass and inducing activity. Two onion phytoalexins accumulation served as marker of induced resistance after application of very low doses (10^{-5} - 10^{-6} M) of the elicitors. The results of 2-year field trials demonstrated that foliar spraying of onion plants with biotic elicitors before artificial inoculation with peronosporosis agent reduced for 50-55 % the spread and extent of disease development.

Elicitor-treated *A. cepa* plants became as a result rather resistant against a wide range of other pathogens, i.e. gain non-specific resistance. Such induced resistance isn't transferred in generations, it is an example of ontogenetic adaptation. Induced resistance in plants can be explained, apparently, with the phenomenon of a genomic imprinting. Which essence consists that the induction of a transcription of the certain genes answering, for example, for phytoalexin synthesis, during the preharvest period, leaves long post action in the form of ability of these genes to react the enhanced expression on the next meeting with this elicitor.

As elicitors operate by the same principle on which plants are defended in the nature, their practical use won't break ecological equilibrium and will allow to reduce residual amounts of pesticides in crops.

But also, it is necessary to tell about shortcomings of this biotechnology of induced resistance in plants. Weakening of protective effect belongs to their number first of all at a high infectious background. Though this shortcoming is characteristic for protection by pesticides either. It is known that in years of epiphytotia efficiency of pesticides application appears less productive that forces to increase number of pesticide treatments.

Biotechnology of induced resistance in plants doesn't cancel but supplements a chemical method of plant protection. As plants possess ability to distinguish and tear away alien genetic information, a possibility to induce plant disease resistance for the majority of cultural plants species is represented real.

Acknowledgements: This work was supported by the National Academy of Ukraine, grant № II-8-12 of the target scientific program "Fundamental bases of molecular and cellular biotechnologies".

К ВОПРОСУ ОБ АДАПТАЦИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ

Дмитриева А.Г., Ипатова В.И., Прохоцкая В.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия
e-mail: viipatova@hotmail.com, plera@mail.ru

При длительном загрязнении в стабильных физико-химических условиях водной среды формируются сообщества, в разной степени устойчивые к различным биотическим и абиотическим факторам среды. В них существуют физиологически устойчивые к данной физико-химической среде и конкурентно-способные при данной структуре сообщества организмы. Полезные изменения, происходящие при воздействии токсического вещества, повышают шансы для выживания не только отдельного организма, но и популяции и вида.

Адаптация микроводорослей к токсическому воздействию разной интенсивности основана на их способности к накоплению токсиканта без видимого нарушения физиологических функций за счет пластичности метаболизма. Поступающие в клетки микроводорослей токсиканты чаще всего снижают их физиологическую активность. Первичные стадии взаимодействия химических веществ различной природы с клетками определяются процессами поглощения, обусловленными спецификой проницаемости внешних мембран и трансформацией вещества в клетках. В основе изменения физиологического состояния микроводорослей лежит комплекс специфических и неспецифических изменений начальных стадий поглощения и транспорта энергии возбуждения в световой стадии фотосинтеза наряду с нарушением функциональных свойств внешнего мембранного комплекса. Однако, несмотря на эти нарушения в условиях высокой токсичности бихромата калия (10 мг/л) фотосинтетическая активность (на клетку) *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. была высокой, что свидетельствует о наличии специфической физиологической адаптации фотосинтетического аппарата водоросли. Адаптивные изменения в популяциях микроводорослей сопровождаются изменением их структуры при неблагоприятных воздействиях. Как правило, большая часть клеток в популяции переходит в покоящееся состояние и перестает делиться. Это примеры физиологической адаптации. В диапазоне физиологически допустимых изменений среды клетки переходят в новое стационарное состояние, когда действующий фактор по своей интенсивности не превышает порога физиологической нормы организма. При интоксикации микроводорослей в присутствии 0,1 мг/л коллоидного серебра наблюдается лаг-фаза, длительностью 9 суток у культуры *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. и 21 суток у *S. quadricauda*. В дальнейшем происходит возобновление роста культур. При этом структурный состав популяций (доля покоящихся, размножающихся и мертвых клеток) при восстановлении численности становится сходным со структурой популяции в контроле (на чистой среде) на эти же сроки. Восстановленная культура в дальнейшем ведет себя как чистая контрольная культура того же возраста, что подтверждается при дальнейших пересевах ее в токсические концентрации. При двукратной интоксикации в присутствии коллоидного серебра мы обнаружили увеличение резистентности популяции водорослей и улучшение роста по сравнению с однократной интоксикацией. Культуры после пересева из 0,1 в 0,1 и из 0,1 в 0,5 мг/л коллоидного серебра растут лучше во время вторичной интоксикации, чем при однократной интоксикации. Из данных литературы известно, что коллоидное серебро не вызывает увеличения резистентности у бактерий и других микроорганизмов, в отличие, например, от антибиотиков, к которым у микроорганизмов развивается резистентность. Результаты наших экспериментов с пересевами свидетельствуют о том, что со временем устойчивость популяции микроводорослей к коллоидному серебру повышается.

Основные адаптационные процессы в популяциях микроводорослей происходят в период первоначальной интоксикации. Так, после трехкратной интоксикации культуры *S. quadricauda* по схеме 0,1 → 0,1 → 0,1 мг/л ионного серебра и последующего переноса оставшихся клеток (3-5% живых) в чистую среду без токсиканта структура восстановленной популяции на 30-е сутки соответствовала таковой после первичного внесения вещества. Восстановление численности клеток в культуре *S. quadricauda* после трехкратной интоксикации бихромата калия (10 → 10 → 10 мг/л) происходило за счет небольшого количества живых клеток (3-5%). За 90 суток интоксикации сменилось, как минимум, 30 поколений клеток. Полученные результаты дают возможность рассматривать оставшиеся живыми 3-5% клеток *S. quadricauda* в качестве устойчивых в течение длительного эксперимента к токсикантам клеток, т.е. имеет место генотипическая адаптация. Формирование генотипической адаптации можно объяснить наличием исходного пула резистентных клеток в гетерогенной популяции. Резистентные клетки в популяции появляются случайно путем редких спонтанных мутаций, возникающих во время репликации до контакта с загрязнителем (пре-селективные мутации), что дает микроводорослям возможность выживать в загрязненных условиях окружающей среды. Скорость спонтанных мутаций резистентности к хрому в популяциях микроводорослей мала и составляет по нашим расчетам $(3-5) \cdot 10^{-6}$ мутаций на клеточное деление для микроводоросли *S. quadricauda* и морской диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle. Рассчитанная нами скорость появления резистентных к стрептомицину мутантных клеток *S. quadricauda* составляет $4 \cdot 10^{-7}$ мутантов на клеточное деление. Такая малая скорость может гарантировать выживание микроводорослей при токсических уровнях хрома и стрептомицина при условии, если размер популяции будет достаточно большим.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ABOUT ADAPTATION OF MICROALGAE UNDER TOXIC EXPOSURE

Dmitrieva A.G., Ipatova V.I., Pokhotskaya V.Yu.

Moscow State University M.V. Lomonosov, Moscow, Russia.
e-mail: viipatova@hotmail.com, plera@mail.ru

Aquatic communities with varying degrees of resistance to various biotic and abiotic environmental factors are formed under long-term contamination in stable physical and chemical conditions. Under these conditions, organisms of a given community are competitive and physiologically resistant to a given physical and chemical environment. Useful changes increase the chances for the survival of not only the individual organism, but also the populations and species when exposed to toxic substances.

Adaptation of algae to the toxic exposure of varying intensity based on their ability to accumulate toxicants without any apparent violation of the physiological functions due to the plasticity of metabolism. Entering toxicants into the cells of algae usually reduce their physiological activity. The primary stages of the interaction of chemicals of different nature with the cells are determined by the processes of absorption due to the specific permeability of the cell membrane and transformation of substances in the cells. The basis of changes of the physiological state of microalgae is a set of specific and nonspecific changes in the initial stages of absorption and transport of excitation energy in the light stage of photosynthesis, along with the violation of the functional properties of the outer membrane complex. However, despite these violations at the high toxicity of potassium dichromate (10 mg/l), photosynthetic activity (per cell) *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. was high, suggesting that there is a specific physiological adaptation of the photosynthetic apparatus of algae. Adaptive changes in the populations of microalgae are accompanied by changes in their structure under adverse conditions. As a rule, the majority of cells in the population turn into dormant state and stop dividing. These are examples of physiological adaptation. In the range of physiologically acceptable changes of environment, cells go into a new steady state, when acting factor in their intensity does not exceed the threshold of physiological norm of the organism. In the presence 0.1 mg/l of colloidal silver we observed lag-phase, lasting 9 days in the population *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. and 21 days in *S. quadricauda* and renewal of cultural growth later. In this case the structure of the recovery population (the proportion of dormant, proliferating and dead cells) is similar to the structure of the control population (in a clean medium) at the same time. Restored culture in the future behaves as a pure control culture of the same age as confirmed in subsequent passages it in toxic concentrations. At a double intoxication in the presence of colloidal silver, we found an increase of the population resistance and improvement of algae growth as compared to single intoxication. After passage from 0.1 to 0.1 and from 0.1 to 0.5 mg/l of colloid silver cultures grow better during the secondary intoxication than at the single intoxication. It is known that colloidal silver does not cause increased resistance of bacteria and other microorganisms in contrast to antibiotics to which microorganisms develop resistance. The results of our experiments with passages suggest that over time the resistance of the microalgal populations to colloidal silver increases.

The main adaptation processes in populations of algae occur in the initial period of intoxication. So, after the triple intoxications of the culture *S. quadricauda* (0,1 → 0,1 → 0,1 mg/l of silver ion) and the subsequent transfer of the remaining cells (3-5% of living cells) in a clean medium without the toxicant, the structure of the restored population 30 day after matches that of the initial intoxication. Restoration of the number of cells in culture *S. quadricauda* after the triple intoxications of potassium dichromate (10 → 10 → 10 mg/L) occurred due to a small number of living cells (3-5%). During the 90 days of intoxication, there is at least 30 generations of cells. The results make it possible to consider the remaining 3-5% of living cells *S. quadricauda* as a resistant cells to toxicants for a long experiment ie there is a genotypic adaptation. Formation of genotypic adaptation can be explained by the presence of the original pool of resistant cells in a heterogeneous population. Resistant cells in the population occur randomly by rare spontaneous mutations that occur during replication, prior to contact with the contaminant (pre-selective mutations), which gives the possibility of microalgae to survive in contaminated environments. The rate of spontaneous mutations of resistance to chromium in the population of algae is low. According to our calculations, the rate is $(3-5) \cdot 10^{-6}$ mutations per cell division for the microalga *S. quadricauda* and the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle. The rate of appearance of mutants resistant to streptomycin is $4 \cdot 10^{-7}$ mutants on cell division. This low rate could ensure the survival of algae in the toxic levels of chromium and streptomycin when the population size is large enough.

ВПЛИВ КЛІНОСТАТУВАННЯ НА РОЗВИТОК ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В РОСЛИНАХ ТОМАТА ЗА ДІЇ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ

Дуніч А.А., Данілова О.І., Міщенко Л.Т.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: korenevochka@mail.ru

У попередніх дослідженнях з рослинами картоплі та пшениці, обґрунтовано, що умови кліноштатування проявляють стресовий вплив на рослинний організм та корегують перебіг вірусної інфекції у різних модельних системах. Дослідження перебігу вірусних інфекцій в умовах модельованої мікрогравітації є перспективним напрямом вивчення і практичного використання механізмів стійкості рослин до вірусів. Сумісний вплив рістрегуляторів фенольної природи та модельованої мікрогравітації на перебіг вірусної інфекції раніше не досліджувався. Тому представляло інтерес дослідження перебігу вірусної інфекції за дії регуляторів росту природного походження в умовах модельованої мікрогравітації, оскільки цей чинник може спричиняти певний вплив на формування у рослин неспецифічної стійкості до патогенів (1,2).

Для виявлення впливу дії цих двох чинників провели дослідження з рослинами томата сорту Кримська сливка, штучно інокульованих *М*-вірусом картоплі, які культивували в умовах модельованої мікрогравітації (рис.1).



Рис. 1 Вирощування рослин томата у горизонтальному кліностаті КГ-8

За дії горизонтального кліноштатування в рослинах томатів антигени МВК були виявлені на 11-20 добу після інокуляції в контрольних рослинах, які не оброблялися рістрегуляторами, а також у варіанті з використанням оксидат торфу (рис.2).



Рис. 2 Електроннограма *М*-вірусу картоплі, яким інокульовали рослини томатів

Відсутність антигенів в рослинах, які обробляли рістрегуляторами може свідчити на користь сумісного впливу умов модельованої мікрогравітації і обробки фенолвмісними речовинами, які містяться у досліджуваних препаратах, на формування неспецифічної стійкості у рослин томатів. Показники оптичної щільності зразків із листків кліноштатованих рослин були в межах 0,030-0,050, що відповідало значенню негативного контролю.

Найвищий позитивний ефект спостерігали при обробці рослин помідорів препаратами гідрогумат та гарант. Ці препарати позитивно впливали на ріст і розвиток як надземної, так і підземної частини рослин. Відсутність антигенів у рослинах, штучно інокульованих *М*-вірусом картоплі та оброблених цими препаратами, може свідчити на користь того, що їх діючі речовини беруть участь у формуванні неспецифічної стійкості до вірусної інфекції у рослин помідорів.

Отже, проведені дослідження виявили значний вплив модельованої мікрогравітації на морфогенез, ріст і розвиток рослин томата та підвищили вірусостійкість. Також встановлено, що обробка препаратами, гідрогуматом та шоколіном, які виготовлені з природної сировини, позитивно впливає на накопичення сухої речовини рослинами за умов модельованої мікрогравітації.

Література

1. Блоцкая Ж.В., Вабищевич В.В., Домаш В.И. Влияние биологически активных веществ на проявление и развитие вирусом аспермии томатов и зеленой крапчатости огурца // Интегрированная защита растений: стратегия и тактика. – Минск, Несвиж. - 501-502.
2. Таран О. П. Регенераційна здатність рослин картоплі за дії абіотичних чинників у культурі *in vitro* та *ex vitro*. – автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.12 „фізіологія рослин“. – К., 2011. – 21 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INFLUENCE OF THE CLINOSTATING ON THE DYNAMICS OF VIRAL INFECTION IN TOMATO PLANTS UNDER REGULATING OF THEIR GROWTH BY PHENOL-LIKE COMPOUNDS

Dunich A.A., Danilova O.I., Mishchenko L.T.

Kyiv Taras Shevchenko National University, Kyiv, Ukraine
e-mail: korenevochka@mail.ru

In previous studies with potato and wheat plants, it was proved that clinostating conditions are stressed for plant organism and adjust the passing of viral infections in different model systems. An investigation of viral infections under microgravity conditions is very perspective direction of studies and helpful for practical usage in resistance mechanisms in plants against viruses. Complex influence of phenol-like regulators and microgravity on growth and on passing of the viral infection has not been studied yet. That's why it was interesting to point out the passes of the viral infection during the influence of growth regulators and microgravity. Because this factor can cause certain influence on forming of non-specific resistance to pathogens in plants (1, 2).

For detecting of the influence of these two factors, the investigations were done on tomato plants (cv. Crymska Slyvka) that were artificial infected with PVM and cultivated under microgravity conditions (Fig.1).



Fig. 1 Cultivating of tomato plants in the clinostat KG-8 (horizontal axis)

During clinostatic effect, after 11-20 days after the inoculation in control plants the PVM antigens were detected (Fig.2).

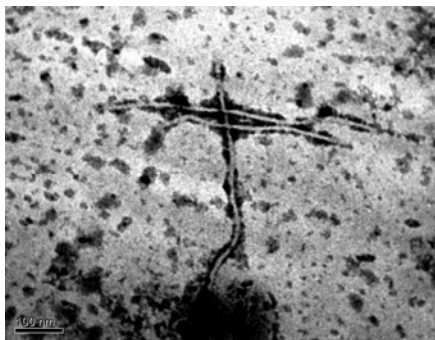


Fig. 2 Electronogram of PVM (JEM-1230, Japan), which was inoculated tomato plants

They were not processed by growth regulators, but only with usage of peat. The absence of antigens in plants, which was treatment with both growth regulators and microgravity give us their positive effect on plant non-specific resistance. The indexes of optical density of the samples (leaves of the clinorotated plants), were from 0,03 to 0,05, as in negative control.

The highest positive effect was observed after the treatment of tomato plants by Hydrogumat and Garant drugs. These chemicals have positive effect on growth on both aboveground and underground part of plants. Absence of the PVM antigens in the plants, which were treatment by these drugs, can be explained by the positive effect of the chemicals on the non-specific resistance in tomato plants to the viral infection.

The conducted investigations are detected the significant effect of the microgravity on the morphogenesis, growth, and development of the tomato plants. The positive effect of Hydrogumat and Shokolin, which are made from natural substances, on accumulation of dry substance in tomato plants in microgravity conditions is established.

References

1. *Blotskaya Zh.V., Vabishchevich V.V., Domash V.I.* influence of biologically active substances on manifestation and development of tomato aspermy and cucumber green mottle mosaic viruses Integrated // Plant Protection: Strategy and Tactics. – Minsk, 2011. – Nesvizh. – P. 501-502.
2. *Taran O. P.* Reclaiming ability of potato plants under action of abiotic factors in culture *in vitro* and *ex vitro*. – Manuscript. Kyiv, 2011. – 21 p.

АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ

Дыкман Л.А., Староверов С.А., Богатырёв В.А., Щёголев С.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия
e-mail: dykman@ibppm.sgu.ru

Последние достижения в области бионанотехнологий демонстрируют возможность использования наночастиц как потенциальных средств доставки лекарственных препаратов к клеткам-мишеням. Однако, чтобы достигнуть этих целей, наночастица должна обойти много преград, которые являются обычными защитными барьерами против чужеродных антигенов в организме животного. Применение наночастиц золота как носителя антигенов и терапевтических агентов и использование данных конструкций для иммунологических и терапевтических целей находит широкое применение в современной медицине и биологии (1). Особый интерес представляет способность наночастиц золота вызывать гуморальную иммунную реакцию на слабоиммуногенные антигены и гаптены (2).

Несмотря на более чем вековую историю применения проб, предложенных Пирке и Манту, как средств оперативной диагностики туберкулеза, эффективность определения инфицирования палочкой Коха остается достаточно низкой. Это связано с особенностями иммунного ответа теплокровных животных на инфицирование бактериями рода *Mycobacterium*. Целью данного исследования было изучение механизмов взаимодействия туберкулина с фагоцитирующими клетками иммунной системы.

В результате иммунизации кроликов комплексом туберкулина с наночастицами золота были получены иммунные сыворотки, специфичные к туберкулину. Конъюгаты коллоидного золота с туберкулином не вызывают угнетения дыхательной активности перитонеальных клеток крысы. Методами световой темнопольной и конфокальной лазерной микроскопии показано, что наночастицы золота проникают во внутриклеточное пространство перитонеальных макрофагов *in vitro*, за счет чего, вероятно, частично снимает токсический эффект, оказываемый туберкулином.

В результате проведенных исследований хочется отметить, что золотые наночастицы за счет проникновения во внутриклеточное пространство частично снимают токсический эффект оказываемый туберкулином на перитонеальные макрофаги крыс. Это способствует более активному развитию гуморальной реакции и выработке антител на туберкулин. Поэтому золотые частицы возможно использовать как носитель для получения антител на вещества, обладающие токсическим эффектом. В дальнейшем адаптогенные свойства золотых наночастиц планируется использовать для создания вакцин нового поколения.

References

1. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chem Soc Rev.* 41(6): 2256–2282.
2. Dykman L.A., Staroverov S.A., Bogatyrev V.A., Shchyogolev S.Yu. (2010). Adjuvant properties of gold nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia.* 5(11-12): 748–761.

ADAPTOGENIC PROPERTIES OF GOLD NANOPARTICLES

Dykman L.A., Staroverov S.A., Bogatyrev V.A., Shchyogolev S.Yu.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia
e-mail: dykman@ibppm.sgu.ru

Recent advances in bionanotechnology have demonstrated that it is possible to use nanoparticles as potential means for the delivery of drugs to target cells. To reach these targets, however, a nanoparticle has to get around many obstructions, which are the usual protective barriers to foreign antigens in the animal organism. Gold nanoparticles as carriers of antigens and drugs have found extensive applications in current medicine and biology, and these constructions have been widely used for immunologic and therapeutic purposes (1). Of particular interest is the ability of gold nanoparticles to elicit a humoral immune response to weakly immunogenic antigens and haptens (2).

Despite the more than a century-old history of using the Pirquet and Mantoux tests for the rapid diagnosis of tuberculosis, the effectiveness of determination of Koch's bacillus infection remains relatively low. This fact is related to the peculiarities of the immune response of warm-blooded animals to *Mycobacterium* infection. In this work, the interaction of tuberculin with the phagocytizing cells of the immune system was studied.

Rabbit immunization with tuberculin complexed with gold nanoparticles gave rise to a tuberculin-specific antiserum. The colloidal-gold-tuberculin conjugates did not inhibit the respiratory activity of rat peritoneal cells. Dark-field light and confocal laser microscopies showed that the gold nanoparticles penetrated the intracellular spaces of the peritoneal macrophages *in vitro*, possibly relieving in part the toxic effect produced by tuberculin.

In conclusion, gold nanoparticles alleviate tuberculin toxicity to rat peritoneal macrophages through penetration of the intracellular space. This effect of gold nanoparticles is conducive to more active development of a humoral reaction and to production of antituberculin antibodies. For this reason, gold nanoparticles can serve as a carrier for the preparation of antibodies against toxic antigens. Application of adaptogenic properties of gold nanoparticles in developing a next generation vaccines is further planned.

References

1. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chem Soc Rev.* 41(6): 2256–2282.
2. Dykman L.A., Staroverov S.A., Bogatyrev V.A., Shchyogolev S.Yu. (2010). Adjuvant properties of gold nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia.* 5(11-12): 748–761.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ГЕМИНА (ПГ) ПРОТИВ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

¹Желтухина Г.А., ¹Окороченков С.А., ²Небольсин В.Е., ¹Пономарёв К.А.,
³Феофанов А.В., ⁴Мирчин Е.П., ⁴Тренин А.С.

¹ Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
e-mail: laboratory211@yandex.ru

² ООО «Фарминтерпрайсез», Москва, Россия

³ Институт Биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН

⁴ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе РАМН

Многие виды бактерий обладают способностью адаптироваться к изменению параметров окружающей среды, в том числе к воздействию традиционных антибиотиков. В результате наблюдается рост числа антибиотикоустойчивых, резистентных и мультирезистентных патогенов, в том числе *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* ATCC, *C. albicans* ATCC, что создаёт угрозу биобезопасности населения. Структурно-функциональное изучение синтезированных нами аминокислотных, пептидных и других производных природного металлопорфирина – гемина показывает, что на их основе возможно создание новых антимикробных – антибактериальных и противогрибковых средств. Главное преимущество ПГ заключается в том, что они способны решить проблему резистентности к существующим противоинфекционным средствам. Так, в ряду синтезированных ПГ выявлены соединения, имеющие МИК в микромолярном интервале концентраций для резистентного штамма 569 бактерии *Enterococcus faecium*. При этом наблюдались примерно в 20 раз более высокие значения ЭК₁₀ по отношению к нормальным клеткам – эритроцитам и лейкоцитам. С применением флуоресцентной спектроскопии и лазерного сканирующего флуоресцентного микроскопа Axio Observer (Zeiss, Германия) на бактериях и модельных липосомах показано, что механизм антимикробного действия ПГ включает образование дефектов в мембране и повышение её проницаемости.

Таким образом, в ряду синтезированных ПГ выявлены перспективные соединения, обладающие низкой токсичностью и высокой антимикробной активностью, которые могут быть использованы в медицине и сельском хозяйстве.

Литература

1. G.A.Zheltukhina, S.A.Okorochev, N.V.Groza, V.G.Arzumanyan, V.E. Nebolsin (2012) «Synthesis and antifungal properties of arginine-containing hemin derivatives», Med Chem Res., in press.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

SYNTHETIC DERIVATIVES OF HEMIN (DH) AGAINST RESISTANT STRAINS OF BACTERIA AND MICROSCOPIC FUNGI

¹Zheltukhina G.A., ¹Okorochenkov S.A., ²Nebolsin V.E., ¹Ponomarev K.A.,
³Feofanov A.V., ⁴Mirchink E.P., ⁴Trenin A.S.

¹ Moscow State University of Fine Chemical Technology by name of M.V. Lomonosov, Moscow, Russia
e-mail: laboratory211@yandex.ru

² LLC "Pharmenterprises" Moscow, Russia

³ Institute of Bioorganic Chemistry by name of Shemyakin and Ovchinnikov RAS

⁴ Scientific Research Institute of New Antibiotics by name of GF Gause RAMS

Many species of bacteria have the ability to adapt to changing environmental parameters, including the effects of traditional antibiotics. As a result, an increasing number of antibiotic-resistant and multiresistant pathogens were observed including *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* ATCC, *C. albicans* ATCC, which threatens to biosafeness of the population. Structural and functional studies of synthesized by us amino acids, peptides and other derivatives of the natural metalloporphyrin - hemin shows that on the basis of them it is possible the development of new antimicrobial - antibacterial and antifungal agents. The main advantage of DH is that they are able to solve the problem of resistance to existing anti-infective agents. Thus, in a series of synthetic DH compounds with MIC for the resistant strain 569 bacteria *Enterococcus faecium* in the micromolar concentration range were identified. In this case occurred approximately 20 times higher values of EK₁₀ with respect to normal cells - red blood cells and white blood cells. By using of fluorescence spectroscopy and laser scanning fluorescence microscope Axio Observer (Zeiss, Germany) on bacteria and model liposomes it was showed that the mechanism of antimicrobial action of DH involves the formation of defects in the membrane and increasing of its permeability.

Thus, in a series of synthetic DH were identified promising compounds with low toxicity and high antimicrobial activity, which can be used in medicine and agriculture.

References

1. G.A. Zheltukhina, S.A. Okorochenkov, N.V. Groza, V.G. Arzumanyan, V.E. Nebolsin (2012) «Synthesis and antifungal properties of arginine-containing hemin derivatives», Med Chem Res., in press

ІНДУКУВАННЯ ЩАВЛЕВОЮ КИСЛОТОЮ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ПШЕНИЦІ *TRITICUM AESTIVUM* L. ДО УРАЖЕННЯ СЕПТОРІОЗОМ

¹Жук І.В., ²Лісова Г.М., ²Довгаль З.М., ¹Дмитрієв О.П.

¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

² Інститут захисту рослин НААН України
e-mail: iren_zhuk@mail.ru

Застосування еліситорів дозволяє підвищити адаптивний потенціал культурних рослин до біотичного стресу та зменшити пестицидне навантаження на навколишнє середовище. До найбільш вивчених еліситорів належать саліцилова кислота та хітозан (1). Однак їх ефективність не завжди достатня для індукування природної стійкості рослин до фітопатогенних грибів. Тому триває пошук нових еліситорів для індукції фітоімунітету. Відомо, що щавлева кислота має високу здатність до хелатації катіонів та інгібує утворення активних форм кисню (АФК) при окиснювальному вибусі.

Метою наших досліджень було вивчення впливу щавлевої кислоти на індукування захисних реакцій у рослин пшениці до ураження збудником септоріозу (*Septoria tritici*). Об'єктом досліджень слугували два сорти озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. - Поліська 90 та Столична. Вегетуючі рослини обприскували водним розчином щавлевої кислоти (10^{-4} М) у фазі двох листків, після чого проводили їх інокуляцію збудником септоріозу *S. tritici*. В якості маркера індукованої стійкості визначали активність цитоплазматичної пероксидази, що бере участь в утилізації пероксиду водню і процесах синтезу лігніну в період формування клітинної стінки. Потовщення клітинної стінки, як відомо, є неспецифічною захисною реакцією рослинної клітини на проникнення інфекційної гіфи гриба. Активність пероксидази (КФ 1.11.1.7) в листках визначали за методом Seevers et al. (4). Відбір зразків проводили через добу після зараження і в подальшому кожен день протягом двох тижнів. Оцінку ураження та ступеня розвитку хвороби проводили на 14-ту добу після інокуляції рослин. Повторність досліді триразова. Стійкість рослин пшениці до ураження септоріозом оцінювали за 9-бальною шкалою Саарі та Прескотта (3). Результати обробляли статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel.

Встановлено, що у першу добу у інокульованих збудником септоріозу рослин вдвічі зростала активність пероксидази у обох сортів, порівняно до неінфікованих рослин. Це може вказувати на індукцію неспецифічних захисних реакцій рослини, обумовлених зростанням АФК, зокрема, пероксиду водню. У необроблених щавлевою кислотою інфікованих рослин активність пероксидази значно зростала лише на восьму добу після зараження у період появи перших видимих ознак розвитку хвороби. Протягом другої-сьомої доби у оброблених еліситором інфікованих рослин активність пероксидази була близькою до рівня контролю. Однак на 14-ту добу після штучного ураження у період інтенсивного розвитку хвороби активність пероксидази у інфікованих рослин зростала вдвічі порівняно з контролем. Обробка контрольних неінфікованих рослин щавлевою кислотою зменшувала активність пероксидази, що узгоджується з даними інших авторів (2).

Одержані дані свідчать, що щавлева кислота індукує неспецифічну захисну реакцію рослин пшениці на ураження збудником септоріозу протягом короткого періоду часу і виявляє властивості достатньо ефективного еліситору. Індуковане нею підвищення вмісту ендогенних АФК вказує на активацію захисних систем у листків пшениці, інокульованих *S. tritici*. Реакція використаних нами в досліді двох сортів пшениці на дію еліситору та інфікування була подібною. Можна відзначити, що сорт Столична виявився більш чутливим до септоріозу, ніж сорт Поліська 90, проте достовірних відмінностей за ступенем розвитку хвороби між ними не виявлено.

Встановлено, що використання біохімічних маркерів ураження рослин пшениці збудником септоріозу відзначається більшою чутливістю, порівняно з оцінкою розвитку хвороби за фітопатологічними методами, і дозволяє аналізувати відповідь рослини на атаку патогена вже в перші години після ураження. Отримані нами морфометричні показники розвитку оброблених щавлевою кислотою та інфікованих *S. tritici* рослин пшениці показали, що ріст листків у них був більш інтенсивний, порівняно з інфікованими рослинами, і наближався до значень контрольного варіанту. Тобто фізіологічна дія щавлевої кислоти сприяла процесам росту листової пластинки у пшениці сортів Поліська 90 і Столична. Суттєвих відмінностей за морфометричними показниками між сортами не виявлено.

Таким чином, застосування щавлевої кислоти в якості еліситора для індукування фітоімунітету пшениці є перспективним та безпечним, оскільки не буде порушувати екологічно рівновагу в агрофітоценозах.

Література

1. Дмитрієв А.П., Гродзинский Д.М. и Полищук В.П. (2005) Индуцирование системной устойчивости у растений биогенными индукторами. *Вісник Харківського національного університету. Серія Біологія*. 3: 24-36.
2. Kayashima T. and Katayama T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems (2002) *Biochim. Et Biophys. Acta*. 1573:1-3.
3. *Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ*. (1988) Прага.- 321 с.
4. Seevers P. M., Daly J.M. and Catedral F.F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease (1971) *Plant Physiol*. 48(3): 353-360.

OXALIC ACID ELICITS WHEAT (*Triticum aestivum* L.) RESISTANCE TO LEAF BLOTCH INFECTION

¹Zhuk I.V., ²Lisova G.M., ²Dovgal Z.M., ¹Dmitriev A.P.

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National academy of sciences of Ukraine, Kiev

²The Institute of Plant Protection, National academy of agrarian sciences of Ukraine, Kiev
e-mail: iren_zhuk@mail.ru

The usage of elicitors can increase adaptive potential of cultivated plants to biotic stress and to reduce the pesticides loading on the environment. The most studied elicitors include salicylic acid and chitosan (1). However, their effectiveness is not often sufficient to enhance plant innate disease resistance to fungal pathogens. So the search for new elicitors to increase plant immunity is in progress. It is known that oxalic acid has a high ability to cations chelation and inhibits the formation of reactive oxygen species (ROS) during the oxidative burst.

The aim of our research was to study the effect of oxalic acid on elicitation of wheat plants defense responses to *Septoria tritici* infection. The object of research was two varieties of winter wheat *Triticum aestivum* L. - Poliska 90 and Stolichna. Plants were sprayed with water solution of oxalic acid (10^{-4} M) at two leaves phase, and then were infected by *S. tritici* agent. As marker for wheat induced resistance we used cytoplasmic peroxidase activity which involved in the utilization of hydrogen peroxide and in the lignin synthesis during the cell walls formation. It is known that cell wall thickening is a nonspecific defense response of plant cells against penetration of fungal infection hyphae. The activity of peroxidase (KF 1.11.1.7) in leaves was determined by Seevers et al. (4). Samples were taken out one day after infection and subsequently every day during two weeks. Assessment of incidence and disease development was carried out on 14th day after wheat plants inoculation. The experiments were repeated three times. Wheat resistance to leaf blotch infection was estimated by Saari and Prescott 9-point scale (3). Statistical analysis was performed by using the Microsoft Excel software package.

It was found that on first day the peroxidase activity increased twice in plants infected by winter wheat leaf blotch infection in both varieties compared to uninfected plants. This may indicate the induction of nonspecific plant defense responses based on ROS increasing, including hydrogen peroxide. In untreated by oxalic acid infected plants peroxidase activity significantly increased only on the 8th day after infection in the period when the first visible disease symptoms were detected. During 2nd-7th days in elicitor-treated infected plants the peroxidase activity was similar to the control level. However, at 14th day after artificial inoculation in an intensive period of disease development the peroxidase activity in infected plants increased 2-fold compared to control. Treatment of uninfected plants by oxalic acid reduced the activity of peroxidase, which is consistent with other author's data (2).

The data obtained suggest that oxalic acid induces wheat plant nonspecific defense responses against *S. tritici* agent within a short period of time and shows rather effective elicitor's properties. Induced by oxalic acid increase of endogenous ROS content indicates the activation of wheat defense responses against pathogen attack (2). The reaction of both studied wheat varieties was close. It turned out that cv. Stolichna was more susceptible as compared to cv. Poliska 90. However, reliable differences between disease developments in two varieties were not found.

The usage of biochemical markers for wheat leaf blotch infection revealed greater sensitivity, as compared to visual disease symptoms estimation and allowed to analyze plant defense response to pathogen attack during the first hours after inoculation. Morphometric data of oxalic acid-treated and *S. tritici*-infected plants showed that leaves growth was more extensive than in infected plants and was close to control plants. It turned out that physiological effect of oxalic acid promote the leaf blades growth in both Poliska 90 and Stolichna varieties. No significant differences in morphometric data between these varieties were observed.

Thus, the usage of oxalic acid as elicitor to induce wheat innate disease resistance is promising and environmentally friendly because it does not disturb ecological equilibrium in agrophytocenoses.

References

1. Дмитрієв А.П., Гродзинський Д.М. и Полищук В.П. (2005) Индуцирование системной устойчивости у растений биогенными индукторами. Вісник Харківського націон. аграрн. університету. Серія Біологія. 3: 24-36.
2. Kayashima T. and Katayama T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems (2002) *Biochim. Et Biophys. Acta*. 1573:1-3.
3. Методи селекції і оцінки стійкості пшениці у ячменя к болезням в странах-членах СЗВ. (1988) Прага.- 321 с.
4. Seevers P. M., Daly J.M. and Catedral F.F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease (1971) *Plant Physiol*. 48(3): 353-360.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА ЕНДОГЕННИЙ ПУЛ H_2O_2 В ЛИСТКАХ ПШЕНИЦІ ЗА УМОВ ВИСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕСУ

Жук В.В., Мусієнко М.М.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Пероксид водню (H_2O_2 , ПВ) є незарядженою і відносно довго живучою молекулою, яка може пересуватись на значні відстані і проникати через мембрани, менш токсична порівняно з іншими активними формами кисню (АФК) (1). Вважають, що H_2O_2 здатний виконувати роль внутрішньоклітинного месенджера, активувати роботу генів, які кодуєть антиоксидантні ферменти, сигнальні білки. Відома регуляторна роль H_2O_2 в функціонуванні фотосинтетичного апарату. H_2O_2 може дифундувати з хлоропластів і індукувати сигнальні процеси в цитоплазмі. Обробка рослин H_2O_2 здатна індукувати експресію хлоропластних та ядерних генів. Однак вплив екзогенного H_2O_2 на пул ендogenous пероксидів за дії високотемпературного стресу залишається не дослідженим. Метою нашої роботи було вивчення дії обробки рослин H_2O_2 на ендogenous пул H_2O_2 в листках пшениці за дії високотемпературного стресу.

Рослини озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Поліська 90 вирощували в умовах водної культури протягом 14 діб до фази двох листків. Рослини дослідних варіантів були оброблені водним розчином H_2O_2 в концентрації 10^{-4} М шляхом обприскування листків. Частина оброблених H_2O_2 та таких, які не були оброблені H_2O_2 , проростків прогрівали за температури 45°C протягом 3 годин. Після завершення прогріву проводили визначення ендogenous вмісту H_2O_2 за реакцією з сульфатом титану в сформованих перших двох листках протягом трьох діб після стресового періоду (2). Результати розраховували в мкМ на г сирої маси листків. Повторність дослідів триразова. Статистичну обробку даних проводили за програмою Microsoft Excel.

Показано, що протягом першої доби відновного періоду в клітинах мезофілу листків пшениці сорту Поліська 90 відбувалось збільшення вмісту ендogenous H_2O_2 вдвічі порівняно до відповідного рівня контролю (рис.1). У оброблених H_2O_2 рослин після прогріву за цей період вміст H_2O_2 в листках зростав лише на 30% порівняно до контролю. На другу добу після дії високотемпературного стресу у необроблених рослин вміст ендogenous H_2O_2 залишався майже на тому ж рівні, що і в першу добу і незначно зменшувався на третю добу. У оброблених H_2O_2 рослин на другу добу після дії високої температури вміст ендogenous пероксиду зменшувався до рівня контролю і залишався на тому ж рівні протягом наступної третьої доби дослідів.

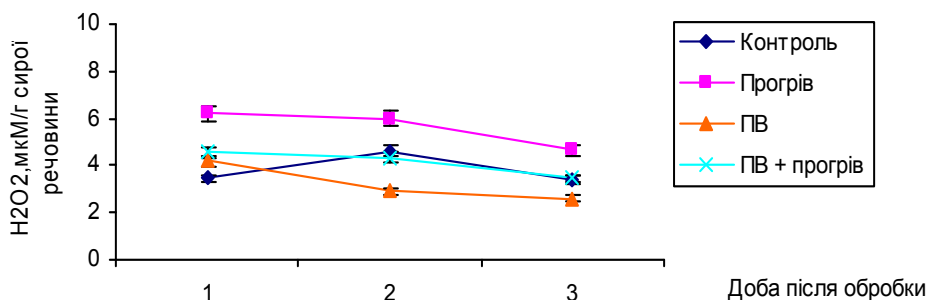


Рис.1. Вміст пероксиду водню в рослинах озимої пшениці сорту Поліська 90 після обробки H_2O_2 та дії 45°C (3 год)

Обробка H_2O_2 рослин, які вирощувались за оптимального температурного режиму, зменшувала ендogenous вміст H_2O_2 в листках пшениці через дві доби. Визначення вмісту води в листках рослин, які були оброблені H_2O_2 , виявило незначну стабілізацію водного статусу рослин за умов дії високотемпературного стресу. Незначна концентрація екзогенного H_2O_2 , яка була використана для обробки рослин, дозволила допустити, що ця молекула виконувала сигнальні функції, переважно проникала в клітини через продихову щілину і рухалась по водних каналах. Обробка пшениці екзогенним H_2O_2 зменшувала вміст ендogenous H_2O_2 в листках за дії високотемпературного стресу та в оптимальних умовах вирощування, що свідчить про його участь в індукції адаптивної відповіді рослин пшениці шляхом регуляції ендogenous вмісту АФК. Механізм регуляторної дії екзогенного H_2O_2 реалізується насамперед через його участь в реакції продихів, зменшенні втрат води шляхом транспірації, оптимізації роботи фотосистем. В подальших дослідженнях передбачається вивчення взаємодії сигнальних систем АФК і фітогормонів у реакції пшениці на високотемпературний стрес.

Література

1. Креславский В.Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. (2012) Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений. *Физиология растений*. 59 (2):163-178.
2. Li-Men Chen, Ching-Huei Kao (1999) Effect of excess copper on rice leaves: evidence involvement of lipid peroxidation. *Bot. Bull. Acad. Sin.* (40): 283-287.

EFFECT OF EXOGENOUS HYDROGEN PEROXIDE ON ENDOGENOUS POOL OF H_2O_2 IN WHEAT LEAVES UNDER HIGH TEMPERATURE STRESS

Zhuk V.V, Musienko M.M.

ESC "Institute of Biology" Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Hydrogen peroxide (H_2O_2 , HP) is uncharged and relatively long-lived molecule that can move considerable distances and penetrate through the membrane, less toxic compared to other reactive oxygen species (ROS) (1). It is considered that H_2O_2 can perform the role of intracellular messenger, activate genes encoding antioxidant enzymes, signaling proteins. It is known that H_2O_2 could regulate the functioning of the chloroplast photosynthetic apparatus. H_2O_2 can diffuse from chloroplasts and induce signaling processes in the cytoplasm. Plant treatment plants by can induce the expression of chloroplast and nuclear genes. However, the effect of exogenous H_2O_2 on the pool of endogenous peroxides under high temperature stress remains to be unexplored. The aim of our work was to study the effect of H_2O_2 treatment on plants to endogenous pool of H_2O_2 in wheat leaves of under high temperature stress.

Winter wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of variety Poliska 90 were grown in water culture for 14 days for phase two leaves. Experiment variants were treated by 10^{-4} M water solution of H_2O_2 by spraying leaves. Part of H_2O_2 -treated and H_2O_2 untreated plants were heated by the temperature of 45°C for 3 hours. Content of endogenous H_2O_2 was determined by reaction with titanium sulfate in the first two mature leaves during three days after heating (2). Results were calculated in μM at g of leaves fresh weight (FW). Experiments repeated three times. Statistical data were processed by the program Microsoft Excel.

It is shown that after first day of recovery period in leaf mesophyll cells of wheat variety Poliska 90 the content of endogenous H_2O_2 increased twice compared to the control during the first day after treatment (Fig. 1). In H_2O_2 -treated plants after heating the content of H_2O_2 in leaves increased only by 30% compared to controls. On the second day after high temperature stress in untreated plants content of endogenous H_2O_2 remained almost at the same level as on the first day and slightly decreased on the third day. In H_2O_2 -treated plants on the second day after heating endogenous peroxide content decreased to control levels and remained at the same level during the next third day of the experiment.

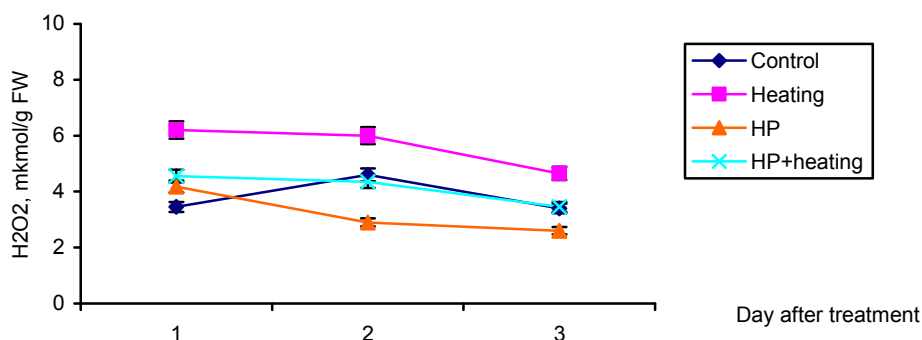


Fig. 1. Content of hydrogen peroxide in plants of winter wheat variety Poliska 90 after treatment with H_2O_2 and action of 45°C during 3 h

Treatment by H_2O_2 on plants that were grown at optimal temperature caused the decreasing of endogenous H_2O_2 content in leaves of wheat seedlings after two days. Determination of water content in leaves of plants that were treated by H_2O_2 showed a slight stabilization of water status of plants under conditions of high temperature stress. Low concentration of exogenous H_2O_2 used for the plant treatment allowed that this molecule performed signal functions by mainly penetrating into the cells through the pores and stomatal pore and moved via water channels. Treatment wheat plants by exogenous H_2O_2 reduced the content of endogenous H_2O_2 in leaves under the effect of high temperature stress and optimal growth conditions, indicating its involvement in induction of adaptive responses of wheat plants by regulating endogenous ROS content. Regulatory mechanism of exogenous H_2O_2 effect realized primarily through its participation in the reaction of stoma, reducing water loss by transpiration, optimization photosystem activity. In further studies the investigation of the interaction between signaling systems ROS and phytohormones in wheat plant response to high-temperature stress is planned.

References

1. Креславский В.Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В.(2012) Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений. Физиология растений. 59 (2):163-178.
2. Li-Men Chen, Ching-Huei Kao (1999) Effect of excess copper on rice leaves: evidence involvement of lipid peroxidation. Bot. Bull. Acad. Sin. (40) :283-287.

ВПЛИВ 24-ЕПІБРАСИНОЛІДУ НА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ У ПШЕНИЦІ ЗА ДЕФІЦИТУ ВОДИ

Жук О.І.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Брасиностероїди (БС) разом з іншими фітогормонами беруть участь в контролі клітинного росту і розмірів рослин, що було продемонстровано за допомогою мутантів по їх біосинтезу (1). БС адитивно взаємодіють з гіберелінами (ГК) в регуляції клітинного росту в період розтягнення. Використання молекулярних методів дозволило показати, що БС регулюють експресію генів тонопластних аквапоринів, що вказує на механізм їх дії в регуляції клітинного росту і розмірів клітин шляхом керування величинами тургорного тиску або потоків низькомолекулярних сполук через плазмалему та тонопласт. Виявлена регуляція екзогенними брасиностероїдами гену *MER1-5 Arabidopsis thaliana*, який кодує фермент розривлення клітинної стінки і збільшення розмірів клітини ксилоглюкан-ендогідролазу (2). Створення синтетичного аналогу брасиностероїдів 24-епібрасиноліду і його виробництво під назвою препарату епін розширило можливості вивчення його фізіологічної дії та практичного використання. Незважаючи на значний інтерес до проблеми участі брасиностероїдів в адаптивних процесах у рослин значна частина аспектів даної проблеми все ще залишається нез'ясованою. Метою наших досліджень було з'ясування дії епіну на ростові процеси в період проростання насіння пшениці за недостатнього забезпечення водою.

Насіння озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Київська 8 замочували у водному розчині епіну в концентрації 10^{-8} М протягом 1 години. Частина насіння пророщували за оптимальних умов, а інші після 2 діб проростання залишали без води за температури 22 °С і вологості повітря 70% протягом 5 діб, після чого відновлювали полив проростків. Протягом відновного періоду вимірювали відносний добовий лінійний приріст (ВЛП). На графіках представлений ВЛП пагонів і коренів за добу по відношенню до контролю. В умовах польового дослідження була проведена обробка рослин пшениці сорту Богдана препаратом епін в тій же концентрації в період виходу в трубку і була досліджена динаміка росту колосу та закладання і формування насіння.

Встановлено, що у період відновлення ростових процесів в проростках пшениці найбільша стимуляція росту відбувалась у коренів, яка відзначалась вже на другу добу відновного періоду і найбільше підсилювалась на третю добу. (рис.1). В цей період приріст коренів за дії БС вдвічі перевищував відповідний приріст коренів в контролі. Приріст пагонів після дії водного стресу був також більш інтенсивним порівняно до контролю і відзначався вже протягом першої доби після відновлення поливу. На третю добу досліджу прирости пагонів, які склались з зародкових листків, вирівнювались в контролі та досліді. Стимуляція лінійного росту пагонів і коренів проростків пшениці за дії брасиностероїду обумовлювалась його впливом на процеси розтягнення клітин, про що свідчить стимуляція лінійного росту лише через дві доби після поновлення водозабезпечення рослин.

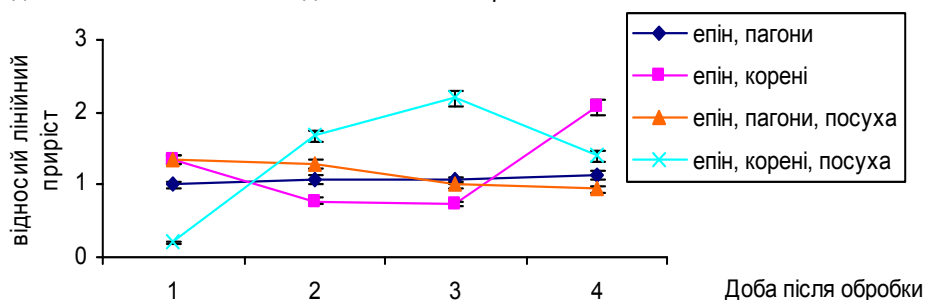


Рис.1. Вплив 24-епібрасиноліду на ростові процеси у пшениці сорту Київська 8.

Вивчення дії епіну на рослини пшениці в умовах польового дослідження дозволило встановити, що за його дії збільшувалась висота колоса та кількість зерен в колосі. Позитивний вплив брасиностероїду на ростові процеси в період росту і формування колоса проявився через адаптацію рослин до високої температури середовища та дефіциту води в період росту зернівки.

Вважають, що регуляторні і адаптивні функції БС проявляються у тісній взаємодії з ГК на рівні експресії комплексу генів та регуляції активності аквапоринових водних каналів (2). Подальше дослідження участі БС в стійкості рослин до дефіциту води дозволить з'ясувати їх роль у формуванні адаптації рослин до умов посухи.

Література

1. Azpiroz R, Wu Y, LoCascio J.C., Feldman K.A. (1998) An Arabidopsis brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation. Plant Cell (10): 219-230.
2. Bouquin T, Meier C, Foster R, Nielsen M.E, Mundy J (2001) Control of specific gene expression by gibberellin and brassinosteroid. Plant Physiology (127): 450-458.

EFFECT OF 24-EPIBRASSINOLID ON GROWTH PROCESSES IN WHEAT UNDER WATER DEFICIT

Zhuk O.

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

Brassinosteroid (BS) with other phytohormones take part in control of cell growth and plant sizes, as have been demonstrated by using mutants in their biosynthesis (1). BS additively interacts with gibberellins (GA) in the regulation of cell growth in elongation period. The usage of molecular methods allowed to show that BS regulate gene expression of tonoplast aquaporins indicating the mechanism of their effect in the regulation of cell growth and cell size by control values of turgor pressure or low-molecular compounds flows through plasmalemma and tonoplast. It is revealed that the regulation of MERI-5 gene in *Arabidopsis thaliana* by exogenous brassinosteroids, which encodes an enzyme of cell wall loosening and increasing the size of cells xyloglucan-endohydrolase (2). Creating a synthetic analogue of 24-brassinosteroid epibrassinolid and its production as preparation under the name epin increased the possibility to study its physiological effect and practical use. Despite the considerable interest to the problem of brassinosteroid participation in adaptive processes in plants much of the aspects of this problem remain unclear. The aim of our study was to clarify epin action to growth processes during germination of wheat seeds by poor water supply.

Seeds of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) variety Kyivska 8 were wet in water solution of 10^{-8} M epin for 1 hour. Some seeds were couched under optimal conditions, and the other after 2 days germination were left without water at a temperature of 22 °C and humidity of 70% for 5 days and then watering of seedlings resumed. During the recovery period relative linear growth (RLG) was measured daily. The RLG of shoots and roots per day relative to controls are shown on figure. In a field experiment plants of wheat variety Bogdana were treated by epin preparation in the same concentration in the booting phase and it was studied the growth dynamics of the ear and seed laying and formation.

It was established that during the recovery of the growth processes in wheat seedlings the greatest stimulation of growth took place in the roots on the second day of recovery period and the most reinforced on the third day (Fig. 1). During this period the growth of roots for the actions of BS twice exceeded the growth of roots in control. The growth of shoots after water stress was also more intensive compared to the control and marked during the first days of recovery irrigation. On the third day of the experiment shoots growth that consisted of germ layers equalized in control and experiment variants. Stimulation of linear growth of shoots and roots of wheat seedlings under brassinosteroid treatment was caused by its influence on the process of cells elongation as evidenced by stimulation of linear growth only two days after the recovery of plants water-supply.

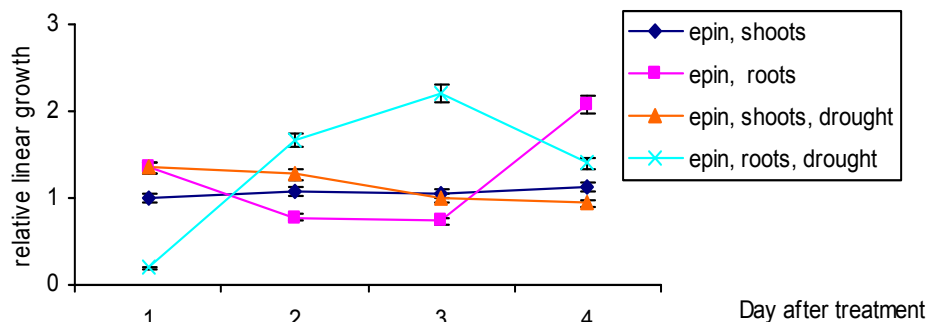


Fig. 1. Influence of 24-epibrassinolid on growth processes in wheat variety Kyivska 8.

The study of epin effect on wheat plants in field experiments revealed that ear height and number of grains in the ear increased in treated plants. Positive effect of brassinosteroid on growth processes during growth and ear formation exhibited through the adaptation of plants to high temperature and water deficit in environment during seed growth.

It is considered that the regulatory and adaptive functions of BS are in close cooperation with the GA on the regulation expression of gene complex and aquaporin water channels activity (2). Further research of participation BS in plant resistance to water deficit will clarify their role in forming the adaptation of plants to drought conditions.

References

1. Azpiroz R, Wu Y, LoCascio J.C., Feldman K.A. (1998) An Arabidopsis brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation. Plant Cell (10): 219-230.
2. Bouquin T., Meier C., Foster R., Nielsen M.E., Mundy J. (2001) Control of specific gene expression by gibberellin and brassinosteroid. Plant Physiology (127): 450-458.

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЗООТОКСИНАМИ

Звонкова М.Б., Малиновский Д.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, Россия
e-mail: maryz@bk.ru

В последние годы на повестку дня настоятельно выдвигаются вопросы охраны внутренней среды человека. На первое место начинают выходить болезни, обусловленные острыми и хроническими интоксикациями, воздействием ксенобиотиков и других токсинов на жизненно важные органы. В процессе эволюции в организме человека сформировалась мощная, многокомпонентная система защиты от воздействия внешних факторов. Компоненты этой системы, расположенные практически во всех частях организма, осуществляют основные этапы детоксикации: связывание токсина, его транспорт, трансформацию, удаление и утилизацию. Расшифровка отдельных механизмов детоксикации ксенобиотиков необходима для понимания их работы в системе целого организма.

Помимо гистологических и биохимических систем, предназначенных для деградации ксенобиотиков, печень обладает развитым тучноклеточным аппаратом, участвующим в синтезе и выделении гепарина. Пути инаktivации и элиминации зоотоксинов в организме изучены очень мало. Поэтому представлялось интересным выяснить, как изменяется активность ядов животных при прохождении через синусоиды печени. Для оценки защитной роли печени в процессе интоксикации ядами животных была изучена их сравнительная активность при разных способах попадания в организм – через бедренную или воротную вены. Для этого сравнивали два способа введения: в бедренную вену, когда зоотоксин непосредственно попадает в общий кровоток, и в портальную вену; в этом случае яд должен миновать воротную систему печени, прежде чем окажется в нижней поллой вене. Тестовую дозу яда вводили каждые 10 минут, оценивали суммарную дозу зоотоксина, вызвавшую гибель животного.

Инъекция кошке, предварительно наркотизированном гексеналом, пчелиного яда в дозе 2 мг/кг в бедренную вену вызывала резкие нарушения сердечной деятельности уже в первые минуты после интоксикации. У большинства животных наблюдалось выраженное уменьшение частоты сердечных сокращений (ЧСС) через 30 секунд. Наряду с развитием синусовой брадикардии, на ЭКГ наблюдалось извращение желудочкового комплекса, возникновение «гигантского» зубца Т, снижение других зубцов, характерное для терминального состояния деятельности сердца. Гибель животного наступала в некоторых случаях через 5 минут после первого введения тестовой дозы яда. Средняя летальная доза составила 3.33 ± 0.67 мг/кг. При введении того же количества пчелиного яда в воротную вену наблюдали небольшое снижение ЧСС в первые 5 минут после инъекции с последующим восстановлением или незначительным ускорением сердечного ритма. Терминальное состояние сердечной мышцы наступало только при инъекции 6–9 тестовых доз, средняя летальная доза составила 14.3 ± 0.95 мг/кг.

При дозированном введении (0.2 мг/кг за одно введение) яда кобры в бедренную вену изменения сердечной деятельности были слабо выражены. Значительные изменения элементов ЭКГ (замедление сердечного ритма и увеличение зубца Т) наблюдались только после 3–5 введений тестовой дозы и были связаны, скорее всего, с нарушением системы дыхания. Гибель животных наступала после 4–6 введений от асфиксии, вызванной, по-видимому, блокированием дыхательного центра. Летальная доза составила 1.1 ± 0.11 мг/кг. Введение яда кобры в воротную вену приводило к небольшому, но достоверному уменьшению его токсичности. Гибель животного наступала в этом случае только после 7–9 введений тестовой дозы яда, средняя суммарная доза равнялась 1.53 ± 0.1 мг/кг.

Инъекция яда эфы в дозе 1 мг/кг в бедренную вену сопровождалась резким угнетением сердечной деятельности. ЧСС уменьшалась в первые 5 минут примерно в 2 раза, гибель животного наступала после первого или второго введения тестовой дозы. Введение в воротную вену тех же доз яда не вызывало заметных изменений ЭКГ; только после четвертого введения наблюдалась брадикардия. Средняя суммарная доза яда, вызвавшая гибель животного при инъекции в воротную вену, была 5.33 ± 1.03 мг/кг.

Многokратное введение яда щитомордника (2 мг/кг) в бедренную вену приводило к отчетливым нарушениям деятельности сердца. На ЭКГ наблюдалась инверсия зубца Т и атриовентрикулярный блок, что характерно для терминального состояния деятельности сердца. Средняя летальная доза при этом равнялась 7.33 ± 1.33 мг/кг. Инъекция тех же доз яда щитомордника в воротную вену вызывала аналогичные изменения в жизнедеятельности животного. Суммарная доза, приведшая к гибели животных, составила в этом случае 6.33 ± 1.09 мг/кг.

Таким образом, все исследуемые зоотоксины можно разделить на две группы – уменьшающие свою активность при прохождении через синусоиды печени (пчелиный яд, яд кобры, эфы) и устойчивые к действию детоксицирующих систем печени (яд щитомордника). Очевидно, что аналогичная закономерность проявлялась при исследовании отношения данных зоотоксинов к антидотному действию гепарина. Яды, на токсичность которых не оказывал влияния гепарин, проявляли одинаковую активность при введении в организм через бедренную и воротную вены.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

LIVER ADAPTIVE RESPONSE IN ANIMAL VENOMS POISONING

Zvonkova M.B., Malinowski D.S.

Nizhny Novgorod State University. N. Lobachevsky Nizhny Novgorod, Russia
e-mail: maryz@bk.ru

In recent years the issue of protecting the internal environment of a person is very important. In the first place the diseases become actual which caused by acute and chronic intoxications, xenobiotics and other toxins exposure to the vital organs. In the process of evolution a powerful, multi-component system of protection against external factors has formed in the human body. The components of this system are located in almost all parts of the body, carry out the main stages of detoxification: the binding of the toxin, its transport, transformation, removal and disposal. Deciphering the mechanisms of detoxification of individual xenobiotics needs to understand their effect in the whole organism.

In addition to histological and biochemical systems intended for degradation of xenobiotics, the liver has developed mast cell apparatus involved in the synthesis and releasing of heparin. Ways to inactivation and elimination animal venoms in organism are poorly understood. It was therefore interesting to find out how the activity of animals venoms will change while passing through the liver sinusoid. To evaluate the protective role of liver on the toxicity of animal venoms has been studied their relative activity under different ways of getting into the body - through the femoral or portal vein. To do this, we compared two methods of introduction of animal venom: first, in the femoral vein when toxin directly enters the bloodstream, and second, into the portal vein, in which case the poison must pass through hepatic portal system before it will be in the inferior vena cava. Test dose of venom was injected every 10 minutes, estimated total dose of toxin that caused the death of the animal.

Cats were previously anesthetized with hexenal. Injection of bee venom in a dose of 2 mg/kg into the femoral vein caused a sudden cardiac abnormalities in the first minutes after intoxication. Most of the animals showed marked reduction in heart rate (HR) within 30 seconds. Along with the development of sinus bradycardia the distortion of ventricular complex, the appearance of "giant" T wave and the reducing of other teeth were observed on ECG, which is characteristic for the terminal condition of the heart. The death of the animal was occurred in some cases 5 minutes after the first administration of a test dose of venom. The average lethal dose was 3.33 ± 0.67 mg/kg. With the injection of the same amount of bee venom into the portal vein was observed a slight decrease in heart rate during the first 5 minutes after injection, followed by reduction or insignificant acceleration of heart rate. The terminal state of the heart muscle occurred only when from 6 to 9 test doses were inject, the average lethal dose was 14.3 ± 0.95 mg/kg.

With the injection of cobra venom in a test dose 0.2 mg/kg at a time into the femoral vein the changes in cardiac activity were weak. Significant changes in elements of the ECG (slow heart rate and an increase in the T wave) were observed only after 3-5 injections of the test dose and were associated most likely in violation of the respiratory system. Death of the animals was occurred after 4-6 injections and was associated with asphyxia caused apparently by blocking the respiratory center. The lethal dose was 1.1 ± 0.11 mg/kg. The injection of cobra venom in the portal vein resulted in a slight but significant decrease in its toxicity. The death of the animal was occurred in this case only after from 7 to 9 test dose injections of poison, the average total dose was equal to 1.53 ± 0.1 mg/kg.

The injection of efa venom (*Echis carinatus*) in a test dose 1 mg/kg into the femoral vein followed by a sharp depression of cardiac activity. Heart rate decreased in the first 5 minutes about 2 times, the death of the animal was occurred after the first or second injection of the test dose. Injection of the same dose of the poison to the portal vein did not cause significant changes in ECG. Only after the fourth injection bradycardia was observed. The average total dose of the poison that caused the death of the animal when injected into the portal vein was 5.33 ± 1.03 mg / kg.

Repeated administration of copperhead venom (*Agkistrodon halys*) (2 mg / kg) into the femoral vein resulted in a distinct violations of the heart. On the ECG the T-wave inversion and atrioventricular block were observed, which are typical for the terminal condition of the heart. The average lethal dose in this case amounted to 7.33 ± 1.33 mg/kg. Injection of the same dose of poison into the portal vein caused similar changes in the life of the animal. The total dose that resulted in the death of animals, in this case was 6.33 ± 1.09 mg / kg.

Thus, all investigated animal venoms can be divided into two groups – which reduced their activity during passage through the liver sinusoids (bee venom, cobra and efa venom) and which was resistant to the liver detoxifying systems (copperhead venom). It is obvious that a similar pattern was shown in the study of the relationship of these animal venoms to the antidote action of heparin. Poisons toxicity which did not affect by heparin, showed the same activity when injected into the body through the femoral and portal veins.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОСТЕЙШИХ ПОСЛЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РАДИОЧАСТОТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Иголкина Ю.В., Баранова М.М.

Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ МИФИ, Россия, Обнинск
e-mail: bioeco@iate.obninsk.ru

С использованием метода прижизненной морфометрии и компьютерной программы «Image Pro 3.5» выявлены морфологические патологии формы тела инфузорий *Spirostomum ambiguum*, находящихся 1 ч в радиочастотном низкоинтенсивном поле с плотностью потока энергии (ППЭ) 10 и 50 мкВт/см². Исследуемые ППЭ находятся в диапазоне предельно допустимых уровней потока электромагнитной энергии, принятом в России [1] и, что очень важно, которые значительно ниже чем в Европе [2].

Спиростом помещали в открытые пластиковые чашки Петри диаметром 4 см в слой воды 0,5 см под непрерывно генерирующую электромагнитную энергию с частотой базовых станций сотовой связи (1 ГГц) и спутникового телевидения (10 ГГц) лабораторные генераторы Р2-52 и Г4-109. Исследование морфологических изменений проводили у контрольных и облученных групп животных по 50 особей в каждой в трех сериях экспериментов. Сканирование формы тела простейших проводили через сутки с помощью комплекта оборудования, включающего USB-видеокамеру MYscope 300M, смонтированную на окуляре бинокулярного микроскопа МБС-10 и соединенную с компьютером Pentium IV.

Результаты исследования показали, что доля животных с патологией возростала от 4-7 % в контроле до примерно 50 % для 1 и 10 ГГц при ППЭ 50 мкВт/см² и до 60% для 1 и 10 ГГц с ППЭ 10 мкВт/см². Изменения морфологических показателей по критериям соотношения минимального и максимального диаметров составили 40-42%, степени отклонения от окружности 24-25%, уменьшении периметра 18-20%, и длины тела 27-28% для изученных частот. С помощью критерия Манна-Уитни показано, что морфологические отклонения формы и размера тела у облученных спиростом от нормы, полученные на частотах, различающихся в 10 раз, достоверно не отличаются ($p > 0,05$).

При облучении инфузорий в электромагнитном поле с частотой 1 ГГц и 10 ГГц и ППЭ 10 мкВт/см² процент патологических изменений у экспериментальных групп по отношению к контрольным составили: по соотношению минимального и максимального диаметров 40-42%, степени отклонения от окружности 17-27%, уменьшении периметра 17-20% и длины тела 23%.

Во многих исследованиях по выявлению биологического действия антропогенных факторов на живые организмы в качестве тест-объектов широко используют простейших. Одной из ответных реакций простейших на влияние негативного фактора является раздражение, приводящее к изменениям двигательной реакции, скорости размножения, характера питания, других биохимических и физиологических параметров организма [3].

Известно, что чем ниже стоит животное на эволюционной лестнице, тем меньшим числом адаптационных механизмов оно обладает и тем выше его чувствительность ко многим факторам среды [4,5].

Вопрос о роли поведения при индикации состояния окружающей среды связан с именами известных российских ученых Н.С.Строганова; А.Д.Слонима, Б.А.Флерова; Л.П.Брагинского; Н.А.Тушмаловой. В своих работах они показали, что степень отклонения от стандартных поведенческих реакций животных может служить одним из первичных, на визуальном уровне регистрируемых сигналов изменений в окружающей среде.

Изменение формы тела спиростом может являться реакцией, как на само излучение, так и на изменение свойств облученной воды, что, соответственно, является механизмом избегания вредных условия обитания.

Таким образом, метод морфометрии позволил повысить эффективность исследований на простейших и расширить диапазон информативных количественных показателей, позволяющих изучать эффекты биологического действия ЭМИ.

Литература

1. Гигиенические требования к размещению и эксплуатации средств сухопутной подвижной радиосвязи. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.8/2.2.4.1190-03. М.: ФЦ ГСЭН Минздрава России, 2003. 27 с.
2. CENELEC. 2010. Annual Report 2010. Brussels: European Committee for Electrotechnical Standards
3. Черемных Е.Г., Симбирева Е.И. Инфузории пробуют пищу // Химия и жизнь. 2009. № 1. С.28-31.
4. Флеров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Л.: Наука. 1989. 142 с.
5. Слоним А.Д. Основы общей экологической физиологии млекопитающих. – М.-Л.:АН СССР, 1961.–432 с.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CHANGE MORPHOMETRIC INDICATORS OF PROTISTA UNDER LOW-INTENSITY RADIO FREQUENCY INFLUENCE

Igolkina J.V., Baranova M.M.

Institute of Nuclear Power Engineering of the National Research Nuclear University "MEPhI", Obninsk, Russian Federation
e-mail: bioeco@iate.obninsk.ru

It was obtained and analyzed the effects of low intensity radio frequency radiation with frequency 1 GHz (a mobile connection frequency) and 10 GHz (radar and satellite communications) with power flux density 10 and 50 mW/cm² by the anatomical pathology of the body forms at ciliates *Spirostomum ambiguum*.

Irradiation of the test organisms was performed in a continuous mode by the generators R2-52 and G4-109. The control of power flux density is carried out by the measuring receiver R3-18. The special software ImagePro 3.5 was used, that allowed to spend a lifetime morphometry of the irradiated planarians ciliates. The experiments were conducted for each of species in three replications. In each replication 50 ciliates in the control groups and 50 at each point of experiment were tested.

It was shown that the percentage of animals with abnormality increased from 4-7% in the control group up to approximately 50% for 1 and 10 GHz with power flux density 50 mW/cm², and up to 60% for 1 and 10 GHz with power flux density 10 mW/cm².

The change of infusoria body form may be a reaction as to the electromagnetic radiation, and to change the properties of irradiated water. Such changes, accordingly, are mechanism of avoidance in deleterious habitat conditions.

The present result was interesting in the issue of biota radiation protection and the common problem of the electromagnetic wave activity to the biota.

АНТИДЕПРЕССАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ АКУСТИЧЕСКОЙ НЕЙРОМОДУЛЯЦИИ В ТЕСТЕ ФОРСИРОВАННОГО ПЛАВАНИЯ У КРЫС

Изварина Н.Л., Ленцман М.В., Муровец В.О., Савохин А.А.

Институт физиологии им. И.П.Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: MLensman@yandex.ru

Феномен следования электрической активности мозга за навязываемой частотой ("frequency-following effect") известен с 1944 года, когда Грэй Уолтер (Gray Walter) показал влияние на ЭЭГ мигающего света. Позднее были показаны похожие эффекты и для звуковой стимуляции.

Используя специально разработанное программное обеспечение, нами были синтезированы звуковые сигналы с оригинальным алгоритмом частотно-амплитудной модуляции в диапазоне 2-13 Гц (TS1) и диапазоне 13-55 Гц (TS2). Модулирующие частоты соответствовали частотным диапазонам ЭЭГ и находились в пределах 2-13 Гц (тестовый звук 1, TS1) и 13-55 Гц (тестовый звук 2 - TS2).

В настоящей работе проведено изучение поведенческих эффектов синтезированных звуков в тесте форсированного плавания в сравнении с синусоидально модулированными звуками (SAM и SFM) и фармакологическими антидепрессантами (амитриптилин, сертралин, миансерин).

Звуковые воздействия предъявлялись животным 3 раза по 30 минут в течение суток после формирования выученной беспомощности неизбежным плаванием в цилиндре с водой в течение 15 минут. На следующий день при повторном помещении животного в цилиндр с водой на 5 минут регистрировались типы поведенческой активности – климбинг (карабкање на стенки цилиндра), активное плавание и дрейф (совершение животным лишь тех движений, которые необходимы для поддержания носа выше уровня воды).

Наряду с регистрацией временных характеристик, проводилась видеозапись процедуры тестового плавания для последующего компьютерного анализа.

Предъявление животным тестовых звуков существенно и статистически достоверно снижало время дрейфа и увеличивало время активного плавания. Влияние контрольных звуков на паттерн поведения было незначительным. Эффект воздействия тестовых звуков был сравним с эффектом таких антидепрессантов, как амитриптилин, сертралин и миансерин.

Таким образом, частотно-амплитудно модулированные по нелинейному алгоритму звуковые воздействия обладают выраженным антидепрессантным эффектом в тесте форсированного плавания у крыс.

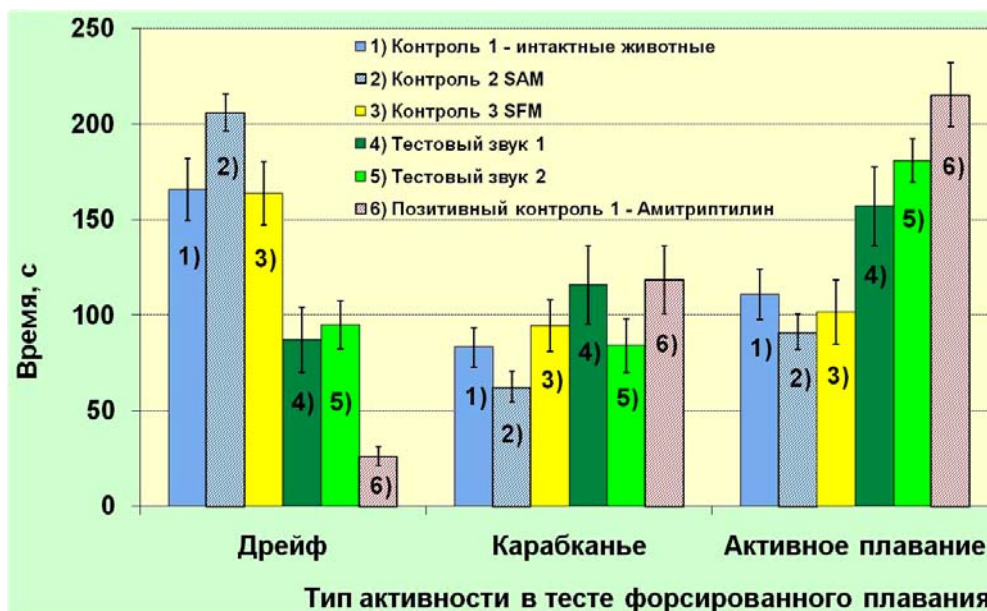


Рис. Влияние тестовых звуковых воздействий с нелинейной мультипараметрической модуляцией (TS1 и TS2) на активность крыс в тесте форсированного плавания в сравнении с синусоидально модулированными звуками (SAM и SFM) и амитриптилином.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ACOUSTIC NEURO-MODULATION POSSES MARKED ANTIDEPRESSANT ACTIVITY IN FORCED SWIM TEST IN RATS

Izvarina N.L., Lentsman M.V., Murovets V.O., Savochin A.A.

Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia
e-mail: MLensman@yandex.ru

The "frequency-following effect" of brainwave activity, which tends to mirror flickering light, is well known phenomenon since its discovery by Gray Walter in 1940s. More recently, sound has been shown to produce similar results.

We developed PC software for producing of sounds with simultaneous amplitude and frequency modulation at the carrier frequency of 1000 Hz. Modulation frequencies were correlated with the frequency bands of EEG. We developed test sound 1 in area of 2-13Hz (TS1) and test sound 2 in area 13-55 Hz (TS2).

The effect of TS1 and TS2 on components of active behaviors (climbing - upward-directed movements of the forepaws along the side of swim chamber; swimming - the horizontal movement throughout the swim chamber; immobility - when no additional activity is observed other than that required to keep the rat's head above the water) was studied in forced swim test in comparison with sinusoidal amplitude modulated (SAM) and sinusoidal frequency modulated (SFM) control sounds as well as with pharmacological antidepressants (amitriptyline, mianserin and sertraline).

The procedure of test swimming was video recoded to the mpeg file through the video camera and digitizing board for further automatic analysis.

TS1 and TS2 significantly reduced immobility and increased swimming behavior in comparison with control sounds. TS1 had some effect on climbing behavior. The influence of SFM on components of active behaviors was not significant. SAM significantly increased immobility behavior in comparison with control sound. The effects of TS1 and TS2 were comparable with effects of well-known antidepressants - amitriptyline, mianserin and sertraline.

Thus, we have demonstrated that our multiparametric algorithm of modulation can produce antidepressant-like effects in the rat model of forced swim test.

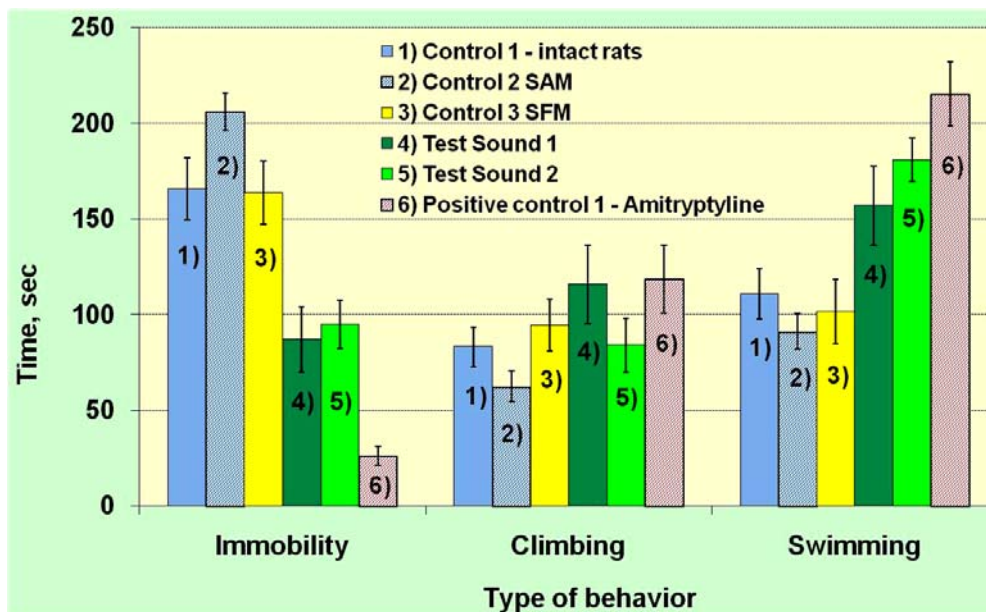


Fig. The effect of test sounds (TS 1 and TS2) on the components of active behaviors in the rat model of forced swim test in comparison with sinusoidal modulated sounds (SAM and SFM) and amitriptyline.

АДАПТАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ОРГАНІЗМУ НОВОНАРОДЖЕНИХ ПОРОСЯТ ЗА ДОДАВАННЯ ДО РАЦІОНУ СВИНОМАТОК НАНОСПОЛУКИ ХРОМУ (III)

Іскра Р.Я., Сварчевська О.З., Салига Н.О., Максимович І.Я., Цепко Н.Л.

Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна
e-mail: iskra_r@ukr.net

Вагітність для свиней є фізіологічним стресором, який сприяє виникненню гестаційного діабету (спричиненого вагітністю цукрового діабету). Рівень глюкози в крові свиноматок наприкінці вагітності та після опоросу високий, що призводить до загибелі значної кількості поросят у перші 7 днів після народження. Відомо, що вагітність свиней є причиною зменшення вмісту хрому в організмі, тому виникає необхідність у цей період додаткового введення його до раціону для поповнення запасів. Реальні перспективи кардинального вирішення проблеми ліквідації дефіциту хрому в свиноводстві з'явилися в результаті інтенсивного розвитку за останні роки нанотехнологій. Наночастинки хрому завдяки своїй високій реакційній здатності та безпечності у формі органічних сполук, можуть ефективно застосовуватися в годівлі тварин.

Мета досліджень – з'ясувати вплив наночитрату хрому на деякі ланки обміну речовин в крові свиноматок та народжених від них поросят.

Дослідження проводили на свиноматках та народжених поросятах. Свиноматкам першої дослідної групи до основного раціону додавали цитрат нанохрому в кількості 20 мкг Cr^{3+} /кг, другої – 100 мкг Cr^{3+} /кг комбікорму. Наночитрат хрому був одержаний методом ерозійно-вибухової технології.

У дослідженнях було встановлено, що за введення до раціону свиноматок цитрату нанохрому рівень глюкози в їх крові на 5-ту добу після опоросу зменшувався на 9,1%, а на 20-ту добу – на 14,5 % порівняно з контролем. У крові поросят першої та другої дослідних груп вміст глюкози в 20-добовому віці зменшувався відповідно на 27,1 і 24,2% порівняно з його рівнем у крові тварин контрольної групи.

Важливу роль у реалізації антирадикального та антипероксидного захисту клітин крові відіграє глутатіонова система. У результаті проведених досліджень виявлено зростання концентрації відновленого глутатіону в 1,3 раза у свиноматок першої та в 1,4 раза другої дослідної групи на 20 добу після родів. В крові поросят обох дослідних груп на 20 добу життя спостерігається тенденція до збільшення його концентрації, порівняно з контрольною групою тварин.

Виявлено підвищення глутатіонпероксидазної активності лізату еритроцитів в крові свиноматок першої та другої дослідних груп на 20 добу після опоросу в 1,4 та 2,1 рази порівняно з контролем. У поросят дослідних груп активність досліджуваного ензиму істотно не змінювалася.

Глутатіонредуктазна активність лізату еритроцитів крові свиноматок другої дослідної групи на 20 добу після опоросу вірогідно збільшувалася в 1,4 рази порівняно з контролем. В крові поросят обох дослідних груп на 20 добу життя спостерігалася тенденція до зростання активності ензиму стосовно контролю.

Відомо, що функціонування ланок антиоксидантної системи залежить від фонду донорів гідрогену. Внутрішньоклітинні запаси NADPH, які синтезуються в пентозофосфатному шунті, забезпечують підтримання глутатіону у відновленому стані і, таким чином, впливають на стан глутатіонового редокс-циклу.

Дослідженнями активності глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності лізату еритроцитів поросят 20-добового віку другої дослідної групи встановлено її зростання на 42,3 %. У той же час активність лактатдегідрогенази в крові 5-добових поросят першої дослідної групи зростала на 25,9%, а 20-добових поросят другої дослідної групи – на 11%.

В результаті проведених досліджень встановлено, що при згодовуванні свиноматкам цитрату нанохрому змінювалися гематологічні показники в тварин. Так, у крові свиноматок дослідних груп на 5 добу після родів спостерігалася зменшення кількості еритроцитів, проте у новонароджених поросят першої та другої дослідних груп на 5 добу життя спостерігається збільшення їх кількості, відповідно на 16,6 та 14,0 % порівняно з контролем. Збільшення кількості еритроцитів за дії цитрату нанохрому у поросят раннього постнатального віку є позитивним ефектом оскільки забезпечує підвищену фізіологічну потребу росту організму в поживних речовинах. Це особливо важливо, оскільки відомо, що в перші дні життя у тварин спостерігається виникнення анемічних захворювань, які характеризуються порушенням кровотворення внаслідок недостатнього споживання заліза з кормом та інтенсивним ростом молодняку в перші тижні життя.

Кількість лейкоцитів у крові свиноматок і поросят на протязі всього дослідного періоду в контрольних та дослідних групах майже однакова. Однак, на 20 добу після опоросу у свиноматок другої дослідної групи вірогідно збільшується кількість лейкоцитів у крові на 19,1 % стосовно контрольної групи, за рахунок зростання кількості сегментоядерних нейтрофілів. Підвищення кількості лейкоцитів у свиноматок, очевидно, є базовою захисною реакцією організму на введення до їх раціону нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг.

При визначенні неспецифічної реактивності організму, яку оцінювали за НСТ-тестом - одним із найбільш об'єктивних критеріїв оцінки функціонального стану поліморфноядерних лейкоцитів периферичної крові, встановлено її зниження на 14,3 % в свиноматок на 20 добу після родів. Це свідчить про зниження в організмі тварин резервних можливостей окисно-відновних метаболічних процесів нейтрофілів, а відтак зниження їх клітинної активності.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що введення до раціону свиноматок цитрату нанохрому в дозі 20 мкг/кг підвищує адаптаційну здатність їх організму та новонароджених поросят, а в дозі 100 мкг/кг - викликає незначне напруження імунітету.

THE ADAPTABLE ABILITY OF ORGANISM OF NEWBORN PIGLETS AFTER ADDING TO THE DIET OF SOWS CHROME (III) NANOCOMPOUNDS

Iskra R.Ya., Svarchevska O.Z., Salyha N.O., Maksimovich I.Ya, Tsepko N.L.

Institute of Animal Biology NAAN, Lviv, Ukraine
e-mail: iskra_r@ukr.net

Pregnancy for pigs is a physiological stressor that contributes to gestational diabetes (pregnancy induced diabetes). The level of glucose in the blood of sows in late pregnancy and after farrowing is high, resulting in the death of a significant number of piglets in the first 7 days after birth. It is known that pregnant pigs causes reduction of chromium in the body, so there is a need for this additional period of his introduction to the diet to replenish stocks. The real prospects for radical solution to eliminate the deficit chromium in pig appeared as a result of intensive development in recent years of nanotechnology. Nanoparticles of chromium due to its high reactivity and safety in the form of organic compounds can be effectively applied to challenge in animal feed.

The purpose of research - to determine the influence of citrate nano chromium some level of metabolism in the blood of sows and piglets born to them.

The study was conducted in sows and newborn piglets. Sows of the first research group to the basic diet added citrate nano chromium in the amount of 20 $\mu\text{g Cr}^{3+}/\text{kg}$, second - 100 $\mu\text{g Cr}^{3+}/\text{kg}$ feed. Citrate nano chromium was obtained by erosion - explosive technology.

In studies it was found that the introduction of the diet of sows citrate nano chromium glucose in their blood at the 5 th day after farrowing decreased by 9.1%, and 20-th day - by 14.5% compared with control. In the blood of piglets of the first and second experimental groups of glucose in the 20-day age decreased respectively by 27.1 and 24.2% compared with its level in the blood serum of the control group.

Important role in the antiradical and antyperoxide protect blood cells plays system of glutathione. As a result of the studies found increase in the concentration of reduced glutathione in 1.3 times in sows of the first and 1.4 times the second experimental group at 20 days after birth. In the blood of piglets of both experimental groups at 20 days of life there is a tendency to increase its concentration, compared with the control group animals.

Revealed increasing glutathione activity lysate of red blood cells of sows of first and second experimental groups at 20 days after farrowing of 1.4 and 2.1 times compared with control. In piglets research groups studied the enzyme activity did not change significantly.

Glutathione reductase activity lysate of erythrocytes of blood of sows of second experimental group at 20 days after farrowing significantly increased 1.4 times compared with control. In the blood of piglets of both experimental groups at 20 days of life was increasing enzyme activity to control.

It is known that the functioning parts of antioxidant systems dependent on the hydrogen donor fund. Intracellular reserves of NADPN which are synthesized in pentosophosphate way, provide support in the restored state of glutathione and thus affect the state-glutation new redox cycle.

Research activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity of erythrocyte lysate piglets 20-day old of second research group found its growth at 42.3%. At the same time the activity of lactate in the blood 5-day-old piglets the first experimental group increased by 25.9%, and 20-day-old piglets second experimental group - 11%.

As a result of the studies found that when feeding sows citrate nano chromium changed hematological parameters in animals. Thus, blood sows research groups at 5 days after birth decreased erythrocyte but in newborn piglets first and second experimental groups for 5-day life there is an increase in their number, respectively by 16.6 and 14.0% compared with control. Increasing the number of red blood cells by citrate nanohromu in pigs early postnatal age is a positive effect because it provides increased physiological need for a growing body of nutrients. This is particularly important because it is known that in the first days of life in anemic animals there is the emergence of diseases that are characterized by violation of the blood due to insufficient iron intake from food and intense growth of calves in the first weeks of life.

The number of leukocytes in the blood of sows and piglets throughout the experimental period in control and experimental groups is almost identical. However, 20 days after farrowing sows in the second experimental group significantly increased the number of leukocytes in the blood of 19.1% in relation to the control group, by increasing the number of segmented neutrophils. Increasing the number of leukocytes in the sow, obviously, is a basic defense response to the introduction to their diet nano chromium in doses of 100 $\mu\text{g Cr}^{3+}/\text{kg}$.

In determining non-specific reactivity, which was evaluated by NBT-test - one of the most objective criteria for assessing the functional state of polymorphonuclear leukocytes in peripheral blood, determined to reduce it to 14.3% in sows at 20 days after birth. This indicates a decrease in animals reserve capacity of redox metabolism of neutrophils and thus reduce their killing activity.

Thus, studies show that the introduction of the diet of sows nano chromium citrate at a dose of 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ increases the adaptive capacity of the body and newborn piglets, and a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - is a slight strain immunity.

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КАДМИЯ У РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

Казнина Н.М., Титов А.Ф., Толчиева Л.В., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В.

Федеральное государственное учреждение науки Институт биологии
Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru

Известно, что характер ответных реакций растений на действие неблагоприятных факторов среды во многом зависит от их возраста (1). Например, возрастные различия в устойчивости обнаружены по отношению к таким стрессорам как низкая температура, дефицит воды, радиация (2, 3). Относительно возможного влияния возрастных различий на устойчивость растений к тяжелым металлам, в литературе имеются лишь единичные сведения (4, 5). В наших предыдущих исследованиях были выявлены различия в устойчивости растений ячменя разного возраста к одному из наиболее токсичных тяжелых металлов – кадмию (6). В частности, обнаружено, что 7-дневные проростки по ряду показателей роста, фотосинтетической активности и водного режима оказались более устойчивыми к металлу, чем 3-дневные, хотя и накапливали к этому моменту больше кадмия. На основании этого было высказано предположение, что выявленные возрастные различия в металлоустойчивости связаны как с анатомо-морфологическими и физиолого-биохимическими особенностями растений, соответствующими определенной фазе развития, так и с различиями в активности отдельных механизмов детоксикации металла. Для проверки этого предположения нами было проведено изучение экспрессии генов *GS* (глутатионсинтетазы), *PCS* (фитохелатинсинтазы) и *MT1*, *MT2*, *MT3* (металлотионеинов 1, 2 и 3), а также исследовано содержание восстановленного глутатиона (GSH) и фитохелатинов (ФХ) в корнях растений ячменя разного возраста, находящихся в условиях действия кадмия.

В опытах использовали проростки ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85. В возрасте 3-х (фаза прорастания семян) или 7-и (фаза всходов) дней растения помещали на питательный раствор Кнопа половинной концентрации с добавлением микроэлементов (контрольные варианты). В опытных вариантах к питательному раствору добавляли 100 мкМ кадмия в форме сульфата. Спустя 4 дня в клетках корня оценивали уровень экспрессии генов методом ПЦР в режиме реального времени и определяли количество GSH и ФХ методом ВЭЖХ.

Результаты исследования показали, что в присутствии кадмия в корнях проростков ячменя разного возраста наблюдаются заметные различия как в уровне экспрессии изученных генов, так и в содержании GSH и ФХ. В частности, если у 3-дневных проростков экспрессия гена *HvGS* заметно уменьшалась по сравнению с контрольным вариантом, при этом снижалось (в 2 раза) и количество GSH, то у 7-дневных проростков, наоборот, уровень экспрессии гена увеличивался и одновременно с этим возрастало (в 2 раза) содержание GSH. Независимо от возраста растений кадмий индуцировал синтез ФХ в клетках корня. Однако у более взрослых проростков общее содержание ФХ оказалось почти в 1.5 раза выше, чем у более молодых, тогда как уровень экспрессии гена *HvPCS* в большей степени увеличивался у 3-дневных проростков. Поскольку активность фермента *PCS* ингибируется через механизм обратной связи высокими концентрациями ФХ в клетке (7), то более низкий уровень экспрессии гена *HvPCS* в корне 7-дневных растений, очевидно, связан с большим количеством ФХ в их клетках. Увеличение экспрессии генов *HvMT1*, *HvMT2* и *HvMT3* (в 1.5, 1.3 и 1.8 раза по сравнению с контролем, соответственно) было обнаружено только у 7-дневных проростков.

Таким образом, у растений ячменя обнаружены отчетливо выраженные возрастные различия в активности ряда клеточных механизмов детоксикации кадмия в корне. При этом более высокая устойчивость к металлу 7-дневных проростков, по сравнению с 3-дневными, коррелировала с повышением экспрессии генов, участвующих в хелатировании кадмия, а также с увеличением содержания в клетках корня GSH и ФХ.

Работа выполнена при частичной поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (2012-2014 гг.).

Литература

1. Жученко А.А. (1988). Адаптивный потенциал культурных растений (эколого-генетические основы). Кишинев: Штиинца, 768 с.
2. Шматько И.Г., Григорюк И.А. (1992). Реакция растений на водный и высокотемпературный стрессы // *Физиология и биохимия культурных растений*. 24: 3–14.
3. Fellenberg G. (1982). Developmental physiology // *Progr. Bot.* V. 44. P. 205-221.
4. Shaw B.P., Rout N.P. (1998). Age-dependent Responses of *Phaseolus aureus* Roxb. to inorganic salts of mercury and cadmium. *Acta Physiol. Plant.* 20: 85–90.
5. Drążkiewicz M., Tukendorf A., Baszyński T. (2003). Age-dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatins accumulation. *J. Plant Physiol.* 160: 247–254.
6. Казнина Н.М., Титов А.Ф., Толчиева Л.В., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В. (2012). Влияние возрастных различий на реакцию растений ячменя на действие кадмия. *Физиология растений*. 59 (1): 74–79.
7. Loeffler S., Hochberger A., Grill E., Winnacker E.-L., Zenk M.H. (1989). Termination of the phytochelatinsynthase reaction through sequestration of heavy metals by the reaction product. *FEBS Lett.* 258: 42–46.

AGE-DEPENDENT CHANGES IN ACTIVITY OF CELLULAR MECHANISMS OF CADMIUM DETOXIFICATION IN BARLEY

Kaznina N.M., Titov A.F., Topchieva L.V., Laidinen G.F., Batova J.V.

Institute of Biology Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru

It is known that the character of adaptive responses of plants to the effect of adverse environmental factors is largely dependent on their age (1). For example, age-dependent differences of tolerance were observed with respect to low temperature, water deficits, radiation (2, 3). Regarding the possible impact of age-related differences in the resistance of plants to heavy metals, the literature contains only sporadic attention (4, 5). In our earlier studies have found associated with ages differences in tolerance of barley to cadmium - one of the most toxic heavy metals (6). In particular, it was found that 7-day-old seedlings were more resistant to the metal than the 3-day-old on some of growth, photosynthetic and water regime parameters, though they accumulated more cadmium. Based on these results, it was suggested that the revealed age differences in metals tolerance associated with both anatomical, morphological, physiological and biochemical features of plants, corresponding to a certain stage of development, as well as to differences in the activity of some metal detoxification mechanisms. For test of this hypothesis in the present study was conducted the expression of GS (glutathione S-transferase), PCS (phytochelatin synthase) and MT1, MT2, MT3 (metallothioneins 1, 2 and 3) genes and determined the content of reduced glutathione (GSH) and phytochelatin (PC) in the roots of barley plants of different ages at cadmium action.

Experiments were performed with barley (*Hordeum vulgare* L.) cv. Zazerskii 85. In the age of 3 days (seed germination phase) and 7 days (seedling phase), plants were transferred in Knop solution supplemented with micronutrients (control treatment). In experimental treatment, 100 μ M cadmium sulfate was added to the nutrient solution. In 4 days of plant exposure to the cadmium solution in the root cells we determined the level of gene expression by PCR in real time and the content of GSH and PC by HPLC.

The results showed that in roots of barley seedlings of different ages observed notable differences in the level of genes expression, as well as the content of GSH and PC in the presence of cadmium. In particular, in the 3-day-old seedlings the HvGS expression is markedly decreased compared with the control, and the amount of GSH was reduced (in 2 times) also. By contrast, in the 7-day-old seedlings, gene expression was increased and simultaneously enhanced (in 2 times) the content of GSH. Cadmium induced synthesis of PC in the root cells regardless of plant age. However, in older seedlings total PC was almost 1.5 times higher than in younger, whereas the level of HvPCS expression largely increased in 3-day-old seedlings. Since the enzyme (PCS) activity is inhibited by high concentrations of PC in the cell (7), the lower level of HvPCS expression in the root of 7-day-old plants, clearly associated with a greater content of PC in their cells. Increased of HvMT1, HvMT2 and HvMT3 expression (in 1.5, 1.3 and 1.8 times compared with the control, respectively) were detected only in 7-day-old seedlings.

Thus, the barley plants are found clearly marked age differences in the activity of a number of cellular mechanisms of cadmium detoxification in the root. At the same time a high resistance to metal 7-day-old seedlings, compared with a 3-day-old, was correlated with increased expression of genes involved in the chelation of cadmium, as well as with increasing content GSH and PC in the root cells.

Acknowledgements: Supported by the Program of fundamental research of Presidium RAS "Animate nature: contemporary station and development problem" (2012-2014).

References

1. Zhuchenko A.A. (1988). Adaptive potential of cultivated plants (genetic and ecological bases). Kishinev: Shtiintsa, 768 c.
2. Shmatko I.G., Grigoruk I.A. (1992). Plant reaction on water and high temperature stress // *Physiol. and biochim. of cultivate plants*. 24: 3–14.
3. Fellenberg G. Developmental physiology // *Progr. Bot.* 1982. V. 44. P. 205–221.
4. Shaw B.P., Rout N.P. (1998). Age-dependent Responses of *Phaseolus aureus* Roxb. to inorganic salts of mercury and cadmium. *Acta Physiol. Plant.* 20: 85–90.
5. Drązkiewicz M., Tukendorf A., Baszyński T. (2003). Age-dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatin accumulation. *J. Plant Physiol.* 160: 247–254.
6. Kaznina N.M., Titov A.F., Topchieva L.V., Laidinen G.F., Batova Yu.V. (2012). Barley plant response to cadmium action as dependent on plant age. *Rus. J. Plant Physiol.* 59 (1): 65–70.
7. Loeffler S., Hochberger A., Grill E., Winnacker E.-L., Zenk M.H. (1989). Termination of the phytochelatin synthase reaction through sequestration of heavy metals by the reaction product. *FEBS Lett.* 258: 42–46.

АНТИОКСИДАНТЫ ТА СТАБІЛЬНИЙ МАГНІТНИЙ ІЗОТОП МАГНІЮ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ХАРЧОВІ ДОДАТКИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ РАДІАЦІЙНОГО СТРЕСУ

¹Кольтовер В.К., ²Кутлахмедов Ю.О.

¹ Институт проблем химической физики Российской академии наук, Черноголовка, Московская область, Россия
email: koltover@icp.ac.ru

² Институт клеточной биологии та генетичної інженерії Національної академії наук України, Київ, Україна
email: ecoetic@yandex.ru

З середини минулого століття атомна енергетика стала частиною нашого повсякденного життя. Нажаль, «людський фактор» робить неминучими аварії, навіть катастрофи, як це було в Уіндсейлі (Англія, 1957), Три-Майл-Айленді (США, 1979), Чорнобилі (Україна, 1986) та Фукусімі (Японія, 2011). Необхідно завчасно приймати заходи обережності, що направлені на зменшення шкідливих наслідків впливу радіації на спеціалістів атомної промисловості, а також для захисту населення територій, забруднених радіонуклідами [1]. Для захисту від гострого радіаційного ураження відомий цілий ряд ефективних радіопротекторів на основі біологічно активних амінів та амінотіолів [2]. Однак ці сполуки досить токсичні. Для захисту від хронічного опромінення в малих дозах необхідні інші лікарські засоби, нетоксичні та придатні для довгострокового застосування у якості харчових добавок.

В цьому плані інтерес представляють природні та синтетичні антиоксиданти, тобто фенольні сполуки, молекули яких здатні перехоплювати активні вільні радикали, тим самим перешкоджаючи виникненню токсичних активних форм кисню. Наприклад, водорозчинний антиоксидант, сукцинат 2-етіл-6-метіл-3-гідроксіпірідина («мексідол»), застосовується для лікування порушень мозкового кровообігу, а гідрохлорид той ж сполуки («емоксілін») – в офтальмології. Ті ж синтетичні антиоксиданти опинилися ефективними геропротекторами, тобто речовинами, що збільшують тривалість життя лабораторних тварин при регулярному додаванні до їжі або питної води [3].

Особливий інтерес представляють пошуки радіопротекторних ефектів у процесах відновлення клітин від радіаційних ушкоджень, бо в цих жорстких умовах у найбільшій ступені проявляється вплив будь якого фактору на ефективність та надійність нанореакторів клітини. Слідуючи цьому підходу, базованому на теорії надійності біологічних систем [4], ми вивчали вплив «емоксіліна» на відновлення клітин дріжджів *S. cerevisiae* після γ -опромінення (^{60}Co , 800 Гр). Вживаність клітин, опромінених у присутності цього антиоксиданту (10^{-7} М) виявилась на 30 відсотків вище, ніж у опроміненому без антиоксиданту контролі [5]. Антиоксиданти цього типу, як аналоги піридоксину та піридоксальфосфату, що є антиметаболітами, мабуть, інгібують ключові ферменти біосинтезу, наприклад, глутамат-аспартат-амінотрансферазу та РНК-полімерази, та гальмують мітоз, що дає опромінені клітини додатковий час для репарації ушкоджених генетичних структур [3].

У плані створення нового класу радіопротекторів великий інтерес представляють стабільні магнітні ізотопи, особливо, магній. З трьох стабільних ізотопів, ^{24}Mg , ^{25}Mg та ^{26}Mg з природним вмістом біля 79, 10 та 11 %, тільки ^{25}Mg має ядерний спіні ($I = 5/2$) та, відповідно, магнітне поле, але ^{24}Mg і ^{26}Mg не мають спіну ($I = 0$) та магнітного поля. Виявлені ізотопні різниці у кінетиці відновлення клітин *S. cerevisiae* після короткохвильового УФ опромінення. Константа швидкості відновлення виявилась вдвічі вищою для клітин, що збагачені ^{25}Mg , у порівнянні з клітинами, збагаченими немагнітним ізотопом магнію [6]. Магнітно-ізотопний ефект обумовлений, мабуть, більшою високою ефективністю ізотопу ^{25}Mg , у порівнянні з немагнітним ізотопом, у ролі кофактору (Mg^{2+}) окислювального фосфорилування, що забезпечує клітині більшою кількістю АТФ [7, 8]. Таким чином, магнітний ізотоп магнію, як і деякі антиоксиданти, може правити за основу створення нових радіопротекторів («харчових добавок») для захисту від дії хронічного опромінення.

Робота підтримана Російським фондом фундаментальних досліджень та Національною академією наук України, гранти № 10-03-01203а і № 12-04-90424-Укр_а.

Література

1. Кутлахмедов Ю.О., Корогодін В.І., Кольтовер В.К. (2003). *Основи радіаційної екології*, Вища школа, Київ (Україна).
2. Кутлахмедов Ю.О., Войцицький В.М., Хижняк С.В. (2011). *Радіобіологія*, Київський національний університет, Київ (Україна).
3. Кольтовер В.К. (2010). Антиоксидантная биомедицина: от химии свободных радикалов к системно-биологическим механизмам. *Известия АН. Серия хим.* № 1: 37-43.
4. Гродзинский Д.М., Войтенко В.П., Кутлахмедов Ю.А., Кольтовер В.К. (1987). *Надежность и старение биологических систем*, Наукова думка, Киев (Украина, СССР).
5. Кольтовер В.К., Кутлахмедов Ю.А., Афанасьева Е.Л. (1980). Восстановление клеток от лучевых повреждений с помощью антиоксидантов и надежность биологических систем. *Доклады АН СССР* 254: 760-762.
6. Гродзинский Д.М., Евстюхина Т.А., Кольтовер В.К., Королев В.Г., Кутлахмедов Ю.А. (2011). Влияние магнитного изотопа магния-25 на пострadiaционное восстановление клеток *Saccharomyces cerevisiae*. *Доповіді НАН України*, No. 12: 153-157.
7. Бучаченко А.Л. (2007). *Новая изотопия в химии и биохимии*, Москва, Наука (Россия).
8. Koltover V.K. (2012). Stable magnetic isotopes as a new trend in biomedicine. In: *Biomedicine* (Ed. Lin C), InTech - Open Access Publisher's, Zagreb (Croatia), pp.105-122.

ANTIOXIDANTS AND STABLE MAGNETIC ISOTOPE OF MAGNESIUM AS THE POTENTIAL NUTRIENTS FOR PROPHYLAXIS OF RADIATION STRESS

¹Koltover V.K., ²Kutlakhmedov Y.A.²

¹ Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region, Russia

e-mail: koltover@icp.ac.ru

² Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Ukraine Academy of Sciences, Kyiv, Ukraine

e-mail: ecoetic@yandex.ru

Since the middle of last century, atomic power engineering has become a part of our everyday lives. Atomic catastrophes, like the catastrophes in Windscale (England, 1957), Three Mile Island (USA, 1979), Chernobyl (Ukraine, 1986), and Fukushima (Japan, 2011), may result from this kind of man's activity. Therefore, special precautions should be taken to reduce the harmful effects of radiation for specialists in atomic industry as well as for people in the contaminated territories [1]. For emergency use, in the event of acute radiation, there is a number of effective radioprotectors based on the biologically active amines and amino thiols [2]. However, these compounds are rather toxic. To defend the people in case of chronic low-doses radiation, alternative drugs are required, which would be nontoxic and suited to long-time applications as nutrients.

In this regard, of interest are natural and synthetic antioxidants, i.e., the phenolic compounds whose molecules intercept active free radicals, thereby preventing the formation of chemically toxic active forms of oxygen. For example, the water-soluble Mexidol (2-ethyl-3-hydroxy-6-methylpyridine succinate) is used to treat brain circulation disorders while hydrochloride of the same pyridine derivative, now called Emoxipine, is used in ophthalmology. The same synthetic antioxidant proved to be effective geroprotector, i.e., the compound that extends the life spans of laboratory animals when regularly added to drinking water [3].

Of prime importance are searches for radioprotection effects in the processes of recovery of cells from radiation injuries. The reason is that any factor, capable to influence on efficiency and reliability of cell nanoreactors, shows up itself most vividly under drastic conditions of post-radiation recovery. Following this approach, based on the theory of reliability of biosystems [4], we investigated the impact of the water-soluble antioxidant Emoxipine on post-radiation recovery of yeast cells, *S. cerevisiae*, after γ -irradiation. When the cells were irradiated, ⁶⁰Co, dose 800 Gy, in the presence of 10^{-7} M of Emoxipine, the plateau on the survival curve, i.e. the maximum survival values, have increased up to 30 % above the control irradiated without this antioxidant [5]. Thus, it was revealed that this water-soluble and nontoxic antioxidant essentially improves the post-radiation recovery of the cells. Such hydroxypyridine-based antioxidants are the analogs of pyridoxine and pyridoxal phosphate. As the anti-metabolites, they can inhibit some key enzymes of synthesis of amino acids and nucleotides, for example, glutamate-aspartate aminotransferase and RNA polymerase. Such the inhibition, retarding mitosis, obviously provides the irradiated cells with additional time for restoring their genetic structures damaged by ionizing radiation [3].

Of special interest, can be some magnetic isotopes, especially, ²⁵Mg. Among three stable isotopes of magnesium, ²⁴Mg, ²⁵Mg and ²⁶Mg with natural abundance $\approx$ 79, 10 and 11 %, only ²⁵Mg has the nuclear spin ($I = 5/2$) and, hence, the nuclear magnetic field, while ²⁴Mg and ²⁶Mg have no nuclear spin ($I = 0$) and magnetic field. We have revealed the isotope differences in the kinetics of recovery of yeast cells, *S. cerevisiae*, after short wave UV irradiation. The rate constant of the post-radiation recovery was found to be twice higher for the cells enriched with magnetic ²⁵Mg, when compared to the cells enriched with the nonmagnetic isotope of magnesium [6]. There are the grounds to believe that post-radiation recovery proceeds with the higher rate since the magnetic ²⁵Mg performs the Mg²⁺ cofactor functions for oxidative phosphorylation with higher efficiency in comparison to the nonmagnetic isotopes, hereby supplying the cells with greater amount of ATP [7, 8]. Thus, the stable magnetic isotope of magnesium, as well as the nontoxic water-soluble antioxidants, hold promises for creating the novel anti-stress drugs including radio-protectors suitable as nutrients for use at chronic radiation.

Acknowledgment: supported by Russian Foundation for Basic Research and National Academy of Science of Ukraine, grants no. 10-03-01203a and 12-04-90424-Ukr_a.

References

1. Kutlakhmedov Y.A., Korogodin V.I., Koltover V.K. (2003). *Foundations of Radiation Ecology*, Vyshcha shkola, Kiev (Ukraine).
2. Kutlakhmedov Y., Voytitsky V., Khuznyak S. (2011). *Radiobiology*, Kiev University Publisher's, Kiev (Ukraine).
3. Koltover V.K. (2010). Antioxidant biomedicine: from free radical chemistry to systems biology mechanisms. *Russian Chem. Bulletin. Inter. Edition* 59: 37-42.
4. Grodzinsky D.M., Vojtenko V.P., Kutlakhmedov Y.A., Koltover V.K. (1987). *Reliability and Aging of Biological Systems*, Naukova Dumka, Kiev (Ukraine, former SU).
5. Kol'tover V.K., Kutlakhmedov Y.A., Afanaseva E.L. (1980). Recovery of cells from radiation-induced damages in the presence of antioxidants and the reliability of biological systems. *Doklady Biophysics* 254: 159-161.
6. Grodzinsky D.M., Evstyukhina T.A., Koltover V.K., Korolev V.G., Kutlakhmedov Y.A. (2011). Effect of the magnetic isotope of magnesium, ²⁵Mg, on post-radiation recovery of *Saccharomyces cerevisiae*. *Reports of National Academy of Sciences of Ukraine*, No. 12: 153-157.
7. Buchachenko A.L. (2009). *Magnetic Isotope Effect in Chemistry and Biochemistry*, Nova Science Publishing, New York (US).
8. Koltover V.K. (2012). Stable magnetic isotopes as a new trend in biomedicine. In: *Biomedicine* (Ed. Lin C), InTech - Open Access Publisher's, Zagreb (Croatia), pp.105-122.

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ МЕДИ НА СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ИМВ В-7241 ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА НЕУГЛЕВОДНЫХ СУБСТРАТАХ

Конон А.Д., Софилканич А.П., Парфенюк С.А., Шевчук Т.А., Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина
e-mail: KononA@meta.ua

В предыдущих исследованиях нами были установлены условия культивирования *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 на этаноле, обеспечивающие максимальные показатели синтеза поверхностно-активных веществ (ПАВ) (1), а также разработаны подходы по интенсификации синтеза ПАВ при культивировании штамма ИМВ В-7241 на моно- и смешанных субстратах (2). Из литературы известно, что микробные ПАВ характеризуются способностью к образованию комплексов с токсичными металлами, благодаря чему защищают клетки продуцента от их действия (3, 4).

Цель работы – исследовать влияние Cu^{2+} на синтез ПАВ *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 при культивировании на гидрофильных (этанол) и гидрофобных (*n*-гексадекан, жидкие парафины) субстратах.

Показано, что внесение максимальной из исследованных концентраций Cu^{2+} (0,5 мМ) в экспоненциальной фазе роста *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 на среде с этанолом, *n*-гексадеканом и жидкими парафинами сопровождалось увеличением концентрации ПАВ на 50–60 % по сравнению с показателем на среде без катионов меди. Максимальное повышение (на 140 %) показателей синтеза ПАВ было зафиксировано при внесении 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста штамма ИМВ В-7241 на среде с жидкими парафинами. Интересным оказался тот факт, что пересев бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, выращенных на всех субстратах в присутствии Cu^{2+} , на среду без катионов меди сопровождался существенным повышением концентрации ПАВ по сравнению с использованием аналогичного инокулята, полученного на среде без Cu^{2+} . При этом максимальное (в 2,1–3,5 раза) увеличение концентрации ПАВ было отмечено при культивировании штамма ИМВ В-7241 на жидких парафинах.

Известно, что в ответ на неблагоприятные факторы внешней среды у многих микроорганизмов наблюдается увеличение синтеза протекторных соединений (внеклеточных белков, полисахаридов) (5). Вполне вероятно, что повышение синтеза ПАВ у штамма ИМВ В-7241 в присутствии Cu^{2+} обусловлено функционированием подобного адаптационного механизма.

Другим механизмом, обуславливающим повышение синтеза ПАВ штаммом ИМВ В-7241 в присутствии Cu^{2+} , является активация катионами меди некоторых ферментов, в частности алкангидроксилазы АлкБ типа – первого фермента катаболизма гидрофобных субстратов. Эксперименты показали, что в присутствии 0,01 и 0,05 мМ Cu^{2+} алкангидроксилазная активность штамма ИМВ В-7241 повышалась в 3 раза.

Поскольку увеличение синтеза ПАВ наблюдалось и при внесении Cu^{2+} в этанолсодержащую среду, мы предположили, что катионы меди могут также являться активаторами ключевых ферментов C_2 -метаболизма и биосинтеза ПАВ. Показано, что в присутствии Cu^{2+} в реакционной смеси наблюдается увеличение активности как 4-нитрозо-N,N-диметиланилин(НДМА)-зависимой алкогольдегидрогеназы, так и ферментов биосинтеза поверхностно-активных глико- (фосфоенолпируват(ФЕП)-синтетаза) и аминоклипидов (НАДФ⁺-зависимая глутаматдегидрогеназа) у бактерий *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241, растущих на этаноле.

Полученные результаты могут быть основой для усовершенствования технологий микробного синтеза путем увеличения в среде культивирования продуцента активаторов ключевых ферментов метаболизма ростового субстрата и биосинтеза целевого продукта.

Литература

1. Пирог Т.П., Антонюк С.И., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. (2009). Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ. *Прикл. биохимия и микробиология*. 45(3): 304–310.
2. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Конон А.Д., Шулякова М.А., Иутинская Г.А. (2012). Синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 и *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 в среде с глицерином. *Микробиол. журнал*. 74(1): 20–27.
3. Dahrazma B., Mulligan C.N. (2007) Investigation of the removal of heavy metals from sediments using rhamnolipid in a continuous flow configuration. *Chemosphere*. 69(5): 705–711.
4. Jayabarath J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. (2009). Bioremediation of heavy metals using biosurfactants. *Int. J. Biotechnol. Appl.* 1(2): 50–54.
5. Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Пирог Т.П. (2010) Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. К.: Наук. думка: 327 с.

EFFECT OF COPPER CATIONS ON THE SYNTHESIS OF SURFACTANTS BY ACINETOBACTER CALCOACETICUS IMV B-7241 CULTIVATED ON NON-SUGAR SUBSTRATES

Konon A.D., Sofilkanych A.P., Parfenyuk S.A., Shevchuk T.A., Pirog T.P.

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine
e-mail: KononA@meta.ua

In previous studies we have established conditions for cultivation of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on ethanol, providing the maximum rates of synthesis of surface-active substances (surfactants) (1), and developed approaches to intensification of surfactant synthesis by cultivating the strain IMV B-7241 on the mono- and mixed substrates (2). From the literature it is known that microbial surfactants characterized by their ability to form complexes with toxic metals, thereby protecting producer's cells from their action (3, 4).

The aim of the work was to investigate the influence of Cu^{2+} on the synthesis of surfactant by *A. calcoaceticus* IMV B-7241 grown on hydrophilic (ethanol) and hydrophobic (*n*-hexadecane, liquid paraffin) substrates.

It was shown that the introduction of the maximum studied concentrations of Cu^{2+} (0.5 mM) in the exponential growth phase of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on the medium with ethanol, *n*-hexadecane and liquid paraffin was accompanied by an increase in surfactant concentration by 50–60 % compared to the surfactant amount on the medium without copper cations. The maximum increase (140 %) of rates of surfactant synthesis was obtained at 0.1 mM introduction of Cu^{2+} in the exponential growth phase of strain IMV B-7241 cultivated on the medium with liquid paraffin. Interesting was the fact that inoculating of bacteria *A. calcoaceticus* IMV B-7241 grown on all substrates in the presence of Cu^{2+} , on the medium without copper cations was accompanied by significant increase of the surfactant concentration compared to the use of inoculum grown on the medium without Cu^{2+} . The maximum (2.1–3.5 fold) increase of surfactant concentration was observed during cultivation of strain IMV B-7241 on liquid paraffin.

It is known that many microorganisms synthesize increased amount of protective compounds (extracellular proteins, polysaccharides) in response to adverse environmental factors (5). It is likely that the increase in surfactant synthesis in strain IMV B-7241 in the presence of Cu^{2+} is due to the functioning of this adaptive mechanism.

Other mechanism responsible for increased synthesis of surfactant of strain IMV B-7241 in the presence of Cu^{2+} , is the activation of certain enzymes by copper cations, in particular alkane hydroxylase AlkB type – the first enzyme of hydrophobic substrates catabolism. Experiments have shown the increased (by 3 fold) activity of alkane hydroxylase of the strain IMV B-7241 in the presence of 0.01 and 0.05 mM Cu^{2+} .

Since the increase in surfactant synthesis was observed after Cu^{2+} addition to ethanol containing medium, we assumed that the copper cations can also be activators of the key enzymes of C_2 -metabolism and surfactant biosynthesis. The increase of activity of 4-nitroso-N,N-dimethylaniline (NDMA)-dependent alcohol dehydrogenase, as well as enzymes of the biosynthesis of surface-active glyco-(phosphoenolpyruvate (PEP) synthetase) and aminolipids (NADP⁺-dependent glutamate dehydrogenase) in bacteria *A. calcoaceticus* IMV B-7241 grown on ethanol was shown in the presence of Cu^{2+} in the reaction mixture.

The obtained results can be used for the improvement of technologies of microbial synthesis by increasing concentration of activators of key enzymes of the growth substrate metabolism and biosynthesis of the desired product in the cultivating medium of the producer.

References

1. Pirog T.P., Antonuk S.I., Karpenko Y.V., Shevchuk T.A. (2009). The influence of conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 strain cultivation on surface-active substances synthesis. *Appl Biochem Microbiol (Engl. Transl.)*. 45 (3): 272–278.
2. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Konon A.D., Shulyakova M.A., Iutinskaya G.A. (2012). Synthesis of surface-active substances of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 in the medium with glycerol. *Microbiologichny Zhurnal (in russian)*. 74(1): 20–27.
3. Dahrazma B., Mulligan C.N. (2007) Investigation of the removal of heavy metals from sediments using ramnolipid in a continuous flow configuration. *Chemosphere*. 69(5): 705–711.
4. Jayabarath J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. (2009). Bioremediation of heavy metals using biosurfactants. *Int. J. Biotechnol. Appl.* 1(2): 50–54.
5. Pidgorsky V.S., Iutynska G.O., Pirog T.P. (2010). Intensification of microbial synthesis technologies. Kyiv: Naykova Dumka. 327 p. (In ukrainian).

ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ВНЕСЕНИИ Cu^{2+} В СРЕДУ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ИМВ Ас-5017

Конон А.Д., Софилканич А.П., Филлюк И.В., Шевчук Т.А., Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина
e-mail: anmo_july@mail.ru

Из литературы известно, что микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) (рамнолипиды, софоролипиды, липопептиды) характеризуются способностью к образованию стабильных комплексов с тяжелыми токсичными металлами (Al^{3+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}), благодаря чему защищают клетки продуцента от их действия, а также могут использоваться в природоохранных технологиях для удаления металлов (1, 2).

Ранее установлена способность *Rhodococcus erythropolis* ИМВ Ас-5017 синтезировать ПАВ при культивировании на гидрофильных и гидрофобных субстратах: *n*-гексадекане, жидких парафинах, этаноле, глюкозе, глицерине (3). В дальнейших исследованиях была показана возможность интенсификации синтеза ПАВ и при внесении в среду с этанолом (*n*-гексадеканом, глицерином) органических кислот (4), использовании смешанных ростовых субстратов и масштабировании процесса на ферментационное оборудование (5).

Цель данной работы – исследовать рост и синтез ПАВ при культивировании *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на средах с различными источниками углерода в присутствии катионов меди.

В качестве источника углерода и энергии использовали этанол, *n*-гексадекан, жидкие парафины (C_{10} – C_{18}), а также подсолнечное масло в концентрации 2 % (по объему). При культивировании штамма ИМВ Ас-5017 на среде с подсолнечным маслом в среду дополнительно вносили 0,1 % глюкозы. В начале процесса культивирования, в экспоненциальной и стационарной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 в среду вносили Cu^{2+} (0,01–0,1 мМ) в виде 1М раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Показано, что при добавлении 0,01 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом наблюдали увеличение условной концентрации ПАВ на 25 % по сравнению с культивированием штамма на среде без Cu^{2+} . Внесение 0,01 мМ Cu^{2+} в стационарной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с этанолом или повышение концентрации катионов меди до 0,05 мМ не сопровождалось каким-либо существенным изменением показателей роста и синтеза ПАВ.

Установлено, что клетки, растущие на *n*-гексадекане или подсолнечном масле, оказались устойчивыми к более высоким концентрациям катионов меди, а стимуляция синтеза ПАВ была более существенной, чем на этаноле. Так, внесение 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на среде с *n*-гексадеканом или подсолнечным маслом сопровождалось увеличением условной концентрации ПАВ на 40–42 % по сравнению с культивированием бактерий на средах без Cu^{2+} .

Известно, что окисление *n*-гексадекана у штамма ИМВ Ас-5017 осуществляется трехкомпонентным алкангидроксилазным комплексом, состоящим из растворимой НАДН-рубредоксинредуктазы, растворимого рубредоксина и мембрансвязанной монооксигеназы, или алкангидроксилазы (АлкБ). Мы предположили, что интенсификация синтеза ПАВ обусловлена стимулирующим действием катионов меди на активность алкангидроксилазы.

Эксперименты показали, что в присутствии 0,05 и 0,1 мМ Cu^{2+} активность алкангидроксилазы повышалась в 1,5 и 2 раза соответственно.

Таким образом, в результате проведенной работы установлена возможность интенсификации синтеза ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 на гидрофобных (*n*-гексадекан, жидкие парафины, подсолнечное масло) и гидрофильных (этанол) субстратах при внесении катионов меди в экспоненциальной фазе роста продуцента.

Литература

1. Jayabarith J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. (2009). Bioremediation of heavy metals using biosurfactants. *Int. J. Biotechnol. Appl.* 1(2): 50–54.
2. Orell A., Navarro C.A., Arancibia R., Mobarec J.C., Jerez C.A. (2010) Life in blue: copper resistance mechanisms of bacteria and archaea used in industrial biomining of minerals. *Biotechnol. Adv.* 28(6): 839–848.
3. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Карпенко Е.И. (2004) Образование поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах. *Прикл. биохимия и микробиология*. 40 (5): 544–550.
4. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Клименко Ю.А. (2010) Интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на *n*-гексадекане. *Прикл. биохимия и микробиология*. 46(6): 651–658.
5. Пирог Т.П., Игнатенко С.В. (2011) Масштабирование процесса биосинтеза поверхностно-активных веществ *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на *n*-гексадекане. *Прикл. биохимия и микробиология*. 47(4): 436–442.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PECULIARITIES OF SURFACTANT SYNTHESIS AFTER ADDITION OF Cu^{2+} INTO THE CULTIVATING MEDIUM OF RHODOCOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMV Ac-5017

Konon A.D., Sofilkanych A.P., Filyuk I.V., Shevchuk T.A., Pirog T.P.

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine
e-mail: anmo_july@mail.ru

From the literature it is known that microbial surface-active substances (surfactants) (rhamnolipids, soforolipids, lipopeptides) are characterized by the ability to form stable complexes with toxic heavy metals (Al^{3+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}), thereby protecting cells of producer from their action, surfactants can also be used in environmental technologies for the removal of metals (1, 2).

Previously the ability of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 to synthesize surfactant when cultured on hydrophilic and hydrophobic substrates: *n*-hexadecane, liquid paraffin, ethanol, glucose, glycerol was established (3). The intensification of surfactant synthesis by introducing of organic acids into the medium with ethanol (*n*-hexadecane, glycerol) (4), using mixed growth substrates and the scaling process in fermentation equipment (5) was shown in further studies.

The aim this study – to investigate the growth and surfactant synthesis by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 cultivated in medium with different carbon sources in the presence of copper cations.

Ethanol, *n*-hexadecane, liquid paraffin ($\text{C}_{10}\text{--C}_{18}$), and sunflower oil at the concentration of 2 vol. % were used as carbon and energy sources. Glucose (0.1 %) was added into the medium with sunflower oil. Cu^{2+} (0.01–0.1 mM) was added into the medium as 1M solution of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ at the beginning of the cultivation process, in exponential and stationary growth phase of *R. erythropolis* IMV Ac-5017.

The addition of 0.01 mM Cu^{2+} in the exponential growth phase of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 cultivated on the medium with ethanol led to the increasing conditional surfactant concentration by 25% compared with the cultivation of the strain on the medium without Cu^{2+} . The introduction of 0.01 mM Cu^{2+} in the stationary growth phase of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on the medium with ethanol as well as increasing concentration of copper cations to 0.05 mM was not accompanied by any significant change in the growth and surfactant synthesis rates.

It was established that cells grown on *n*-hexadecane or sunflower oil, were resistant to higher concentrations of copper cations and the stimulation of surfactant synthesis was more significant than on the ethanol. Thus, the introduction of 0.1 mM Cu^{2+} in the exponential growth phase of *R. erythropolis* IMV Ac-5017 on a medium with *n*-hexadecane or sunflower oil was accompanied by the increasing conditional surfactant concentration by 40–42 % compared to the cultivation of bacteria on medium without Cu^{2+} .

It is known that the oxidation of *n*-hexadecane in strain IMV Ac-5017 is catalized by three-component alkane hydroxylase complex consisting of a soluble NADH-rubredoxin reductase, soluble rubredoxin, and membran-bound monooxygenase or alkane hydroxylase (AlkB). We assumed that the intensification of the surfactant synthesis is caused by the stimulating effect of copper cations on the activity of the alkane hydroxylase.

Experiments have shown the increasing activity of alkane hydroxylase by 1.5 and 2 folds in the presence of 0.05 and 0.1 mM Cu^{2+} respectively.

Thus, as a result of this work, the possibility of intensification of surfactant synthesis by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 grown on the hydrophobic (*n*-hexadecane, liquid paraffin, sunflower oil) and hydrophilic (ethanol) substrates by introducing copper cations in the exponential growth phase was established.

References

1. Jayabarath J., Sundar S.S., Arulmurugan R., Giridhar R. (2009). Bioremediation of heavy metals using biosurfactants. *Int. J. Biotechnol. Appl.* 1(2): 50–54.
2. Orell A., Navarro C.A., Arancibia R., Mobarec J.C., Jerez C.A. (2010) Life in blue: copper resistance mechanisms of bacteria and archaea used in industrial biomining of minerals. *Biotechnol. Adv.* 28(6): 839–848.
3. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Volishina I.N., Karpenko E.V. (2004) Production of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* strain EK-1, grown on hydrophilic and hydrophobic substrates. *Appl Biochem Microbiol (Engl. Transl.)* 40 (5): 470–475.
4. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Klimenko Yu.A. (2010) Intensification of surfactant synthesis in *Rhodococcus erythropolis* EK-1 cultivated on hexadecane. *Appl Biochem Microbiol (Engl. Transl.)* 46 (6): 599–606.
5. Pirog T.P., Ignatenko S.V. (2011) Scaling of the process of biosynthesis of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* IMV AC-5017 on Hexadecane. *Appl Biochem Microbiol (Engl. Transl.)* 47 (4): 393–399.

ДИНАМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ

Кравец А.П.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Динамические и дозовые зависимости процессов радиоадаптации имеют сложную многофазную структуру и могут объединять фазу гормезисной реакции, возрастания негативного эффекта, его снижение, адаптацию и/или ее отсутствие. Анализируя имеющийся комплекс данных можно выделить 4 типа динамических реакций на хроническое облучение:

1. Раннее проявление и монотонное нарастание негативной реакции на хроническое облучение без наступления адаптации.
2. Раннее проявление гормезисной реакции, переходящей в появление адаптивной реакции (Рис.1);
3. Проявление негативной реакции на первых этапах воздействия, переходящее в адаптивный ответ (Рис.1);
4. Наиболее сложный в динамическом отношении тип ответа - колебательная реакция с трендом как в сторону адаптации при более низкой интенсивности облучения или в сторону дезадаптации при более высокой интенсивности облучения (Рис.2)

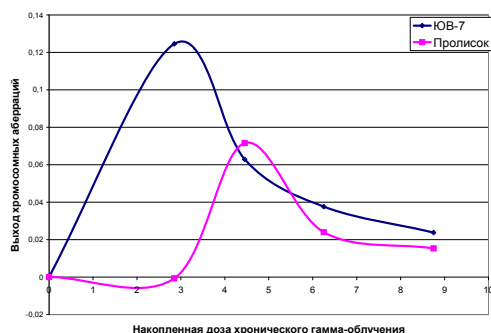


Рис. 1. Динамика биологической эффективности хронического облучения, оцененная по выходу хромосомных aberrаций на единицу дозы

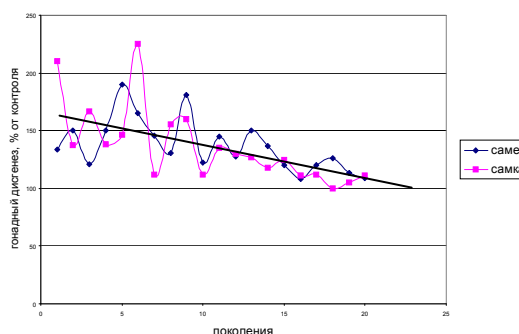


Рис. 2. Динамика частоты гонадального дисгенеза в F-1 потомков в зависимости от числа поколений облучаемых предков. Мощность дозы - 0,12 мР/час

Коломийцева И.К. (2006) объясняет динамические особенности реакций на хроническое облучение особенностями включения защитных и восстановительных реакций, которые одновременно соответствуют процессу накопления дозы. Эта особенность зависимости эффектов от продолжительности облучения позволяет предположить существование взаимодействия различных *по молекулярным механизмам и характеристическим временам* стратегий изменения (повышения) радиорезистентности отдельных процессов, составляющих системный радиационный ответ организма.

Хочачка П., Сомеро Дж (1977) сформулировали представление о трех временных формах адаптации. Первая - это так называемая немедленная адаптация, которая основана на особенностях, заложенных в самих метаболических сетях как системах с отрицательными обратными связями и, возможно, использующая конститутивную их часть. Следующий этап во временной иерархии есть то, что называется акклимацией или акклиматизацией, и требует время по порядку величин сравнимое с продолжительностью жизни организма. С точки зрения современных знаний о эпигенетической регуляции, этот второй по характеристическим временам реализации тип адаптации, по-видимому, и стоит рассматривать как адаптацию эпигенетическую. Самая медленная форма - это эволюционная адаптация, связана с возникновением новой генетической информации, новых адаптивных механизмов, новых эпигенетических возможностей, формирующих новый, более эффективный первый уровень защиты, т.е. немедленную адаптацию.

Многофазная развертка во времени реакций на хроническое облучение позволяет объяснить многочисленные противоречия в оценке не только интенсивности воздействия, при котором наступает эффект, но и знака самого эффекта, а также времени его проявления. Наблюдая эффект в различное время после *начала* облучения, исследователь может «попасть» в различные фазы развития процесса и сделать неверные выводы о его направленности. Сложный характер переходного процесса, возникающий в этом случае, создает значительные трудности в практике определения рисков хронических воздействий для человека.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DYNAMIC VARIETY OF ADAPTIVE REACTION FORMING AT CHRONIC EXPOSURE

Kravets A.P.

Institute of cell biology and genetic engineering of NAN of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Dynamic and dose dependences of radioadaptation processes have a difficult multiphase structure and may unite the phase of hormetic reaction, negative effect growth, its decline transferring to adaptation and/or its absence. Analysis of the current data permit to select 5 types of dynamic reactions on a chronic irradiation:

1. Early negative effect displays with their severity subsequent monotonous growth (Fig1). Such type of reaction is typical for cytogenetic aberration yield and embryonic digenesis;
2. Early display of hormetic effects, transitory into growth of negative effects with following transitory into functional organism exhaustion (Fig 1);
3. Early display of hormetic effects with a subsequent transition to an adaptive response;
4. Display of negative effects at the first stages of influence, with a subsequent transition to an adaptive response;
5. Most difficult dynamic type of effect is shake mode with a trend to adaptation (at more low intensity of irradiation) or to - at more high intensity of irradiation - functional organism exhaustion (Fig 2).

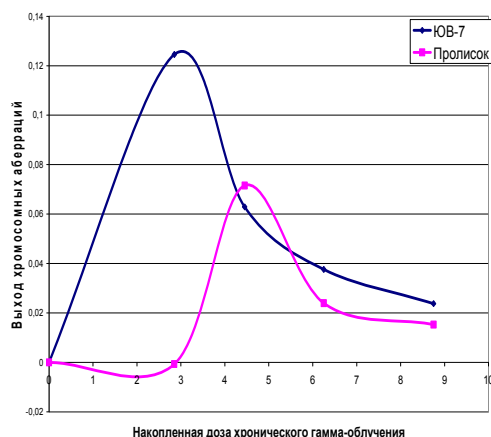


Fig 1. Protracted exposure dose dependence of chromosomal aberration yield in root meristem of two *Zea mays* genotypes seedlings

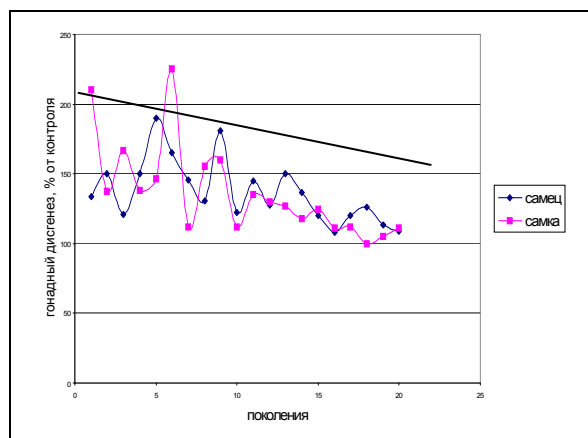


Fig 2 Dynamics of gonadal dysgenesis frequency (%) for 20 *Drosophila melanogaster* exposed generation

Kolomiytseva I.k. (2006) explains the dynamic pattern of reactions on a chronic irradiation the features of temporal involute and including of protective and restoration reactions.

Khochachka P., Somero J. (1977) formulated conception about three temporal adaptation forms. First one is the immediate adaptation; this adaptation form is based on metabolic networks as systems with negative feedbacks. The acclimation is the next form in the temporal hierarchy; one needs time comparable with organism life-span. According to current data, this adaptation form can correspond epigenetic one. Finally, evolutionary adaptation is the slowest form and it is related to the origin of new genetic information.

The report is dedicated to the analysis of possible intercommunications of these three adaptation forms.

The theoretical chart of different forms of adaptation cooperation is offered and grounded.

ЧИ Є ЯВИЩЕ ГЕНОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ НЕВІД'ЄМНОЮ СКЛАДОВОЮ ГЕНЕТИЧНОЇ АДАПТАЦІЇ?

Ковальчук Н.Л., Соколова Д.А., Венгжен Г.С., Кравець О.П.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Екологічні та еколого-медичні дослідження останніх десятиліть показали, що найважливішим наслідком пролонгованої дії радіаційних факторів низької інтенсивності є виникнення явища геномної нестабільності, що передається та акумулюється у поколіннях. Форми прояву геномної нестабільності та віддалені наслідки цього явища є настільки ж різноманітні (структурні перебудови геному, активізація мобільних елементів, генетичні та онкологічні захворювання) як і важко передбачувані. Генетичними, радіобіологічними дослідженнями показано висока значимість та загроза індукованої геномної нестабільності, але при гігієнічному (антропоцентричному) нормуванні це явище досі не приймаються до уваги. Екологічне нормування, що тільки формує свої принципи, це явище взагалі не розглядає.

Відомо, що стресові впливи, у тому числі опромінення, активізують мобільну ДНК, різноманітні за своєю складністю мобільні елементи, які виявлені на сьогодні практично у всіх організмів [1]. *Drosophila melanogaster* є найбільш дослідженим в генетичному відношенні об'єктом. Геном дрозофіли містить мобільні елементи, активація яких під впливом чинників середовища, включаючи радіаційну дію приводить до нестабільності геному і підвищення вірогідності мутацій. Р-мобільні елементи належать до однієї з трьох родин транспозонів (дві інших - Нобо і І - родини), активація яких обумовлює гонадальний дисгенез *Drosophila melanogaster*. Ця модель генетичної нестабільності була використана в оцінках генотоксичності впливу умов довкілля зон впливу Хмельницької АЕС (м. Нетішин).

Як свідчать одержані дані, існують достовірні відмінності по трьох ефектах між контрольними та природними популяціями дрозофіли, одержаних з Нетішину. По-перше, спостерігається значне, 5 - 6-кратне підвищення частоти гонадального дисгенезу у F1 та подальших поколіннях популяцій комах з Нетішину порівняно з комахами, зібраними у чистих у радіаційному відношенні регіонів України - Пирятині, Магараці та Лубнах (Рис.1).

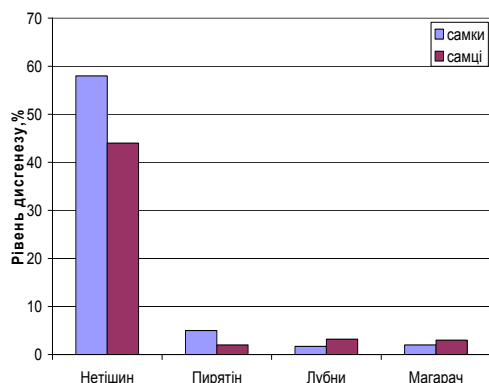


Рис.1. Відсоток гонадального дисгенезу у природних популяцій дрозофіли різного походження

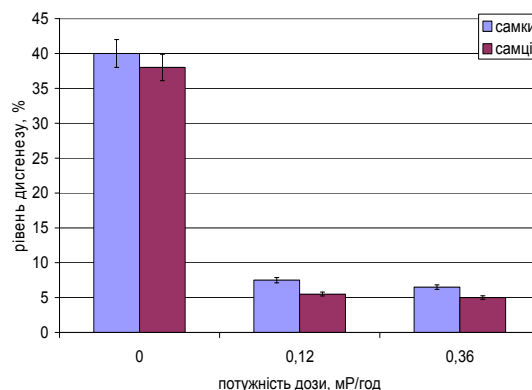


Рис. 2. Залежність відсотку гонадального дисгенезу у дрозофіли, одержаної з Нетішину, від потужності дози хронічного опромінення в лабораторних умовах. Перше покоління.

По - третє, спостерігається зниження швидкості росту «нетішинської популяції». Спостерігається збільшення тривалості окремих стадій онтогенезу, що визначалося за часом кладки, у комах з зони впливу Хмельницької атомної станції. Частина популяції дрозофіли, переведена у лабораторні умови, що була додатково опромінена хронічно продемонструвала типово гормезисну реакцію або, точніше, «лікувальний ефект» у першому та другому поколіннях (Рис. 2).

Література

1. Голубовский М. Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. - СПб.: Борей Арт, 2000. 262с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

IS THERE THE GENOME INSTABILITY INALIENABLE STEP OF GENETIC ADAPTATION?

Koval'chuk N.L., Sokolova D.A., Vengzhen G.S., Kravets A.P.

Institute of cell biology and genetic engineering of NAN of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: kravetsap@yahoo.com

Current ecological and medical researches shown genome instability is a major result of low dose radiation prolonged exposure. The forms of genome instability, these phenomenon consequences are so various (genome structural alterations, mobile element activation, genetic and oncology diseases) as well as hard predictable.

It is known, stress any form activates mobile DNA (mobile elements) that found practically at all organisms [1]. *Drosophila melanogaster* is the most known in a genetic aspect organisms. *Drosophila* mobile elements activating results in the genome instability and increase of mutation yield. P- mobile elements belong to one of three transposone families (two other - *Hobo* and *I* - families); one activating results in *Drosophila melanogaster* gonadal disgenesis. This model of genetic instability was used for the estimation of genotoxicity environment impact of Khmel'nitsk NPP zone factors (Netishin - town).

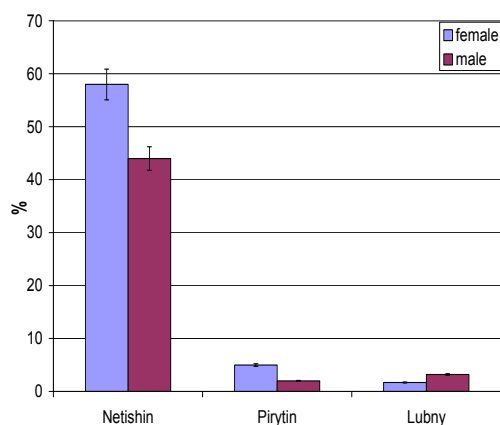


Fig.1. Gonadal disgenesis frequency (%) for natural drosophila populations from different region of Ukraine

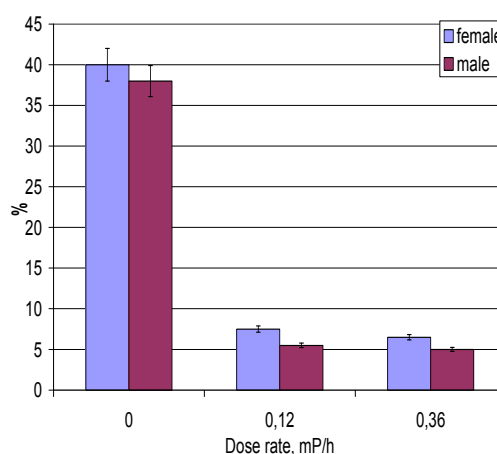


Fig. 2. Gonadal disgenesis frequency (%) for "Netishin" drosophila population at different dose rate of chronic γ -irradiation. F1-generation.

As our findings testify, there is reliable difference on three effects between natural drosophila populations from different Ukrainian regions. At first, there is considerable, 5 - 6- fold increase of gonadal disgenesis frequency in the F1 and subsequent generations of insects from Netishin area compare to insects, collected at the other regions of Ukraine, - Piryatin, Magarach and Lubny (Fig.1).

Second, additional chronically radiation exposes results in «medical effect» for the first and second generations of "Netishin population" (Fig. 2). Third, there is decline of "Netishin population" growth rate with increase of duration of the separate stages of ontogenesis and transfer to reproductive age.

References

1. Голубовский М.Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. - СПб.: Борея Арт, 2000. 262 с.

ВПЛИВ ПРИРОДНОГО ГЛОБУЛЯРНОГО БІЛКОВОГО КОМПЛЕКСУ ФЕРИТИНУ НА ТРАНСПОРТ ГЛУТАМАТУ В НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Крисанова Н., Сівко Р., Борисов А., Борисова Т.

Відділ нейрохімії, Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна, НАН України, Київ, Україна
e-mail: srkr@ukr.net

L-глутамат є одним з основних медіаторів збуджуючих сигналів у центральній нервовій системі тварин, який відіграє значну роль в реалізації багатьох функцій мозку, зокрема в розпізнаванні, навчанні та пам'яті. Тривале підвищення концентрація глутамату в позаклітинній рідині може призвести до розвитку глутаматної нейротоксичності, що виникає внаслідок хронічної надмірної стимуляції рецепторів. Єдиним шляхом швидкого видалення нейромедіатора з позаклітинної рідини є його поглинання клітинами, що здійснюється високоафінними Na^+ -залежними глутаматними транспортерами.

Досліджено вплив природного глобулярного білкового комплексу феритину, до складу якого входять залізни наночастинки, на накопичення глутамату та його позаклітинний рівень у нервових терміналях. Показано, що феритин суттєво знижує початкову швидкість накопичення глутамату синапсами та збільшує позаклітинний рівень глутамату в синапсах.

Цей ефект є надзвичайно важливим, оскільки підвищення позаклітинного рівня нейромедіатора призводить до розвитку нейротоксичності та загибелі нейронів.

THE EFFECTS OF NATURAL GLOBULAR PROTEIN COMPLEX FERRITIN ON GLUTAMATE TRANSPORT IN BRAIN NERVE TERMINALS

Krisanova N., Sivko R., Borisov A., Borisova T.

Department of Neurochemistry, Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine; Kiev, Ukraine
e-mail: skr@ukr.net

L-glutamate is a key excitatory neurotransmitter in the mammalian CNS, and is involved in most aspects of normal brain function including cognition, memory and learning. Excessive extracellular glutamate overstimulates glutamate receptors initiating calcium entry and causes excitotoxicity, neuronal injury and death. In norm, extracellular glutamate is maintained at a low level by neurotransmitter uptake in neurons and glial cells via high-affinity Na⁺-dependent glutamate transporters.

The glutamate uptake and its extracellular concentration in rat brain nerve terminals were determined after the application of natural globular protein complex ferritin, which contains of iron nanoparticles. It was revealed that ferritin caused a significant decrease in the initial velocity of glutamate uptake by synaptosomes and enhancement of the extracellular level of glutamate.

This effect is very important as an increase in the extracellular level of the neurotransmitter leads to neurotoxicity and death of neurons.

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ ФИТОЭКДИСТЕРОИДАМИ

Кудяшева А.Г., Володин В.В., ¹Андреева Л.И., Володина С.О.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: kud@ib.komisc.ru

В настоящее время активно изучаются механизмы ответа клетки на стрессовое воздействие, в том числе на малые дозы ионизирующей радиации. Доказано, что при воздействии хронического облучения в малых дозах, происходит активация свободнорадикальных реакций, обнаруженная как в экспериментах на лабораторных животных с хроническим низкоинтенсивным излучением, так у мышевидных грызунов, обитающих на радиоактивно загрязненных территориях (Кудяшева и др., 1997, 2004). Установлено, что свободнорадикальные реакции выполняют важную регуляторную функцию в адаптационной перестройке организма во время экстремальных влияний, которые при адекватной стимуляции повышают резистентность организма. В связи с вышесказанным представляется весьма целесообразным оценить возможность фитофармакологической коррекции адаптивных реакций организма животных, находящихся в условиях хронического облучения в малых дозах, с использованием адаптогенных средств, содержащих фитоэкдистероиды. По результатам экспериментов, проведенных на грызунах при курсовом введении серпистана, обнаружено позитивное геропротекторное действие серпистана, которое приводит к повышению чувствительности гипоталамуса и последующему снижению содержания кортикостерона в крови крыс. Показано сходство в проявлении адаптивных реакций, происходящих в тканях как при действии серпистана (в диапазоне доз от 0.5 до 50 мг/кг), так и при действии хронического γ -излучения (в малых дозах от 7.5 до 22.6 сГр), характеризующие изменения липидного слоя мембран клеток, активацию секреции стероидных гормонов. Установлено, что биохимический механизм действия серпистана включает активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) подобно действию γ -излучения низкой интенсивности, а также индукцию биосинтеза белков теплового шока Hsc70, которые являются основными механизмами, запускающими перестройку энергетического и пластического обмена и способствующие развитию адаптивных реакций на клеточном уровне. Установлено противолучевое действие препаратов серпистана и инокостерона в малых дозах (5 и 15 мг/кг) при хроническом действии γ -облучения низкой интенсивности (22.6 сГр), показана способность фитоэкдистероидов нормализовать процессы ПОЛ в тканях облученных мышей при терапевтическом использовании препаратов.

Экспериментально доказана гипотеза соответствия фитоэкдистероидов (структурных аналогов гормонов линьки насекомых) критериям адаптогенов как участников реакции стрессового ответа путем активации ПОЛ и индукции биосинтеза белков теплового шока семейства 70, запускающих на клеточном уровне процессы срочной и долговременной адаптации, а также включения экдистероидов за счет снижения кортикостероидов в крови в центральные механизмы гормональной регуляции при стрессе. Действуя как мягкий стрессор, серпистен индуцирует в клетках и тканях организма адаптационные процессы, способствующие повышению резистентности организма к повреждающим факторам среды. Обнаруженные эффекты фитоэкдистероидов открывают перспективу использования их в качестве эффективных стресс- и геропротекторных средств. Работа поддержана грантом Президиума УрО РАН (12-П-4-1023).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTIVE REACTIONS OF LABORATORY ANIMALS TO CHRONIC IRRADIATION IN SMALL DOSES AND POSSIBILITY OF THEIR CORRECTION BY PHYTOECDYSTEROIDS

Kudyasheva A.G., Volodin V. V., ¹Andreeva L.I., Volodina S.O.

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

¹Army-Medical Academy named by S.M. Kirov, St.-Petersburg, Russia

e-mail: kud@ib.komisc.ru

Nowadays mechanisms of cell response to different stress action, including low doses of ionizing radiation are actively studied. It is proved that during chronic low-level irradiation free radical reactions are activated. It was found both in experiments on laboratory animals with chronic low-intensive irradiation and for murine rodents dwelling on radioactively polluted areas (Kudyasheva et al., 1997, 2004). It was established that free radical reactions perform important regulatory function in adaptive body changes under extreme influences, which raise body resistance at adequate stimulation. It is therefore appropriate to estimate the possibility of phytopharmacological correction of adaptive reactions of animal's body under chronic low-dose irradiation using phytoecdysteroid-containing adaptogens. After experiments performed on rodents at course of Serpisten administration positive geroprotective action of Serpisten was revealed. It leads to increasing of the sensitivity of hypothalamus and subsequent decrease of the level of corticosterone in the blood of rats. Similarity of adaptive reactions in tissues both at Serpisten action (dosage range from 0.5 to 50 mg/kg) and at chronic γ -radiation action (low doses from 7.5 to 22.6 sGy) was shown. They characterize changes of lipid layer of cell membranes and activation of secretion of steroid hormones. It was established that biochemical mechanism of Serpisten action turns on activation of lipid peroxidation processes in the same way as action of low-intensive γ -radiation. It also switches on induction of the biosynthesis of heat shock proteins of family Hsc70. These proteins are major mechanisms, which initiate rearrangement of energy and plastic metabolism and develop adaptive reactions on cell level. Radioprotective action of serpisten and inokosterone preparations in small doses (5 and 15 mg/kg) at chronic low-level γ -radiation action (22.6 sGy) is established. Capability of phytoecdysteroids to normalize lipid peroxidation in tissues of irradiated mice at therapeutic application of preparations is showed.

Hypothesis that phytoecdysteroids (structural analogs of insect molting hormones) correspond to criteria for adaptogens as members in the reaction of stress response by means of activation of lipid peroxidation and induction of the biosynthesis of heat shock proteins of family Hsc70, which initiate processes of urgent- and long-term adaptation on cell level, and also by inclusion of ecdysteroids in central mechanisms of hormonal regulation by means of the decrease of the level of corticosteroids in the blood under the stress condition is experimentally proved. Serpisten acts as soft stressor and induces adaptive processes in cells and tissues; it helps to increase the resistance of organism to disturbing factors of the environment. Discovered effects of phytoecdysteroids open the perspectives of their application as effective stress- and geroprotective remedies.

The research was financially supported by the Program of the Presidium of Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (12-П-4-1023).

СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ К ФУНГИЦИДАМ

Кузикова И.Л., Медведева Н.Г., Трошева Т.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук (НИЦЭБ РАН), Россия, Санкт-Петербург
e-mail: ilkuzikova@ya.ru

Повсеместное загрязнение окружающей среды экотоксикантами в значительной степени обусловлено широкомасштабным и длительным применением фунгицидов для защиты от микоповреждений различных материалов, изделий, сооружений, а также их использованием в сельском хозяйстве, медицине и пр. Проблема загрязнения окружающей среды фунгицидами усугубляется возникновением к ним резистентности грибов, в результате чего их ингибиторная доза увеличивается в десятки раз. Резистентность грибов в значительной мере обусловлена их свойством образовывать метаболиты адаптационного типа – полисахариды, пигменты, органические кислоты, гидролитические ферменты и др. В настоящее время одним из наиболее важных решений проблемы резистентности является создание на основе известных фунгицидов комплексных препаратов с повышенной биоцидной активностью. Однако в подавляющем большинстве исследований, посвященных разработке таких препаратов, не учитывается характер их влияния на адаптационные свойства грибов, определяющие их устойчивость к фунгицидам.

Цель представляемой работы состояла в создании комплексных противогрибковых средств защиты на основе синтетических фунгицидов и веществ, повышающих чувствительность к ним грибов и ограничивающих биосинтез грибами метаболитов адаптационного характера.

Исследования проводили с синтетическими фунгицидами – катамином АБ, метацидом, триланом.

В качестве тест-культур использовали грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*, относящиеся к наиболее распространенным возбудителям биоповреждений.

При определении влияния фунгицидов на такие факторы адаптации грибов как пигменты и экзополисахариды было выявлено, что все исследуемые фунгициды интенсифицируют образование этих метаболитов у грибов. Продуктивность биомассы по пигментам возрастает в 1,3-2,5 раза в зависимости от тест-культур и фунгицидов. Продуктивность мицелия грибов по экзополисахаридам в присутствии фунгицидов увеличивается в среднем в 2 раза. Экспериментально было показано, что снизить синтез грибами таких факторов адаптации микромицетов как пигменты и экзополисахариды возможно при использовании фунгицидов совместно с поверхностно-активными веществами (ПАВ). Результаты наших исследований показали, что при одновременном воздействии фунгицидов и ПАВ количество пигментов и экзополисахаридов у грибов снижается в 1,5-1,8 раз в зависимости от культур грибов и фунгицидов, при этом почти на порядок снижаются минимальные подавляющие концентрации фунгицидов.

Таким образом, показано, что при комплексном использовании фунгицидов и ПАВ, снижающих адаптационные свойства грибов (синтез пигментов, полисахаридов) повышается чувствительность грибов к фунгицидам, снижается фунгицидная доза, что в свою очередь сокращает химическое загрязнение объектов окружающей среды.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

METHODS OF SENSITIVITY INCREASING OF MYCELIAL FUNGI TO FUNGICIDES

Kuzikova I.L., Medvedeva N.G., Trosheva T.D.

Institution of Russian Academy of Sciences Saint Petersburg Scientific Research Center for Ecological Safety RAS,
Saint-Petersburg, Russia
e-mail: ilkuzikova@ya.ru

All-round contamination of the environment by ecotoxicants due to widespread and prolonged use of fungicides for protection against fungal biodeterioration of various materials, products, structures, and their use in agriculture, medicine, etc.. The problem of environmental pollution is aggravated by development of fungicidal resistance in fungi, in result their inhibitory dose is increased tenfold. The resistance of fungi is largely determined by their ability to synthesize adaptive metabolites: polysaccharides, pigments, organic acids, hydrolytic enzymes, etc. Currently, one of the most important solutions of the problem of resistance is the development of complex antifungal agents based on synthetic fungicides with high biocidal activity. However, the majority of studies is devoted to the development of such agents does not take into account the nature of their impact on the adaptive properties of fungi that determine their resistance to fungicides.

The purpose of this study was the creation of complex antifungal agents based on synthetic fungicides and substances which increase a sensitivity of fungi to them, and limit the biosynthesis of fungal metabolites of adaptive nature.

In our experiments we used synthetic fungicides - catamine AB, metacide, trilan. As test cultures used fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*, relating to the most common causative agents of biodeterioration.

In determining the effect of fungicides on such factors of adaptation of fungi as pigments and exopolysaccharides was found that all tested fungicides intensify the formation of these metabolites in fungi. Biomass productivity on pigments increases 1.3-2.5 times, depending on the test cultures and fungicides. The productivity of fungal mycelium on the exopolysaccharides in the presence of fungicides increased by an average factor of 2. Experiments have shown that reducing the synthesis by fungi such adaptation factors as pigments and exopolysaccharides is possible by using fungicides in complex with surfactants. Our results showed that, under joint action of fungicides and surfactants, the amount of pigments and exopolysaccharides of fungi is reduced by 1.5-1.8 times, depending on fungi and fungicides. At the same time, the minimum inhibitory concentrations of fungicides decreased by nearly an order of magnitude.

Thus, it is shown that the complex use of fungicides and surfactants that reduce the adaptive properties of fungi (the synthesis of pigments, polysaccharides) increases the sensitivity of fungi to fungicides, reduce fungicide dose, which in turn reduces chemical pollution of the environment.

ДИНАМИКА ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЕНАХ БАТУНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина, Киев, Украина
e-mail: lml@univ.kiev.ua

В семенах при хранении возрастает хромосомная нестабильность и увеличивается количество хромосомных повреждений, которые проявляются в виде aberrаций хромосомного и хроматидного типов. В данном сообщении представлены результаты цитогенетического анализа гамма-индуцированной нестабильности генома в семенах батуна в течение 10 месяцев после облучения.

В исследованиях использовали семена батуна, сорт «Майский», репродукции 2003 года. Возраст семян на момент облучения - 18 месяцев. Семена облучали в дозе 5 и 10 Гр. Контролем служили необлученные семена, которые хранились в тех же условиях, что и облученные.

Клетки корневой меристемы анализировали анафазным методом. Вычисляли: частоту aberrантных анафаз (ЧАА – доля анафаз с aberrациями от общего количества проанализированных, в процентах); поврежденность aberrантной клетки КАБАК – количество aberrаций на aberrантную клетку, исключая мультиaberrантные, и частоту мультиaberrантных анафаз (ЧМАА) – доля анафаз с 5-ю и более aberrациями от общего количества aberrантных анафаз, в процентах.

В облученных семенах непосредственно после облучения ЧАА составляла $22,1 \pm 1,8\%$ и $33,6 \pm 2,1\%$ соответственно для 5 и 10 Гр. В течение следующих 10 месяцев в облученных семенах ЧАА выросла до $38,4 \pm 1,2\%$ и $91,4 \pm 1,2\%$, соответственно для 5 и 10 Гр. Показатель КАБАК увеличился от $1,5 \pm 0,1$ аб/кл до $1,9 \pm 0,06$ аб/кл при дозе 5 Гр и от $1,6 \pm 0,1$ аб/кл до $2,1 \pm 0,1$ аб/кл при дозе 10 Гр. ЧМАА выросла от $0,7 \pm 0,4\%$ до $16,5 \pm 1,4\%$ и от $2,5 \pm 0,7\%$ соответственно для 5 и 10 Гр.

В контроле (необлученные семена) в течение того же периода ЧАА выросла от $6,9 \pm 1,1\%$ до $24,4 \pm 1,8\%$. Показатель КАБАК не увеличился; мультиaberrантные клетки отсутствовали в начале мониторинга, а через 10 месяцев ЧМАА в облученных семенах составила $0,6 \pm 0,35$, что вполне естественно для естественно стареющих семян.

Как правило, при длительном хранении семян в лабораторных условиях ЧАА не превышает 70-80% (1, 2). В семенах, облученных на 6-м мес хранения, ЧАА уже через 10 месяцев после облучения достигала $96,5 \pm 0,8\%$ (3), что существенно выше, чем в семенах, облученных на 18-м мес хранения. Это можно объяснить тем, что часть клеток в семенах после 18 месяцев состарилась настолько, что их облучение привело к летальному эффекту. Стоит также помнить, что это семена разных лет репродукции, развитие хромосомной нестабильности в которых зависит от суммарного влияния экологических факторов на материнские растения в период вегетации и формирования семян (4, 1). Не исключено также влияние других, неучтенных факторов.

Таким образом, гамма-облученные семена батуна в течение десяти месяцев по цитогенетическим показателям «постарели» до более высокого уровня, чем спонтанно стареющие в течение 60 месяцев семена той же агропопуляции.

Литература

1. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динаміка хромосомної нестабільності в насінні батуну (*Allium fistulosum* L.) різних років репродукції // Вісник Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника. Серія Біологія. – Івано-Франківськ: Гостинець, 2007. Вип. VII-VIII. – С.: 265-267.
2. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуну (*Allium fistulosum* L.): влияние температуры хранения семян // Цитология и генетика, 2008. - №5. – С.: 54-60.
3. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф., Павлович С.А. Вплив гама-опромінення на стабільність хромосом у насінні батуну при тривалому зберіганні // У збірці Українського біофізичного товариства. Тези доповідей. Луцьк – 2011. – С.: 80.
4. Bezrukov V. F., Lazarenko L.M. Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants // Mutation Research, 2002, October, Vol. 520/ 1-2, P. 113-118.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DYNAMICS OF CHROMOSOMAL INSTABILITY IN GAMMA-IRRADIATED WELSH ONIONS SEEDS DURING PROLONGED STORAGE

Lazarenko L.M., Bezrukov V.F.

Kyiv National Taras Shevchenko University, Kyiv, Ukraine
e-mail: lml@univ.kiev.ua

During seeds storage the chromosomal instability and number of chromosomal damage increases, which is manifested as aberrations of chromosomal and chromatid types. This report presents the results of cytogenetic analysis of gamma-induced genomic instability in the seeds of onions in the 10 months after irradiation.

We used the seeds of welsh onions, variety "May" (harvested in 2003) year. Age at the time of irradiation of seeds - 18 months. The seeds were irradiated at a dose of 5 and 10 Gy. Served as a control non-irradiated seeds, which were stored under the same conditions as irradiated.

Cells of root meristem were analyzed at the anaphase. We calculated: the frequency of aberrant anaphases (FAA - number anaphases with aberrations as a percentage); damage of aberrant cells: NAAC- number aberrations per aberrant cell, without multiaberrant and the frequency of multiaberrant anaphases (FMAA) - anaphases with 5 and more aberrations of the total number of aberrant cells.

In the irradiated seeds immediately after irradiation FAA was $22,1 \pm 1,8\%$ and $33,6 \pm 2,1$, respectively, for 5 and 10 Gy. During the next 10 months in the irradiated seeds FAA rose to $88,4 \pm 1,2\%$ and $91,4 \pm 1,2\%$, respectively, for 5 and 10 Gy. NAAC increased from $1,5 \pm 0,1$ aberrations per cell to $1,9 \pm 0,06$ aberrations per cell for 5 Gy, and from $1,6 \pm 0,1$ aberrations per cell to $2,1 \pm 0,1$ aberrations per cell for 10 Gy. FMAA increased from $0,7 \pm 0,4\%$ to $16,5 \pm 1,4\%$ and from $2,5\% \pm 0,7\%$, respectively, for 5 and 10 Gy.

In the control (unirradiated seeds) during the same period increased from FAA $6,9 \pm 1,1\%$ to $24,4 \pm 1,8\%$, NAAC not increased; multiaberrant cells were absent at the beginning of the monitoring and FMAA 10 months in the unirradiated seeds amounted to $0,6 \pm 0,3\%$, which is quite natural for the natural aging of seed onions.

As a rule, after long-term storage of seeds under laboratory conditions FAA does not exceed 70-80% (1, 2). In seeds irradiated at the 6th month of storage, FAA within 10 months after irradiation, reached $96,5 \pm 0,8\%$ (3) that is significantly higher than in seeds irradiated at the 18th month of storage. This can be explained by the fact that some cells in the seeds after 18 months are too old and their irradiation resulted in lethal effect. It should also be remembered that these two samples of seeds were of different years of reproduction, and development of chromosomal instability depends on the total impact of environmental factors on the mother plants during the growing season and seed formation (4, 1). The influence of other unaccounted factors also may not be excluded.

As follows from the data, gamma-irradiated seeds still young onions for ten months for cytogenetic indicators "aged" to a higher level than the spontaneous aging to 60 months of the seeds.

References

1. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динаміка хромосомної нестабільності в насінні батуну (*Allium fistulosum* L.) різних років репродукції // Вісник Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника. Серія Біологія. – Івано-Франківськ: Гостинець, 2007. Вип. VII-VIII. – С.: 265-267.
2. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуну (*Allium fistulosum* L.): влияние температуры хранения семян // Цитология и генетика, 2008. - №5. – С.: 54-60.
3. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф., Павлович С.А. Вплив гама-опромінення на стабільність хромосом у насінні батуну при тривалому зберіганні // У зїзд Українського біофізичного товариства. Тези доповідей. Луцьк – 2011. – С.: 80.
4. Bezrukov V. F., Lazarenko L.M. Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants // Mutation Research, 2002, October, Vol. 520/ 1-2, P. 113-118.

ВЛИЯНИЕ КРАНИОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ И ОБЩЕЙ ГИПОТЕРМИИ НА СООТНОШЕНИЕ ФОРМ ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВИ КРЫС

Ломако В.В., Коваленко И.Ф., Шило А.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
e-mail: victorial2003@list.ru

При действии на организм экстремальных факторов, к числу которых относится охлаждение, сопровождающееся гипотермией, происходят изменения гомеостатических констант, прежде всего относящихся к системе крови. Эритроциты – самые многочисленные клетки крови, участвуют в поддержании постоянства внутренней среды организма. В норме имеют особую форму двояковогнутых дисков (дискоцитов), что определяет их основную высокоспециализированную транспортную функцию – перенос кислорода, углекислого газа, а также других веществ, абсорбированных на поверхности цитолеммы (гормонов, иммуноглобулинов, антигенов, антител, аминокислот, глюкозы, лекарственных веществ, токсинов и других). Они очень чувствительны к колебаниям температуры и могут подвергаться различным обратимым и необратимым трансформациям.

Цель работы – сравнить влияние краниocereбральной (КЦГ) и общей (ОГ) гипотермии на соотношение форм эритроцитов крови крыс. Работа выполнена на 7-8 мес. белых крысах-самцах с соблюдением всех биозитических норм. КЦГ до ректальной температуры (РТ) 32 °С на фоне блокады центров терморегуляции наркотом проводили на специальном устройстве, созданном в ИПКиК НАНУ. ОГ (РТ=19 °С) осуществляли в тесте «вынужденное плавание» в ледяной воде (0 °С). РТ измеряли электронным термометром. В суспензии эритроцитов (30 % гематокрит) методом малоуглового рассеяния света определяли их индекс сферичности (ИС), выделяя следующие формы клеток: нормальные (ИС = 1,7-2,1) и уплощенные (ИС = 2,1-3) дискоциты, сфероциты (ИС = 1-1,3), стоматоциты (ИС = 1,3-1,7) (табл.).

Таблица. Влияние различных видов гипотермии на соотношение форм эритроцитов крови крыс

Условия эксперимента	Индекс сферичности			
	1-1,3	1,3-1,7	1,7-2,1	2,1-3
Контроль	1,24±0,89	40,82±3,78	52,79±3,07	5,14±2,04
Наркоз	5,07±2,27*	40,9±6,63	48,03±9,17	6,0±2,05
КЦГ	3,22±0,1*	66,06±1,75*	28,29±1,4*	2,44±0,25
Через 24 ч КЦГ	8,35±6,21	39,16±6,81	45,65±5,58	6,84±4,05
ЭГ	2,90±1,35	57,40±4,14	34,47±3,01*	5,27±1,27
Через 24 ч после ЭГ	3,57±1,19	31,83±0,66*	56,60±1,37	8,00±1,18

* - изменения достоверны по сравнению с контролем, $p < 0,05$

Плотность распределения эритроцитов по индексу сферичности является важной объективной характеристикой красной крови человека при различных патологиях, но может использоваться также и при оценке влияния различных физических факторов на организм. В норме в крови наблюдается физиологический пойкилоцитоз, когда 80% эритроцитов составляют дискоциты (нормоциты), остальные клетки – атипичные формы эритроцитов (сфероциты, planoциты, эхиноциты, седловидные, двоямочные, стоматоциты). Нарушения эритропоэза, изменения электролитного баланса крови, концентрации метаболитов и др. приводят к появлению обратимо (эхиноциты и стоматоциты) и необратимо (сфероциты, эллиптоциты, кодоциты) измененных форм клеток. Эти формы также могут появляться как переходные в процессе старения эритроцитов. При наркозе соотношение нормальных форм эритроцитов не менялось, но увеличивалось количество сфероцитов и стоматоцитов (табл.). Сфероциты относят к предгемолитическим необратимо измененным формам эритроцитов. Как при КЦГ, так и при ОГ значительно уменьшалось количество дискоцитов (при КЦГ в 2 раза), увеличивалось число стоматоцитов и сфероцитов. Через 24 ч соотношение эритроцитов по ИС возвращается к контрольному уровню, кроме сфероцитов, доля которых остается повышенной, особенно после КЦГ.

Таким образом, при гипотермии организма, независимо от глубины и способа достижения, обратимо меняется процентное соотношение форм эритроцитов (снижается доля нормальных дискоцитов, а сфероцитов и стоматоцитов – увеличивается): через 24 ч оно в основном возвращается к контрольному уровню, причем после ОГ нормальные формы эритроцитов преобладают. Эти изменения, вероятно, имеют адаптивную направленность и могут отражать специфичность ответной реакции эритроцитов на охлаждение, что согласуется с данными *in vitro* [1], где показано, что наиболее существенные температурозависимые изменения эритроцитов, отражающиеся на их форме, наблюдаются в диапазоне температур 15-8 °С, когда происходят самые масштабные перестройки мембран.

Литература

1. Давыдова Е.В., Гордиенко О.И. (2009) Влияние температуры на распределение эритроцитов по индексу сферичности. *Біофізичний вісник*, 23(2): 114-119.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE EFFECT OF CRANIOCEREBRAL AND GENERAL HYPOTHERMIA ON THE RATIO OF ERYTHROCYTE SHAPES IN RAT BLOOD

Lomako V.V., Kovalenko I.F., Shylo O.V.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: victorial2003@list.ru

The extreme factors, in particular, cooling accompanied by hypothermia affect homeostatic constants, primarily related to the blood system. Red blood cells (RBCs) are the most numerous cells in blood and involved in maintaining the constancy of the internal environment of the organism, and normally possess the special shape of a biconcave disk (discocytes), which determines their basic highly specialized transport function such as transfer of oxygen and carbon dioxide and other substances absorbed on the surface of the cytolemma (hormones, immunoglobulins, antigens, antibodies, amino acids, glucose, medical substances, toxins etc.). It is known that RBCs are very sensitive to temperature fluctuations and can be subjected to various reversible and irreversible transformations.

The aim of the work was to compare the effects of craniocerebral (CCH) and general (GH) hypothermia on the ratio of RBC shapes in rats.

The study was carried out in 7-8-month white male rats in compliance with all the bioethical norms. CCH to the rectal temperature (RT) 32 °C was achieved in anesthetized animals in a special equipment created in Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine. GH (RT = 19 °C) was simulated in the "forced swimming" test in ice water (0 °C). RT was measured by an electronic thermometer. The erythrocyte spherical index (SI) was determined by small-angle light scattering in the RBC suspension (30% hematocrite). The following RBC shapes were identified: normal (SI = 1.7-2.1) and flattened (SI = 2.1-3) discocytes, spherocytes (SI = 1-1.3), stomatocytes (SI = 1.3-1.7) (Table).

Table. The effect of different kinds of hypothermia on the ratio of RBC shapes in rat blood

The Experimental Conditions	Spherical index			
	1-1.3	1.3-1.7	1.7-2.1	2.1-3
Control	1.24±0.89	40.82±3.78	52.79±3.07	5.14±2.04
Anaesthesia	5.07±2.27*	40.9±6.63	48.03±9.17	6.0±2.05
CCH	3.22±0.1*	66.06±1.75*	28.29±1.4*	2.44±0.25
24 hrs after CCH	8.35±6.21	39.16±6.81	45.65±5.58	6.84±4.05
GH	2.90±1.35	57.40±4.14	34.47±3.01*	5.27±1.27
24 hrs after GH	3.57±1.19	31.83±0.66*	56.60±1.37	8.0±1.18

* - changes are significant in comparison with the control level, $p < 0.05$

The density distribution of erythrocytes by SI is an important and objective characteristic of human red blood during various pathologies, and it can also be used when the influence of different physical factors on the organism is assessed.

Blood under normal conditions is characterized by physiological poikilocytosis: 80% of erythrocytes are discocytes (normocytes) and the others are of atypical shapes (spherocytes, planocytes, echinocytes, saddle-like and biconvocal RBCs, stomatocytes). Erythropoiesis disturbances, changes in electrolyte balance, concentrations of metabolites in blood, etc. lead to appearance of the reversible (echinocytes and stomatocytes) and irreversible (spherocytes, elliptocytes, kodocytes) modified RBC shapes. These shapes may also appear as a transient in the process of aging of the erythrocytes.

Under anaesthesia the ratio of normal RBC shapes did not change, but the number of stomatocytes and spherocytes increased (Table). The latter belongs to pre-hemolytic RBC shapes. Both during CCH and GH the number of discocytes (2-fold under CCH) significantly decreased and the number of stomatocytes and spherocytes increased. After 24 hrs the ratio of RBC shapes according to SI returned to the control level, except spherocytes, the portion of which remained elevated, especially after CCH.

Thus, under hypothermia regardless of the depth and method of its achieving the reversible changes in the percentage of RBC shapes occur: the portion of normal discocytes is reduced and the portions of spherocytes and stomatocytes are increased. After 24 hrs the changes basically return to the control level with the dominance of normal shapes of RBCs.

The above mentioned changes are likely to be adaptive. Moreover, they may reflect a peculiarity of response of RBCs to cold. This is consistent with Davydova E.V. & Gordiyenko O.I.'s findings [1], who showed that the most prominent temperature-dependent changes in RBC shape occurred in the temperature range 15-8 °C, when the most conspicuous rearrangements of RBC membranes took place.

References

1. Davydova E.V., Gordiyenko O.I. (2009) Temperature effect on erythrocyte distribution by spherical index. *Biofizichnyi visnyk*, 23(2): 114-110.

ВЛИЯНИЕ СЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ КРАЙНЕ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГЛАДКИХ МЫШЦ

Мартынюк В.С., Цимбалюк О.В.

УНЦ «Институт биологии», Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: mavis@science-center.net

Биологическая активность слабых электромагнитных полей (ЭМП) с недавних пор безоговорочно признано мировой научной общественностью. Интерес представляет изучение биологического действия магнитных полей с отдельными характеристиками, близкими к природным электромагнитным вариациям. На огромном массиве экспериментальных данных установлена высокая биологическая активность магнитных полей крайне низких частот (МП КНЧ), которые являются фактором-посредником в солнечно-биосферных связях и способны вызывать разнообразные изменения в работе функциональных систем организма человека и животных. Как известно, разные системы организма человека и животных проявляют неодинаковую чувствительность к МП КНЧ. В этой связи следует отметить, что эффекты влияния МП КНЧ на мышечную ткань изучены недостаточно. Поэтому целью нашего исследования была оценка влияния МП КНЧ на сократительную активность гладких мышц.

Тензометрическим методом в изометрическом режиме нами было изучено влияние МП частотой 8 Гц индукцией 25 мкТл на спонтанную и индуцированную ацетилхолином и гиперкалиевым раствором сократительную активность кольцевых гладких мышц слепой кишки (*саесит*) крысы. Изучение спонтанной активности гладкомышечных полосок в условиях облучения МП показало, что действие физического фактора вызвало достоверное увеличение частоты сокращений и тенденцию к увеличению амплитуды спонтанных сокращений. Одновременно с эти МП-обработка упорядочивала ритмическую активность. Одной из причин таких изменений может быть синхронизирующее действие МП на пейсмекерную активность клеток Кахаля, играющих ключевую роль в спонтанной активности гладких мышц полых органов.

МП КНЧ вызывало угнетение K^+ -индуцированных сокращений с достоверным увеличением длительности сокращения и замедлением расслабления гладкомышечных образцов. Сокращения, индуцированные ацетилхолином, оказались менее чувствительными к действию МП, тем не менее, обнаружено достоверное уменьшение максимальной силы сокращения в среднем на 11%. Остальные механокинетические показатели ацетилхолин-индуцированных сокращений оставались на уровне контрольных значений.

Таким образом, гладкие мышечные элементы следует рассматривать как ещё одну из мишеней действия электромагнитных полей.

INFLUENCE OF EXTREMELY LOW FREQUENCY MAGNETIC FIELD ON CONTRACTILE ACTIVITY OF SMOOTH MUSCLE

Martynyuk V.S., Tsybalyuk O.V.

ESC "Institute of Biology" of Kyiv National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine
e-mail: mavis@science-center.net

The biological activity of weak electromagnetic fields (EMF) has recently been unequivocally revealed by the world's scientific community. It is interesting to study the biological effects of magnetic fields with some characteristics similar to natural electromagnetic variations. The arrays of experimental data show the high biological activity of magnetic fields of extremely low frequency (ELF MF), which are a factor-mediator in the solar-biospheric relationships and can cause a variety of changes in the functional systems of humans and animals. It is known, different systems of humans and animals exhibit unequal sensitivity to ELF magnetic field. In this regard, it should be noted that the effects of ELF magnetic field effects on muscle tissue is not well understood. Therefore, the aim of our study was to evaluate the effect of ELF MF on the contractile activity of smooth muscle.

Using tensometric methods in the isometric mode, we studied the effect of magnetic field with frequency of 8 Hz, 25 mT induction on spontaneous and induced by acetylcholine and hyper-potassium solution contractile activity of circular smooth muscles of the cecum of rats. The study of spontaneous activity of smooth muscle strips in a magnetic field exposure showed that EMF caused a statistically significant increase in the frequency of contractions and tends to increase the amplitude of spontaneous contractions. Along with these MF-treatment processed the rhythmic activity. One of the reasons for such changes may be synchronizing effect of MF on the pacemaker activity of cells of Cajal, which play a key role in the spontaneous activity of smooth muscles of hollow organs.

ELF magnetic field caused the inhibition of K^+ -induced contractions with a significant increase in the duration of the contraction and relaxation of smooth muscles. The contractions induced by acetylcholine was less sensitive to the magnetic field, however, a significant decrease in the maximum power reduction by an average of 11% was revealed. The remaining indicators of mechano-kinetical acetylcholine-induced contractions remained at control values.

Thus, the smooth muscle elements should be considered as one of the sensitive targets of electromagnetic fields.

БАГАТОСТІННІ ВУГЛЕЦЕВІ НАНОТРУБКИ МОДУЛЮЮТЬ АМПЛІТУДНО-ЧАСТОТНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ

*Меленевська Н.В., Цимбалюк О.В., Давидовська Т.Л.,
Прилуцький Ю.І., Федоренко Т.В.*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: prylut@ukr.net

Тензометричним методом в ізометричному режимі досліджували амплітудно-частотні характеристики гладеньком'язових смужок (ГМС) саесит щурів за присутності в нормальному розчині Кребса високо очищених багатостінних вуглецевих нанотрубок (БВНТ), що становлять собою систему вкладених коаксильних циліндрів, поверхня яких вкрита гексагональною мережею з атомів вуглецю у вузлах. БВНТ та їх водну суспензію в максимальній концентрації 1 мг/мл було одержано в Технологічному університеті Ілменау (ФРН). Стан нанотрубок у воді контролювали за допомогою атомно-силового мікроскопу. Встановлено, що в контролі в інтервалі амплітуд від 2 до 15 мН спостерігається їх розподіл за частотами з двома вірогідними максимумами: $14 \pm 0,8$ та $8,6 \pm 0,5$ %, $n = 7$, які відповідали амплітудам скорочень гладеньких м'язів 8 та 12 мН. Порівняно з контролем, за присутності в нормальному розчині Кребса нанотрубок в розведенні 1:1000 спостерігалось зміщення в групах амплітудного діапазону спонтанних скорочень м'язових препаратів в межах 5-18 мН (Рис. 1). З'ясовано, що у цьому інтервалі один з максимумів за величиною та положенням на шкалі частот співпадав з контрольним, а другий – було зміщено в область більших амплітуд (14 мН) та частот $18,8 \pm 1$ %, $n = 7$. Аплікація нормального розчину Кребса з вмістом багатостінних вуглецевих нанотрубок у розведенні 1:100 супроводжувалась звуженням меж розподілу амплітуд скорочень (3-13) мН, $n = 7$ по частотам з трьома максимумами: 7, 10 та 12 мН ($n = 7$). Останні два – за своїми частотними характеристиками не відрізнялись між собою і були такого ж порядку, як і частотний максимум відповідно амплітуди 14 мН при застосуванні суспензії нанотрубок у розведенні 1:1000. Відмивання м'язових препаратів нормальним розчином Кребса усувало спонтанні скорочення, величиною 10 та 12 мН, але не забезпечувало відновлення профілю розподілу амплітуд по частотам до контролю. Повторна аплікація багатостінних вуглецевих нанотрубок у зазначеному вище розведенні супроводжувалась подальшим звуженням меж амплітудного інтервалу, втричі у порівнянні з контролем зростала частота появи скорочень з амплітудою 13 мН ($70 \pm 5,5$ %), $n = 7$. аплікація суспензії БВНТ у розведенні 1:50 призводила до максимального звуження амплітудного інтервалу скорочень (10-16) мН, зменшувалась частота їх генерації і становила ($7 \pm 0,7$) скорочень/хв., $n = 7$.

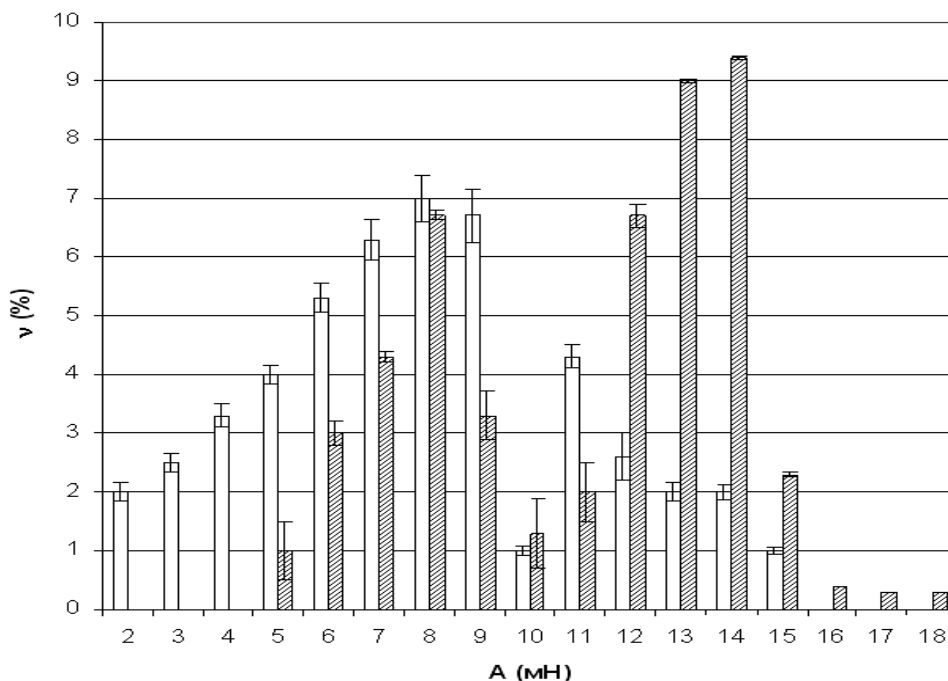


Рис. 1. Частотний (v) розподіл амплітуд (A) спонтанної скорочувальної активності гладеньких м'язів у контролі (білі стовпці) та за присутності в нормальному розчині Кребса багатостінних вуглецевих нанотрубок у розведенні 1:1000 ($n = 7$).

MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES MODULATE AMPLITUDE-FREQUENCY CHARACTERISTICS OF SMOOTH MUSCLES

*Melenevska N.V., Tsymbalyuk O.V., Davydovska T.L.,
Prylutsky Yu.I., Fedorenko T.V.*

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine
e-mail: prylut@ukr.net

The amplitude-frequency characteristics of smooth muscle stripes of rat caecum in the presence of high purified multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) were investigated using tension-measure technique under isometric conditions. MWCNT water suspension (max.1 mg/ml) was produced at the Technical University of Ilmenau (Germany). The MWCNT state in water was controlled by atomic force microscope. In control measurements, the frequency distribution with two maximums are observed: $14,0 \pm 0,8$ and $8,6 \pm 0,5\%$, $n=7$ for smooth muscle contraction with amplitudes of 8 and 12 mN, correspondingly. Compared with controls, the presence of MWCNT in normal Krebs solution in a dilution of 1:1000 leads to shifting the amplitude of spontaneous muscle contractions within (5-18) mN (Fig.1). It was found that one of the maximum on the value and position coincides with the control, and another one was shifted into the region of highest amplitudes (14 mN) and frequencies ($18,8 \pm 1,0\%$, $n=7$). Application of normal Krebs solution containing MWCNT in a dilution of 1:100 was accompanied by narrowing the limits of the contraction amplitude distribution ((3-13) mN) with three maximums: 7, 10 and 12 mN ($n=7$). The last two peaks did not differ among themselves and were of the same order as the frequency maximum amplitude of 14 mN during the application of a MWCNT suspension in a dilution of 1:1000. Laundering of muscle products by normal Krebs solution eliminate spontaneous contractions in the value of 10 and 12 mN, but did not provide recovery profile distribution amplitudes for frequencies to control. Repeated application of MWCNT in the above dilution was accompanied by further narrowing the limits of amplitude range, the frequency of contractions with an amplitude of 13 mN ($70,0 \pm 5,5\%$, $n=7$) increased in three times compared with control. Application of MWCNT suspension in a dilution of 1:50 resulted in maximal narrowing the contraction amplitude range (10-16) mN, decreasing the frequency of their generation, which was ($7,0 \pm 0,7$) contractions/min, $n=7$.

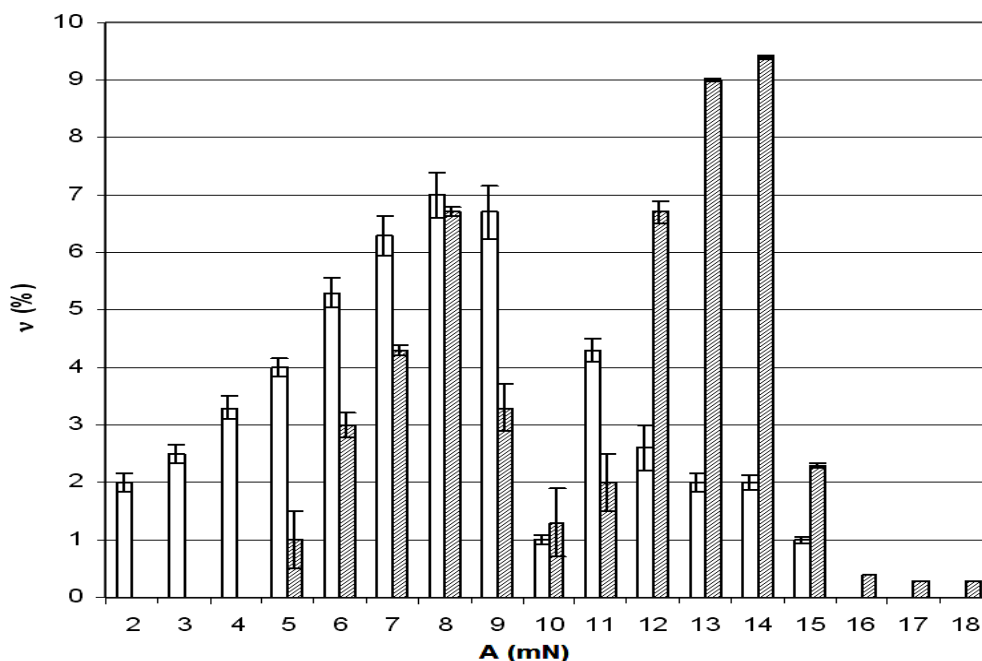


Fig. 1. Frequency (v) - amplitude (A) distribution of the spontaneous contractile activity of smooth muscles in the control (white columns) and in the presence of MWCNT in a dilution of 1:1000 ($n=7$).

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УПРАВЛЕНИЯ АДАПТАЦИОННЫМИ РЕАКЦИЯМИ ОРГАНИЗМА ЖЕНЩИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОДОРАНОВ И ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ

Минина Е.Н.

Таврический национальный университет им.В.И.Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: cere-el@yandex.ua

Изучение особенностей управления адаптацией у практически здоровых людей, но с разными резервными возможностями и возрастными особенностями имеет важное значение в повышении эффективности приспособительных механизмов и увеличения уровня здоровья. Однако методологическая основа построения моделей управления и аргументация сферы практического применения биологически значимых информационных и эрготропных стимулов, как внешнего звена саморегуляции, нуждается в дополнении и активном научном поиске. В этой связи целью исследования явилось изучить возрастные особенности управления адаптационными реакциями организма женщин, а так же коррекция приспособительных возможностей с использованием одорантов и физических упражнений. Для реализации поставленной цели и задач использовались следующие методы -реорграфический, спиропневмотахометрический, газоаналитический, электрокардиографический с вариационной пульсометрией, гематологический, цитохимический, велоэргометрический, психофизиологические, корреляционная адаптометрия. В качестве объекта управления были выбраны уровень функционирования кардиореспираторной системы, уровень резервов и напряжения механизмов регуляции. Субъектом управления явилась центральная нервная и исполнительные системы. При этом одоранты выполняли функцию информационного управляющего фактора, а комплексное воздействие оказывало и информационное и эрготропное воздействие. В качестве критерия оценки управления исследовали общий энергопотенциал системы и изменения взаимосвязанности параметров системы кардиогемодинамики. Исследования состояли из трёх этапов. На первом этапе в рамках возрастной модели анализировали приспособительные возможности женщин различных возрастных групп со сниженным уровнем физической работоспособности. Исследовали 30 девушек 19-20 лет, 30 женщин 35-40 лет и 25 женщин 55-60 лет. Самоорганизационные процессы, уменьшаясь в возрасте, снижают возможность гомеокинетических переходов, тем самым сокращая количество возможных гомеостатических состояний и сужают приспособительный потенциал. Резюмируя данные литературных источников и данные, полученные в нашем исследовании, можно отметить факт разнонаправленности расширяющего возможности адаптации процесса развития и сужающего эти возможности возрастных особенностей. При этом соотношение механизмов саморегуляции и самоорганизации формируют динамический коридор адаптации, расширение которого в процессе коррекционно-управляющего процесса может быть связано с реализацией первого принципа адаптационного управления о необходимости системной реорганизации с возможностью гомеостатизации. На втором этапе, в рамках энергетической модели, анализировали адаптационные особенности девушек с разным уровнем физической работоспособности. Были выделены группа с низким уровнем в количестве 30 человек, 30 девушек, составившие группу со средним уровнем физической работоспособности и 10 девушек с высоким уровнем. Было выявлено, что подвижность уровня функциональных взаимосвязей между параметрами составляет важнейший резерв адаптации, расширяющий адаптационный коридор, что позволяет сформулировать второй принцип оптимального поиска и адекватной реорганизации и третий принцип- достаточности энергоинформационных влияний. На третьем этапе производили коррекционно-управляющие воздействия с помощью композиции эфирных масел «Полиол» отдельно, и в комплексе с физическими упражнениями. Подводя итоги управления адаптационными процессами женщин различных возрастных групп, необходимо резюмировать их неоднозначность реагирования на факторы с преимущественным информационным или эрготропным характером, вероятно связанную с различным соотношением самоорганизационных и саморегуляционных процессов. Полученные результаты управления адаптационными резервами позволили сформулировать четвертый принцип резонанса с вектором развития и пятый принцип взаимодействия внешнего управляющего фактора и организма. Находясь на одном отрезке жизненного цикла, девушки 19-20 лет с различным уровнем энергопотенциала, так же различно реагировали на коррекционно-управляющие воздействия. Полученные в нашем исследовании результаты подтверждают одно из принципиальных свойств механизма управления и регулирования в биосистеме. Это результирующее свойство осцилляторов, сводящееся к тому, что колебания, происходящие в данных регуляционных системах, ассиметричны, и зависят от его отношения к истоку или стоку, что позволяет сформулировать шестой принцип адаптивного биологического управления-ассиметрии колебательных осцилляторных траекторий адаптационных процессов.

Литература

- 1.Богданов Н.Н., Бабанин А.А., Кулемзина Т.В., Горлов А.А, Мешков В.В., Мохсин К. Аксиоматика и проблематика энтоанта, других природных и физиотерапевтических факторов. Монография. –Донецк: «Каштан»,2006. –210 с.
- 2.Войтенко В.П., Полюхов А.М. Системные механизмы развития и старения – Ленинград: Наука, 1986.- 280 с.
- 3.Зилов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. Элементы информационной биологии и медицины. М.: 2001 г., 248 с.
- 4.Зотин А.И. Термодинамическая основа реакций организмов на внешние и внутренние факторы М.:Наука, 1988
- 5.Логинов А.А.Очерки по общей физиологии. Основные закономерности живых систем. Минск, «Вышэйш школа»,1976
- 6.Маляренко Т. Н. Сенсорные притоки: поиск путей расширения функциональных резервов системы регуляции сердечного ритма Вестник ТГУ. 2001. Т. 6. Вып. 1. С. 63–66.
- 7.Попов . В.П., Крайнюченко И.В. Теория решения организационных задач (ТРОЗ). Уч.пособие. –Пятигорск.ИНЭУ,2008.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

AGE-RELATED FEATURES OF ADAPTIVE REACTIONS' MANAGEMENT IN WOMEN WITH THE USAGE OF ODORANTS AND PHYSICAL EXERCISES

Minina E.N.

Tavrida national university named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Ukraine
e-mail: cere-el@yandex.ua

Study of adaptation's management features in healthy people, who have different reserve possibilities and age-dependent features has an important significance in both adaptive mechanisms' efficiency and health level increase. However, both methodological basis of management models' construction and biologically meaningful informative and ergotropic stimuli's argumentation of practical application's sphere as the external links of self-regulation, need the supplement and an active scientific research. In this connection, the aim of the study was to research the age-dependent adaptative features' management in women and adaptive abilities correction in a case of both odorants and physical exercises application. Rheography, spiropneumotachometry, gases analyses, electrocardiograms (with variative analysis) hematology, cytochemistry, veloergometry, psychophysical methods and correlative adaptometry were brought into study. The level of functioning of the кардиореспираторной system, level of backlogs and tension of adjusting mechanisms, were taken as the objects of management. The subjects of management were central nervous and executive systems. Simultaneously, odorants performed the functions of information managing factor, whereas complex action influented both as information and ergotropic factor. General energy potential of the system and changes of the cardiohemodynamic system parameters' association were studied as the criteria of management' estimation. Researches consisted of three stages. On the first stage adaptive abilities of women of different age groups with a low level physical capacity within the framework of age-dependent model were analysed. 30 girls at the age from 19 to 20, 30 women at the age from 35 to 40 and 25 women at the age from 55 to 60 were investigated. Diminishing by age, self-organised processes reduce both possibility of homeokinetic transitions and narrow adaptive potential. Summarising the data of literary sources and the results of our research, it is possible to mark the fact of various extentions of the expanding adaptive process and narrowing these possibilities because of age-dependent features. Thus correlation of self-regulatory mechanisms and self-organisation formates the dynamic corridor of adaptation, which expansion during the process of correction-managing process probably related to realization of First principle of adaptation management about the necessity of systemic reorganization with the homeokinesis' possibility. On the second stage the adaptative features of girls with the different level of physical capacity were analysed in rangers of the energy model. The group of 30 persons with a low level of adaptation was formatted, besides that the group with the middle level of physical capacity of 30 girls and the group of 10 girls with a high level of adaptation were composed. It was revealed, that level of functional intercommunications' mobility between parameters makes major reserve of adaptation, extending an adaptative corridor, that allows to definite both the second (of optimal search and adequate reorganization) and third principle (sufficiency of energoinformative influences). On the third stage correction-managing actions by application of "Polyol" composition produced separately and in a complex with physical exercises were performed. To sum up the results of the adaptive processes' management in women of different age groups, ambiguousness of reactions on factors with primary informative or ergotropic character (probably related to different correlation самоорганизационных and саморегуляционных processes) should be noted. Results of management allowed to definite the forth fourth principle - resonance with the vector of development and the fifth principle - cointeractions of external managing factor and the organism. Being on the exact segment of life cycle, girls in the age from 19 to 20 with the different level of energypotential, were reacting differently on correction-managing influences. The results of our study confirm one of the fundamental properties of management's and adjusting's mechanism in the biosystem. Outputting properities of the regulatory system lead to the oscillatory processes, coming to asymmetry of the processes in given regulatory systems. Their asymmetry is necessary to the balance of source and drain cointeraction in regulation of the systems. Asymmetry allows reaching the fastest balance or adptive biological process, which permits to definite the sixth principle of the management- asymmetry of the oscillatory traces in adaptive processes.

References

1. Боеданов Н.Н., Бабанин А.А., Кулемзина Т.В., Горлов А.А, Мешков В.В., Мохсин К. Аксиоматика и проблематика эноанта, других природных и физиотерапевтических факторов. Монография. – Донецк: «Каштан», 2006. – 210 с.
2. Войтенко В.П., Полюхов А.М. Системные механизмы развития и старения – Ленинград: Наука, 1986. – 280 с.
3. Зильов В.Г., Судаков К.В., Эпштейн О.И. Элементы информационной биологии и медицины. М.: 2001 г., 248 с.
4. Зотин А.И. Термодинамическая основа реакций организмов на внешние и внутренние факторы М.: Наука, 1988
5. Логинов А.А. Очерки по общей физиологии. Основные закономерности живых систем. Минск, «Вышейн школа», 1976
6. Маляренко Т. Н. Сенсорные притоки: поиск путей расширения функциональных резервов системы регуляции сердечного ритма Вестник ТГУ. 2001. Т. 6. Вып. 1. С. 63–66.
7. Попов В.П., Крайнюченко И.В. Теория решения организационных задач (ТРОЗ). Уч. пособие. –Пятигорск. ИНЭУ, 2008.

ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ СТРЕССИРУЮЩИХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК И ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА

^{1,2}Назаров Н.Г., ¹Зуева И.В., ¹Савельев А.А.,
²Галяметдинова И.В., ²Резник В.С., ^{1,2}Зобов В.В.

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН, Казань, Россия
e-mail: nail-naz@yandex.ru

Физиологический смысл адаптации организма к постоянно меняющимся условиям внешней среды заключается в поддержании постоянства внутренней среды, т.е. гомеостаза. Одной из основных задач экологии человека является поиск путей безопасной фармакологической поддержки функций организма здорового человека, облегчающих его адаптацию к условиям экстремальной деятельности (спорт и др.) и среды обитания (труд в приполярных областях, пустынях, горах, городских мегаполисах и др.) и позволяющих сохранять при этом высокую работоспособность. Особенностью современного подхода к решению данной задачи является целенаправленная разработка недопинговых средств повышения работоспособности через стабильно нарастающее во времени первичное улучшение клеточного метаболизма, продукцию энергии, межорганный обмен метаболитами, адаптивные биосинтезы.

Производные пиримидина, согласно общепринятой классификации, относятся к средствам пластического (нестероидного анаболического и антикатаболического) действия, которые неспецифически активируют ферментные и коферментные системы, стимулируют биосинтез белка и процессы регенерации тканей. Поэтому их применение оправдано в экологии труда и спорта в качестве веществ, способствующих восстановлению работоспособности после экстремальных нагрузок. Целью данной работы является изучение эффектов на физическую работоспособность новых производных пиримидина.

Эксперименты проводились по методике «принудительного плавания до полного отказа» (Dawson C.A., Horvath S.A.) в условиях острого (однократного; per os) и курсового (многократного; per os) введения соединений белым лабораторным крысам. Оценка влияния соединений на физическую работоспособность осуществлялась по изменению времени плавания животных при температуре воды 29-30°C с грузом 7% от массы тела. С целью выявления соединений-лидеров статистическую обработку данных проводили двумя способами: по общепринятым непараметрическим тестам Манна-Уитни и Вилкоксона, а также в статистической среде R 2.13.0 с использованием обобщенной линейной модели с гамма-распределением; для дополнительного контроля использовались непараметрические перестановочные тесты (ANOSIM) из пакета «vegan» в той же среде.

Среди изученных 34 производных пиримидина наилучшие результаты по стимуляции физической работоспособности крыс в условиях экстремальной психофизической нагрузки получены для соединений, представляющих собой аналоги оригинального лекарственного средства «Ксимедон» (разработка лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Россия).

Литература

1. Измайлов С.Г., Измайлов Г.А., Аверьянов М.Ю., Резник В.С. (2001). Ксимедон в клинической практике. Нижний Новгород: Изд-во НГМА, С.-3-5.
2. Dawson C.A., Horvath S.M. (1970). Swimming in small laboratory animals // Med. Sci. Sport. -Vol. 2. -P. 51-78.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INVESTIGATION OF ADAPTIVE CAPABILITIES OF LABORATORY RATS IN A STRESSFUL PHYSICAL ACTIVITIES AND ACTIONS OF NEW PYRIMIDINE DERIVATIVES

^{1,2}Nazarov N.G., ¹Zueva I.V., ¹Saveliev A.A.,
²Galyametdinova I.V., ²Reznik V.S., ^{1,2}Zobov V.V.

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Centre,
Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia
e-mail: nail-naz@yandex.ru

The physiological significance of adaptation to changing environmental conditions is to maintain a homeostasis. One of the basic problems of human ecology is the search for a safe pharmacological support functions of the healthy organism, which facilitate its adaptation to conditions of extreme activities (sports, etc.) and environment (work in polar regions, deserts, mountains, cities, etc.) and allow to maintain a high level of performance. The peculiarity of the modern approach to solving this problem is to develop a means of improving efficiency through the steadily increasing over time the initial improvement in cellular metabolism, exchange of metabolites, adaptive biosynthesis.

Pyrimidine derivatives according to the standard classification have anti-catabolic and anabolic effects, which activate enzyme and coenzyme systems in non-specific manner, stimulate biosynthesis of the proteins and processes of the tissue regeneration. So, these derivatives are very interesting for the ecology of labor and sport as substances facilitates recreation of the physical efficiency after the extreme stress.

The aim of this work is studying of the effects of new pyrimidine derivatives for the physical efficiency.

In our experiments we used forced swim test (Dawson S.A, Horvath S.A) after the single or multiple introduction (during of the several days) of compounds under study to white laboratory rats. Compounds effects for the physical efficiency estimates as a changing in time of animal's swimming (water temperature 29-30°C and with load 7% from the body weight). All dates were analyzed in two ways: by the universal non-parametric Mann-Whitney test and the Wilcoxon test and also by the statistical program R 2.13.0 using a generalized linear model with a gamma distribution. For additional control was used non-parametric permutation test (ANOSIM) of the "vegan" pack in the same statistical program.

We investigated 34 pyrimidine derivatives. The best results were obtained for the two compounds – analogs of the drug Xymedon.

References:

1. Izmailov S.G., Izmailov G.A., Averyanov M.Y., Reznik V.S. (2001). Xymedon in clinical practice. Nizhny Novgorod: Pub.NGMA, -P. 3-5.
2. Dawson C.A., Horvath S.M. (1970). Swimming in small laboratory animals // Med. Sci. Sport. -Vol. 2. -P. 51-78.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ГЛУТАМАТА, ПЛАЗМИНОГЕНА И СРЕПТОКИНАЗЫ НА ДЛИТЕЛЬНОСТЬ НАРКОТИЧЕСКОГО СНА У КРЫС

Никандров В.Н., Жук О.Н., Мардас Д.К.

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
e-mail: nikandrov@fizio.bas-net.by

Ранее в нашей лаборатории продемонстрированы на культурах клеток нервной ткани нейротрофический свойства стрептокиназы и плазминогена и нейропротекторная способность этих белков [1]. Однако их роль в функциональной активности головного мозга пока остается изученной весьма недостаточно.

В настоящей работе изучено влияние интратекального введения каждого из этих белков, а также глутамата на продолжительность постнаркотического сна у белых крыс.

В эксперименте использовали белых крыс массой 300 г., разделенных на 7 групп (по 6 крыс в группе). Животных наркотизировали инъекциями уретана и нембутала в дозах 150 мг и 8 мг на животное соответственно. Крысам опытных групп вводили в межоболочечное пространство головного мозга исследуемые соединения в виде водно-солевых растворов в объеме 20 мкл каждому животному: глутамат натрия (10^{-6} М раствор), стрептокиназу (по 40 МЕ), плазминоген (по 20 мкг), и их смеси. Крысам контрольной группы – изотонический раствор хлорида натрия.

Продолжительность сна после наркоза животных контрольной группы составила 7,9 час.

Введение одного из нейромедиаторов возбуждения – глутамата сокращало время сна в 2,3 раза (до 3,5 час). Близкий эффект наблюдался после введения стрептокиназы: время сна сокращалось в 2,1 раза (до 3,75 час). Эффект плазминогена был менее выраженным: время сна сокращалось до 6,3 час (1,25 раза). Одновременное введение стрептокиназы и плазминогена усиливало эффект отдельных белков. Продолжительность сна животных в этом случае не превышала 2,22 час, т.е. наблюдалась суммация эффекта.

Вместе с тем, после совместного введения плазминогена и глутамата сокращение продолжительности сна (до 2,13 час), не достигало того, которое ожидалось при суммации эффекта этих агентов (1,9 час). Такая же картина отмечена и при совместном введении стрептокиназы и глутамата: время сна составило 1,35 час при ожидаемом мгновенном пробуждении.

Здесь следует отметить, что плазминоген и стрептокиназа защищают культуру клеток нервной ткани от повреждающего действия глутамата []. Возможно, именно поэтому в настоящем эксперименте наблюдалось некоторое «смягчение» возбуждающего эффекта глутамата.

Вместе с тем, введение указанных белков в межоболочечное пространство само по себе вызвало заметное укорочение периода действия наркотиков. Раскрытие природы этого эффекта требует дальнейших углубленных исследований.

Литература

1. Никандров В.Н., Жук О.Н. (2011) Стрептокиназа и плазминоген в биотехнологии клеток нервной ткани // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 6(1), 36–48.

COMPARATIVE EFFECT OF GLUTAMATE, PLASMINOGEN, AND STREPTOKINASE ON NARCOTIC SLEEP DURATION OF RATS

Nikandrov V.N., Zhuk O.N., Mardas D.K.

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: nikandrov@fizio.bas-net.by

The neurotrophic effect of streptokinase and plasminogen, and their neuroprotective ability have been demonstrated in our laboratory earlier (1). However, their role in brain functional activity is still remains studied very insufficiently.

This study measures the effect of intrathecal injections of each of the proteins, and glutamate as well, on post narcotic sleep duration of white rats.

White rats (300 g), were divided into 7 groups (6 rats per group) and used for the experiment. The animals were narcotized by urethane and nembutal introductions (150 mg and 8 mg doses per animal, respectively). Water-salt solutions (20 μ l per animal) of the compounds in study: monosodium glutamate (10^{-6} M solution), streptokinase (in dose of 40 IU), plasminogen (in dose of 20 μ g), and their mixtures, were injected into brain intermeningeal spaces of the experimental groups' rats. Rats from the control group were injected with isotonic solution of sodium chloride.

The duration of sleep of the control group rats was 7.9 h.

Introduction of glutamate (one of the excitation neurotransmitters) reduced the period of sleep by 2.3 times (to 3.5 h). Alike effect was observed after injection of streptokinase: sleep duration decreased by 2.1 times (to 3.75 h). Plasminogen effect was less evident: sleep period decreased to 6.3 h (1.25 times). The streptokinase+plasminogen mixture introduction potentized the effect of individual proteins. In this case the duration of animals' sleep did not exceed 2.22 h, i.e. there was a summation of the effect.

At the same time, the anticipated reduction of sleep (up to 2.13 h) was not reached after introduction of plasminogen+glutamate, as it was expected after summation of these agents (1.9 h). The same result was observed after introduction of streptokinase and glutamate: sleep duration was 1.35 h with the expected immediate recovery.

It should be noted here, that plasminogen and streptokinase protect nerve tissue cell culture from damaging effect of glutamate (1). Perhaps this is the reason for some "mollification" of exciting glutamate effect which observed in the experiment.

At the same time, the introduction of the above proteins into intermeningeal spaces has caused the considerable reduction of the narcotic action period. The discovery of this effect nature is required further advanced study.

References

1. Nikandrov V.N. and Zhuk O.N. (2011) Streptokinase and plasminogen in biotechnology of nervous tissue cells. Cell transplantology and tissue engineering. 6(1), 36–48.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНГАЛЯЦИЙ КИСЛОРОДНО-ГЕЛИЕВЫМИ СМЕСЯМИ: ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КРОВИ СПОРТСМЕНОВ СЛОЖНОКООРДИНАЦИОННЫХ ВИДОВ СПОРТА

Никандров В.Н., Жук О.Н., Домашевич Е.В.

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
e-mail: nadulich@mail.ru

В спорте в качестве оперативного средства расширения границ адаптации организма к повышенным физическим нагрузкам и восстановления спортивной работоспособности после их завершения представляется логичным и целесообразным применение кислородно-гелиевых смесей (КГС). Ранее нами показано, что ингаляции КГС приводят к снижению напряжения CO_2 и повышению напряжения O_2 крови у спортсменов-борцов и улучшают показатели состояния функциональных систем организма [1, 2]. Целью настоящей работы явилась комплексная оценка систем энергетического обеспечения организма спортсменов.

Исследования проведены у спортсменов высшей квалификации – представителей сложнокоординационных видов спорта (батут и спортивная гимнастика, $n=25$), разделенных на две группы – экспериментальная ($n=12$) получавшая ингаляции подогретой до 40 °С кислородно-гелиевой смеси (КГС, 25% кислорода и 75% гелия), и контрольная ($n=13$), без ингаляций КГС. До начала эксперимента у всех спортсменов в крови определяли уровни глюкозы, лактата, мочевины, креатинина, а также активность креатинфосфокиназы (КФК) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Эти результаты рассматривали в качестве исходного контроля. После тренировки наблюдалось статистически значимое уменьшение уровня глюкозы крови. Ингаляции КГС не оказывали влияния на уровень этого метаболита. Вместе с тем, тренировка сопровождалась фактически двукратным увеличением концентрации лактата крови, а у спортсменов, получивших ингаляции КГС, такое повышение составило только 55%. Во время физических нагрузок происходит снижение уровня активности КФК и креатинина. В экспериментальной группе снижение этих показателей также имеет место, однако в значительно меньшей степени, чем у спортсменов, не получавших ингаляции КГС. Активность АСТ в сыворотке крови несколько снизилась после физической нагрузки в обеих группах. Спортсмены, получавшие ингаляции КГС отмечали хорошее самочувствие, они готовы были продолжать тренировку.

Следовательно, применение кислородно-гелиевых смесей позволило, судя по уровню глюкозы и лактата в крови, в большей мере использовать глюкозу по аэробному пути катаболизма, что является энергетически более выгодным. Вместе с тем, характер сдвигов активности АСТ и КФК позволяет считать, что при указанных ингаляциях отсутствуют какие-либо нарушения со стороны мышечной системы и миокарда спортсменов. Это, в конечном итоге, позволяет увеличить время и интенсивность тренировочного процесса, сократить продолжительность периода восстановления организма после предыдущей тренировки.

Табл. Изменение биохимических показателей крови спортсменов при применении КГС

Группы	Глюкоза, ммоль/л	Лактат, ммоль/л	АСТ, Ед/л	КФК, Ед/л	Мочевина, моль/л	Креатинин, мкмоль/л
До тренировки	4,7 ± 0,7	1,1 ± 0,1	26,1 ± 7,9	272 ± 245	4,8 ± 1,4	93,8 ± 10,3
Ингаляции КГС, после тренировки	4,4 ± 0,6*	1,5 ± 0,8**	22,8 ± 5,6*	213 ± 119	4,7 ± 1,0	90,7 ± 7,6
Без КГС, после тренировки	4,4 ± 0,45*	2,2 ± 1,6*	22,1 ± 5,6*	169 ± 30*	4,5 ± 0,8	88,9 ± 6,5*

* – статистически значимые изменения ($P \leq 0,05$) относительно данных до тренировки; ** – статистически значимые изменения относительно данных до и после тренировки без применения КГС.

Литература

1. Никандров В.Н., Жук О.Н., Домашевич Е.В., Лаптева И.М. (2009) Использование ингаляций кислородно-гелиевых газовых смесей при подготовке спортсменов-борцов // Актуальные проблемы подготовки резерва в спорте высших достижений. Материалы Междунар. научно-практ. конфер. Минск, Т.2. 168–171.
2. Никандров В.Н., Жук О.Н., Домашевич Е.В. (2010) Особенности функционального состояния организма спортсменов при ингаляциях кислородно-гелиевых смесей // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології. Тез. докл. V Міжнар. навук. конф. Київ, 138.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INHALATIONS OF OXYGEN-HELIUM MIXTURES: CHANGES BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SPORTSMEN OF COMPLEX-COORDINATION SPORTS

Nikandrov V. N., Zhuk O.N., Domashevich E.V.

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: nadulich@mail.ru

Inhalations of oxygen-helium mixtures (OHM) is an efficient means for expanding of adaptation limits to increased physical load, and recovery of sport capacity of the human body after exercises. Therefore the use of OHM is logical and appropriate in sports. Previously we have shown that OHM inhalations result in reduction of blood $p\text{CO}_2$ and increase of blood $p\text{O}_2$ in the wrestlers, and improve indices of their body functional systems (1, 2). The aim of this study is an integrated assessment of energy systems in the bodies of athletes.

The research has been carried out on the highest qualification sportsmen – representatives of complex-coordination sports (gymnastics and trampolining, $n = 25$), divided into two groups – an experimental ($n = 12$), receiving up to inhalation with oxygen-helium 40 °C heated mixture (OHM, 25% of oxygen and 75% of helium), and control ($n = 13$) without inhalation OHM. Before the start of the experiment, the sportsmen were tested for levels of glucose, lactate, urea, creatinine, and activity of creatine phosphokinase (CPK) and aspartate aminotransferase (AAT) in their blood. These results have been taken as an initial control. After training there was a statistically significant reduction in blood glucose levels. The OHM inhalations did not affect the level of this metabolite. However, the training has been accompanied in fact by double increase of lactate concentration in the blood; but sportsmen who received the OHM inhalation, had just 55% increase. During physical activity, levels of CPK activity and creatinine were declined. There was a reduction of the above parameters in the experimental group too, but it was significantly lesser than that of the athletes without OHM inhalation. Activity of AAT in the blood serum declined slightly after physical load in both groups. Sportsmen receiving OHM inhalation noted they felt good and were ready to continue training.

Thus, according to the level of glucose and lactate in blood, the oxygen-helium mixtures allowed to use glucose in greater extent for aerobic catabolism path, which is more beneficial energetically. At the same time, the nature of changes in AAT and CPK activity suggests that there are no any negative effects on muscles and myocardium of the athletes. This, eventually, allows prolonging and intensifying the training process, shortening the recovery period of the body after preceding exercises.

Table. Changes of blood biochemical parameters of sportsmen using OHM

Groups	Glucose, mmol/l	Lactate, mmol/l	AAT, u/l	CPK, u/l	Urea, mol/l	Creatinine, $\mu\text{mol/l}$
Before training	4.7 ± 0.7	1.1 ± 0.1	26.1 ± 7.9	272 ± 245	4.8 ± 1.4	93.8 ± 10.3
OHM inhalation, after training	$4.4 \pm 0.6^*$	$1.5 \pm 0.8^{**}$	$22.8 \pm 5.6^*$	213 ± 119	4.7 ± 1.0	90.7 ± 7.6
Without OHM, after training	$4.4 \pm 0.45^*$	$2.2 \pm 1.6^*$	$22.1 \pm 5.6^*$	$169 \pm 30^*$	4.5 ± 0.8	$88.9 \pm 6.5^*$

* – statistically significant changes ($p \leq 0, 05$) as per data before training; ** – statistically significant changes as per data both before and after training without OHM.

References

1. Nikandrov V. N., Zhuk O.N., Domashevich E.V., Lapteva I.M. (2009) Use of Inhalations of Oxygen-Helium Gas Mixtures In Preparation of Wrestlers.// Actual Problems of Preparation of Reserve in Sports of the Greatest Achievements. Materials of Intern.I Scientific-Practical Confer. Minsk. Vol .2. 168–171.
2. Nikandrov V. N., Zhuk O.N., Domashevich E.V. Features of Functional State of Sportsmen Receiving Inhalations of Oxygen-Helium Mixtures // Psycho-physiologic and visceral functions at normal and pathologic states. Abstracts of V Intern. Sci. Confer. Kiev. 138.

МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ ТЕЙХОЄВОЇ КИСЛОТИ НА АДГЕЗИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ КЛІТИН MCF-7 В 3-D КУЛЬТУРІ

¹Нікуліна В.В., ¹Гарманчук Л. В., ¹Сенчило Н.В.,
¹Непийвода Х. Д., ¹Томачинська Л.І., ²Храновська Н.М.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка ННЦ „Інститут біології”; Київ, Україна

²Національний інститут раку, Київ, Україна
e-mail: viktorya_nik@km.ru

В останні роки в клінічній практиці застосовують неспецифічні імунomodulatory бактеріального походження. Вони не є власне протипухлинними препаратами, але здатні модифікувати імунну відповідь у поєднанні з класичними хіміотерапевтичними препаратами та сприяти підвищенню ефективності протипухлинної терапії. Зокрема, показано антиканцерогенний та антиметастатичний вплив тейхоєвої кислоти (ТК) в комбінованій терапії з класичними хіміопрепаратами [1]. В першу чергу, дія ТК обумовлена здатністю модифікувати адгезивний потенціал як імункомпетентних, так і пухлинних клітин. На сьогодні широко застосовують 3-D культури пухлинних клітин *in vitro*, які є модельною системою росту пухлинного мікроагрегата на аваскулярній фазі *in vivo*. Субстратнезалежний ріст пухлинних клітин в 3-D культурах є мірою їх злоякісності, і тому визначення адгезивного потенціалу для даної системи під впливом досліджуваних агентів вказує на ефективність протипухлинного впливу. Також специфічною властивістю пухлинних клітин є збільшення поглинання глюкози в аеробних умовах зі збільшенням злоякісності, тобто ефект Кребтрі, що є механізмом захисту від активних форм кисню, що утворюються в умовах інтенсивної проліферації.

Тому, мета роботи полягала у дослідженні впливу тейхоєвої кислоти на адгезивний потенціал та рівень поглинання глюкози клітинами раку молочної залози лінії MCF-7 за умов їх 3-D росту.

Так, було показано зміну адгезивного потенціалу клітин MCF-7, кількість клітин у адгезивній фракції в контролі становила 22% проти 78% у фракції сфероїдів, тоді як при додаванні тейхоєвої кислоти рівень клітин склав 36% в адгезивній фракції проти 64% у фракції сфероїдів (рис. 1 та рис. 2). Також виявлено зниження рівня поглинання глюкози майже вдвічі при додаванні тейхоєвої кислоти до клітин MCF-7 в 3-D культурі. За дії ТК змін у рівні апоптозу не зафіксовано, проте спостерігається зниження відсотку мертвих клітин за даними підрахунку після фарбування трипановим синім та зростає субпопуляція клітин в G₀/G₁ фазі в порівнянні з контролем.

Отже, модифікуючий вплив тейхоєвої кислоти на 3-D культуру MCF-7 полягає у підсиленні адгезивного потенціалу клітин, зниженні рівня поглинання глюкози та змін показників клітинного циклу. Визначення протипухлинної ефективності тейхоєвої кислоти в комбінованому застосуванні з класичними терапевтичними агентами потребує подальшого більш детального дослідження.

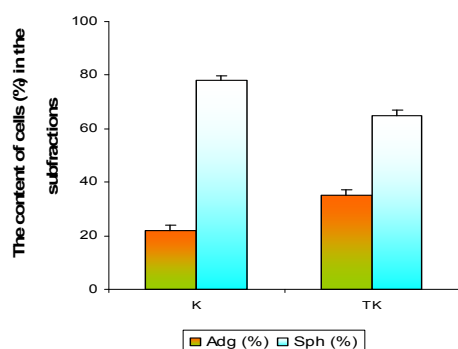


Рис. 1. Співвідношення клітин в адгезивній та фракції сфероїдів в контролі та при додаванні тейхоєвої кислоти

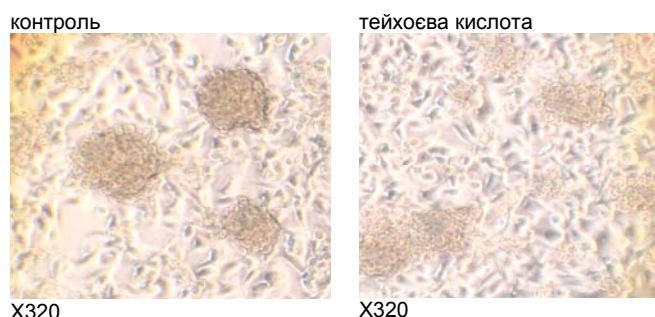


Рис.2. Вплив тейхоєвої кислоти на адгезію пухлинних клітин MCF-7 в 3-D культурі

Література

1. Wang JP, dahl MK, McDonald M. et al. (2010) Peptidoglycan and lipoteichoic acid in gram-positive bacterial sepsis: receptors, signal transduction, biological effects, and synergism//Shock., 2010., 20: P.402-414.

A MODIFYING EFFECT OF TEICHOIC ACID ON THE ADHESIVE POTENTIAL OF MCF-7 CELLS IN 3-D CULTURE

¹Nikulina V.V., ¹Garmanchuk L.V., ¹Senchylo N.V.,
¹Nepiyvoda Kh.D., ¹Tomachynska L.I., ²Khranovska N.M.

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Center "Institute of Biology", Kyiv, Ukraine

²National Institute of Cancer, Kyiv, Ukraine

e-mail: viktorya_nik@km.ru

During recent years, non-specific immunomodulators of bacterial origin are used in clinical practice. These substances are not antineoplastic drugs *per se* but rather are capable of modifying the immune response if combined with classical chemotherapeutic agents, enhancing thus the efficiency of antitumoral therapy. Anticarcinogenic and antimetastatic effects have, in particular, been demonstrated for teichoic acid (TA) in combination with classical chemotherapy. The action of TA primarily lies in its ability to modify the adhesive potential of both immunocompetent and tumor cells. 3-D tumor cell cultures *in vitro* are widely used today as a model for the growth of tumor microaggregates during the avascular phase *in vivo*. The substrate-independent growth of tumor cells in 3-D cultures is a measure of their malignancy, so estimation of the adhesive potential in this system under the effect of agents in question reflects the efficiency of the antitumoral action. Besides, tumor cells are known to increase glucose uptake in aerobic conditions with entailing enhanced malignancy (i.e. the Crabtree effect), which is believed to serve as a defense mechanism against reactive oxygen species generated during intensive proliferation.

The goal of our study was to assess the effect of teichoic acid on the adhesive potential and glucose uptake by MCF-7 breast cancer cells in the 3-D growth system.

We found the MCF-7 cells' adhesive potential to change in the presence of teichoic acid. The proportion of cells in the adhesive fraction in control was 22% against the 78% in the spheroid fraction, while in the presence of teichoic acid the adhesive fraction increased to 36% against the 64% in the spheroid fraction (Fig. 1 and 2). Glucose uptake by MCF-7 cells also decreased almost two-fold in the presence of teichoic acid. TA did not show any effect on apoptosis rates. Yet, the proportion of dead cells decreased, as evidenced by counting cells stained with trypan blue, and more cells were observed in the subpopulation undergoing the G0/G1 phase compared to control.

Therefore, the modifying effect of teichoic acid on MCF-7 3-D culture lies in enhancing the cells' adhesive potential, decreasing glucose uptake, and altering the progress of cell cycle. This means that the efficiency of the antitumoral action of teichoic acid applied in combination with classical therapeutic medications is worth of further, more detailed study.

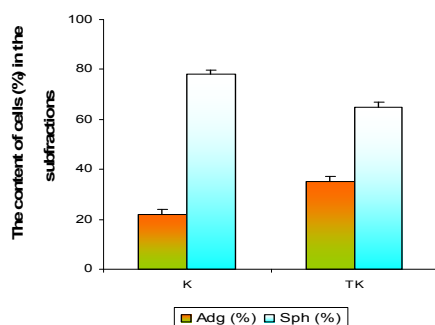


Fig. 1. The proportion of cells in the adhesive and spheroid fractions in control and after adding teichoic acid.

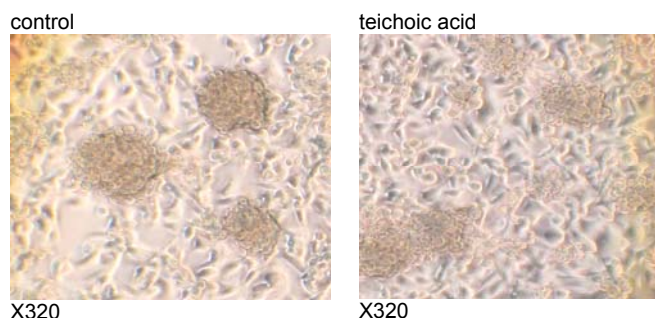


Fig. 2. The effect of teichoic acid on the adhesion of MCF-7 tumor cells in 3-D culture.

References

1. Wang JP, dahle MK, McDonald M et al. (2010) Peptidoglycan and lipoteichoic acid in gram-positive bacterial sepsis: receptors, signal transduction, biological effects, and synergism//Shock., 2010., 20: P.402-414.

УПРАВЛЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫМИ ПРОЦЕССАМИ У ПРОРОСТКОВ ОГУРЦОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР

Отурина И.П., Бекирова Э.Э.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: irina.oturina@mail.ru

Растительные организмы обладают широким спектром приспособительно-защитных реакций, способствующих развитию их устойчивости к разнообразным стрессовым факторам внешней среды (1). В экстремальных условиях роста в растениях запускаются неспецифические физиолого-биохимические реакции, к числу которых относятся изменения в гормональном балансе, способствующие переключению функциональной активности клеток на так называемые стрессовые подпрограммы (2). В группе фитогормонов-стимуляторов особое место занимают цитокинины, в частности, синтетический аналог кинетина – 6-бензиламинопурин (6-БАП) повышающий устойчивость растений к различным неблагоприятным воздействиям окружающей среды, в том числе и к температурному стрессу (3). Поскольку особенно губительно воздействие низких положительных температур проявляется у растений на ранних этапах их онтогенеза, целью данного исследования явилось изучение возможности использования 6-БАП для управления адаптационными процессами в условиях температурного стресса у прорастающих семян.

Для экспериментов были взяты семена огурцов (*Cucumis sativus* L.) сорта Засолочный 65. После дезинфекции семена проращивались на фильтровальной бумаге в термостате в темноте при 25⁰ С. Контролем служили сухие и набухшие семена, выдержанные при +5⁰ С в течение 10 ч. В опытном варианте семена в первой серии опытов предварительно замачивались в растворах 6-БАП в концентрациях 10, 15 и 25 мкг/л в течение 10 ч, а затем выдерживались при +5⁰ С 10 ч, во второй серии опытов семена предварительно выдерживались при +5⁰ С 10 ч, а затем замачивались в растворах 6-БАП указанных концентраций. На 3-й день от начала эксперимента определялась энергия прорастания семян, на 7-й день – их всхожесть. Также рассчитывались показатели скорости и дружности прорастания семян, определялись основные морфометрические показатели проростков.

В результате проведенных исследований установлено, что низкая положительная температура (+5⁰ С) негативно влияет на процессы прорастания семян огурца, особенно на стадии их набухания. 6-БАП в концентрации 25 мкг/л достоверно повышал энергию прорастания и всхожесть семян, предварительно подвергнутых воздействию низкой положительной температуры: этот показатель был в среднем на 35 % выше, чем в контроле (сухие семена + температурное воздействие), и на 50 % выше, чем в варианте набухшие семена, выдержанные при +5⁰. Дружность и скорость прорастания семян огурца, подвергнутых воздействию низкой положительной температуры, а затем обработанных 6-БАП в концентрации 25 мкг/л, были также выше, чем в контроле.

Криопротекторный эффект 6-БАП зависел как от его концентрации, так и от этапа обработки семян. Более высокие показатели энергии прорастания получены в вариантах при обработке семян 6-БАП после воздействия на них низкой положительной температуры. Это, вероятно, связано с тем, что под влиянием экзогенного фитогормона в клетках зародыша семени интенсифицировались процессы синтеза стрессорных белков, выполняющих термопротекторные функции (белков-ферментов, имеющих более низкие температурные пороги активации, белков-стабилизаторов структуры плазмалеммы и др.) (4). Отсутствие стимулирующего рост зародыша семени эффекта 6-БАП при использовании концентраций 10 и 15 мкг/л связано, вероятно, с реализацией принципа недостаточности, контролируемого на генетическом и метаболическом уровнях, в связи с которым стрессовое воздействие требует более высоких доз препарата для запуска приспособительно-защитных реакций на клеточном уровне, сокращая время адаптации растений в изменяющихся условиях.

Таким образом, изучение механизмов гормональной регуляции и ее роли в формировании устойчивости растений к условиям температурного стресса важно не только в теоретическом, но и практическом аспектах, так как может служить одним из критериев определения степени адаптации растений при воздействии низких положительных температур и выявления устойчивых к неблагоприятным условиям сортов.

Литература

1. Шакирова Ф.М. (2001). Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем: 3–4.
2. Пахомова В.М. (1995). Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений. Цитология 37: 66-91.
3. Кузнецова С.А. (2009) Особенности гормональной адаптации и изменение физиологических процессов пшеницы в условиях засоления. Автореф. дис... канд. биол. наук: 24.
4. Кулаева О.Н., Микулович Т.П., Хохлова В.А. (1991). Стрессовые белки растений. Современные проблемы биохимии. М.: Наука: 174-190.

ADAPTIVE PROCESS CONTROL IN CUCUMBER SEEDLINGS UNDER THE INFLUENCE OF LOW POSITIVE TEMPERATURE

Oturina I.P., Bekirova E.E.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: irina.oturina@mail.ru

Plant organisms possess a wide range of adaptive and protective reactions that contribute to the development of resistance to various environmental stress factors (1). In extreme conditions of the growth non-specific physiological and biochemical reactions are run in the plants, which include changes in hormonal balance, contributing to the switching of the functional activity of cells in the so-called stressful routines (2). In the group of plant hormones—stimulants cytokinins occupy a special place, in particular, a synthetic analogue of kinetin – 6-benzylaminopurine (6-BAP) increases plant resistance to adverse environmental influences, including temperature stress (3). As particularly devastating effects of low positive temperatures in plants is manifested in the early stages of ontogeny, the purpose of this study was to investigate the possibility of using a 6-BAP to control adaptive processes under conditions of temperature stress in germinating seeds.

For the experiments seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) variety Zasluchny 65 were collected. After disinfection seeds were germinated on filter paper in an thermostat in the dark at 25 °C. The control group consisted of dry and swollen seeds, which processed at 5 °C for 10 h. In an experimental group the seeds in the first series of experiments, pre-soaked in solutions of 6-BAP at concentrations of 10, 15 and 25 mg / l during 10 h and then processed at 5 °C during 10 h, in the second series of experiments, seeds previously processed at 5 °C during 10 h and then soaked in a solution of 6-BAP these concentration. On the third day of the experiment seed vigor was determined, on the 7th day - their germination. Also speed and synchronism of seed germination were calculated, and the main morphometric parameters of seedlings were determined.

It was set that low positive temperature (+5 °C) affects the process of seed germination of cucumber, especially at the stage of swelling. 6-BAP at a concentration of 25 mg / l significantly increased the seed vigor and germination of seeds pre-exposed to low positive temperatures: this rate was on average 35% higher than in the control (dry seeds + temperature effects), and 50% higher than in the swollen seeds, processed at 50. Synchronism and speed of germination of cucumber seeds exposed to low positive temperatures and then treated with 6-BAP at a concentration of 25 mg / l, were also higher than in controls.

Cryoprotective effect of 6-BAP as a dependent on its concentration and on the stage of seed treatment. Higher levels of vigor in the variants obtained in the processing of seed 6-BAP after exposure to low positive temperatures. This is probably due to the fact that under the influence of the exogenous phytohormone in the cells of the embryo seed intensified processes of synthesis of stress proteins that perform thermoprotective functions (enzyme with a lower temperature thresholds for activation, protein–structure-stabilizing plasma membrane, etc.) (4). Lack of stimulation of the seed embryo growth under 6-BAP in concentrations of 10 and 15 mg / l is probably due to the realization of the principle of shortage, controlled at the genetic and metabolic levels, in connection with which stress effects require higher doses of the drug to start the adaptive and protective eactions at the cellular level, reducing the time of plant adaptation to changing conditions.

Thus, the study of mechanisms of hormonal regulation and its role in resistance of plants to conditions of temperature stress is important not only theoretically, but also the practical aspects, as it can serve as one of the criteria for determining the degree of adaptation of plants when exposed to low positive temperatures and are resistant to detect adverse terms of varieties.

References

1. *Шакирова Ф.М.* (2001). Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем: 3–4.
2. *Пахомова В.М.* (1995). Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений. Цитология 37: 66-91.
3. *Кузнецова С.А.* (2009) Особенности гормональной адаптации и изменение физиологических процессов пшеницы в условиях засоления. Автореф. дис... канд. биол. наук: 24.
4. *Кулаева О.Н., Микулович Т.П., Хохлова В.А.* (1991). Стрессовые белки растений. Современные проблемы биохимии. М.: Наука: 174-190.

СТРЕСОВА РЕАКЦИЯ РОСЛИН НА ДІЮ ГРАМІНІЦИДІВ В УМОВАХ ПОСУХИ І ПРИ ВЗАЄМОДІЇ З ГЕРБІЦИДАМИ ІНШИХ КЛАСІВ ТА МОЖЛИВІСТЬ ЇЇ КОНТРОЛЮВАННЯ

Паланиця М.П., Сичук А.М.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ
email: mpalanytsya@mail.ru

На відміну від адаптації рослин до дії багатьох абіотичних і біотичних факторів, адаптація і як наслідок - виникнення резистентних до гербіцидів біотипів бур'янів є явищем небажаним, оскільки ставить під серйозну загрозу ефективність захисту сільськогосподарських культур (7). Окрім цього, проблемою є зменшення фітотоксичної дії гербіцидів класу грамініцидів в умовах посухи (5) та при комплексуванні з більшістю гербіцидних препаратів інших класів (4). Нещодавніми дослідженнями було показано, що фітотоксична дія гербіцидів може бути пов'язана з окиснювальним стресом (1,3), в зв'язку з чим ми припустили, що саме стресова реакція рослин як компонент їх адаптивної відповіді може бути причиною зменшення фітотоксичності грамініцидів за даних умов. Метою нашої роботи було з'ясувати роль неспецифічних стресових реакцій у зменшенні фітотоксичної дії грамініцидів за дії посухи і при взаємодії з гербіцидами інших класів.

Як модель злакових бур'янів використовували чутливі до грамініцида галоксифоп-R-метилу (ГФ, $5 \cdot 10^{-4}$ М) рослини пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Подолянка, які вирощували в умовах вегетаційних дослідів. Активність антиоксидантного фермента гваяколпероксидази визначали за методом Ріджа (8).

Встановлено, що за сумісної дії посухи (40%ППВ) з ГФ зростала активність антиоксидантного фермента гваяколпероксидази, зокрема на 4-ту добу з 28 ± 2 до 38 ± 2 (ум. од / г. сир. р-ни-хв) порівняно з варіантом, де не моделювалися умови посухи. Окрім цього показано, що перехід від синергічного до антагоністичного характеру взаємодії грамініцида ГФ у сумішах з гербіцидом оксифлуорфеном також супроводжується зростанням активності даного фермента. Слід зазначити, що під час адаптації одним із перших моментів неспецифічної реакції рослин на дію стресора є генерація активних форм кисню і паралельне зростання антиоксидантного захисту рослин (2), що і лягло в основу розробки трансгенних культур з підвищеним вмістом та активністю антиоксидантів, стійких зокрема і до дії гербіцидів (6). В умовах вегетаційних досліджень нами було показано, що застосування специфічного інгібітора антиоксидантного фермента супероксиддисмутази призводить до зменшення антагонізму у суміші грамініцидів з гербіцидами інгібіторами ацетолактатсинтази.

Таким чином, саме стресова реакція як компонент адаптивної відповіді рослин є причиною зменшення фітотоксичності грамініцидів в умовах посухи і при їх комплексуванні з гербіцидами інших класів, на основі чого було запропоновано шляхи її контролювання за даних умов.

Література

1. Гарькова А.Н., Русяева М.М., Нуштаева О.В., Аросланкина Ю.Н., Лукаткин А.С. (2011). Обработка гербицидом гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаков. Физиология растений. 58 (6): 935-944.
2. Косаківська І.В., Голов'яно І.В. (2006). Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків. Ukrainian Phytosociological Collection. 24:3-17.
3. Паланиця М.П., Трач В.В., Мордерер Є.Ю. (2009). Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності. Физиология и биохимия культурн. растений. 41(4):328-334.
4. Barnwell P., Cobb A. (1994). Graminicide antagonism by broadleaf weed herbicides. Pesticide Science. 41(2):77-85.
5. Boydston R. (1992). Drought stress reduces fluazifop-P activity on green foxtail. Weed Sci. 40 (4):20 - 24.
6. Choi D.G. and Nam H.Y. (2004). The activities of antioxidant enzymes in response to oxidative stresses and hormones in paraquat-tolerant *Rehmannia glutinosa* plants. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 37(5): 618-624.
7. Powles S. B., Holtum J. A. (1994). Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry. Lewis Publishers: 353 p.
8. Ridge I. (1970). Hydroxyproline and peroxidases in cell walls of *Pisum sativum*. J. Exp. Bot. 21(6): 843-856.

THE PLANTS STRESS REACTION ON THE GRAMINICIDES ACTION IN THE DROUGHT CONDITIONS, INTERACTION WITH HERBICIDES OF OTHER CLASSES AND THE POSSIBILITY OF ITS CONTROL

Palanytsya M.P., Sychuk A.M.

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
email: mpalanytsya@mail.ru

In contrast to the plants adaptation to many abiotic and biotic factors, adaptation and as a result - the emergence of resistant to herbicides weeds biotypes is the undesirable because compromising the effectiveness of crop protection (7). In addition, the problem is also reducing of the phytotoxic action of herbicides class graminicides in drought conditions (5) and in mixtures with most herbicide of other classes (4). Recent study showed that the phytotoxic action of herbicides may be associated with oxidative stress (1,3) in connection with what we have assumed that plants stress reaction as part of their adaptive response may be the reason for the decrease of plant phytotoxic action under these conditions. The aim of our study was to determine the role of non-specific stress response in reducing the phytotoxic action of graminicides during drought and interaction with other classes of herbicides.

As a model of monocots weeds the plants of common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar Podolanka (sensitive to graminicide haloxyfop-R-methyl (HF, $5 \cdot 10^{-4}$ M)) were used. The plants were grown in the greenhouse conditions. The activity of antioxidant enzyme guaiacol peroxidase were determined by the method of Ridge (8).

We have established that under the combined effect of drought (40%) with HF the activity of antioxidant enzyme increased, for example on the 4 th day - from 28 ± 2 to 38 ± 2 (r.u./g raw matter $\cdot$ min) compared variant, where drought conditions were not simulated. In addition, we have shown that the transition from synergistic to antagonistic nature of the interaction of graminicide HF with herbicide oxyfluorfen also accompanied by increased activity of this enzyme. It should be noted that during the adaptation of one of the first moments of non-specific plant response to stressor action is the generation of reactive oxygen species and a parallel increase of antioxidant protection (2), and which formed the basis of the development of transgenic crops with increased content and activity of antioxidants, including resistant to herbicides action (6). We have shown that the use of a specific inhibitor of antioxidant enzymes superoxidedismutase reduces antagonism in mixtures of graminicides with herbicides -inhibitors of acetolactate synthase.

Thus, the stress reaction as a component of adaptive response of plants causes reduction of graminicides phytotoxicity in drought conditions and in mixtures with other classes of herbicides, based on what the ways of its control were proposed.

References

1. Гарькова А.Н., Русяева М.М., Нуштаева О.В., Аросланкина Ю.Н., Лукаткин А.С. (2011). Обработка гербицидом гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаков. Физиология растений. 58 (6): 935-944.
2. Косаківська І.В., Голов'янюк І.В. (2006). Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків. Ukrainian Phytosociological Collection. 24:3-17.
3. Паланиця М.П., Трач В.В., Мордерер Є.Ю. (2009). Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності. Физиология и биохимия культурн. растений. 41(4):328-334.
4. Barnwell P., Cobb A. (1994). Graminicide antagonism by broadleaf weed herbicides. Pesticide Science. 41(2):77-85.
5. Boydston R. (1992). Drought stress reduces fluazifop-P activity on green foxtail. Weed Sci. 40 (4):20 - 24.
6. Choi D.G. and Nam H.Y. (2004). The activities of antioxidant enzymes in response to oxidative stresses and hormones in paraquat-tolerant *Rehmannia glutinosa* plants. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 37(5): 618-624.
7. Powles S. B., Holtum J. A. (1994). Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry. Lewis Publishers: 353 p.
8. Ridge I. (1970). Hydroxyproline and peroxidases in cell walls of *Pisum sativum*. J. Exp. Bot. 21(6): 843-856.

ИНДУКЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ ЗАХИСНЫХ РЕАКЦИЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ДО ПАТОГЕНУ ЗА ДИИ НАНОЧАСТОК МЕТАЛЛОВ

Панюта О.О., Белава В.Н., Фомаїд С.В., Калініченко О.В., Таран Н.Ю.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: panyuta@ukr.net

Останнім часом в усьому світі в якості мікродобрив та біостимуляторів активно використовують продукти нанотехнологій – наночастки металів, відмінною особливістю яких є висока біологічна активність, мала токсичність та екологічна безпека для довкілля. Використання наночасток металів у сільськогосподарському виробництві для передпосівної обробки насіння і/або для обробки вегетуючих рослин дозволяє покращити якість посівного матеріалу, підвищити стійкість до фітопатогенів, збільшити урожайність та отримати екологічно чисту продукцію (1). Відомо, що одним із факторів стійкості рослин до фітопатогенів є захисні білки лектини, які взаємодіють з поверхнею клітин бактерій, спор і гіфів грибів, що призводить до припинення їхнього росту та перешкоджає розвитку патологічного процесу. При зараженні патогенами та за дії препаратів, які підвищують стійкість рослин до патогенів, спостерігається суттєве збільшення рівня лектинової активності (ЛА) (2, 3). У зв'язку з цим метою нашої роботи було з'ясувати можливість індукції ендогенних захисних реакцій проростків пшениці до збудника церкоспорельозу *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton за дії наночасток металів.

У досліджах проводили передпосівну обробку насіння пшениці сприйнятливою до церкоспорельозу сорту Миронівська 808 сумішшю неіонних колоїдних розчинів металів цинку, срібла, заліза, марганцю, міді. Реакцію проростків озимої пшениці на інфікування суспензією конідій гриба *P. herpotrichoides* (4) оцінювали за зміною ЛА, яку визначали методом ратусеритроаглютинації (5) впродовж семи діб з моменту інокуляції. Вміст білка визначали за Bradford (6).

Дослідження динаміки ЛА під час проростання у тканинах надземної частини контрольних проростків показало, що максимальна ЛА була на 5-ту добу і перевищувала початкове значення у 2,2 раза. За інфікування індукцію ЛА спостерігали також на 5-ту добу, але у цьому випадку рівень ЛА був у 4,6 раза вищий, ніж у контролі, що пояснюється активацією захисних реакцій за патогенезу. У разі передпосівної обробки зернівок пшениці сумішшю наночасток металів відмічене незначне (у 1,2 раза) підвищення ЛА відносно контрольної і попереднього значень на 3-тю добу з послідовним поступовим зниженням. Таке коливання значень ЛА зумовлене стресовим впливом попередньої обробки наночастками металів, адже у даному випадку суміш виступає як ксенобіотик. У проростках, насіння яких обробляли сумішшю наночасток металів з послідовним інфікуванням суспензією конідій гриба *P. herpotrichoides* максимальний рівень ЛА (у 14,6 раза вищий за контроль) спостерігали на 3-тю добу. Отже, за передпосівної обробки зернівок пшениці сумішшю наночасток металів та інокуляції патогеном зростання активності захисних білків лектинів відмічалось раніше і було значно суттєвішим, тобто наночастки металів виступали в якості екзогенних індукторів ендогенних захисних реакцій. На 7-му добу ЛА у всіх варіантах знижувалась до мінімуму і була в межах похибки. Варто відмітити, що в ході досліджень нами виявлено зворотню кореляцію між характером змін вмісту загального білка та активності захисних білків лектинів в усіх досліджуваних варіантах.

Таким чином, характер загальної динаміки ЛА у контрольному та інфікованому варіантах співпадає, але максимальне значення ЛА значно вище за інфікування, що свідчить про індукцію ЛА патогеном *P. herpotrichoides*. Передпосівна обробка зернівок пшениці сумішшю наночасток металів викликала зміни у динаміці ЛА – підвищення ЛА, особливо значне у разі інфікування, спостерігали раніше ніж у варіантах без обробки насіння наночастками, що може бути проявом індукції ендогенних захисних реакцій проростків пшениці до патогену.

Література

1. Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. (2006). Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений. Материалы Международной научно-практической конференции "Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века": 108-111.
2. Молодченко О.О., Адамовская В.Г., Левицкий Ю.А. и др. (2002). Ответная реакция растений кукурузы на действие салициловой кислоты и *Fusarium moniliforme*. Прикл. биохим. и микробиол. 38(4): 441-446.
3. Шакирова Ф.М., Максимов И.В., Хайруллин Р.М. и др. (1994). О влиянии септориоза колоса на динамику накопления лектина и содержание фитогормонов в развивающихся зерновках пшеницы. Физиология и биохимия культ. растений. 26(2):40-45.
4. Белава В.Н., Панюта О.О., Таран Н.Ю. (2008). Модельна система інфікування та оцінки рівня стійкості озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) проти збудника церкоспорельозу (*Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton). Карантин і захист рослин. 7: 25-28.
5. Погоріла Н.Ф., Суржик Л.М., Погоріла З.О. (2002). Новий спосіб тестування лектинів рослин. Укр. ботан. журн. 59(2): 217-220.
6. Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 7: 248-254.

INDUCTION OF WHEAT SEEDLING ENDOGENOUS DEFENSE REACTIONS TO PATHOGENS UNDER THE ACTION OF METALS NANOPARTICLES

Panyuta O.A., Belava V.N., Fomaidi S.V., Kalinichenko O.V., Taran N.Yu.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: panyuta@ukr.net

The nanotechnology products – metals nanoparticles, are actively used as micronutrient fertilizers and biostimulants. High biological activity, low toxicity and environmental safety are their distinctive features. The use of metals nanoparticles in agriculture for treatment of seeds and/or vegetating plants allows improving quality of seed, to increase the resistance to the phytopathogens, to increase the productivity and to get environment friendly products (1). It is known that protective proteins – lectins which interact with the cell surface of bacteria, fungi spores and hyphae that lead to termination of their growth and prevent the disease development are one of plant resistance to the phytopathogens factors. The significant increase of lectin activity (LA) observes under pathogens infection and under the action of drugs that increase the plant resistance to pathogens (2, 3). In this regard, the purpose of our study was to clear the possibility of induction of endogenous defense reactions of wheat seedlings to eyespot causal agent *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton under the action of metals nanoparticles.

In experiments wheat seeds of eyespot susceptible cultivar Myronivska 808 were treated by mixture of ionic colloidal solutions of metals – zinc, silver, iron, manganese, copper. Reaction of seedlings to infection by conidia suspension of *P. herpotrichoides* (4) was estimated by LA change. LA was determined by rattus erythrocyte agglutination (5) within seven days after inoculation. The protein content was determined according Bradford (6).

Study of LA dynamics during germination in the control seedlings showed the maximum LA was on the 5th day and exceeded the initial value by 2.2 times. Under infection, the LA induction was observed on the 5th day too, but it was 4.6 times higher than in the control, due to activation of defense responses under pathogenesis. When wheat seeds were treated with a mixture of metals nanoparticles, a non-significant (1.2 times) increase of LA to control and previous values was marked on the 3d day, followed by a gradual decrease. Such fluctuations in LA values were caused by stress impact of metals nanoparticles pretreatment, as in this case the mixture acts as xenobiotic. In seedlings, which seeds were treated with a mixture of metals nanoparticles with subsequent infection by conidia suspension of *P. herpotrichoides* the maximum LA level (14.6 times higher than control) was observed on the 3d day. Thus, under treatment of wheat seeds with a mixture of metals nanoparticles and pathogen inoculation, the growth activity of defense proteins lectins was noted earlier and was much more significant, i.e., metals nanoparticles acted as exogenous inducers of endogenous defense reactions. LA level in all variants decreased to a minimum value at the 7th day and was within the error. It should be noted that we found the reverse correlation between the character of changes in total protein content and activity of defense proteins lectins in all the studied variants.

Thus, the character of the LA dynamics in control and infected variants was the same, but the maximum LA value was higher under infection, that indicates LA induction by pathogen *P. herpotrichoides*. The treatment of wheat seeds by mixture of metals nanoparticles caused changes in the LA dynamics: LA increasing, especially significant under infection, was observed earlier than in the variants without seed treatment by nanoparticles, which maybe result of induction of endogenous defense reactions of wheat seedlings to the pathogen.

References

1. Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. (2006). Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений. Материалы Международной научно-практической конференции "Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века": 108-111.
2. Молодченкова О.О., Адамовская В.Г., Левицкий Ю.А. и др. (2002). Ответная реакция растений кукурузы на действие салициловой кислоты и *Fusarium moniliforme*. Прикл. биохим. и микробиол. 38(4): 441-446.
3. Шакирова Ф.М., Максимов И.В., Хайруллин Р.М. и др. (1994). О влиянии септориоза колоса на динамику накопления лектина и содержание фитогормонов в развивающихся зерновках пшеницы. Физиология и биохимия культ. растений. 26(2):40-45.
4. Белава В.Н., Панюта О.О., Таран Н.Ю. (2008). Модельна система інфікування та оцінки рівня стійкості озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) проти збудника церкоспорельозу (*Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton). Карантин і захист рослин. 7: 25-28.
5. Погоріла Н.Ф., Суржик Л.М., Погоріла З.О. (2002). Новий спосіб тестування лектинів рослин. Укр. ботан. журн. 59(2): 217-220.
6. Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analyt. Biochem. 72: 248-254.

РАСШИРЕНИЕ СПЕКТРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДИ-(3-МЕТИЛПИРАЗОЛИЛ-4)СЕЛЕНИДА

¹Пеховская Т.А., ¹Коваленчик И.Л., ²Косцова О.Д., ²Доля В.М., ³Мойсеёнок А.Г.

¹ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Гродненский филиал

² НП ООО «Биосан», Беларусь

³ Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь
e-mail: val@biochem.unibel.by

Одно из важнейших медико-биологических направлений повышения адаптации человека в социальной среде – оптимизация обеспеченности организма микронутриентами (эссенциальными) факторами питания. Распространенные на территории СНГ регионы микронутриентного дефицита (т.н. биогеохимические провинции по J и Se) порождают глубокие и устойчивые изменения в тиреоидном и антиоксидантном статусе, что сопровождается предпатологическими и патологическими нарушениями, в т.ч. психо-интеллектуального характера. Исследования последних лет свидетельствуют, что проблема сохраняет свою остроту в РФ, Украине и Беларуси. Например, в восточных областях Украины свыше 85 % беременных имели недостаточное йодное обеспечение (Белых Н.А., 2011), а в Саратовской области ежегодно выявляется 8,5-9,5 тыс. случаев тиреопатологии (Сергеева С.В. и др. 2011).

Важнейший путь оптимизации тиреоидного статуса организма – предупреждение дефицита Se, который является незаменимым фактором образования активного гормона щитовидной железы – 3-йодтиронина в дейодиназной реакции. Реализация профилактических технологий ограничивается токсичностью Se и его основной природной формы – Se-метионина. В РФ и РБ применяется ди-(3-метилпиразолил-4)селенид (ДМПС), используемый в БАД «Селекор» и обладающей низкой токсичностью (величина LD₅₀ для белых крыс = 8100 мг/кг).

В экспериментальных исследованиях субстанция ДМПС проявляет выраженную антиоксидантную активность, равную или превосходящую в условиях инициирования окислительного стресса такие соединения Se как селенит или Se-метионин. При этом, в отличие от последних, не наблюдается роста селенемии, что свидетельствует об ограниченной всасываемости ДМПС. Хронические эксперименты с 10-дневным назначением Se-содержащих субстанций в дозе 210 мкг Se/кг белым крысам и последующей их отменой показывают, что ДМПС обладает способностью повышать активность глутатионпероксидаз (ГПО) и, тем самым, стабилизировать адаптационный потенциал селенопротеинов (рис. 1).

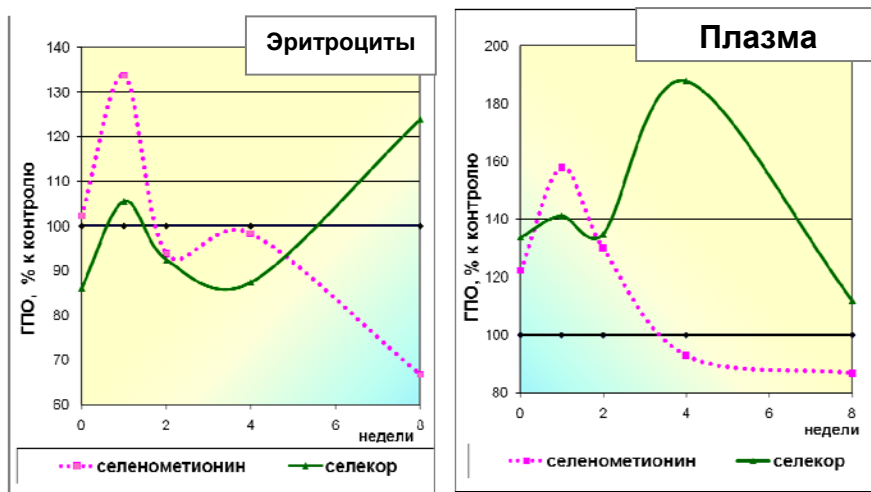


Рис. 1. Активность ГПО крови белых крыс после назначения и отмены Se

Вероятно, это предопределяет увеличение иммуностабилизирующих функций кишечного тракта после назначения ДМПС. Кроме того, установлен стимулирующий эффект ДМПС на ключевой фермент биосинтеза Se-цистеина – селенофосфатсинтетазу. Это обстоятельство позволяет оценить ДМПС как модельную субстанцию селенового компонента ферментативного звена антиоксидантной защиты и специфический активатор образования Se-цистеина и, следовательно, Se-протеинов в инициируемых селеноцистеинсодержащих ферментах, в т.ч. ГПО и дейодиназах. Помимо функций биокорректора в БАДах (Алкомед, Богатырь, Селен-Макси и др.) ДМПС используется (композиция «Антиоксилен-селениум») в ликеро-водочной промышленности и производстве безалкогольных напитков.

Литература

- Мойсеёнок А.Г., Пеховская Т.А., Коваленчик И.Л., Косцова О.Д., Доля В.М. (2012) Безопасность и эффективность селеносодержащих пищевых добавок. *Пищевые ингредиенты XXI века. Сборник докладов XIII Международного форума*: 152-154.
- Тананайко Т.М., Косцова О.Д. (2010) Применение нового органического соединения диметилдипиразолилселенида в производстве напитков. *Империя напитков*. 2 (60): 15-16.

EXTENSION OF THE SCOPE OF DI-(3-METHYLPYRAZOLYL-4) SELENIDE BIOLOGICAL ACTIVITY

¹Pekhovskaya T.A., ¹Kovalenchik I.L., ²Kostsova O.D., ²Dolya V.M., ³Moiseenok A.G.

¹ Institute of Bioorganic Chemistry, NAS of Belarus (Grodno Branch)

² NP OOO «Biosan», Belarus

³ Theoretical and Practical Center for Food, NAS of Belarus, Minsk, Belarus
e-mail: val@biochem.unibel.by

An important medical and biological trend in enhancing human adaptation in a social environment is optimization of bodily allowances with micronutrient (essential) nutrition factors. The CIS regions with micronutrient deficiencies (biogeochemical J and Se provinces) contribute to profound and stable changes in the thyroid and antioxidant statuses of their dwellers, which is accompanied by pre-pathologic and pathologic changes, including those of a psycho-intellectual character. Recent studies indicate that the problem is still topical in the Russian Federation, Ukraine and Belarus. For example, in eastern regions of the Ukraine, over 85% of pregnant women showed insufficient iodine allowances (Belykh N.A., 2011), whereas the region of Saratov annually reveals 8,5-9,5 thousands of new cases of thyroid pathology (Sergeyeva S.V. et al., 2011).

The most important method to optimize the thyroid status is prevention of deficiency of Se, an essential factor for production of the active thyroid hormone, triiodothyronine, in a deiodinase reaction. But implementation of the prophylactic technologies is limited by toxicity of Se and its main natural form, Se methionine. The Russian Federation and Belarus apply di-(3-methylpyrazolyl-4) selenide (DMPS) that is used in the BAN «Selekor» and has low toxicity (the LD₅₀ for albino rats is equal to 8100 mg/kg).

In experimental studies, the DMPS substance has pronounced antioxidant activity that, under oxidative stress, is equal to or surpasses such Se compounds as selenite or Se-methionine. DMPS, in contrast to the latter substances, does not provoke growth of selenemia, which indicates limited DMPS absorbability. Long-term experiments with 10-day administration of Se-containing substances at a dose of 210 µg Se/kg to albino rats and their subsequent withdrawal show that DMPS is able to increase glutathione peroxidase (GPO) activity, thus stabilizing selenoprotein adaptation potential (Fig.1).

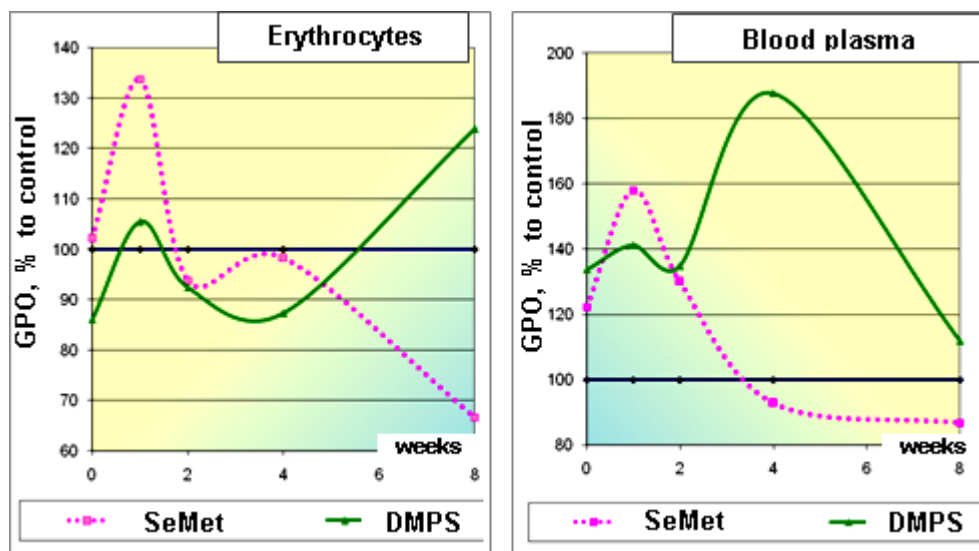


Fig.1. GPO activity in albino rat blood after application and withdrawal of Se

This can predetermine enhancement of immunostabilizing functions of the intestinal tract after DMPS treatment. Moreover, a stimulatory effect of DMPS on the key enzyme in Se-cysteine biosynthesis, selenium phosphatase, was found.

This circumstance enables to assess DMPS as a model substance in the selenium component of the enzymatic link of antioxidant protection and a specific activator of formation of Se-cysteine, and consequently, Se-proteins in initiated SeCys-containing enzymes, including GPO and deiodinases. In addition to the function of a biocorrector in BANs (Alkomed, Bogatyr, Selen-Maksi, etc.), DMPS is used as the Antioksilen-Selenium composition in alcoholic beverage industry in production of alcohol-free beverages.

References

1. A.G. Moiseenok, T.A. Pekhovskaya, I.L. Kovalenchik, O.D. Kostsova, V.M. Dolya (2012) Safety and efficiency of Se-containing food supplements. Food Ingredients of the 21-th Century. Proceedings of XIII International Forum (Rus): 152-154.
2. T.M. Tananaiko, O.D. Kostsova (2010) Application of novel organic compound of dimethyldipyrazolyl selenide in beverage production. Imperiya napitkov (Rus). 2 (60): 15-16.

ВИКОРИСТАННЯ ІЗАТИЗОНУ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ АДАПТАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ РОСЛИН

Потопальський А.І., Юркевич Л.Н., Кацан В.А.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна
e-mail: Val.Katsan@gmail.com

Противірусний, протипухлинний та імунomodуючий препарат Ізатизон розроблено в нашій лабораторії, його діючим началом є похідна ізатину N-метилізатин β-тіосемікарбазон (метисазон, марборан) [1,2]. Ізатину та його похідним притаманний широкий спектр біологічної дії, в тому числі вплив на реакції адаптації людини і тварин до різноманітних стресорів, який може здійснюватися шляхом модулювання активності ключових ферментів найважливіших ланок метаболізму, зокрема таких, які забезпечують клітини енергією та спричиняють апоптоз пошкоджених клітин [3,4]. Метою даного дослідження є вивчення біологічних ефектів Ізатизону на рослинах, зокрема його впливу на стійкість рослин до вірусів із довкілля та їхню продуктивність.

Можлива антивірусна дія Ізатизону на рослини нами досліджена в дослідках на томатах, інфікованих вірусом тютюнової мозаїки. Найкращого результату було досягнуто при застосуванні суспензії Ізатизон:вода у співвідношенні 1:20. Через 7 днів після завершення обробок у 90% хворих рослин спостерігали розвиток здорових бічних пагонів, отриманий ефект зберігався до завершення розвитку рослин, що може бути свідченням індукування в томатів системної набутої стійкості до вірусів за допомогою препарату Ізатизон.

В дослідках на зернових за дії водних суспензій Ізатизону (1:1) на їх насіння виявлено здатність Ізатизону підвищувати врожайність рослин. Врожайність зерна з рослини для вівса та ячменю підвищувалася на 31,4 та 50,0% відповідно ($P \leq 0,01$; $n=100$; Рис.1). При дослідженні впливу Ізатизону на елементи продуктивності ярого жита, яке значно вражається бурюю іржею та ріжками, виявлено збільшення ваги зерна з основного колосу та ваги 1000 зернівок ($P=0,01$; $n=100$; Рис.2) при підвищенні врожаю зерна з ділянки на 20%. Оскільки ізатин є стимулятором росту рослин [5,6], а його похідні виявляють активність щодо фітопатогенних грибів [5,7], вплив Ізатизону на врожайність рослин може обумовлюватись кількома причинами і потребує подальшого дослідження.

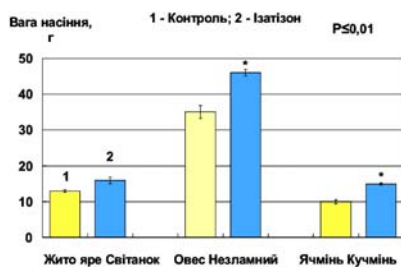


Рис.1. Вплив Ізатизону на врожайність насіння зернових культур (в умовах захищеного ґрунту)

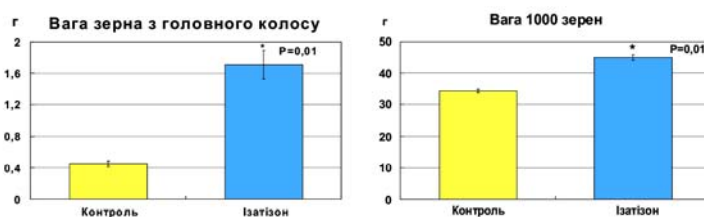


Рис.2. Вплив Ізатизону на елементи продуктивності ярого жита Світанок (в умовах дрібнодільнянкових дослідів)

Література

1. Потопальський А.І., Лозюк Л.В. Противовирусный, противоопухолевый препарат ИЗАТИЗОН. – Львів:Наукова думка. – 1995. – 90 с.
2. Заїка Л.А., Болсунова О.І., Потопальський А.І. Противірусні, протипухлинні та імунomodуючі властивості лікувального препарату ІЗАТИЗОН - К.: Колобіг – 2010. – 212 с.
3. Medvedev A., Buneeva O., Glover V. Biological targets of isatin and its analogues: Implication for therapy // Biologics. – 2007. – 1, No 2. – P. 151-162.
4. Jiang Y., Hansen T.V. Isatin 1,2,3-triazoles as potent inhibitors against caspase-3 // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2011. – 21 (6). – P. 1626-1629.
5. Жингуету Г.И., Рехтер М.А. Изатин и его производные. – Кишинев:Штиинца. – 1977. – 229 с.
6. Applewhite P.B., K-Sawhney R., A.W. Galston A.W. Isatin as an auxin source favoring floral and vegetative shoot regeneration from calli produced by thin layer explants of tomato pedicel // Plant Growth Regul. – 1994. – 15. – P.17-21.
7. Русакова М.Д., Галкін Б.М., Вострова Л.М., Філіпова Т.О., Гренадьорова М.В. Активність ізатинового гідразиду феноксиоцтової кислоти щодо деяких штамів Fusarium spp. // Мікробіологія і біотехнологія. – 2010. - № 1. – С. 88-93.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

USE OF ISATIZON FOR IMPROVEMENT OF PLANT ADAPTABILITY

Potopalsky A.I., Yurkevich L.N., Katsan V.A.

The Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
e-mail: Val.Katsan@gmail.com

The antiviral, antitumor and immunomodulating preparation Isatizon was designed in our laboratory. Its effective agent is the isatin derivative N-methylisatin β -thiosemicarbazone (methisazone, marboran) [1, 2]. There is a broad spectrum of biological activity inherent for isatin and its compounds including the influence on adaptive responses to various stressors in human and animals. These may be realized as the key enzymes of the principal metabolic pathways activity modulating, particularly those, that provide of the cells by energy and determine the programmed cell death of damaged cells [3, 4]. The aim of this study was the investigation of biological effects of Isatizon on plants, particularly the influence on resistance to viruses from environment and their productivity.

Possible antiviral activity of Isatizon was studied on tomato plants infected by tobacco mosaic virus. The optimal result was attained when the suspension Isatizon and water was used in ratio 1:20. The formation of healthy lateral shoots was observed in 90% of plants in 7 days after treatments, and achieved effect was persisting to completion of the plants development. It may be the evidence for systemic acquired resistance induction by Isatizon.

The capability of Isatizon to increase the plants yield was discovered in experiments on crops by the action of water suspensions of Isatizon (1:1) on their seeds. The corn crop per plant for oat and barley was increased on 31,4 and 50,0% respectively ($P \leq 0,01$, $n=100$; Fig.1). The investigation of Isatizon influence on the productivity components of the spring rye considerably infected by brown rust and ergot, revealed the enhancement of the grain weight from the basic ear and of the weight of 1000 seeds ($P=0,01$; $n=100$; Fig.2), when the crop yield from plot was raised on 20%. As far as isatin is the plant growth stimulator [5, 6] and its derivatives have the antifungal activity [5,7], the influence of Isatizon on plant yield may be caused by several reasons and requires subsequent study.

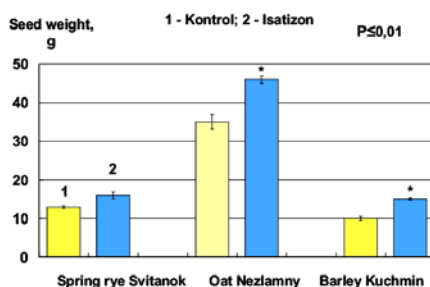


Fig.1. The influence of Isatizon on seed yield of cereal crops (in greenhouse).

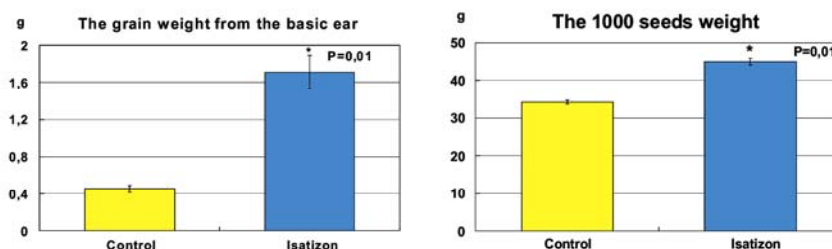


Fig.2. The influence of Isatizon on the productivity components of the spring rye Svitanok (in the small plot experiments).

References

1. Потопальський А.И., Лозюк Л.В. Противовирусный, противоопухолевый препарат изатизон.—Львів:Наукова думка.—1995.—90 с.
2. Заїка Л.А., Болсунова О.І., Потопальський А.І. Протівірусні, протипухлинні та імунотропні властивості лікувального препарату ІЗАТИЗОН - К.: Колобір – 2010. – 212 с.
3. Medvedev A., Buneeva O., Glover V. Biological targets of isatin and its analogues: Implication for therapy // *Biologics*. – 2007. – 1, No 2. – P. 151-162.
4. Jiang Y., Hansen T.V. Isatin 1,2,3-triazoles as potent inhibitors against caspase-3 // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*—2011.—21 (6).— P. 1626-1629.
5. Жингугути Г.И., Рехтер М.А. Изатин и его производные. – Кишинев:Штиинца. – 1977. – 229 с.
6. Applewhite P.B., K-Sawhney R., A.W. Galston A.W. Isatin as an auxin source favoring floral and vegetative shoot regeneration from calli produced by thin layer explants of tomato pedicel // *Plant Growth Regul.* – 1994. – 15. – P.17-21.
7. Русакова М.Д., Галкін Б.М., Вострова Л.М., Філіпова Т.О., Гренадьорова М.В. Активність ізатинового гідразиду феноксицтової кислоти щодо деяких штамів *Fusarium* spp.// *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2010. - № 1. – С. 88-93.

ГІПОТЕНЗИВНИЙ ЕФЕКТ ІН'ЄКЦІЙ ВУГЛЕЦЕВИХ ОДНОСТІННИХ НАНОТРУБОК В ПОПУЛЯЦІЇ КАРДІОВАСКУЛЯРНИХ НЕЙРОНІВ ДОВГАСТОГО МОЗКУ ЩУРІВ

¹Радченко Н.В., ¹Дмитренко О.В., ¹Степаненко Л.Г., ²Прилуцький Ю.І.,
²Давидовська Т.Л., ¹Побігайло Л.С., ¹Сагач В.Ф., ¹Шаповал Л.М.

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

² Національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

e-mail: radchenko-n@ukr.net

Розвиток нейроінженерії потребує розроблення нових біодоступних матеріалів, які контактуючи з нервовою тканиною, модулюють її електрофізіологічну активність. Створення новітніх біосумісних структур для взаємодії з нервовими клітинами є важливою комплексною проблемою, розв'язання якої вимагає використання останніх досягнень біотехнології. Впровадження нанобіотехнології в клінічну нейронауку поки що перебуває в початковому стані, що певною мірою пов'язано із недостатньою вивченістю взаємодії наноструктур з нейронами ссавців. Подальший розвиток цієї галузі може мати важливе значення для фундаментальної науки і для медицини. В зв'язку з цим, актуальним є вивчення можливості використання унікальних фізико-хімічних властивостей вуглецевих нанотрубок з метою створення на їх основі біосумісних наноматеріалів для нейроінженерії [1]. Вуглецеві нанотрубки – це циліндричні структури, поверхня яких вкрита гексагональною сіткою з атомами вуглецю у згорнутому шарі графену. Як з'ясувалось, вуглецеві волокна сумісні із біологічними тканинами, що відкриває перспективу для їх використання в нейрональних біоматеріалах. Не виключено, що вуглецеві нанотрубки у водорозчинному вигляді можуть спричиняти регульовальну дію на нейрони. Здатність вуглецевих нанотрубок ціленаправлено транспортувати лікарські речовини до біологічних мішеней викликає неабиякий інтерес, однак суперечливий характер даних літератури щодо їх цитотоксичності залишається перешкодою в їх практичному застосуванні. Метою даного дослідження було визначити ефекти мікроін'єкцій водних суспензій одностінних нанотрубок в популяції нейронів довгастого мозку, залучених у нервовий контроль функції кровообігу (ядро солітарного тракту, NTS; обопільне ядро, AMB і латеральне ретикулярне ядро, LRN) щурів. Діаметр нанотрубок складав 1.2 -2 нм, їх довжина не перевищувала 1-4 мкм. Суспензія нанотрубок ін'єкувалась в нейронні структури довгастого мозку згідно стереотаксичних координат, в об'ємі 100 нл. Проведене дослідження показало, що введення суспензії нанотрубок у всі досліджені медулярні ядра супроводжувалось розвитком переважно гіпотензивних реакцій. Зокрема, їх ін'єкції в NTS супроводжувались зниженням рівня систолічного артеріального тиску (САТ) як інтегративного показника стану серцево-судинної системи в середньому на 21.6 % ($P < 0.05$), в LRN – на 22.8 % ($P < 0.05$), в AMB – на 14.4 % ($P < 0.05$). Гіпотензивні реакції мали стандартний латентний період, характеризувались досить швидким розвитком, з максимумом в середньому через 10-20 с і тривали в середньому 180 с (Рис.1).

Отже, отримані дані свідчать про можливість вуглецевих одностінних нанотрубок впливати на активність кардіоваскулярних нейронів довгастого мозку щурів.

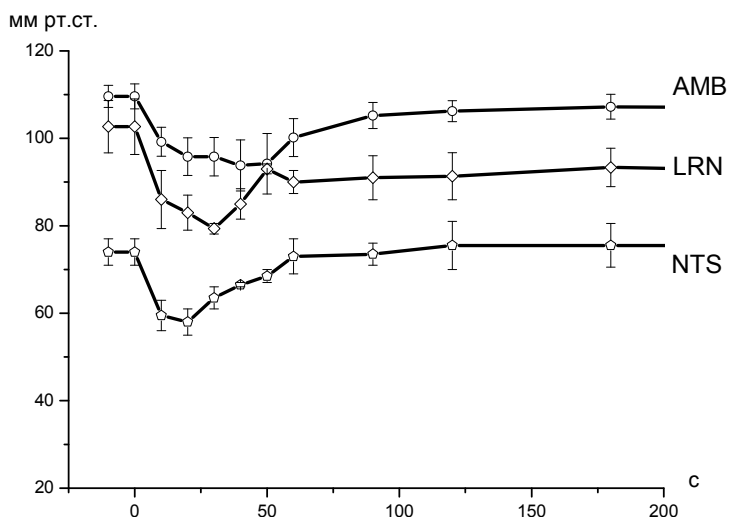


Рис. 1. Ефекти мікроін'єкцій суспензії одностінних вуглецевих нанотрубок в популяції нейронів ядра солітарного тракту, NTS; обопільного ядра, AMB і латерального ретикулярного ядра, LRN щурів

Література:

1. Ротко Д.М., Прилуцька С.В., Богуцька К.І., Прилуцький Ю.І. Вуглецеві нанотрубки як новітні матеріали для нейроінженерії // Біотехнологія. – 2011. – 4, 5. – С.9-24.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE HYPOTENSIVE EFFECT INJECTIONS CARBON NANOTUBES IN A POPULATION CARDIOVASCULAR NEURON MEDULLA OF RATS

²Radchenko N.V., ¹Dmitrenko O.V., ¹Stepanenko L.G., ²Prylutsky Yu.I.,
²Davydovska T.L., ¹Pobigailo L.S., ¹Sagach V.F., ¹Shapoval L.M.

¹Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Taras Shevchenko National University, Kyiv, Ukraine

e-mail: radchenko-n@ukr.net

To be developed, neuroengineering requires working out new bioavailable materials that contact with nervous tissue, and modulate its electrophysiological activity. Creation of new biocompatible structures for interaction with nerve cells is an important complex problem which requires the use of recent advances of biotechnology. Implementation of nanobiotechnology in clinical neuroscience is still in the initial state, to some extent due to the lack of knowledge of the relations of nanostructures with neurons of the mammals. Further development of this field may be important for both basic science and medicine. In this regard, it is important to study the possibility of using unique physical and chemical properties of carbon nanotubes to create on their basis the biocompatible nanomaterials for neuroengineering [1]. Carbon nanotube is a cylindrical structure covered with hexagonal mesh of carbon atoms in a folded layer of graphene. Carbon fibers have been proved to be compatible with biological tissues opening prospects for their use in neuronal biomaterials. Carbon nanotubes in water-soluble form can induce regulatory effects on the neurons. The ability of carbon nanotubes of transporting drugs to biological targets is of great interest, but contradictory literature data on their cytotoxicity remains an obstacle to their practical application. The purpose of this study was to determine the effects of microinjections of aqueous suspensions of single-walled carbon nanotubes in populations of the neurons in the medulla oblongata involved in neural control of the circulation nucleus of tractus solitarius, NTS; nucleus ambiguus, AMB and lateral reticular nucleus, LRN) of rats. The diameter of single-walled carbon nanotubes was 1.2 nm, their length did not exceed 4.1 μ m. A suspension of nanotubes was injected in the medullary neural structures according to stereotaxic coordinates in the volume of 100 nl. The research showed that the introduction of a suspension of nanotubes in all the investigated medullary nuclei was accompanied by the development of predominantly hypotensive responses. In particular, their injections into the NTS resulted in a reduction of the systemic arterial pressure (SAP) as an integrative indicator of the cardiovascular system by 21.6% ($P < 0.05$) on average, in the LRN – by 22.8% ($P < 0.05$), in the AMB – by 14.4% ($P < 0.05$). Hypotensive responses had normal latency, they were characterized by very rapid development, with a maximum in 10-20 s, and they lasted 180 sec on average (Figure 1).

Thus, the findings suggest the possibility of single-walled carbon nanotubes to influence the activity of the cardiovascular neurons in the medulla oblongata of rats.

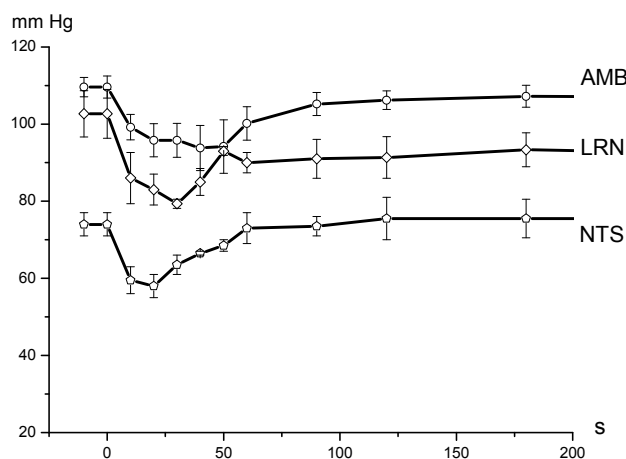


Fig. 1. Effects of microinjections of single-walled carbon nanotube suspensions in populations of the neurons within the nucleus of tractus solitarius, NTS; nucleus ambiguus, AMB and lateral reticular nucleus, LRN of rats

References

1. Rotko D.M., Prylutska S.V., Bohutska K.I., Prylutsky Yu.I. Carbon nanotubes as new materials for neuroengineering i // Biotechnology. - 2011. - 4, 5. - P.9-24

ВПЛИВ ПЕПТИДНИХ КОМПЛЕКСІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ СВИНЕЙ ТА ПОРОСЯТ НА МОРФОЛОГІЧНУ БУДОВУ ТА ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕРЦЯ ЩУРІВ В НОРМІ

Рогоза Л.А., Чиж М.О., Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, Україна
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Традиційно вважалося, що серце є статичним органом, не здатним до самооновлення. Ця догма була змінена визнанням того, що серця дорослих ссавців містять відповідний запас клітин попередників (тканинних стовбурових клітин). Встановлено, що в серці людини кардіоміоцити оновлюються протягом всього життя. Але при цьому вважається, що самі кардіоміоцити дорослих ссавців є термінально диференційованими і не здатними до проліферації. Однак, відновлення органів, в тому числі і серця, можливо під впливом тканиноспецифічних регуляторних пептидів [1].

Нами було показано, що пептидні комплекси кріоконсервованих фрагментів органів нормалізують процеси репаративної регенерації, причому їх вплив тканиноспецифічний. Вони також, в принципі, можуть проявляти адаптагенні властивості.

Метою роботи було встановити вплив пептидних комплексів, одержаних з кріоконсервованих фрагментів серця свиней (ЕСцС) і новонароджених поросят (ЕСцП) та їх вплив на функціональні та морфологічні показники серця щурів різного віку в нормі.

Пептидні комплекси отримували з кріоконсервованих фрагментів серця свиней і поросят шляхом їх інкубації у фізіологічному розчині 60 хв. Отримані екстракти звільняли від термолабільних білків. Екстракти вводили в черевну порожнину безпородним білим щурам, вік яких на початок експерименту становив 1 місяць та 4 місяці з розрахунку 500 мкг пептидів на 1 кг маси протягом 28 діб. Контрольним щурам вводили фізіологічний розчин. Гістологічні забарлювали гематоксиліном і еозинном. Для обробки зображень використовували програму Bio Vision 4.0.

По ЕКГ визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС) в хвилину і показники серцевого ритму: VLF - потужність в діапазоні дуже низьких частот (0,0033-0,04 Гц); LF - потужність в діапазоні низьких частот (0,04-0,15 Гц); HF - потужність в діапазоні високих частот (0,15-0,40 Гц) і SDNN - стандартне відхилення RR інтервалів. Кількісні результати дослідження обробляли статистично за методом Фішера-Стьюдента.

Було встановлено, що протягом експерименту щури у всіх групах не гинули, маси тварин і їх сердець в контрольній і дослідній групах достовірно не відрізнялися. Місцевого, в зоні введення препарату, і системного запалення не спостерігалось.

При морфометричних дослідженнях гістологічних препаратів серця щурів встановлено, що щільність ядер клітин в серцях контрольних і дослідних 4-місячних тварин статистично достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$) в обидва строки спостереження. При введенні ЕСцП або ЕСцС 1-місячним тваринам на 14-ту добу експерименту цей показник у дослідних тварин також статистично достовірно не відрізнявся від його значень в контролі. Але на 28-му добу відмінності стають достовірними ($p < 0,05$). В подальшому планується з'ясувати, чи такі результати пов'язані зі збільшення щільності клітин в м'язі серця, чи збільшенням багатоядерних клітин.

У нормі серцевий ритм в основному модулює вегетативна нервова система. Центральна нервова система контролює відносні рівні активності симпатичного і парасимпатичного відділів по механізму зворотнього зв'язку. У формуванні картини варіабельності серцевого ритму, крім вегетативних екстракардіальних впливів, істотну роль грає електрофізіологічна активність власне міокарду і провідної системи серця. Тому важливим було, беручи до уваги результати гістологічних досліджень, встановити вплив екстрактів на електричну активність серця дослідних щурів.

В нормі ЧСС у 1-місячних щурів складала 502 ± 27 в 1 хв, а у 4-місячних - 415 ± 23 , і протягом експерименту практично не змінювалась в кожній з груп. У дослідних тварин цей же показник статистично достовірно не відрізнявся від контролю. Введення тваринам екстрактів також не впливало на потужність спектру в усіх частотних діапазонах, а також на значення стандартного відхилення RR інтервалів. Отже, введення щурам ЕСцС або ЕСцП не впливає на електрофізіологічні показники функціонування серця.

Література

1. Полежаев Л.В. (2000) Факторы регенерации нерегенерирующих органов и тканей. *Вестник Российской Академии Наук*. 70 (7): 597-603.

INFLUENCE OF PEPTIDE COMPLEXES OF CRYOPRESERVED HEART FRAGMENTS OF PIGS AND PIGLETS ON MORPHOLOGICAL STRUCTURE AND ELECTROPHYSIOLOGICAL INDICES OF RATS' HEART RATE

Rogoza L.A., Chizh N.O., Galchenko S.Ye., Sandomirsky B.P.

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Traditionally the heart has been believed to be a static organ incapable of self-renewal. This dogma was changed by recognizing that the hearts of adult mammals contained an appropriate stock of progenitor cells (tissue stem cells). It has been found that in a human heart the cardiomyocytes renew throughout the life. But it is believed that the most adult mammalian cardiomyocytes are terminally differentiated and unable of proliferation. However, the recovery of the organs, including heart, is possible under the influence of tissue specific regulatory peptides [1].

We have shown that the peptide complexes of cryopreserved fragments normalize the processes of reparative regeneration, and their influence is tissue-specific. They also, in principle, can demonstrate adaptive properties.

The research aim was to establish the influence of peptide complexes derived from cryopreserved heart fragments of pigs (EPH) and newborn piglets (EPsH) and their impact on functional and morphological parameters of the rats' hearts on different ages in the norm.

The peptide complexes were obtained from cryopreserved fragments of pigs' and piglets' hearts by their incubation in physiological solution for 60 min. The obtained extracts were released from thermolabile proteins. The extracts were injected into the abdominal cavity of outbred white rats, at the beginning of the experiment they aged 1 month and 4 months, at the rate of 500 mg of peptides per 1 kg during 28 days. The control rats were injected with physiological solution. Histological preparations were stained by hematoxylin and eosin. For image processing the Bio Vision 4.0 program was used.

Using the ECG there were determined the heart rate (HR) per minute and the heart rate parameters: VLF - the power in the range of very low frequency (0,0033-0,04 Hz); LF - the power in the range of low frequencies (0,04-0,15 Hz); HF - the power in high frequency range (0,15-0,40 Hz) and SDNN - standard deviation of RR intervals. The quantitative results of the study were statistically processed using the Fisher-Student method.

It was found that during the experiment, the rats in all groups survived, the mass of animals and their hearts in the control and experimental groups did not differ significantly. The local, in the injection site, and the systemic inflammations were not observed.

Morphometric study of histological preparations of rats' hearts revealed that the density of cells nuclei in the hearts of the control and experimental 4-month-old animals did not differ statistically and significantly ($p > 0.05$) in the both observation periods. Administration of the EPsH or EPH 1-month-old animals to the 14th day of the experiment the rate in experimental animals is also not statistically significantly different from its value in control group. But to the 28th day the differences are getting reliable ($p < 0.05$). In future we are planning to examine whether these results are associated with rise in the density of cells in the heart muscle, or with that of multinuclear-cells.

In a normal state the heart rate is mainly modulated by vegetative nervous system. Central nervous system controls the relative level of activity of sympathetic and parasympathetic parts upon the feedback mechanism. The significant role in formation of the picture of a heart rate variability such as vegetative extracardial influence is basically played by electrophysiological activity of the myocardium itself and cardiac conductive system. Therefore an important was to find-out the influence of extracts on electric activity of hearts of experimental rats, taking into account the results of histological studies.

In the norm the heart rate in 1-month-old rats was the 502 ± 27 per 1 min, and in the 4-month-old - 415 ± 23 , and also it did not virtually change during the experiment in each group. In experimental animals the same index was not statistically and significantly different from the control. Introduction of the extracts to animals also had no effect on the spectrum power for all the frequency bands, as well as the value of standard deviation RR intervals. Thus, the introduction of rats EPsH or EPH did not affect the electrophysiological parameters of heart function.

References

1. Polezhaev L.V. (2000). Factors of regeneration of non-regenerating organs and tissues. *Journal of the Russian Academy of Sciences*. 70 (7): 597-603.

ПОВЫШЕНИЕ АДАПТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БУРОУГОЛЬНЫХ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Рыктор И.А., Зубкова Ю.Н., Погромская Я.А.

Донецкий национальный университет, Донецк, Украина
e-mail: irina_ri@i.ua

Рост и развитие растений, выращиваемых в зонах критического земледелия, а также используемых при восстановлении эродированных почв и рекультивации техногенных ландшафтов, происходит в условиях действия стрессовых факторов: недостатка влаги и питательных веществ, перепадов температур, повышенной кислотности почв, воздействия ксенобиотиков и поллютантов и т.д.

Исследования эффективности и направленности действия на растения в стрессовых условиях бурогольных гуматсодержащих препаратов, подтвердило не только их ценность в качестве стимуляторов-адаптогенов, но и универсальность защитных реакций растений как результат проявления адаптационного синдрома при формировании неспецифической (системной) адаптации [1-3].

Изучено влияние гуматсодержащих препаратов на биометрические, биохимические и фенологические показатели растений в условиях действия различных стрессовых факторов.

В условиях лабораторного опыта установлено, что гумат аммония повышает адаптационные способности ярового овса (*Avena sativa* L.) сортов Скакун и Черниговский 27 при воздействии семидневного водного стресса в фазе выхода в трубку. Это проявляется в увеличении накопления зеленой массы проростков (на 14-24%), содержания белка (на 15-24%), повышении пероксидазной активности в грубых тканевых экстрактах из листьев растений (на 15-21%), сокращении сроков фенологических фаз (на 10 дней), повышении озерненности метелки (на 100%) и количества растений, вступивших в генеративную фазу (на 68-89%). В большей степени изменения указанных показателей выявлены у более засухоустойчивого сорта овса Скакун [2].

Известно, что одним из наиболее экологических и действенных способов восстановления техногенных ландшафтов, снижения негативного влияния на среду и человека является фитореккультивация. Это направление особенно значимо для регионов с высокой техногенной нагрузкой, таких как Донбасс. Установлено, что при рекультивации грунтосмесей породы Авдеевского коксохимического завода (АКХЗ) и породы террикона использование бурогольных удобрений способствует оптимизации условий выращивания и получения прироста растительной массы овсяницы луговой (*Festuca pratensis*) [3].

Снижение удельной активности цитоплазматической и ионосвязанной фракций пероксидазы, а также совокупной удельной пероксидазной активности при рекультивации грунтосмесей породы АКХЗ и породы террикона является показателем оптимизации условий выращивания овсяницы луговой.

Отношение активности цитоплазматической и ионосвязанной фракций пероксидазы может служить показателем оптимизации системы грунт-растение. Для овсяницы оптимальным в условиях опыта является величина показателя 2,92.

Увеличение содержания пигментов фотосинтетической системы, и в первую очередь хлорофилла *a*, является одной из неспецифических реакций адаптации в условиях действия стрессового фактора. Предположительно, компенсаторный механизм фотосистемы в условиях крайней стрессовости базируется, прежде всего, на увеличении содержания хлорофилла *a*, а потом уже хлорофилла *b* и суммарных каротиноидов.

Оптимизация условий выращивания овсяницы луговой как при внесении удобрений, так и при снижении доли породы АКХЗ приводит к снижению величины отношения содержания хлорофилла *a* к хлорофиллу *b*. В конкретных условиях произрастания для овсяницы оптимальным является значение показателя 1,2.

Обнаружена положительная корреляционная связь между совокупной удельной пероксидазной активностью тканевых экстрактов из зеленой массы овсяницы с соотношением содержания хлорофиллов *a* и *b*, что свидетельствует о согласованном участии пероксидазы и предполагаемых структурных изменений фотосистем в адаптационном ответе растений.

Полученные экспериментальные данные являются основой для создания системы мероприятий экологической корректировки продуктивности агроэкосистем и рекультивации грунтов.

Литература

1. Природные гуминовые вещества: взаимосвязь природы, способов выделения, физико-химических и биоактивных свойств/ Ю.Н. Зубкова, А.В. Бутюгин, А.Л. Антонова и др. – Донецк: ДонНУ, 2008. – 171 с.
2. Влияние гуминовых препаратов на антистрессовую устойчивость растений. Сообщение 1/ Ю.Н.Зубкова, И.А.Рыктор, А.Л.Антонова, А.В.Бутюгин// Вісник Донецького нац. ун-та, Сер. А: Природничі науки, 2009. - Вип. 1. - С. 593-597.
3. Влияние бурогольных гуминовых удобрений на снижение стрессовой реакции у растений *Festuca pratensis* Huds./ И.А. Рыктор, Ю.Н. Зубкова, А.В. Бутюгин. // Вісник Донецького нац. ун-та, Сер. А: Природничі науки, 2011. - Вип. 1. - С. 115-122.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INCREASING OF THE ADAPTIVE CAPABILITIES OF PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF THE HUMIC PREPARATIONS FROM BROWN COAL

Ryktor I.A., Zubkova J.N., Pogromskaya Y.A.

Donetsk national university, Donetsk, Ukraine
e-mail: irina_ri@i.ua

The growth and development of the plants, which are reared in the areas of critical agriculture, and also are used for the renewal of the eroded soils and reclamation of man-made landscapes, takes place in the conditions of action of stressing factors like lack of moisture and nutritives, overfalls of temperatures, promoted acidity of soils, influence of technogenic toxicants etc.

Researches on efficiency and orientation of action of the humic preparations from brown coal on the plants in stressing terms confirmed that:

- value of humic preparations as stimulators and adaptogens,
- universality of the protective reactions of plants as a result of demonstration of adaptation syndrome at forming of unspecific (system) adaptation [1-3].

The influence of the humic preparations on the biological, biochemical and phenological indices of plants in conditions of action of different stressing factors is studied.

The fact that ammonium humates increases the adaptation capabilities of springing oat (*Avena sativa* L.) of sorts Skakun and Chernigov 27 has been set in the conditions of laboratory experience with influence of septan water stress in the phase of output in a tube. It is reflected in increasing of accumulation of the green mass of the plant (on 14-24%), amount of albumen (on 15-24%), increasing of activity of the peroxidase in rough tissue extracts from the leaves of plants (on 15-21%), reduction of terms of phenological phases (on 10 days), increasing of seed on panicle (on 100%) and amount of plants were entered into a generative phase (on 68-89%). The changes of indicated indices exposed more at more drought-resisting sort of the oat Skakun [2].

It is known that one of the most ecological and effective methods of renewal of man-made landscapes, reduction of the negative influence on the environment and people is phytoreclamation. This direction is especially meaningful for regions with the high man-made loading, such as Donbass. It's been set that during reclamation of different mixtures of the breed of coke plant (Avdeevskiy coke plant) and breed of waste bank the use of the humic fertilizers from brown coal helps to optimize the terms of growing and to obtain the increasing of vegetable mass of *Festuca pratensis* Huds. [3].

Decreasing of the specific activity of cytoplasmatic and ion-combined fractions of peroxidase, and also of the combined specific peroxidase's activity during reclamation of the mixtures breed coke plant and breed of waste bank is the index of optimization of the growing terms of *Festuca pratensis* Huds.

The ratio activity of cytoplasmatic and ion-combined fractions of peroxidase can be treated as the index of optimization of the system "soil-plant". The size of the index 2,92. is optimal for *Festuca pratensis* Huds. in the conditions of experience.

Increasing the level of content of the photosynthetic pigments (firstly the chlorophyll *a*), is one of unspecific adaptive reactions in conditions of action of the stressing factor. Probably, compensatory mechanism of the photosystem in the conditions of extreme stress is firstly based on the increasing of the content of chlorophyll *a*, and secondly of the chlorophyll *b* and total carotenoids.

Optimization of conditions of growing the *Festuca pratensis* Huds. with bringing of fertilizers and with the decreasing the share of coke plant breed leads to the decreasing the size of ratio of the content of chlorophyll *a* and chlorophyll *b*. The value of the index 1,2 is optimal for *Festuca pratensis* Huds. in the particular conditions of sprouting.

The positive correlation connection between the combined specific peroxidase's activity of tissue extracts from green mass of *Festuca pratensis* Huds. and ratio of the content of chlorophyll *a* and *b* was found out. This testifies the concerted participation of peroxidase and supposed structural changes of the photosystems in the adaptive response of plants.

These experimental findings are the base for creation the system of activities aimed at the ecological adjustment of productivity of agroecological systems and reclamation of soils.

References

1. Природные гуминовые вещества: взаимосвязь природы, способов выделения, физико-химических и биоактивных свойств/ Ю.Н. Зубкова, А.В. Бутюгин, А.Л. Антонова и др. – Донецк: ДонНУ, 2008. – 171 с.
2. Влияние гуминовых препаратов на антистрессовую устойчивость растений. Сообщение 1/ Ю.Н.Зубкова, И.А.Рыктор, А.Л.Антонова, А.В.Бутюгин// Вісник Донецького нац. ун-та, Сер. А: Природничі науки, 2009. - Вип. 1. - С. 593-597.
3. Влияние буроугольных гуминовых удобрений на снижение стрессовой реакции у растений *Festuca pratensis* Huds./ И.А. Рыктор, Ю.Н. Зубкова, А.В. Бутюгин. // Вісник Донецького нац. ун-та, Сер. А: Природничі науки, 2011. - Вип. 1. - С. 115-122.

НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬ ХЛОРПИРИФОСУ: ДЕЯКИ АСПЕКТИ ЙОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Салига Ю.Т., Росаловський В.П.

Інститут біології тварин НААН України, Львів, Україна
e-mail: yursalyha@yahoo.com

Хлорпірифос (ХП) є одним з найпоширеніших у використанні фосфорорганічних (ФОП) пестицидів у світі. ХП (*О,О-Діетил-О-3,5,6-трихлор-2-піридилфосфороміат*, $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$) інгібує фермент ацетилхолінестеразу, яка руйнує ацетилхолін, нейромедіатор, що активує холінергічні нейрони (1). Але ряд вчених неодноразово продемонстрували, що токсичність ХП не обмежується тільки інгібуванням холінестерази і що, він може також діяти за допомогою інших механізмів (1). У мозку в процесі його онтогенезу мають місце окремі нейрохімічні зміни за участю різних нейронних клітинних популяцій. Відомо також, що підвищені рівні у мозку окремих металів можуть бути пов'язані як з нормальним процесом його старіння, так і з різними нейродегенеративними захворюваннями. Наприклад, Мідь є важливим модулятором NMDA-рецепторної активності, Цинк бере участь у глутамінергічних процесах. Тому важливо з'ясувати механізми, за допомогою яких зберігається гомеостаз металів у мозку і яка їхня роль у різноманітних клітинних процесах, в тому числі при нейротоксичній пошкодженні (2-5).

Експерименти проводилися на щурах-самцях. Всі щурі утримувалися у відповідності із стандартними протоколами по догляду за тваринами, їм згодовували збалансований корм для лабораторних тварин і воду *ad libitum*. Хлорпірифос (Sigma) розчиняли в етанолі і готували свіжий розчин заданої концентрації безпосередньо перед кожним експериментальним введенням його щурам.

Після завершення експериментів тварин декапітували під ефірним наркозом, після чого одразу виділяли головний мозок та ізолювали з нього гіпокамп, мозочок та кору великих півкуль. Вимірювання рівня металів проводили за допомогою атомно-абсорбційного спектрометра С-115ПК (Україна).

У роботі вивчали концентрації Міді, Цинку і Заліза в гіпокампі, мозочку і корі головного мозку щурів, підданих малим дозам ХП. Наші дані показують наявність вікових змін рівнів досліджуваних металів у різних ділянках головного мозку. Також вивчали зміни активностей антиоксидантних ферментів, таких як каталаза, глутатіонпероксидаза і супероксиддисмутаза в гіпокампі, мозочку і корі головного мозку досліджуваних тварин за дії ХП і спостерігали їх достовірні зміни.

Для встановлення можливої нейротоксичної дії хлорпірифосу на ріст і розвиток нейронів було досліджено вплив на них цього препарату в умовах культури клітин. Це дослідження включало в себе вивчення впливу ХП на зміни у розвитку нейронів і синаптичних зв'язків. Ми вимірювали ряд морфометричних параметрів нейронів в тому числі показники соматичного, аксонального і дендритного розвитку, використовуючи для візуалізації флуоресцентні білки. Спочатку було підібрано концентрацію ХП для експериментів і встановлено її на рівні 20 μM . Нейрони досліджували за нормальних умов культивування та при внесенні вказаної концентрації ХП у культуральне середовище на 24, 48 і 72 години починаючи з третьої доби після трансфекції. У дослідній культурі спостерігали достовірний токсичний ефект, порівняно до контролю, де більшість нейронів нормально росли і розвивалися протягом більше 6 діб. Приблизно 11% нейронів інкубованих у середовищі з додаванням ХП деградували на другу експериментальну добу і біля 40 % повністю гинули на третю добу експерименту. Таким чином, було встановлено достовірний нейротоксичний ефект ХП, який полягав у зменшенні кількості життєздатних нейронів, а також його негативний вплив на їх ріст і розвиток що свідчить про нейротоксичну небезпеку даної сполуки. Отже, ХП індукував ушкодження та загибель нервових клітин.

Наші дані підтверджують нейротоксичність ХП і в той же час підкреслюють необхідність подальших досліджень її клітинних і молекулярних механізмів.

Література

1. Salyha Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity // *Visnyk of Lviv University. - Biology series*. 2010. – vol.54. P. 3-14.
2. Chowanadisai W., Kelleher S.L., Lonnerdal B. Maternal zinc deficiency reduces NMDA receptor expression in neonatal rat brain, which persists into early adulthood. // *J Neurochem*. – 2005. - Vol.94(2). – P.510-519.
3. Christa J. Maynard, et al. Overexpression of Alzheimer's Disease Amyloid- Opposes the Age-dependent Elevations of Brain Copper and Iron. – *J. Biochem*. Vol. 277, No. 47, November 22, pp. 44670–44676, 2002.
4. Lahiri D.K., Chen D.M., Lahiri P., Bondy S., Greig N.H. Amyloid, Cholinesterase, Melatonin, and Metals and Their Roles in Aging and Neurodegenerative Diseases. // *Ann N Y Acad Sci*. – 2005. – Vol.1056. – P.430-449.
5. Treiber C. Metals on the brain. // *Sci Aging Knowledge Environ*. – 2005. - Vol.7(36). - P.27.

NEUROTOXICITY OF CHLORPYRIFOS: SOME ASPECTS OF ITS INVESTIGATION

Salyha Y.T., Rosalovsky V.P.

Institute of Animal Biology of the NAAS of Ukraine, Lviv, Ukraine
e-mail: yursalyha@yahoo.com

Chlorpyrifos (CPF) is one of the most commonly used organophosphorus (OP) pesticides in the world. CPF (O, O-diethyl-3, 5, 6-trichloro-2-pyridylphosphorothioate) inhibits the enzyme acetylcholinesterase, which destroys acetylcholine, the neurotransmitter that activates cholinergic neurons (1). But number of scientist repeatedly demonstrated that CPF toxicity is not limited to cholinesterase inhibition alone but can act by other mechanisms (1). The aging brain shows selective neurochemical changes involving several neural cell populations. Increased brain metal levels have been associated with normal aging and a variety of neurodegenerative disorders. Copper is an important modulator of NMDA-receptor activity, zinc - of glutaminergic transmission. It is thus important to elucidate the mechanisms by which metal homeostasis of brain is maintained and how metals function in cellular processes, including neurotoxic damages (2-5).

Experiments were conducted in male rats. All rats were housed according to standard animal care protocols and fed standard laboratory chow and tap water *ad libitum*. Chlorpyrifos (99,9 pure; Sigma) was dissolved in ethanol and freshly prepared for each experiment of CPF.

The animals were decapitated under anaesthesia. After that brain was immediately removed, cleaned of blood clots and visible vascular structures. Hippocampus, cerebellum and cerebral cortex were isolated and immediately prepared for future analysis. The metals level measurements were done with an atomic absorptiometer S-115PC (Ukraine).

We have studied levels of copper, zinc and iron in hippocampus, cerebellum and cerebral cortex of growing rats subjected to low doses of CPF. Our data demonstrates age-dependent changes of investigated metal levels in different brain regions.

We have also studied changes in activity of the antioxidant enzymes such as catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in hippocampus, cerebellum and cerebral cortex of growing rats subjected to low doses of CPF. We observed age-dependent and brain region-dependent changes in antioxidant enzymes activity.

Simultaneously we studied the effect of the CPF action on maturation of hippocampal pyramidal cells and interneurons *in vitro* (cell culture). This includes study of the effects of CPF on the alterations and developmental changes in the neuronal and synaptic connections properties. We measured morphometric parameters of neurons including somatical, axonal and dendritic development, using for visualization different fluorescent proteins. To examine the neurotoxic effect of CPF, neurons from rat embryos hippocampi were first treated to various concentrations of it. Treatment with 20 μ M concentration of CPF was selected for the investigation. Exposure of an *in vitro* primary cultures of rat hippocampal neurons to chlorpyrifos for 24, 48 and 72 hours had significant toxic effect on neuronal cells. In control conditions the majority of neurons normally developed for more than 6 days. By contrast, approximately 11% of neurons incubated in the medium with addition of CPF, degraded on the second experimental day and near 40% of investigated neuronal cells fully degraded on the third day of experiment with 20 μ M concentration of CPF exposure in to the cell culture medium. Consequently the CPF induced cell damage and cell death.

Our data confirm the CPF neurotoxicity and at the same time there can be no doubt about the importance of investigations of cellular and molecular mechanisms for toxicity of CPF including its developmental neurotoxicity.

References

1. Salyha Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity // *Visnyk of Lviv University. - Biology series*. 2010. – vol.54. P. 3-14.
2. Chowanadisai W., Kelleher S.L., Lonnerdal B. Maternal zinc deficiency reduces NMDA receptor expression in neonatal rat brain, which persists into early adulthood. // *J Neurochem*. – 2005. - Vol.94(2). – P.510-519.
3. Christa J. Maynard, et al. Overexpression of Alzheimer's Disease Amyloid- Opposes the Age-dependent Elevations of Brain Copper and Iron. – *J. Biochem*. Vol. 277, No. 47, November 22, pp. 44670–44676, 2002.
4. Lahiri D.K., Chen D.M., Lahiri P., Bondy S., Greig N.H. Amyloid, Cholinesterase, Melatonin, and Metals and Their Roles in Aging and Neurodegenerative Diseases. // *Ann N Y Acad Sci*. – 2005. – Vol.1056. – P.430-449.
5. Treiber C. Metals on the brain. // *Sci Aging Knowledge Environ*. – 2005. - Vol.7(36). - P.27.

ЗВ'ЯЗУВАННЯ ПОКРИТИХ ПОЛІМЕРАМИ МАГНІТНИХ НАНОЧАСТИНОК З НЕРВОВИМИ ЗАКІНЧЕННЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ТРОМБОЦИТАМИ

*Сієко Р., Касаткіна Л., Крисанова Н., ¹Дудченко Н.,
¹Брик О., Борисов А., Чуніхін О., Борисова Т.*

Відділ нейрохімії, Інститут біохімії ім. Палладіна НАН України, Київ, Україна

¹Інститут геохімії, мінералогії та рудоутворення ім. Семененка НАН України, Київ, Україна

e-mail: formik666@ukr.net

Мета: Наночастинки магнетиту є потужним селективним інструментом для доставки ліків, контрастуючою речовиною в магнітно-резонансній томографії, поліпшувачем для селективної/локальної гіпертермії при лікуванні раку мозку та агентом для маніпуляцій з агрегатами тромбоцитів у кровоносній системі. Синтезовані магнітні наночастинки, покриті різними видами полімерів, є дуже перспективними для використання в нанонейротехнології. Метою роботи було вивчення взаємодії покритих полімерами наночастинок магнетиту з нервовими закінченнями головного мозку та тромбоцитами.

Методи: Спектрофлуориметрія з потенціал і рН-чутливим флуоресцентним зондом, проточна цитометрія, радіоізотопний аналіз (з використанням L-[¹⁴C] глутамату), фотонна кореляційна спектроскопія.

Результати: З використанням фотонної кореляційної спектроскопії було продемонстровано зв'язування синтезованих наночастинок магнетиту, покритих декстраном, гідроксиетилкрохмалем, окисленим гідроксиетилкрохмалем та хітозаном з нервовими закінченнями та тромбоцитами. Нами було показано, що покриті полімерами наночастинки не впливають на потенціал плазматичної мембрани нервових закінчень і тромбоцитів. Закислення синаптичних везикул нервових закінчень і секреторних гранул тромбоцитів не змінювалося в присутності наночастинок. Крім того, синтезовані наночастинки не впливали на транспорт глутамату в нервових закінченнях і тромбоцитах.

Висновки: На підставі експериментальних даних щодо зв'язування синтезованих наночастинок з нервовими закінченнями і тромбоцитами було відібрано деякі види полімерного покриття для маніпуляції із зовнішнім магнітним полем. Було зроблено висновок, що синтезовані наночастинки магнетиту, покриті певними полімерами, є перспективним інструментом в нанонейротехнології для вибіркової доставки ліків при зовнішньому маніпулюванні магнітним полем і гіпертермії при терапії раку мозку.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BINDING OF POLIMER-COVERED MAGNETIC NANOPARTICLES WITH BRAIN NERVE TERMINALS AND BLOOD PLATELETS

*Sivko R., Kasatkina L., Krisanova N., ¹Dudchenko N.,
¹Brik O., Borisov A., Chunihiin O., Borisova T.*

Department of Neurochemistry, Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine
¹Semenenko Institute of geochemistry, mineralogy and ore formation NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: formik666@ukr.net

Aims: Synthesized magnetic nanoparticles covered with certain types of polymers are a very perspective for usage in nanoneurotechnology. The aim of this work was to study interaction of polymer-covered nanoparticles of magnetite with brain nerve terminals and blood platelets as a potent selective tool for drug delivery, contrast agent in magnetic resonance imaging, selective/local hyperthermia enhancement therapy of brain cancer and manipulation of platelet aggregates in circulatory system.

Methods: Spectrofluorimetry with potential-sensitive and pH-sensitive fluorescent dyes, flow cytometry, radiolabeled assay (L-[¹⁴C]glutamate), photon correlation spectroscopy.

Results: Using photon correlation spectroscopy, binding of synthesized nanoparticles of magnetite covered with dextran, hydroxyethyl starch, oxidized hydroxyethyl starch, and chitosan with nerve terminals and platelets was demonstrated. We showed that polymer-covered nanoparticles did not influence the potential of the plasma membrane of nerve terminals and platelets. Acidification of synaptic vesicles of nerve terminals and secretory granules of platelets did not change in the presence of nanoparticles. Also, synthesized nanoparticles did not influence glutamate transport in nerve terminals and platelets.

Conclusion: On the base of the experimental data on binding of synthesized nanoparticles with nerve terminals and platelets, certain types of covering polymers were selected for manipulation with externally applied magnetic field. It was concluded that synthetic nanoparticles of magnetite covered with definite polymer are a perspective instrument in nanoneurotechnology for selective drug delivery and for hyperthermia therapy of brain cancer by externally applied magnetic field.

ІНДУКЦІЯ АДАПТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РОСЛИН *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH. СИНТЕТИЧНИМИ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТУ

Смірнов О., Косян А., Косик О.

Навчально-науковий центр «Інститут біології»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: mcd_smirnov@mail.ru

Загальною відповіддю рослин на дію різноманітних факторів, таких як високі та низькі температури, надлишок світла, посуха, УФ-радіація, осмотичний стрес, патогени є інтенсивна генерація активних форм кисню, що зумовлює розвиток оксидного стресу.

Хлорхолінхлорид – регулятор росту групи ретардантів. Фізіологічна дія ССС проявляється у гальмуванні росту осьових органів, їх потовщенні, стимуляції росту та розвитку кореневої системи, а також позитивному впливі на репродуктивні органи. Обробка рослин ретардантом призводить до збільшення вмісту фотосинтетичних та УФ-поглинаючих пігментів, що дає можливість стримувати старіння асиміляційного апарату.

Метою роботи було виявити адаптогенні властивості регулятора росту ССС в концентрації 2% при оксидному стресі, а саме: вплив на активність ключового ферменту фенілпропаноїдного шляху біосинтезу вторинних метаболітів фенольної природи – фенілаланін аміак-ліази (ФАЛ; EC 4.3.1.5) та вміст фенольних сполук (антоціанів, рутину) в рослинах гречки звичайної (*Fagopyrum esculentum* Moench.).

В ході експерименту було встановлено, що обробка рослин 2% хлорхолінхлоридом призводила до підвищення вмісту антоціанів у 8 разів, вмісту рутину – у 3,5 рази (рис.1). Крім цього, дослідження впливу ССС у концентрації 2% на активність ФАЛ – регуляторного ферменту фенілпропаноїдного шляху синтезу фенолів показали, що обробка рослин цією концентрацією ретарданту підвищує активність ферменту в 2 рази (Рис. 2). Що корелює зі збільшенням вмісту фенолів (антоціанів та рутину).

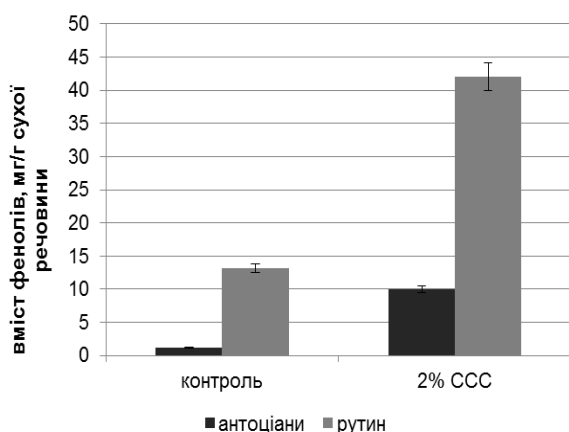


Рис. 1. Вплив 2% ССС на вміст фенольних сполук

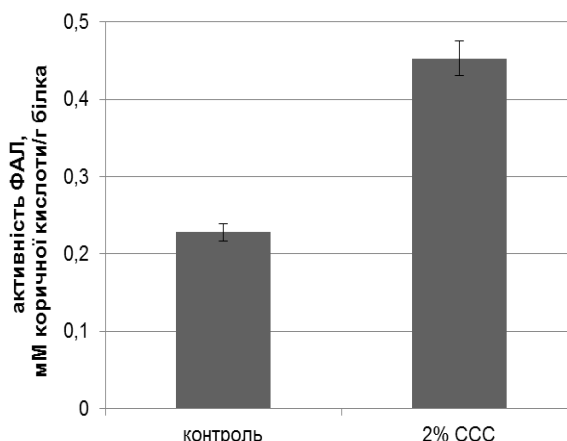


Рис. 2. Вплив 2% ССС на активність ферменту ФАЛ

Отже, встановлено, що регулятор росту хлорхолінхлорид у визначених концентраціях може виступати індуктором захисних систем рослинного організму при оксидному стресі, підвищуючи антиоксидантний потенціал, впливаючи на активність антиоксидантних ферментів, збільшуючи вміст низькомолекулярних антиоксидантних сполук.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

INDUCTION OF ADAPTIVE CHARACTERISTICS BY SYNTHETIC GROWTH REGULATORS IN BUCKWHEAT SPROUTS

Smirnov O., Kosyan A., Kosyk O.

Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: mcd_smirnov@mail.ru

Reactive oxygen species formation resulting oxidative stress is plant cell overall response to the action of various factors such as high and low temperatures, excess light, drought, UV-radiation, osmotic stress, pathogens.

Plant growth regulator chlormequat chloride (Cycocel, CCC) acts by inhibiting gibberellin biosynthesis, reduces unwanted longitudinal shoot growth without lowering plant productivity. Processing by CCC led to photosynthetic, UV-protective pigments and phenylpropanoids content increasing.

The aim of the study was to explore effects of the Cycocel on phenylalanine ammonia lyase (PAL EC 4.3.1.5) activity, anthocyanin and rutin content in sprouts of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.).

CCC in concentration 2% raised anthocyanin and rutin levels. Thin-layer chromatography (TLC) revealed an increase in total flavonoids content in leaves of test plants, which was: by 3,5 times for rutin and by 8 times for anthocyanin (fig. 1). The same concentration of growth regulator had induced PAL activity by 2 times (Fig. 2). Moreover, an increase in the flavonoids content correlated with PAL activity induction.

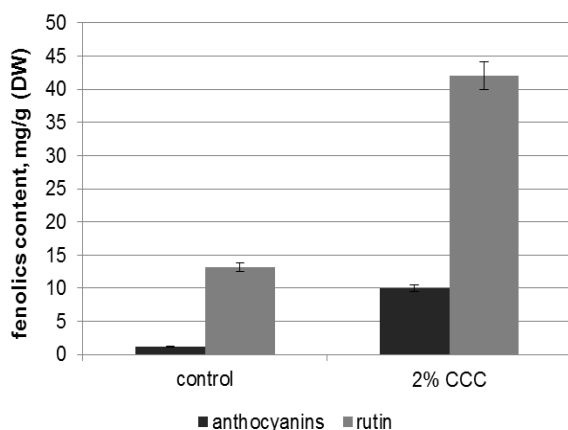


Fig. 1. CCC effect on anthocyanin and rutin content

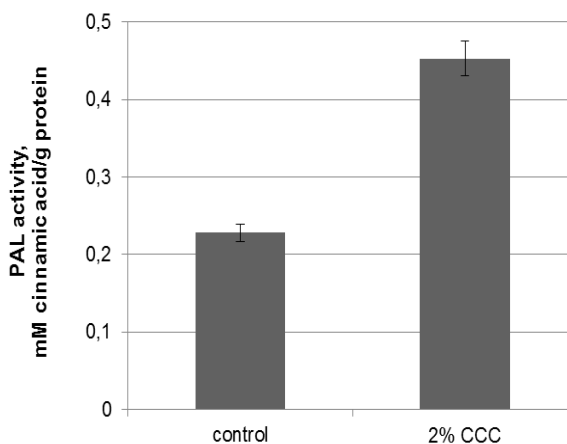


Fig. 2. CCC effect on PAL activity

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ КРАЙНЕ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ НА ПОВРЕЖДЕНИЕ ЯДЕР ТИМОЦИТОВ, ВЫЗВАННОГО ДЕЙСТВИЕМ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И НАНОПОРИСТОГО КРЕМНИЯ

Собко В.М., Мартынюк В.С.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, УНЦ «Институт биологии», Киев, Украина
e-mail: mavispublisher@gmail.com

Магнитные поля крайне низкой частоты (МП КНЧ) способны изменять функционирование клеток как при физиологических, так и при патологических состояниях, на чем и основано их эффективное применение в медицине. С помощью метода кометного электрофореза [1] было исследовано повреждение ДНК ядер в суспензии изолированных тимоцитов крыс после инкубации с нанопористым кремнием, H_2O_2 и при наличии магнитного поля, как при раздельном, так и комбинированном воздействии выбранных факторов. Все образцы нанопористого кремния были фотоактивированы, что в свою очередь способствовало эффективной передаче энергии молекулам кислорода, адсорбированных на поверхности нанокристаллов. После анализа кометного электрофореза, были подтверждены результаты предыдущих исследований [2], которые указывали на повреждение ядра при действии кремния, H_2O_2 и магнитного поля. Показано, что воздействие магнитного поля (частота 8 Гц, индукция 25 мкТл) в сочетании с действием фотоактивного нанопористого кремния и пероксида водорода на суспензию тимоцитов приводит к увеличению общего количества разрывов ДНК в ядре.

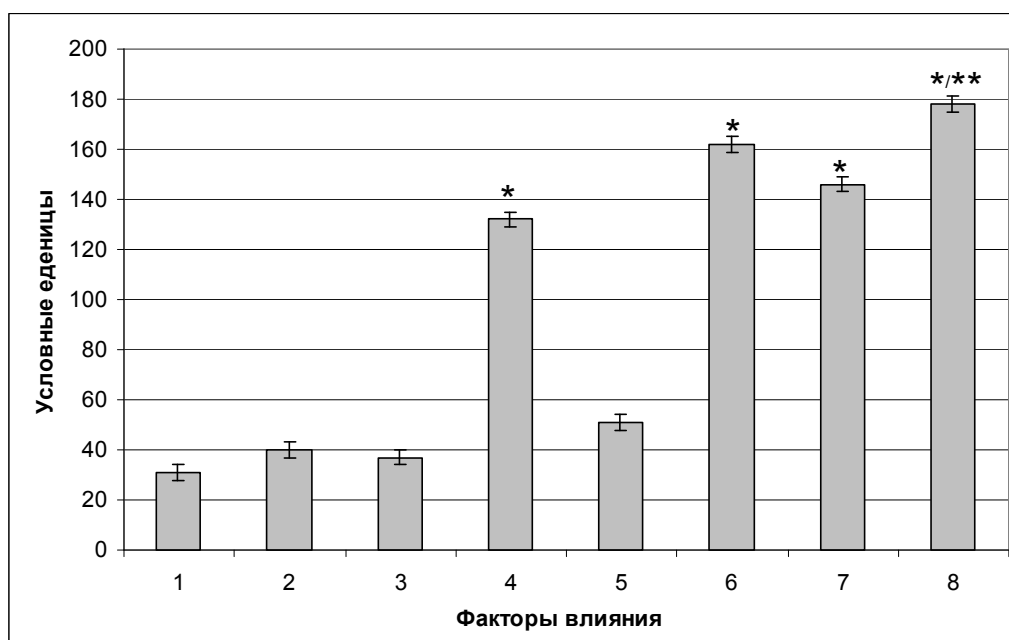


Рис. Повреждения ДНК тимоцитов по данным кометного электрофореза. Экспозиция МП КНЧ 3 часа.

1 - контроль; 2 - нанопористый кремний; 3 - МП КНЧ; 4 - H_2O_2 ; 5 - нанопористый кремний + МП КНЧ;

6 - нанопористый кремний + H_2O_2 ; 7 - МП КНЧ + H_2O_2 ; 8 - нанопористый кремний + МП КНЧ + H_2O_2 .

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контроля; ** - $p < 0,05$ относительно перекисного повреждения ($0,1 \text{ mM } H_2O_2$).

Благодарность: Авторы выражают искреннюю благодарность кафедре генетики УНЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко.

Литература

1. Collins A.R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Mol. Biotech.* 26: 249-261.
2. Sobko V., Martynyuk V., Shevchenko V., Ratushna O. (2010). Effect of electromagnetic field with 8 Hz frequency on the cell injury and programmed cell death caused by nanostructured silicon and hydrogen peroxide. *Physics of the alive.* 18(2): 45-49.

EFFECT OF MAGNETIC FIELD OF LOW FREQUENCY ON THYMOCYTES NUCLEUSES INJURY CAUSED BY HYDROGEN PEROXIDE AND NANOPOROUS SILICON

Sobko V.M., Martynyuk V.S.

ESC "Institute of Biology" Kiev National Taras Shevchenko University, Kyiv, Ukraine
e-mail: mavispublisher@gmail.com

Magnetic fields of low frequency (MF LF) are known to modulate cells functioning both in physiological and pathological conditions, on what their effective application in medicine is based. Using the reliable and sensitive method of comet assay [1] the nucleuses DNA damages were studied in the suspension of isolated rat thymocytes after incubation with nanoporous silicon, hydrogen peroxide and exposure to magnetic fields, considering both individual and combined effects. All samples of nanoporous silicon were photoactivated which in turn contributed to the efficiency of energy transmission to oxygen molecules adsorbed on the surface of the nanocrystals. After the comet assay analysis we confirmed the results of previous research [2] that indicated the DNA damages in cells after combined influence of nanoporous silicon, hydrogen peroxide and magnetic fields. It was found that the exposure of the suspension of thymocytes to magnetic fields (frequency of 8 Hz, induction of 25 microtesla) combined with the action of hydrogen peroxide and nanoporous silicon in the presence of light led to the increased number of DNA breaks in nucleuses.

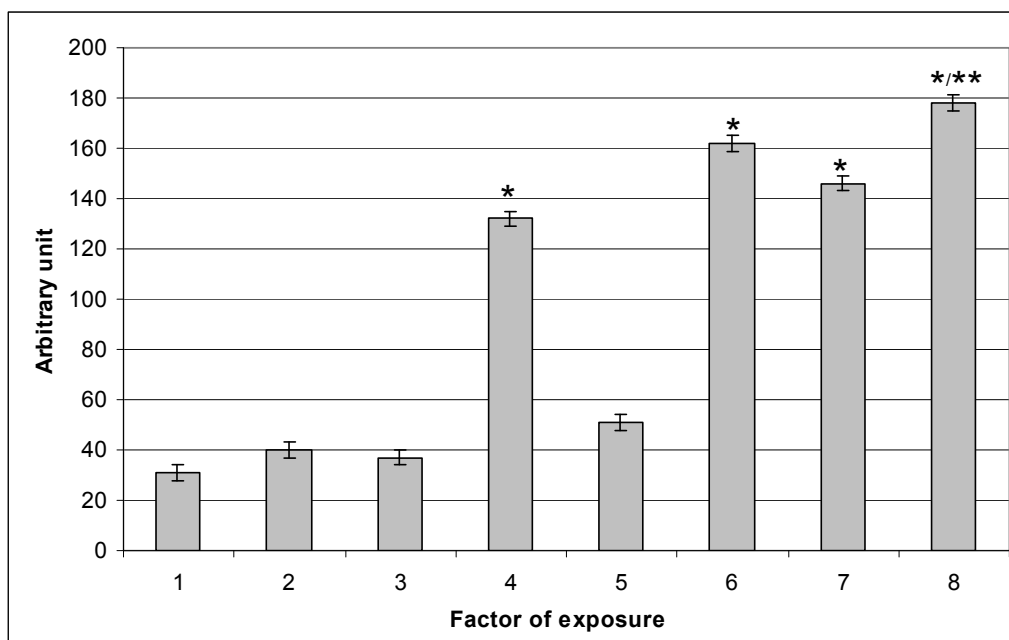


Fig. Thymocytes DNA damage according to comet assay. Exposition to MF LF 3 hours.
1- control; 2 – nanoporous silicon; 3 - MF LF; 4 - H₂O₂; 5 - nanoporous silicon + MF LF;
6 - nanoporous silicon + H₂O₂; 7 - H₂O₂ + MF LF; 8 - nanoporous silicon + H₂O₂ + MF LF.
Note: * - p<0,05 with respect to control; ** - p<0,05 respect peroxidation damage (0,1 mM H₂O₂).

Acknowledgement: The authors express their sincere thanks to the Department of Genetics, ESC "Institute of Biology" Kyiv National Taras Shevchenko University.

References

1. Collins A.R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Mol Biotech.* 26: 249-261.
2. Sobko V., Martynyuk V., Shevchenko V., Ratushna O. (2010). Effect of electromagnetic field with 8 Hz frequency on the cell injury and programmed cell death caused by nanostructured silicon and hydrogen peroxide. *Physics of the alive.* 18(2): 45-49.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ДЕГИДРИНА ПРИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ

Таланова В.В., Репкина Н.С., Толчичева Л.В., Титов А.Ф.

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
e-mail: nrt9@ya.ru

В природных условиях растения зачастую подвергаются комбинированному (одновременному или последовательному) воздействию нескольких неблагоприятных факторов внешней среды разной природы (например, низкой температуры и тяжелых металлов). В процессах адаптации растений к различным стресс-факторам важную роль играют дегидрины, относящиеся к группе II класса LEA (Late Embryogenesis Abundant) белков (1, 2). Установлено, что низкие температуры индуцируют экспрессию генов дегидринов (1). Однако данные об экспрессии генов дегидринов при одновременном действии двух факторов (низкой температуры и тяжелого металла) к настоящему моменту отсутствуют.

Эксперименты проводили на растениях озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39, находящихся на ранних стадиях онтогенеза, которые в течение 7 сут подвергали действию низкой закалывающей температуры (4°C), а также ее совместному действию с сульфатом кадмия (100 мкМ). Уровень экспрессии *DHN* гена дегидрина в листьях пшеницы анализировали методом ПЦР в режиме реального времени.

В ходе исследований установлено, что экспрессия гена *DHN* усиливается уже через 15 мин воздействия низкой температуры на проростки пшеницы и в дальнейшем остается на повышенном уровне. Через 1 сут уровень экспрессии гена *DHN* значительно возрастал (в 40 раз) и достигал максимального значения через 2 сут эксперимента. При продолжении холодового воздействия наблюдалось незначительное снижение (по сравнению с максимумом) уровня экспрессии этого гена.

При комбинированном (одновременном) воздействии низкой температуры и кадмия уже через 15 мин от его начала также происходило увеличение содержания транскриптов гена *DHN*. Затем уровень экспрессии гена *DHN*, продолжал увеличиваться и оставался на повышенном уровне в течение 1–2 сут. При длительных экспозициях (3–7 сут) отмечено суммирование эффектов воздействия двух стресс-факторов на экспрессию гена *DHN*, что приводило к значительному увеличению ее уровня.

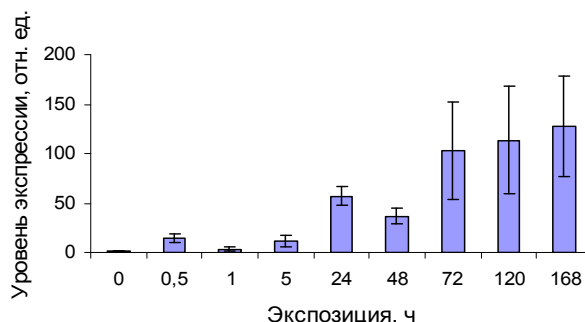


Рис. Изменение уровня экспрессии гена *DHN* при совместном действии низкой температуры (4°C) и кадмия (100 мкМ).

На основании полученных данных об усилении экспрессии гена *DHN* в листьях проростков пшеницы при адаптации к низкой температуре, а также совместном воздействии низкой температуры и кадмия, можно предположить его участие в неспецифических защитных реакциях растений, находящихся на ранних этапах онтогенеза, на действие стресс-факторов разной природы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-04-06550).

Литература

1. Аллагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Шакирова Ф.М., Вахитов В.А. (2003). Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции. *Биохимия*. 68(9): 1157-1165.
2. Chen K., Fessehaie A., Arora R. (2012). Dehydrin metabolism is altered during seed osmopriming and subsequent germination under chilling and desiccation in *Spinacia oleacea* L. cv. Bloomsdale: Possible role in stress tolerance. *Plant Sci*. 183: 27-36.

CHANGES IN DEHYDRIN GENE EXPRESSION UNDER WHEAT PLANTS ADAPTATION TO ADVERSE ENVIRONMENTAL FACTORS

Talanova V.V., Repkina N.S., Topchieva L.V., Titov A.F.

Institute of Biology of Karelian Research Centre of Russian Academy of Science. Petrozavodsk. Russia
e-mail: nrt9@ya.ru

In the nature plants are frequently subjected to the influence of combined (simultaneous or consecutive) affect of several different environmental stresses (for instance, low temperature and heavy metal). In plant adaptation to different stress factors dehydrins play an important role. They belong to group II of LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins (1, 2). It was established that dehydrin gene (*DHN*) induced by low temperature (1). However the data on the *DHN* expression under simultaneous influence of both factors (low temperature and heavy metal) are unknown today.

The research was performed on winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Moskovskaya 39 seedlings which affected by low hardening temperature (4°C) as well as combined influence of low temperature and cadmium sulphate (100 µM) for 7 days. The level of *DHN* expression in wheat leaves was analyzed by real-time PCR.

We showed that expression of *DHN* gene increased already after 15 min at low temperature influence on wheat seedlings and stayed at a later time on high level. After 1 day the level of *DHN* gene expression increased in 40 times and amount to the maximum on the second day of experiment. Prolongation of chilling affected was shown the decrease as compared with the maximum gene expression level.

Under combined (simultaneous) influence of low temperature and cadmium the content of *DHN* transcripts rose after 15 min from the treatment beginning. After that the level of *DHN* gene expression still grow up and stayed on higher level during 1–2 days. Under longer exposure (3–7 days) the additive effects of both factors on *DHN* expression was shown that lead to significant increase of it's level.

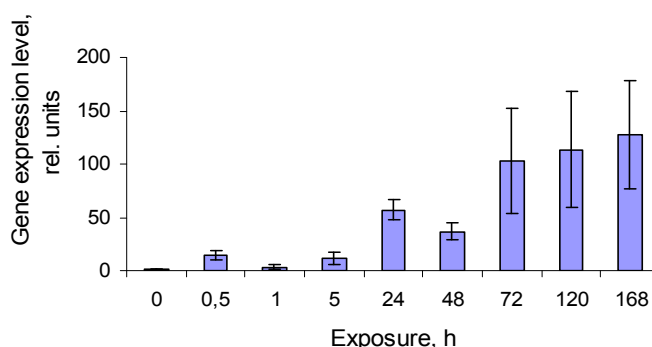


Fig. Changes of *DHN* expression under the combined affect of low temperature (4°C) and cadmium (100 µM)

Based on the findings of *DHN* gene expression in the leaves of wheat seedlings under cold adaptation as well as combined affect of two factors we have been suggested that *DHN* participated in nonspecific protective responses of plants on early period of ontogenesis to different stress factors.

Acknowledgements: This study was supported by Russian Foundation for Basic Research (project no. 10-04-06550).

References

1. Allagurova Ch.R., Gimalov F.R., Shakirova F.M., Vakhitov V.A. (2003). The plants dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry* (Moscow). 68(9): 1157–1165.
2. Chen K., Fessehaie A., Arora R. (2012). Dehydrin metabolism is altered during seed osmopriming and subsequent germination under chilling and dessication in *Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale: Possible role in stress tolerance. *Plant Sci.* 183: 27–36.

ПРИМЕНЕНИЕ СЛАБЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ КРАЙНИХ ЧАСТОТНЫХ ДИАПАЗОНОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДАПТАЦИИ К ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМУ ЭКРАНИРОВАНИЮ

Темурьянц Н.А., Костюк А.С., Туманянц К.Н.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: alexkostyuk@mail.ru

В настоящее время слабые электромагнитные поля (ЭМП) успешно применяются для повышения эффективности адаптационных реакций. Ранее нами было показано, что переменное магнитное поле (ПемП) частотой 8 Гц индукцией 50 нТл и электромагнитное излучение (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ) (42,2 ГГц, плотность потока мощности 10 мВт/см²) лимитируют развитие стресс-реакций, развивающихся на гипокинегию, воспаление, гипергравитацию у позвоночных (1, 2, 3). Возможность такого их действия у беспозвоночных не исследована. В связи с этим нами изучено их влияние на изменения ноцицепции, обусловленные электромагнитным экранированием (ЭМЭ).

Эксперименты выполнены на наземных моллюсках *Helix albescens*, широко распространенных на территории Крымского полуострова и применяемых в экспериментах для решения актуальных задач физиологии и биофизики.

Ослабление фонового ЭМП достигалось применением экранирующей камеры размером 2×3×2 м, изготовленной из двухслойного железа «Динамо». Внутри камеры для частот от 10⁴ до 30 Гц коэффициент экранирования магнитного поля (МП) находится в пределах трех–четырех, на промышленной частоте 50 Гц и кратных гармониках 150 и 250 Гц – около трех. Коэффициент экранирования постоянной компоненты МП составил: по вертикальной составляющей – 4,4 раза, по горизонтальной – 20 раз. Моллюски находились в камере 23 часа в затемненных условиях.

В качестве источника ЭМИ КВЧ использовали генератор «Явь-1». Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось по 30 минут ежедневно.

ПемП частотой 8 Гц и магнитной индукцией 50 нТл создавалось кольцами Гельмгольца и генератором ГРМ-3. Моллюски подвергались воздействию ПемП по 3 часа ежедневно.

О состоянии ноцицепции животных судили по латентному периоду реакции избегания в тесте «горячая пластинка». Эффект воздействия электромагнитных факторов оценивался по коэффициенту эффективности (КЭ) (4) ежедневно в течение 21-суточного эксперимента.

Статистическую обработку и анализ материала проводили с помощью параметрических методов. Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали *t*-критерий Стьюдента.

Анализ динамики КЭ при ЭМЭ позволил выявить фазные изменения ноцицепции моллюсков. I фаза заключалась в увеличении чувствительности животных к термостимуляции (гипералгезии) в течение 1-9 суток наблюдения, максимально выраженной на 6 день (КЭ = -14,74% (*P*<0,001)). II фаза характеризовалась постепенным снижением ноцицептивной чувствительности (гипоалгезия) животных в течение 7-15 дней, КЭ при этом достигал максимального значения на 15 день (11,25% (*P*<0,001)). III фаза заключалась в возвращении исследуемых показателей к исходному уровню данных, т.е. потере гипоалгетического эффекта.

Слабые крайних частотных диапазонов изменяют динамику и выраженность изменений параметров ноцицепции моллюсков. Показано, что воздействие ЭМИ частотой 42,2 ГГц и слабого ПемП частотой 8 Гц в камере модифицируют экранируемые изменения ноцицептивной чувствительности моллюсков, а именно: снижают выраженность гипералгезии, развивающейся при ЭМЭ, на 58% и 65% ((*P*<0,001)) соответственно и вызывают тенденцию к возрастанию гипоалгетического эффекта. Нами обнаружено, что эти эффекты опиоидобусловлены.

Таким образом, низкоинтенсивные ЭМИ КВЧ и ПемП СНЧ корректируют экранообусловленные изменения ноцицепции, причем этот эффект более выражен при действии ПемП СНЧ. В свою очередь ЭМЭ снижает антиноцицептивный эффект ЭМИ КВЧ и ПемП СНЧ. Эти факторы, как у моллюсков, так и позвоночных, увеличивают эффективность адаптационных реакций.

Полученные данные необходимо учитывать не только в клинической практике, но и при трактовке результатов исследований, в которых для исключения влияния электромагнитных шумов воздействие слабых ЭМП различных частотных диапазонов проводится в экранирующих камерах.

Литература

1. Сидякин В.Г. (1986). Влияние глобальных экологических факторов на нервную систему. Киев: Наукова думка. 160.
2. Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Евстафьева Е.В. (1986). Некоторые биохимические и морфологические изменения крови крыс при воздействии ПемП ИНЧ. Космическая биология и авиакосмическая медицина. № 4: 90–91.
3. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Московчук О.Б., Чирский Н.В., Верко Н.П., Туманянц Е.Н., Пономарева В.П. (2003) Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. Монография. Симферополь: ЧП «Эльиньо», 448 с.
4. Prato F.S., Kavaliers M., Thomas A.W. (2000). Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions. Bioelectromagnetics. 21: 287–301.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

APPLICATION OF WEAK ELECTROMAGNETIC FIELDS OF EXTREME FREQUENCY RANGES FOR IMPROVING EFFICIENCY OF ADAPTATION TO ELECTROMAGNETIC SHIELDING

Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K.N.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: alexkostyuk@mail.ru

At present, weak electromagnetic fields (EMF) are successfully used in order to increase the effectiveness of adaptation reactions. We have previously shown that the variable magnetic field (VMF) of frequency of 8 Hz, 50 nT induction and electromagnetic radiation (EMR) of extremely high frequency (EHF) (42.2 GHz, power density 10 mW/cm²) limit the development of stress reactions, which are developing in case of hypokinesia, inflammation, hypergravity of vertebrates (1,2,3). The possibility of such influence on invertebrates has not been investigated. In connection to this, we have studied their influence on variation of nociception, caused by electromagnetic shielding (EMS).

The experiments were carried out on land snails *Helix albescens*, which are widely spread at the Crimean peninsula and aimed at the solving the most important problems of physiology and biophysics.

The weakening of the magnetic field (MF) was reached by means of the usage of shielding chamber by a 2×3×2 meter, made from "Dynamo" steel. The shielding coefficient of MF is within three-four commercial types inside of the chamber for the frequency from 10⁻⁴ to 30 Hz, for the power frequency of 50 Hz and multiple harmonics of 150 and 250 Hz – about three. The shielding coefficient of the constant component was 4.375 in the vertical component and 20 in the horizontal component. The snails remained in the chamber for 23 hours in the dark conditions.

The generator "Yav-1" was used as a source of EMR EHF. The influence of EMR EHF was performed for 30 minutes daily.

The 8 Hz, 50 nT variable magnetic field was generated by the Helmholtz coils (diameter is 1 meter) and a generator-3. The snails were exposed to the field during 3 hours every day.

The state of nociception of animals was judged on the basis the threshold (T) and the latent period (LP) of reaction in the "hot plate" test. The effects of the influence of electromagnetic factors was appreciated on the basis of the efficiency coefficient (EC) (4) every day during the 21-day experiment.

Statistical and data analyses were performed with the help of parametric methods. The order to appreciate the criteria of reality of observed changes Student's t-criterion was used.

The analysis of the dynamic of EC in EMS allowed to reveal phase changes in nociceptive of the snails. The aim of the phase I was to increase the sensitivity of animals during days 1-9 (hyperalgesia), that peaks on the 6th day (EC = -14,74% (P<0.001)). The phase II was characterised by gradual decreasing of nociceptive sensitivity (hypoalgesia) of animals during the period of 7-15 days, EC reached its maximum point on the 15th day (11,25% (P<0.001)). The phase III was characterised by returning of the studied parameters to the initial stage, this fact means the loss of the analgesic effect.

Weak EMF change the dynamics and strength of changes of snails nociception parameters. It was shown that the influence of EMR of frequency of 42.2 GHz and weak VMF of frequency of 8 Hz in the chamber modifies shielding-induced changes in nociceptive sensitivity of snails, such as: they decrease the strength of hyperalgesia, which is developing during the EMS, on 58% and 65% (P<0.001) respectively, and cause a tendency of increasing of hypoalgetic effect. We have found that then effects are an opioid-mediated.

Thus, the low-intensity EMR EHF and VMF correct shielding-induced changes of nociception, and this effect is more strong in case of the influence of VMF. In its turn, EMS decreases the antinociceptive effect of EMR EHF and VLF. These factors both for snails and vertebrates, increase the efficiency of adaptive reactions.

Received data should be considered not only in clinical practice, but also while interpretation of the results of investigations, in which the influence of weak EMF of different frequency ranges, is carried out in the shielding chamber, in order to avoid the influence of electromagnetic noise.

References

1. Сидякин В.Г. (1986). Влияние глобальных экологических факторов на нервную систему. Киев: Наукова думка. 160.
2. Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Евстафьева Е.В. (1986). Некоторые биохимические и морфологические изменения крови крыс при воздействии ПемП ИНЧ. Космическая биология и авиакосмическая медицина. № 4: 90–91.
3. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Московчук О.Б., Чирский Н.В., Верко Н.П., Туманянц Е.Н., Пономарева В.П. (2003) Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. Монография. Симферополь: ЧП «Эльиньо», 448 с.
4. Prato F.S., Kavaliers M., Thomas A.W. (2000). Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions. *Bioelectromagnetics*. 21: 287–301.

РОЗВИТОК АДАПТАЦІЙНИХ РЕАКЦІЙ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ПІСЛЯ ЕКСПОЗИЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Трахтенберг І.М., Короленко Т.К., Дмитруха Н.М.

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», Київ, Україна

Проблема адаптації здавна знаходиться у колі наукових інтересів фахівців з профілактичної токсикології. В першу чергу це проблема адаптаційних, передпатологічних і патологічних реакцій організму на дію екзогенних хімічних речовин. Інтенсивне забруднення довкілля неминує породжує питання - до якого ступеня організм людини може протидіяти зростаючому хімічному навантаженню, які при цьому його потенційні можливості, як і якою мірою їх слід враховувати при пошуках засобів профілактики та лікування отруєнь.

Метою роботи було вивчення формування адаптації у щурів різних вікових груп за умови впливу низьких доз сполук важких металів (хлорид ртуті, ацетат свинцю та хлорид марганцю).

В умовах експерименту досліджували вплив сполук важких металів (доза 1/100 ЛД₅₀) на процес гліколізу, показники функціонального стану центральної нервової (ЦНС) та серцево-судинної системи (ССС), неспецифічної резистентності організму (НРО) молодих (3-3,5 місяці) та старих (22-23 місяці) нелінійних білих щурів самців після 10, 30, 45, 60 діб експерименту.

Дослідження процесу гліколізу у тканині печінки молодих і старих щурів, які зазнавали впливу зазначених вище токсикантів виявило зниження активності цього процесу як на ранніх (після 10 введень), так і на пізніх стадіях (після 60 введень), більш значиме у старих тварин. Одночасно у піддослідних тварин були виявлені значні відхилення в активності лужної фосфатази печінки, які мали специфіку для кожного токсиканта. Встановлені порушення були більш значними у старих тварин особливо за дії солей свинцю і ртуті, менш помітними при дії хлориду марганцю. Хронічна експозиція важкими металами викликала зміни функціонального стану ЦНС піддослідних тварин - пригнічення пізнавально-рефлекторної діяльності внаслідок переваги гальмівних процесів в корі головного мозгу, які були більш значними у групі старих тварин, що пов'язано з віковим підвищенням чутливості нервових центрів до гуморальних подразників. За даними ЕКГ введення хлориду марганцю протягом 60 днів у молодих і старих щурів призводило до збільшення частоти серцевих скорочень, появи ознак погіршення провідності, розвитку дифузних ушкоджень міокарду і порушення розслаблення серцевого м'язу. Зазначені зміни були більш вираженими і стійкими у старих тварин порівняно з молодими. Ознаками токсичного впливу ацетату свинцю і хлориду ртуті на ССС були гіпокальцімія, дифузне ушкодження міокарду особливо у групі старих тварин, а також порушення провідності і скорочення діастолі у тварин обох вікових груп. Встановлені порушення були виражені у ранні терміни спостереження і слабшали з подовженням терміну експерименту. Внутрішньоочеревинне введення розчинів солей металів молодим та старим щурам призводило до зміни показників НРО (фагоцитарна і бактерицидна активність нейтрофілів крові, імунні комплекси), які є учасниками запальних процесів. Виявлені зміни залежали від токсичних властивостей солей даних важких металів та від вікових особливостей реакції організму молодих та старих піддослідних тварин. Старі тварини були більш вразливими до хронічної дії сполук металів, ніж молоді, що обумовлено віковими особливостями функціонування імунної системи, а також тим, що у молодому організмі значно вищий рівень метаболічних реакцій та обмінних процесів, а також більш виражені компенсаторно-приспосувальні реакції.

Отже, одержані результати дозволяють дійти висновку, що зміни показників, які характеризують стан ЦНС і ССС, неспецифічну резистентність організму, після експозиції важкими металами можуть свідчити про зниження пристосувальних можливостей організму в обох групах піддослідних щурів та їхнє виснаження у старих тварин порівняно з молодими.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DEVELOPMENT OF ADAPTATION REACTIONS IN RATS OF DIFFERENT AGE GROUPS AFTER EXPOSURE OF HEAVY METALS

Trachtenberg I.M., Korolenko T.K., Dmytrukha N.M.

Institute for occupational health NAMS Ukraine, Kyiv, Ukraine

The problem of adaptation is in the center of scientific interests of preventive toxicologist a long time. First of all it is a problem of adaptation, pre-pathological and pathological reactions of organism on the action of exogenous chemicals.

The intensive contamination of environment inevitable generates a question - to what degree the human organism can counteract to the growing chemical loading, that here him potential possibilities, as well as in which measure them it follows to take into account at the searches of prevention and treatment of poisoning means .

The aim was to study the formation of adaptive reaction in rats of different age groups provided the influence of low doses of heavy metal compounds (mercury chloride, lead acetate and manganese chloride).

In the experiment investigated the effects of heavy metal compounds (dose 1/100 LD₅₀) on the glycolysis process, indices of functional state of central nervous system (CNS) and cardiovascular system (CVS), the nonspecific resistance (NSR) of young (3-3.5 months) and old (22-23 months) white rats males after 10, 30, 45, 60 days of the exposure.

The research of glycolysis in liver tissue of young and old rats exposed to these toxicants revealed decreased of this process activity as early (after 10 days) and at later stages (after 60 days) and more significant in older animals. At the same time the significant rejections of liver alkaline phosphatase activity specific for each of toxicants were found in the experimental animals. Established violations were more important in older animals especially of lead and mercury salts, less noticeable at the action of manganese chloride

Chronic exposure to heavy metals caused changes of CNS functional state in the experimental animals - cognitive inhibition of reflex activity due to the benefits braking processes in the brain cortex that were more significant in the older animals, due to age increase sensitivity of nerve centers to humoral stimulation. According to the ECG data exposure to manganese chloride for 60 days resulted in increased heart rate, signs of deterioration conductivity of diffuse myocardial damage and disturbance of relaxation of cardiac muscle in young and old rats. The marked changes were more expressed and proof for old animals comparatively with young.

The signs of toxic effects of lead acetate and mercuric chloride on the CVS were hypokaltsimiya, diffuse myocardial injury especially in a group of old animals, as well as conduction and diastolic reduction in both age groups. Established violations were expressed in early stages of observation and weakened with lengthening the term of the experiment. Injection of metals salts solutions to young and old rats resulted in changes of NSR (phagocytic and bactericidal activity of blood neutrophils, levels of immune complexes) which are the components of inflammation. Revealed changes depended on the toxic properties of heavy metals and from the age features reactions in young and old experimental animals Older rats were more vulnerable to chronic effects of metals than young due to the peculiarities of the immune system function and the fact that a young body considerably higher level of reactions and metabolic processes, as well as more expressed compensatory-adaptive reactions.

Thus, the obtained results allow conclude that changes in parameters that characterize the state of the central nervous system and cardiovascular system, nonspecific resistance after heavy metal exposure may indicate a decrease in organism adaptive reaction in both groups of experimental rats and their depletion in old animals compared to young.

СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ФУНГИЦИДА И БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ

Хархун Е.В., Полякова А.В., Ким Д.А.

Южный Федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия
e-mail: baranovaev27@rambler.ru

Развитие современной защиты растений трудно представить без все возрастающей роли биологического метода. В современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур все активнее, наряду с удобрениями и химическими средствами защиты, используют биопрепараты. В последние годы аэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии рода *Pseudomonas* активно исследуются как объекты биологической борьбы с бактериальными и грибными заболеваниями сельскохозяйственных культур.

Поэтому цель настоящей работы – сравнить влияние биопрепарата на основе *Pseudomonas aureofaciens* и химического фунгицида на микробиологическую активность почвы.

Экспериментальные партии биопрепарата получали глубинным культивированием бактерий псевдомонад в колбах при температуре 27 °С в течение 2 суток на оптимизированной питательной среде. Титр готового бактериального препарата составлял $6,0 \pm 0,08 \cdot 10^9$. Использовались две формы биопрепарата: жидкая и на носителе-торфе. Семена обрабатывали биопрепаратом в норме 1 л/т. В качестве химического фунгицида был взят «Дивиденд стар», вносился в соответствии с рекомендованными нормами расхода.

Отбор образцов почвы производился на глубине 0-20 см (верхний слой) в летний период, после покоса ячменя, по методу «конверта». Исследованию подвергались объединенные (интегральные) пробы.

Для выделения и учета основных физиологических групп микроорганизмов, таких как бактерии и актиномицеты, использовали метод посева на питательные среды МПА и КАА, соответственно. Численность исследуемых групп выражали в КОЕ / г почвы. Относительное содержание свободноживущих аэробных азотфиксаторов определяли методом обрастания почвенных комочков на среде Эшби и выражали в процентах (1). Учёт термофильных сапрофитных микроорганизмов производили на МПА после инкубации в течение 24 ч при температуре 50° С и выражали в КОЕ / г почвы (2).

Из таблицы видно, что при использовании химического фунгицида характерно снижение микробиологической активности. Так количество бактерий в почве после применения химического фунгицида почти в 4 раза ниже, чем после использования жидкой формы биопрепарата. Так же уменьшается численность актиномицетного сообщества в 1,6 раза при внесении химического фунгицида в сравнении с биопрепаратом в жидкой форме.

Таблица

Микробиологическая активность почвы

Образец почвы	Бактерии ($\times 10^5$ КОЕ / г почвы)	Актиномицеты ($\times 10^4$ КОЕ / г почвы)	Azotobacter (%)	Количество термофильных микроорганизмов, КОЕ / г почвы
Без препаратов	$0,14 \pm 0,015$	$6,64 \pm 0$	70,66	$55,37 \pm 2$
Биопрепарат на носителе	$0,86 \pm 0,095$	$10,5 \pm 1,5$	92,67	$83,06 \pm 1$
Жидкая форма биопрепарата	$2,05 \pm 0,35$	$7,87 \pm 0,22$	99,33	$73,07 \pm 7$
Химический фунгицид	$0,5 \pm 0,06$	$4,98 \pm 0,25$	84,67	$88,59 \pm 4$

Процентное содержание азотобактера при использовании химического фунгицида снижается на 14,66 % в отличие от биопрепарата. Однако количество термофильных микроорганизмов в почве увеличивается на 15,52 после применения химического препарата в сравнении с жидкой формой биопрепарата.

Суммируя полученные данные, можно отметить, что применение химических фунгицидов ведет к снижению микробиологической активности и к негативным изменениям почвы.

Литература

1. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 602 с.
2. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология / Под ред. А.С. Лабинской – М.: Изд-во БИНОМ, 2008. – 108 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

COMPARING OF INFLUENCES OF CHEMICAL FUNGICIDE AND BIOLOGICAL PREPARATION ON A MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF A SOIL

Kharkhun E.V., Polyakova A.V., Kim D.A.

Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia
e-mail: baranovaev27@rambler.ru

It is difficult to imagine the development of modern plant protection without increasing role of the biological method. Along with fertilizers and chemical means of protection, biological preparations are using more actively in modern technologies of cultivation of agricultural crops. Asporogenous aerobic gram-negative bacterias of the *Pseudomonas* genus have been intensively researched as objects of biological control of bacterial and fungal diseases of agricultural crops in recent years.

That is why the purpose of this work is to compare influence of biological preparation based on *Pseudomonas aureofaciens* with influence of chemical fungicide on the microbiological activity of a soil.

Experimental parties of the biological preparation were obtained with deep cultivation of *Pseudomonas bacterias* on an optimized nutrient medium in flasks at a temperature of 27 centigrades within 2 days. Titer of finished bacterial preparation was $6,0 \pm 0,08 \cdot 10^9$. Two forms of biological preparation were using: liquid and on a peat. Seeds were processed with biological preparation in rate of 1 l/t. "Dividend star" was taken as chemical fungicide. It was added in accordance with the recommended standards of consumption rate.

Soil samples were selected at a depth of 0-20 cm (upper layer) using "envelope" method. It was during summer after mowing of barley. Combined (integral) samples were researched.

Method of sowing on nutrient mediums was using for selecting and counting of basic physiological groups of microorganisms. Nutrient medium MPA was using for bacterias. SAA was using for actinomycetes. The number of researched groups was in CFU/g of soil. The relative content of aerobic nitrogen fixers was determined by method of fouling of soil lumps on the Ashby medium. It was shown in a percentage (1). Counting of thermophilic saprophytic microorganisms was produced on the MPA medium after incubation at temperature of 27 centigrades within 24 hours. It was shown in CFU/g of soil (2).

As the table shows, using of chemical fungicide leads to reduction of microbiological activity. So, the number of bacterias in soil after using chemical fungicide is in 4 times less than after using of biological preparation in liquid form. Also the number of actinomycetes is in 1,6 times less.

Table

Microbiological activity of a soil

Soil sample	Bacterias, ($\times 10^5$ CFU/g of soil)	Actinomycetes, ($\times 10^4$ CFU /g of soil)	Azotobacter , (%)	Number of thermophilic microorganisms, CFU/g of soil
Without preparations	0,14 $\pm$ 0,015	6,64 $\pm$ 0	70,66	55,37 $\pm$ 2
Biological preparation on a peat	0,86 $\pm$ 0,095	10,5 $\pm$ 1,5	92,67	83,06 $\pm$ 1
Luquid form of biological preparation	2,05 $\pm$ 0,35	7,87 $\pm$ 0,22	99,33	73,07 $\pm$ 7
Chemical fungicide	0,5 $\pm$ 0,06	4,98 $\pm$ 0,25	84,67	88,59 $\pm$ 4

The percentage of *Azotobacter* is decreased on 14,66% when using chemical fungicide in contrast to the biological preparation. And number of thermophilic microorganisms is increased on 15,52% when using chemical preparation.

In summary of receiving data it can be noted that the using of chemical fungicides leads to a reduction of microbiological activity and negative changes of a soil.

References

1. Microbiological workshop(2005) / Edition by A.I.Netrusov. Moscow: Academy, p.602.
2. Medical microbiology manual (2008). Common and sanitarian microbiology / Edition by A.S.Labinskaya, Moscow: BINOM, p.108

КРАЙНЕ НИЗКОЧАСТОТНОЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ПОЛЕ КАК ФАКТОР МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ АКТОМИОЗИНА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Цейслер Ю.В., Шелюк О.В., Мартынюк В.С.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com, shelyuk_olga@ukr.net

Важнейшим сократительным элементом мышечных волокон является актомиозиновый комплекс, АТФ-азная активность которого играет ключевую роль в сократительной деятельности мышцы. Факторы как химической, так и физической природы способны модифицировать АТФ-азную активность актомиозина, и тем самым влиять на деятельность мышечной ткани. Среди таких факторов рассматривают и электромагнитные поля с частотными характеристиками близкими к природным электромагнитным вариациям. Давно известно, что разные системы организма человека и животных проявляют неодинаковую чувствительность к электромагнитным полям крайне низкой частоты (ЭМП КНЧ), однако их влияние на уровне мышечных компонентов изучены недостаточно. В связи с этим, целью нашего исследования была оценка изменения АТФ-азной активности актомиозина скелетных мышц в зависимости от длительности экспозиции в ЭМП КНЧ.

В исследовании определяли Mg^{2+}/Ca^{2+} - и K^{+} -АТФ-азную активность актомиозина скелетных мышц кролика по методу Fiske С.Н. и Subbarow G. Экспозиции растворов актомиозина (2 мг/мл) в ЭМП КНЧ составляла 1, 2, 3, 4 и 5 часов при физиологической температуре. ЭМП частотой 8 Гц и индукцией 25 мкТл создавали посредством генератора сигналов специальной формы Г6-28 и колец Гельмгольца. Характеристики ЭМП были выбраны на основе ранее установленной высокой биологической активности и геофизической значимости. Экспериментальные образцы помещали в систему колец Гельмгольца, контрольные пробы находились в условиях фоновых значений ЭМП. Для оценки возможного влияния уровня фоновых ЭМП в местах расположения опытных и контрольных образцов проводили эксперименты с ложным воздействием ЭМП. В данной серии экспериментов опытные образцы помещали в кольца Гельмгольца, но не подвергали электромагнитному облучению. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием общепринятых алгоритмов статистического анализа.

Результаты изучения АТФ-азной активности актомиозина в условиях электромагнитного воздействия показали, что изменения данного показателя характеризуются довольно сложной временной динамикой: через 1, 2 и 4 часа экспозиции белковых растворов действие ЭМП КНЧ угнетает АТФ-азную активность ($p < 0.05$) в сравнении с контрольными образцами, которые не подвергались действию поля, к третьему и пятому часам экспозиции в электромагнитном поле происходит достоверное ($p < 0.05$) увеличение АТФ-азной активности актомиозина. Необходимо отметить, что подобный характер изменений активности фермента был универсальным, как для среды с ионами Mg^{2+} и Ca^{2+} , так и в отсутствии данных ионов в буфере (см. рис). При сравнении значений активности фермента контрольных образцов и подвергнутых ложному воздействию достоверных отличий выявлено не было, что позволяет пренебречь возможным влиянием фоновых электромагнитных полей и других неконтролируемых в эксперименте факторов. Наблюдаемые изменения ферментативной активности белкового комплекса в ответ на действие ЭМП КНЧ свидетельствуют о колебательном характере изменений структурно-функциональных свойств актомиозина в растворе, характерных для неравновесной системы. Подобные колебания в растворах белков наблюдали в исследованиях с влиянием ЭМП в условиях неспецифического насыщения белка углеводородами [1,2].

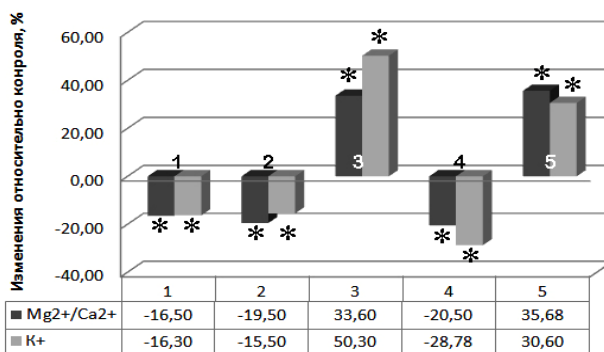


Рис. Изменение Mg^{2+}/Ca^{2+} - и K^{+} -АТФ-азной активности (%) во времени (ось х, час) под действием ЭМП КНЧ (n=50).

* - достоверные различия относительно контрольных значений $p < 0,05$.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о способности крайне низкочастотных ЭМП влиять на сократительную активность скелетных мышечных структур. При этом направленность и величина изменений в свою очередь зависит от времени экспозиции.

Литература

1. Мартынюк В.С., Шадрин О.Г. Влияние переменного магнитного поля крайне низкой частоты на растворимость бензола в воде и растворах белка // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1999. – № 2. – С. 61-63.
2. Martynuk V.S., Tseysler Yu. V. The Hydrophobic-Hydrophilic Balance in Water Solution of Proteins as The Possible Target for Extremely Low Frequency Magnetic Fields // In: Biophotonics and Coherent Systems in Biology - Berlin-Heidelberg- New York: Springer, 2006. – P. 105 – 122.

ELECTROMAGNETIC FIELDS OF EXTREMELY LOW FREQUENCY AS A MODULATORY FACTOR OF SKELETAL MUSCLE ACTOMYOSIN ACTIVITY

Tseyslyer Yu.V., Shelyuk O.V., Martynyuk V.S.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kiev, Ukraine
e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com, shelyuk_olga@ukr.net

The actomyosin complex is the most important element of the contractile muscle fibers. Actomyosin ATPase activity plays a primary role in the contractile activity of muscles. Chemical and physical factors can modify the ATPase activity of actomyosin and thereby influence the activity of muscle tissue. Electromagnetic field with frequency similar to natural electromagnetic variations also considered among these factors. It is well known that the different functional systems of humans and animals exhibit unequal sensitivity to electromagnetic fields of extremely low frequency (EMF ELF), but their effect on the level of the muscle components are not well understood. Therefore, the aim of our study was to evaluate changes in the ATPase activity of actomyosin of skeletal muscle, depending on the duration of exposure to EMF ELF.

Mg²⁺/Ca²⁺ and K⁺-ATPase actomyosin activity of rabbit skeletal muscle was determined by the method of Fiske CH and Subbarow G. Actomyosin solutions (2 mg/ml) was exposed to EMF ELF - 1, 2, 3, 4 and 5 hours at physiological temperature. EMF ELF frequency of 8 Hz and 25 μ T induction were created using a special form signal generator G6-28 and the Helmholtz coils. Characteristics of EMF have been selected on its high biological activity and geophysical significance. Experimental samples were placed in a Helmholtz coils system, whereas the control samples were in the background levels of EMF. To assess the possible influence of background levels of EMF in the locations the experimental and control samples have been experimenting with a false EMF exposure. Test samples were placed in a Helmholtz rings but not subjected to electromagnetic radiation in this series of experiments. Statistical analysis was performed by means of conventional algorithms for statistical analysis.

The results of the study of the ATPase activity of actomyosin upon electromagnetic exposure have shown statistically significant changes that are characterized by a rather complex temporal dynamics. After 1, 2 and 4 hours of exposure of protein solutions the effect of ELF EMF exposure inhibits the ATPase activity ($p < 0.05$) compared to control samples, which are not exposed to the magnetic field. By the third and fifth hours of exposure to the electromagnetic field, there is significant ($p < 0.05$) increase in the ATPase activity of actomyosin. It should be noted that a similar pattern of change in enzyme activity was universal, both for the environment by Mg²⁺ and Ca²⁺, and in the absence of these ions in the buffer (see figure). When comparing the values of the enzyme activity of control samples and subjected to a false effect the significant differences were found. This allows us to neglect the possible influence of background electromagnetic fields and other uncontrollable factors in the experiment. The observed changes in enzyme activity of the protein complex in response to EMF ELF shows an oscillatory nature of the changes in structural and functional properties of actomyosin that testify to a nonequilibrium state of such colloidal system. Similar fluctuations in solutions of proteins was observed in studies of the influence of EMF ELF in terms of nonspecific saturation of protein by hydrocarbons [1,2].

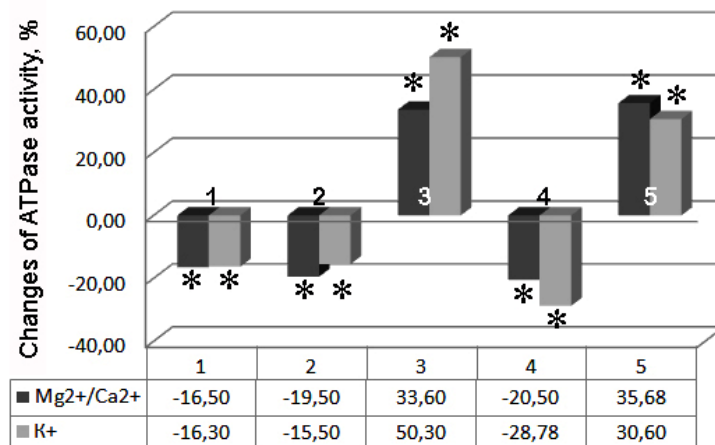


Fig. Change the Mg²⁺/Ca²⁺ and K⁺-ATPase activity (%) over time (x-axis, h) upon influence of EMF ELF (n=50).
* - Significant differences relative to control values, $p < 0.05$.

Thus, our findings suggest that extremely low frequency EMF can alter the contractile activity of skeletal muscle tissues. The direction and magnitude of the EMF-induced changes depends on exposure time.

Reference

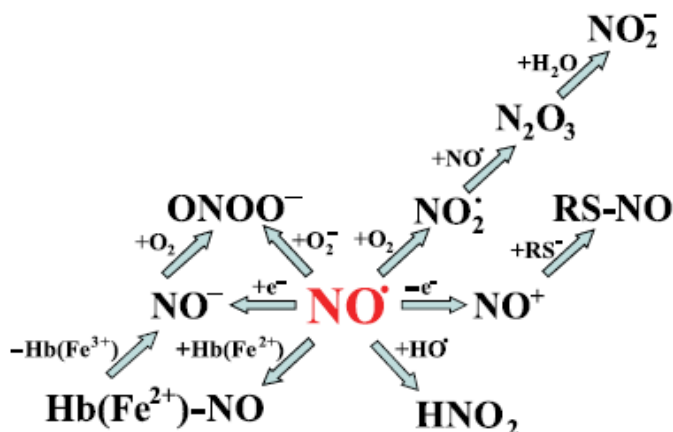
1. Martynyuk V.S., Shadrina O.G. Influence of alternating magnetic fields of extremely low frequency on the solubility of benzene in water and solutions of the protein // Biomedical electronics. - 1999. - № 2. - P. 61-63. (rus)
2. Martynyuk V.S., Tseyslyer Yu. V. The Hydrophobic-Hydrophilic Balance in Water Solution of Proteins as The Possible Target for Extremely Low Frequency Magnetic Fields // In: Biophotonics and Coherent Systems in Biology - Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 2006. - P. 105 - 122.

МЕТАБОЛИТЫ ОКСИДУ АЗОТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Цудзевич Б.О., Калінін І.В., Полякова В.В., Омельченко Ю.О., Петрук Н.А.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: ikalin@rambler.ru

Оксид азоту (NO) та його метаболіти, відіграють важливу роль у різноманітних біологічних процесах. З NO пов'язані: передача сигналів нейронами, медіатори внутрішньоклітинної й міжклітинної взаємодії, імунні реакції, репродуктивні функції. Метали змінної валентності також приймають участь в реакціях з NO і його похідними, наприклад, іони міді і заліза можуть утворювати комплекси, сприяючи взаємоперетворенню редокс-форм, NO може нітрозилувати SH-групи металотіонеїнів і білків, що приймають участь в метаболізмі міді. Основні реакції оксиду азоту представлено на рисунку нижче (А.Н. Осипов и др., 2007).



Метою роботи було дослідження метаболітів циклу оксиду азоту: NO-синтази (NOS та iNOS), нітриту, нітрати у печінці щурів інтоксикованих важкими металами (Cu, Zn, Cd, Pb).

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях одного віку, масою 180-200 г. Було утворено п'ять груп тварин: перша – інтактні (контроль), друга – тваринам перорально вводили розчин міді сульфату в дозі 3 мг/кг, що становить 1/10 від ЛД₅₀, третя – щурам перорально вводили розчин цинку сульфату в дозі 2 мг/кг, що становить 1/20 від ЛД₅₀, четверта – тваринам перорально вводили розчин кадмію сульфату в дозі 1,5 мг/кг, що становить 1/30 від ЛД₅₀, п'ята – тваринам перорально вводили розчин свинцю азотнокислого в дозі 1,7 мг/кг, що становить 1/50 від ЛД₅₀. Щурів декапітували під ефірним наркозом і відбирали тканини печінки для подальших досліджень. Робота проводилась відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту тварин, яких використовують у наукових цілях.

За умов інтоксикації міддю сірчаноокислою і цинку сульфатом активність загальної NOS у печінці щурів змінюється незначно (збільшується у 1,5 рази), порівняно з контролем. Активність у печінці NOS за умов дії іонів кадмію та іонів свинцю збільшується у 4 і 3 рази, відповідно, у порівнянні з контрольними тваринами. Вміст нітриту в печінці у 2 і 3 групах залишався стабільним, а в 4 і 5 зменшився у 1,5 рази. Вміст нітратів інтоксикованих щурів, збільшився у 1,5 рази – 2 і 3 групи, у 4 рази – 4 група та в 3 рази у 5 групі, відносно контрольної групи тварин.

Таким чином, отримані дані вказують на порушення метаболічних процесів в токсично ураженій важкими металами печінці, що можна розглядати як адаптивну відповідь на запальні процеси та нейтралізацію реактивних радикальних форм кисню.

Adaptive Strategies of Living Systems

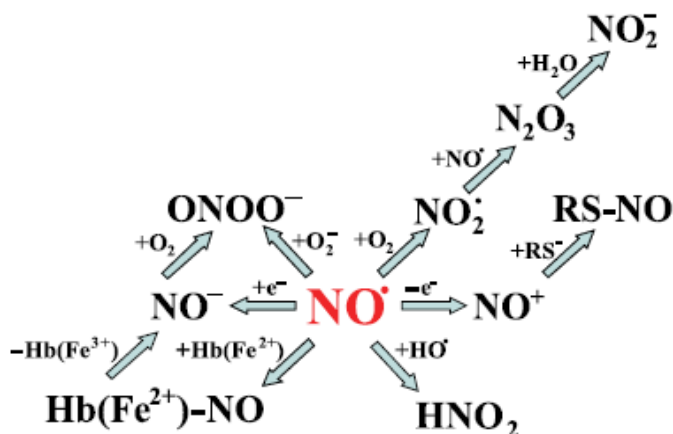
June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

METABOLITES NITRIC OXIDE OF RAT LIVER DURING INTOXICATION BY HEAVY METALS

Tsudzevich B., Kalinin I., Poliakova V., Omelchenko J., Petruk N.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
E-mail: ikalin@rambler.ru

Nitric oxide (NO) and its metabolites play an important role in various biological processes. With NO related: transmitting neurons, intracellular mediators and intercellular interactions, immune response, reproductive function. Variable valency metals also participate in the reactions of NO and its derivatives, such as copper and iron ions can form complexes, promoting *vzayemoperetvorennuyu* redox forms, NO may nitrolysis SH-groups of metallothioneins and proteins involved in metabolism of copper. The main reaction of nitric oxide are presented in the figure below (A. Osipov and others, 2007).



The aim of the study were metabolites of nitric oxide cycle: NO-synthase (NOS and iNOS), nitrite, nitrate in the liver of rats Intoxicated with heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb).

The investigation was performed on white nonlinear rats-male same age, weighing 180-200 g. They were formed in five groups of animals: the first - intact (control), the second - the animals orally administered solution of copper sulphate in doses of 3 mg/kg, which is 1/10 of LD₅₀, the third - rats injected peroralno solution of zinc sulfate at a dose of 2 mg/kg, which is 1/20 of LD₅₀, the fourth - the animals orally administered solution of cadmium sulfate at a dose of 1.5 mg/kg, which is 1/30 of the LD₅₀, the fifth - the animals orally administered solution of lead nitrate at a dose of 1.7 mg/kg, which is 1/50 of LD₅₀. After the experiment, rats were decapitated under ether anesthesia and liver tissue were taken for further research. The work was carried out in accordance with Council of Europe conventions on the protection of animals used for scientific purposes.

When copper sulphate intoxication and zinc sulfate activity of total NOS in rat liver varies slightly (increased by 1.5 times) compared with controls. NOS activity in the liver under the effect of cadmium ions and ions of lead increases in 4 and 3, respectively, compared with control animals. The content of nitrite in the liver in groups 2 and 3 remained stable, while in 4 and 5 decreased by 1.5 times. Content of nitrates Intoxicated rats increased by 1.5 times - 2 and 3 groups of 4 times - group 4 and 3 times in 5 groups, relative to the control group animals.

Thus, the findings indicate a violation of metabolic processes in toxic heavy metals affected the liver, which can be viewed as adaptive response to inflammation and neutralize reactive radical oxygen species.

РОЛЬ МИКРОСОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ В АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ

Чуян Е.Н., Раваева М.Ю., Трибрат Н.С., Коцюруба А.В., Пучкова А.З.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: mravaeva@ukr.net

Методом лазерной доплеровской флоуметрии у 70 студентов-волонтеров женского пола в возрасте 21-23 года исследовались микроциркуляторные процессы в условиях ежедневного 10-тикратного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) в течение 30 минут на область биологически активной точки GI-4 правой руки.

Реакции микрососудистого эндотелия на ионофоретическое введение ацетилхолина хлорида (АХ) и нитропруссид натрия (НП) исследовали с использованием фармакологической пробы, которую проводили до воздействия ЭМИ КВЧ, а также сразу после окончания первого, пятого и десятого сеансов мм-излучения с помощью прибора для проведения функциональных проб «ЛАКК-ТЕСТ» (Россия, «Лазма») с использованием ионофоретического пробника по следующей схеме: регистрация исходного уровня тканевого кровотока в течение 1-ой минуты → регистрация кровотока во время проведения ионофореза 1% раствором АХ в течение 3-х минут при силе тока 5 мкА → регистрация динамики перфузии в период восстановления после ионофореза в течение 6-ти минут. По аналогичной схеме проводили фармакологическую пробу с 1% раствором НП.

При курсовом действии мм-излучения наблюдалось увеличение функциональной активности микрососудистого эндотелия. При этом, после первого, пятого и десятого сеансов КВЧ-воздействия происходил рост уровня функциональной активности эндотелия (ФАЭ) на 48,39% ($p \leq 0,05$), 78,76% ($p \leq 0,05$) и 63,98% ($p \leq 0,05$) соответственно. Кроме того, уже в период восстановления после первого сеанса КВЧ-воздействия отмечалось увеличение амплитуд эндотелиальных ритмов $Az(AX/НП)$ на 35,20% ($p \leq 0,05$). После пятого и десятого сеансов воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ отмечался прирост данного показателя, как в период проведения ионофореза, так и в период восстановления максимально на 51,71% ($p \leq 0,05$) и 33,94% ($p \leq 0,05$) соответственно. Об этом свидетельствует увеличение резерва капиллярного кровотока (РКК) при ионофорезе АХ после пятого и десятого сеансов воздействия ЭМИ КВЧ на 41,55% ($p \leq 0,05$) и 37,95% ($p \leq 0,05$) соответственно относительно фоновых значений данного показателя. Однако динамика показателя РКК(НП) и $Az(НП)$ при действии мм-излучения характеризовалась лишь незначительной тенденцией к росту.

Таким образом, низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ способствует увеличению показателей $Az(AX)$, РКК(АХ) и ФАЭ, характеризующих функциональную активность эндотелия, причем реакция на действие АХ была более выраженная, чем на НП. Поскольку известно, что АХ вызывает активацию ферментных систем, локализованных в эндотелии, способствуя высвобождению NO эндотелиоцитами, который, действуя на гладкомышечные клетки сосудов, приводит к вазодилатации и увеличению потока крови. В то же время реакция на НП как донор NO отражает релаксацию сосудов, вызванную непосредственным действием препарата на гладкую мускулатуру. Следовательно, отмечаемое прогрессирующее увеличение показателей ФАЭ и $Az(AX/НП)$, а также $Az(AX)$, РКК(АХ) и при курсовом действии мм-излучения свидетельствует об увеличении активности микрососудистого эндотелия, что проявилось в увеличении генерации NO в ответ на КВЧ-воздействие. Подтверждением этому является снижение содержания нитрит-аниона на 53,8 % ($p \leq 0,05$) при значительном повышении активности конституционного *de novo* синтеза NO (активности cNOS) на 426 % ($p \leq 0,05$) в плазме крови студентов-волонтеров после 10-тикратного КВЧ-воздействия. Следует отметить, что активность iNOS, нитратредуктазы и аргиназы, а также циркулирующие пулы нитрата и мочевины достоверно не повышались. Следовательно, при многократном действии ЭМИ КВЧ наблюдается исключительно специфическое повышение активности конституционного кальцийзависимого синтеза NO.

Таким образом, ионофоретическое введение ацетилхолина и нитропруссид позволило установить, что при действии ЭМИ КВЧ происходит увеличение функциональной активности сосуда эндотелия за счет активации NO-зависимых процессов.

ROLE OF MICROVASCULAR ENDOTHELIUM IN ADAPTATION TO ELECTROMAGNETIC RADIATION OF EXTREMELY HIGH FREQUENCY

Chuyan E.N., Ravaeva M.Y., Tribat N.S., Kotsuruba A.V., Puchkova A.Z.

Tavrida National Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: mravaeva@ukr.net

Processes of microcirculatory were investigated by the method of laser Doppler flowmetry. 70 volunteer-students were involved in research. They were females, aged 21-23 years. Girls were daily exposed to 10-fold effect of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequency (EHF EMR). Impact as performed on the area of biologically active points (BAP) right hand - GI-4 during 30-minutes.

Reaction of microvascular endothelium to ionoforetic introduction was investigated using pharmacological test with acetylcholine chloride (ACh) and nitroprusside (NP). Pharmacological test had been conducted before the action of EHF EHF and after the first, fifth and tenth sessions of influence EMR EHF using device for functional tests - "LACK-TEST" (Russia, „Lazma”), which includes ionoforetic applicator. Registration of the parameters of microcirculatory is performed as follows: registration of initial level of tissue blood flow without any application during for 1 minutes → registration of parameters of blood flow during iontophoresis application of 1% solution of ACh for → registration parameters of blood flow during 3 minutes at a current of 5 mA → registration of dynamics of perfusion in the recovery period after iontophoresis during 6 minutes. A similar scheme of pharmacological test with a 1% solution of NP was carried out.

Increase of functional activity of microvascular endothelium occurred in exchange exposure EHF EMR. In this case a growing level of functional activity of endothelial (FAE) at 48,39% ($p \leq 0,05$), 78,76% ($p \leq 0,05$) and 63,98% ($p \leq 0,05$), after the first, fifth and tenth sessions of EHF-therapy respectively took place. In already, even in the recovery period the first session of EHF-therapy showed an increase of the amplitudes of endothelial rhythms Ae (ACh / NP) to 35,20% ($p \leq 0,05$). The fifth and tenth sessions of the impact of low-intensity EHF EMR marked increase in this indicator, as during the iontophoresis and in the recovery period a maximum of 51,71% ($p \leq 0,05$) and 33,94% ($p \leq 0,05$) respectively. This is proved by increase in capillary blood flow reserve (BFR) for iontophoresis ACh after the fifth and tenth sessions of exposure to EHF EMR 41,55% ($p \leq 0,05$) and 37,95% ($p \leq 0,05$), respectively relative to background values of indicator. However, the dynamics in the BFR (NP) and Ae (NP) under the action of EMR EHF characterized by small upward trend.

Thus, low-intensity EHF EMR increases the performance Ae (ACh), BFR (ACh) and FAE, characterizing the functional activity to the endothelium, and the reaction for the ACh was more intensive in comparison than to NP. Since it is known, that ACh is the activation of enzyme systems localized in the endothelium, contributing to the release of endothelial NO, which, affecting smooth muscle cells of blood vessels, leads to vasodilation and increased blood flow. At the same time, the reaction to the NP as a donor of NO reflects relaxation of blood vessels caused by the direct effect of the drug on smooth muscles. Consequently, a noted progressive increase in performance FAE and Ae (ACh/NP) and Ae (ACh), BFR (ACh) and exchanged rate effects of millimeter radiation indicates an increased activity of microvascular endothelium, which showed an increase in NO generation in response to the EHF -effect. Acknowledgement to it is decrease in the maintenance nitrite-anion on 53,8% ($p \leq 0,05$) at substantial increase of activity constitutional de novo synthesis NO (activity cNOS) on 426% ($p \leq 0,05$) in plasma of blood of students-volunteers after 10-fold effect of low-intensity electromagnetic radiation. It should be noted that activity of iNOS, nitratoreductases and arginases, and also the circulatory pools of nitrate and urea did not rise for certain. Consequently, at the frequent action of EHF EMR there is an exceptionally specific increase of activity constitutional calcium of dependent synthesis of NO.

Thus, ionoforetic introduction of ACh and NP revealed that the influence of EHF EMR increases the functional activity of vascular endothelium by activation of NO-dependent processes.

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ЭФФЕКТА НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ У ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р., Трибрат Н.С., Заячникова Т.В.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
e-mail: delviza@mail.ru

Исследование посвящено установлению основных закономерностей антиноцицептивного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) (длина волны 7,1 мм, плотность потока мощности 0,1 мВт/см²) у животных и человека. Анализ полученных экспериментальных данных показывает, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ обладает выраженным антиноцицептивным действием, снижая уровень болевой чувствительности у крыс при экспериментально вызванных болевых синдромах различной этиологии (тонической, висцеральной, острой термической боли, электрораздражении), что свидетельствует в пользу определенной универсальности анальгетического воздействия ЭМИ КВЧ на организм. При этом антиноцицептивное действие ЭМИ КВЧ проявляется в уменьшении продолжительности болевых реакций, увеличении порога болевой чувствительности, уровня выносливости боли и продолжительности неболевых поведенческих проявлений, восстановлении корреляционных и кластерных взаимосвязей между различными поведенческими проявлениями.

Доказано, что величина антиноцицептивного эффекта ЭМИ КВЧ зависит от экспозиции и локализации воздействия, наличия или отсутствия поляризации ЭМИ, индивидуально-типологических особенностей животных (уровня двигательной активности в тесте «открытого поля» и профиля моторной асимметрии). Анальгетическое действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ проявляется как при предварительном однократном, так и при курсовом воздействии, однако при многократном КВЧ-воздействии антиноцицептивный эффект усиливается и становится более стабильным, что связано с кумулятивным действием этого вида излучения.

Получены данные о влиянии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на ритмические процессы болевой чувствительности, о чем свидетельствует способность данного физического фактора модифицировать ультра-, цирка- и инфрадианную ритмику болевой чувствительности при действии различных болевых факторов, оказывая нормализующее и корригирующее действие, что может быть одним из механизмов антиноцицептивного действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. Однако при воздействии ЭМИ КВЧ на организм на фоне внутренней синхронизации между различными поведенческими проявлениями болевого стресса возникает выраженный внешний десинхронизм – нарушение синхронизации физиологических процессов с гелиогеофизическими факторами. Это может быть связано с тем, что организм «переключается» на новый датчик времени – искусственное низкоинтенсивное ЭМИ, которое, по-видимому, оказывает на организм более сильное синхронизирующее действие, чем природные электромагнитные поля.

Доказано, что антиноцицептивное, антистрессорное и синхронизирующее действия ЭМИ КВЧ, зарегистрированные в данных исследованиях связаны с увеличением содержания эндогенных опиоидных пептидов, мелатонина, серотонина в крови и периферических тканях, изменением состояния центральных серотонин-, дофамин-, опиоид- и норадренергических систем организма. Следовательно, данные эндогенные системы в той или иной степени участвуют в механизмах антиноцицептивного действия ЭМИ КВЧ и не функционируют отдельно друг от друга. Каждая из них, имея особую структурно-функциональную организацию и взаимодействуя с другими системами, позволяет организму устранять отрицательные последствия, вызванные любыми ноцицептивными факторами, а также перестраивать функции его важнейших систем во время развития различных ноцицептивных рефлексов, начиная от простейших защитных ответов на боль и кончая сложными эмоциональными и стрессовыми реакциями высших отделов мозга. Вместе с тем сравнительный анализ анальгетической эффективности воздействия ЭМИ КВЧ при экспериментально вызванной тонической боли на фоне предварительного введения препаратов, блокирующих разные группы рецепторов, свидетельствует о том, что в зависимости от времени протекания болевой реакции механизмы анальгетического эффекта КВЧ-воздействия обеспечиваются различными эндогенными системами.

При оценке влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на нейромоторный аппарат человека с помощью различных методик электронейромиографии показано достоверное уменьшение амплитуды и повышение порога возникновения Н-рефлекса, а также существенное повышение болевого порога и латентности R2 и R3 компонентов ноцицептивного флексорного рефлекса, что свидетельствует о снижении активности ноцицептивной системы или усилении активности антиноцицептивной системы организма, и, соответственно, об антиноцицептивном влиянии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

Таким образом, как показали результаты данных исследований, низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ обладает выраженным антиноцицептивным эффектом.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE BASIC PATTERNS OF ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF LOW-INTENSITY EXTREMELY HIGH FREQUENCY ELECTROMAGNETIC RADIATION IN ANIMALS AND HUMANS

Chuyan E.N., Dzheldubaeva E.R., Tribat N.S., Zayachnikova T.V.

Taurida National VI Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
e-mail: delviza@mail.ru

The aim of the research was to establish the basic laws of antinociceptive action of low-intensity extremely high frequency electromagnetic radiation of (EHF EMR) (wavelength 7.1 mm, power density 0.1 mW/cm²) in animals and humans. Analysis of the experimental data shows that low-intensity EHF EMR has a distinct antinociceptive effect, reduces the level of pain sensitivity in rats through experimentally induced pain syndromes of different etiologies (tonic, visceral, intense heat pain electric stimulation), which testifies in favor of a certain universality of analgesic effect of EHF EMR on the body. In this case the antinociceptive effect of EHF EMR is manifested through decrease in the duration of pain reactions, increased sensitivity to pain, pain endurance level and duration of painless behavioral manifestations, restoration of the correlation and cluster interactions between different behavioral manifestations.

It is proved that the magnitude of antinociceptive effect of EHF EMR depends on the exposition and localization impact, the presence or absence of polarization of electromagnetic radiation, individual-typological characteristics of animals (the level of physical activity in a test of the "open field" and the profile of motor asymmetry). Analgesic effect of low-intensity EHF EMR appears both in preliminary single and course effects, however, in repeated EHF effect the antinociceptive effect is enhanced and becomes more stable, due to the cumulative effect of this type of radiation.

The data on low-intensity EHF EMR effect on the rhythmic processes of pain sensitivity testify to the ability to modify the physical factor of ultra-, circa- and infra- radian rhythm of pain sensitivity under the influence of various factors of pain, and produce normalizing and corrective effects, which may serve as one of the mechanisms of the low-intensity EHF EMR antinociceptive effect. However, under the influence of EHF EMR on the body against internal synchronization between different behavioral manifestations of pain stress there occurs the distinct external desynchronization - a violation of sync of the physiological processes with heliogeophysical factors. This may be due to the fact that the body is "switched" to a new probe of time - an artificial low-intensity electromagnetic radiation, which, apparently, produces a stronger synchronizing effect on the body than the natural electromagnetic fields.

We proved that the antinociceptive, antistress, and synchronizing effect of EHF EMR registered in this research are connected with increased content of endogenous opioid peptides, melatonin, serotonin in the blood and peripheral tissues, changes in the status of central serotonin-, dopamine, opioid and noradrenergic systems of the body. Consequently, these endogenous systems in one degree or another are engaged in the mechanisms of EHF EMR antinociceptive action and do not function separately from each other. Each of them, having special structural and functional organization and interacting with other systems, allows the body to eliminate the negative effects caused by any nociceptive factors, as well as to reconstruct the function of its critical systems during the development of various nociceptive reflexes, beginning from the simplest of protective responses to pain and ending at complex emotional and stress reactions of the higher parts of the brain. However, a comparative analysis of analgesic efficiency of EHF EMR effect under experimentally induced tonic pain on the background of the prior administration of drugs that block receptors of different groups indicates that, depending on the time course of pain reaction the mechanisms of analgesic effect of EHF-therapy are provided by a variety of endogenous systems.

The assessment of the impact of low-intensity EHF EMR on the human neuromotor apparatus by means of various techniques of electroneuromyography demonstrated a significant decrease in amplitude and increase of the H-reflex threshold, and a significant increase in pain threshold and latency of R2 and R3 components of the nociceptive flexion reflex, indicating a decrease in the activity of nociceptive or increased activity of antinociceptive systems of the body, and, respectively, on the antinociceptive effect of low-intensity EHF EMR.

Thus, as shown by the findings of this research, low-intensity EHF EMR has a distinct antinociceptive effect.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ *PLANTAGO MEDIA* ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ

Шашурин М.М., Прокопьев И.А., Шеин А.А., Филиппова Г.В.

Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, Россия
e-mail: bg98saa@yandex.ru

Электромагнитные поля способны выступать в качестве стрессового агента, вызывая изменение активности ферментов антиоксидантной защиты и интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые находятся в тесной взаимосвязи друг с другом и зависят от величины и экспозиции действующего на растения электромагнитного поля [1, 2]. Кроме того, ЭМП промышленной частоты (50 Гц.) способны оказывать влияние на физиологические и цитологические характеристики растений, а также на содержание фотосинтетических пигментов [3, 4].

Исследовано влияние ЭМП промышленной частоты с параметрами напряженности электрического поля (E) $12 \div 1800$ В/м и индукции магнитного поля (B) $50 \div 2000$ нТл на физиолого-биохимические и цитологические характеристики проростков семян *P. media*. Экспериментально показано, что действие ЭМП в диапазоне $E=350 \div 1800$ В/м и $B=550 \div 2000$ нТл вызывало снижение всхожести семян *P. media* и митотической активности клеток их проростков. Установлено, что по мере увеличения значений напряженности электрического поля (от 500 до 1800 В/м) и индукции магнитного поля (от 800 до 2000 нТл) интенсивность молекулярно-генетических процессов снижается в 1.2 – 1.6 раз относительно контрольных значений, что согласуется с данными по митотической активности.

Отмечена прямая взаимосвязь между содержанием МДА и НМАО ($r = 0.93$) и содержанием МДА и активностью СОД ($r = 0.82$), что свидетельствует об устойчивом протекании метаболических процессов, выраженных в сбалансированной работе прооксидантно-антиоксидантных систем в режиме простой компенсации.

Показано, что при действии ЭМП промышленной частоты наблюдается увеличение в 1.2–1.6 раз суммарного содержания зеленых пигментов (Хл. *a+b*) относительно контроля, при этом содержание каротиноидов также возрастало в 1.3–1.6 раз. В целом, отмечено волнообразное изменение содержания Хл. *a*, Хл. *b* и каротиноидов в тканях проростков *P. media* при действии ЭМП в изученном диапазоне.

Таким образом, показано, что электромагнитные поля промышленной частоты ($E=12 \div 1800$ В/м; $B=50 \div 2000$ нТл) способны вызывать изменения физиолого-биохимических и цитологических характеристик проростков семян *P. media*.

Литература

1. Polovinkina E.O., Kal'yasova E.A., Sinitsina Y.V., Veselov A.P. (2011) Effect of weak pulse magnetic fields on lipid peroxidation and activities of antioxidant complex components in pea chloroplasts. Russian J. Plant Physiol. 58.: 1069–1063.
2. Lee B.-C., Johng H.-M., Lim J.-K., Jeong J.H., Baik K.Y., Nam T.J., Lee J.H., Kim J., Sohn U.D., Yoon G., Shin S., Soh K.-S. (2004) Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Field on the Antioxidant Defence System in Mouse Brain: A Chemoluminescence Study. J. Photochem. Photobiol. 73.: 43–48.
3. Racuiu M. (2011) 50 Hz Frequency Magnetic Field Effects on Mitotic Activity in The Maize Root. Romanian J. Biophys. 21.: 53–62.
4. Muszynski S., Gagos M., Pietruszewski S. (2009) Short-Term Pre-Germination Exposure to ELF Magnetic Field Does Not Influence Seedling Growth in Durum Wheat (*Triticum durum*). Polish J. of Environ. Stud. 18.: 1065-1072.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSE OF PLANTAGO MEDIA UNDER THE INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC FIELD OF INDUSTRIAL FREQUENCY

Shashurin M.M., Prokopiev I.A., Shein A.A., Filippova G.V.

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia
e-mail: bg98saa@yandex.ru

Electromagnetic fields can act as a stress agent, causing a change in the activity of antioxidant enzymes and the intensity lipid peroxidation, which are closely related to each other and depend on the magnitude and exposure of effect on plants of the electromagnetic field [1, 2]. In addition, the EMF of industrial frequency (50 Hz) can influence the physiological and cytological characteristics of plants, as well as the content of photosynthetic pigments [3, 4].

The effect of industrial frequency EMF with the parameters of electric field intensity (E) $12 \div 1800$ V/m and induction of magnetic field (B) $50 \div 2000$ nT on physiological, biochemical and cytological characteristics of *P. media* seedlings were study. Experimentally shown that the effect of EMF in the range $E = 350 \div 1800$ V / m and $B = 550 \div 2000$ nT caused a decrease of seed germination and mitotic activity of *P. media* seedlings. Established that with increasing values of the electric field intensity (from 500 to 1800 V / m) and magnetic field induction (from 800 to 2000 nT), the rate of molecular-genetic processes are reduced by 1.2 - 1.6 times relative to control values, which is consistent with data for mitotic activity.

Was noted a positive relationship between the content of malondialdehyde (MDA) and low molecular weight antioxidants ($r = 0.93$) and the content of MDA and superoxide dismutase activity ($r = 0.82$), which indicates stable course of metabolic processes, expressed in a balanced work of prooxidant-antioxidant systems in a simple compensation regime.

Shown that under the influence of industrial frequency EMF, an increase of 1.2-1.6 times the total content of green pigments (Chl. *a* + *b*), and of 1.3-1.6 times carotenoids content in compare with the control. In general under the action of EMF in the studied range was noted nonlinear changes in Chl. *a*, Chl. *b* and carotenoids content in the tissues of *P. media* seedlings.

Thus, it is shown that the electromagnetic fields of industrial frequency ($E = 12 \div 1800$ V / m; $B = 50 \div 2000$ nT) can cause changes of physiological, biochemical and cytological characteristics of seedlings *P. media*.

References

1. Polovinkina E.O., Kal'yasova E.A., Sinitsina Y.V., Veselov A.P. (2011) Effect of weak pulse magnetic fields on lipid peroxidation and activities of antioxidant complex components in pea chloroplasts. Russian J. Plant Physiol. 58.: 1069–1063.
2. Lee B.-C., Johng H.-M., Lim J.-K., Jeong J.H., Baik K.Y., Nam T.J., Lee J.H., Kim J., Sohn U.D., Yoon G., Shin S., Soh K.-S. (2004) Effects of Extremely Low Frequency Magnetic Field on the Antioxidant Defence System in Mouse Brain: A Chemoluminescence Study. J. Photochem. Photobiol. 73.: 43–48.
3. Racuciu M. (2011) 50 Hz Frequency Magnetic Field Effects on Mitotic Activity in The Maize Root. Romanian J. Biophys. 21.: 53–62.
4. Muszynski S., Gagos M., Pietruszewski S. (2009) Short-Term Pre-Germination Exposure to ELF Magnetic Field Does Not Influence Seedling Growth in Durum Wheat (*Triticum durum*). Polish J. of Environ. Stud. 18.: 1065-1072.

РОЛЬ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (ГИПЕРИЦИНА, ИОНОЛА) В МОДИФИКАЦИИ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ У ДРОЗОФИЛЫ

Юшкова Е.А., Старцева О.А., Зайнуллин В.Г., Рочева Л.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
e-mail: startzeva@ib.komisc.ru

Проблема разработки принципов радиационной защиты биоты — одна из сложных в современной радиозоологии. Наиболее эффективным способом повышения общей резистентности организма является применение препаратов природного и синтетического происхождения. В настоящей работе исследовано модифицирующее действие водорастворимого коллоидного комплекса гиперического и синтетического антиоксиданта (ионола, ВНТ) на частоту повреждений ДНК и выживаемость хронически облученных особей *Drosophila melanogaster*.

Показано, что на уровне повреждений ДНК раствор гиперического более эффективен, чем ионол. Выявлены концентрации тестируемых препаратов (1 мкМ гиперического и 100 мкМ ионола), при которых спонтанная частота фрагментации ДНК достоверно ниже таковой у интактных вариантов, что свидетельствует о положительной эффективности данных препаратов при фоновых значениях радиации. При этом у облученных животных препараты в этих концентрациях усиливают действие хронического облучения. Введение в диету ионола в концентрациях, не превышающих 20 мкМ, значительно ($p < 0.01$) снижает количество клеток с поврежденной ДНК. Такая же реакция обнаружена у хронически облученных особей при добавлении в корм гиперического в концентрации 100 мкМ.

Несмотря на некоторые генотоксические эффекты водорастворимого коллоидного комплекса гиперического уровень выживаемости имаго дрозофилы при его действии был достаточно высоким. В то время как выживаемость животных, развивавшихся на среде с добавлением ионола, не отличалась от контроля. Отметим, что по показателю выживаемости радиопротекторные свойства гиперического более выражены при концентрациях 20 и 100 мкМ.

Таким образом, ионол и гиперичесин можно отнести к препаратам, способным в зависимости от концентрации модифицировать эффекты хронического низкоинтенсивного облучения. Ионол, как эффективный антиоксидант, проявляет радиопротекторное действие только на уровне повреждений ДНК, тогда как на организменном уровне (по показателю выживаемости) данное его свойство утрачивается. Гиперичесин, являющийся природным пигментом зверобоя (*Hypericum perforatum*), обладает более выраженным протекторным действием по отношению к облучению и большей эффективностью, которая сохраняется на всех уровнях развития организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Уральского отделения РАН (№ 12-П-34_2009).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE ROLE OF CHEMICAL FACTORS (HYPERICIN, IONOL) IN MODIFICATION OF RADIATION EFFECTS IN DROSOPHILA

Yushkova E.A., Starzeva O.A., Zainullin V.G., Rocheva L.K.

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia
e-mail: startzeva@ib.komisc.ru

The problem of developing the principles of radiation protection of biota - one of the most complicated in modern radioecology. The most effective way to increase the overall resistance of the organism is the use of natural and synthetic drugs. We have investigated the modifying effect of water-soluble colloidal complex of hypericin and synthetic antioxidant (ionol, BHT) on the frequency of DNA damages and survival of chronically radiation-exposed individuals *Drosophila melanogaster*.

It is shown that the hypericin solution is more effective than ionol at the level of DNA damages. Revealed concentrations of drugs tested (1 mcM hypericin and 100 mcM ionol) in which the spontaneous frequency of DNA fragmentation was significantly lower than that of the intact variants that are evidence of the positive efficiency of these drugs in the background radiation values. At the same time in the irradiated animals drugs in these concentrations increase the effect of chronic exposure. Introduction into diet of ionol in concentrations not exceeding 20 mcM significantly ($p < 0.01$) reduced the number of cells with damaged DNA. The same reaction is observed in chronically radiation-exposed animals by addition to food in the hypericin concentration of 100 mcM.

Despite some genotoxic effects of water-soluble colloidal complex hypericin level survival of adult drosophila by it the action was sufficiently high. While the survival of the animals that developed on medium with the addition of ionol did not differ from controls. Note that in parameter of survival radioprotective properties of hypericin were more pronounced at concentrations of 20 and 100 mcM.

Thus ionol and hypericin can be attributed to the drugs that can depending on the concentration of modifying effects of a chronic irradiation in low doses. Ionol as an effective antioxidant, exhibits radioprotective effect only at the level of DNA damage while at the level of organism (in parameter of survival), this property is lost it. Hypericin which is a natural pigment of *Hypericum perforatum* has a more pronounced protective effect in relation to radiation and greater efficiency which persists at all levels development of organism.

This work was supported by financial support grants of the Ural Branch Russian Academy of Sciences (№ 2-П-34_2009).

ВПЛИВ МОДЕЛЬОВАНОЇ МІКРОГРАВІТАЦІЇ НА ПЕРЕБІГ ІНФЕКЦІЇ У СИСТЕМІ «У-ВІРУС КАРТОПЛІ – РОСЛИНА КАРТОПЛІ»

¹Янішевська Г.С., ²Таран О.П., ¹Тороп В.В., ¹Ляшук Н.І.

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

²Інститут картоплярства НААН України, смт. Немішасве, Україна
e-mail:lmishchenko@ukr.net

Віруси відносяться до клітинних паразитів, тому обов'язковою умовою виникнення інфекційного процесу є проникнення вірусної частки у первинно здорову клітину. Інтенсивність інфекційного процесу в системі «вірус – рослина-хазяїн» у значній мірі залежить від генотипу хазяїна. Очевидно, що умови середовища, які впливають на рослинний організм, впливають і на перебіг процесу інфікування його клітин вірусом. Фізіологічні та біохімічні реакції рослинного організму, які формуються під впливом екологічних чинників можуть виступати як обмеження, що інгібують репродукцію вірусу або, навпаки, стимулюють цей процес.

Теоретичні передумови ідентифікації механізмів виникнення індукованої стійкості у рослин випливають із загальної концепції про стрес, сформульованої Г. Сельє (1), згідно якої у відповідь на зовнішню несприятливу дію стресора в організмі індукуються неспецифічні реакції, що супроводжуються перебудовою захисних систем у часі, тобто реалізується адаптаційний синдром. Сукупність реакцій рослинного організму, які виникають у відповідь на вплив стресового чинника, направлена на переборювання, послаблення чи усунення шкідливої дії стресора (2).

Вплив модельованої мікрогравітації на рослинний організм характеризується стресом, до якого рослина адаптується у процесі формування захисних реакцій. У попередніх дослідженнях з рослинами пшениці та картоплі, показано, що за умов клінонестатутування корегується перебіг інфекції у різних системах «вірус – рослина-хазяїн» (3,4). Дослідження перебігу вірусних інфекцій в умовах модельованої мікрогравітації є перспективним напрямом вивчення і практичного використання механізмів стійкості рослин до вірусів.

Рослини картоплі культивували у штучному субстраті, підживлення проводили щоденно розчином мікро- та макросолей. Досліди проводили в умовах штучного освітлення при освітленості 15-20 тис. лк. Тривалість світлового періоду 16 годин, відносна вологість – 70-80%, температура культивування підтримувалась у межах 20-22 °С. Мікрогравітацію моделювали в клінотатах «Цикл-2» і КГ-8 за умов вертикального та горизонтального клінонестатутування. Виявлення вірусів у рослинах проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу у «сендвіч-варіанті». Для діагностування використовували стандартну тест-систему виробництва фірми LOEWE (Німеччина). Оптичну густину продуктів імуноферментної реакції оцінювали на рідері фірми Termo Labsystems OpsisMR з програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklik (США) при довжинах хвиль 405/630 нм.

Дослідження, проведені на сортах картоплі Купалинка та Беллароза виявили, що за умов стаціонарного контролю на 28-29 добу культивування вміст антигенів У-вірусу картоплі у рослинах був досить значним і перевищував негативний контроль у 2-20 раз. Відмінність показників імуноферментної реакції свідчать про різну інтенсивність перебігу інфекції у рослинах цих сортів, що може бути пов'язане із різною стійкістю рослин даних сортів до вірусу. За умов горизонтального клінонестатутування виявили високі рівні антигенів вірусу в обох досліджуваних сортах – оптична густина реакції становила 0,701-1,411, що свідчить про високу інтенсивність процесу репродукування вірусу. За умов вертикального клінонестатутування у рослинах сорту Беллароза вміст антигенів не перевищував негативний контроль, тоді як у рослин сорту Купалинка показники оптичної густини були в 1,4 раз вищими за показники негативного контролю.

Очевидно, перебіг вірусної інфекції в умовах модельованої мікрогравітації пов'язаний із адаптаційними перебудовами метаболізму рослини. Неспецифічні захисні реакції, які направлені на переборювання, викликаного модельованою мікрогравітацією стресу, відіграють корегуючу роль у протіканні патогенного процесу, що визначає характер перебігу вірусної інфекції та інтенсивності репродукції вірусних часток у органах рослин.

Література

1. Сельє Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979, 124 с.
2. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях /Е.Л. Кордюм, К.М. Сытник, В.В.Бараненко [и др.]. - К: Наукова думка, 2003. -225 с.
3. Mishchenko L.T. Aspects of adaptive answering formation in virus-host plant pathosystem for different wheat cultivars under simulating microgravity condition //Journal of Gravitational Physiology.– 2007. – Vol. 14, No 1. – P. 214-215.
4. Таран О.П., Янішевська Г.С., Ракша-Слюсарева О.А., Міщенко Л.Т. Шляхи вирішення проблеми забезпечення якості картоплі щодо продукції, ураженої У-вірусом картоплі //Товарознавство та інновації.-2009.– Вип.1. – С.149-157.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

IMPACT OF SIMULATED MICROGRAVITY ON THE DYNAMICS OF INFECTION IN THE "POTATO VIRUS Y- POTATO PLANT" SYSTEM

¹Yanishevskaya G.S., ²Taran O.P., ¹Torop V.V., ¹Lyashuk N.I.

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

²Institute for Potato Research of Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Nemishaeve, Ukraine
e-mail: lmishchenko@ukr.net

Viruses are cellular parasites, therefore penetration of a virus particle into a cell is necessary for infectious process. Intensity of infectious process in system "virus-host-plant" appreciably depends on a genotype of the host. It is obvious that conditions of environment which influence on plant organism, influence on the process of its cells infection with a virus too. Physiological and biochemical reactions of a plant which are formed under the effect of ecological factors can act as restriction which inhibit reproduction of a virus or, on the contrary, stimulate this process.

Theoretical preconditions of identification of mechanisms of the induced firmness occurrence in plants come up from the general concept about the stress, the formulated G.Selye (1). According to this concept in answer to external adverse action of stressor in the organism are started nonspecific reactions which are accompanied by reorganization of protective systems that is the adaptable syndrome is realized. Set of reactions of a vegetative organism which arise in reply to influence of the stressful factor, is directed on overcoming, easing or discharge of harmful action of the stressor (2).

Influence of simulated microgravity on a plant organism characterizing by the stress for which the plant adapts in the course of formation of protective reactions. In the previous research with wheat and potato plants it has been shown that under clinorotation conditions infection dynamics in different systems "virus-host-plant" is correcting (3,4). Investigation of virus infections dynamics under simulated microgravity conditions is a perspective direction of studying and practical use of mechanisms of plants firmness to viruses.

Potato plants cultivated in the artificial substratum which feeding with the solution of micro- and macrosalts daily. Experiments spent in the conditions of artificial illumination (15 000 -20 000. lx). Duration of the light period was made 16 hours, by relative humidity - 70-80 %, the cultivation temperature was supported within 20-22 °C. Microgravity was modeling in the clinostats "Cycle-2" and "KG-8" under vertical and horizontal clinostating conditions. Identification of viruses has been carried out employing sandwich ELISA modification. Test system of LOEWE (Germany) was used. Results were registered using Termo Labsystems Opsis MR Reader (USA); programme Dynex Revelation Quicklink at the wavelength 405 / 630 nm.

The research spent on potato plants cv. Kupalinka and Bellerose have shown that in the conditions of stationary control on the 28-29th day of cultivation the content of PVY antigens in plants was exceeded by negative control at 2-20 times. Differences in ELISA data testify about different intensity of an infection in plants of these cultivars that can be connected with different firmness of plants to a virus. High levels of virus antigens in the both cultivars were detected under horizontal clinorotation conditions - 0,701-1,411, that is testify about intensively virus reproduction. Under vertical clinorotation conditions antigens concentration in plants cv. Bellerose didn't exceed negative control. In plants cv. Kupalinka data of optical density were in 1,4 times higher than negative control.

Probably dynamics of the virus infection in the simulated microgravity conditions are connected with adaptable reorganizations of a plant metabolism. Nonspecific protective reactions which are directed on struggle against the stress caused with simulated microgravity, play correcting role in dynamics of pathogenic process.

References

1. Selye G. Stress without distress. – M. – Progress, 1979. – 124 p. (in Russian)
2. Cell mechanisms of plants adaptation to adverse effects of ecological factors under natural conditions / E.L. Kordyum, K.M. Sytnik, V.V. Baranenko [et al.]. – K: Naykova dumka, 2003. – 225 p. (in Russian)
3. Mishchenko L.T. Aspects of adaptive answering formation in virus-host plant pathosystem for different wheat cultivars under simulating microgravity condition // Journal of Gravitational Physiology. – 2007. – Vol. 14, No 1. – P. 214-215.
4. Taran O.P., Yanishevskaya G.S., Raksha-Slyusareva O.A., Mishchenko L.T. Ways of a solution of a problem of maintenance of quality of a potato concerning production infected PVY // Goods knowing and innovations. – 2009. – Vol.1. – P.149-157 (in Ukrainian)

ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ 2',5'- ОЛІГОАДЕНІЛАТ-СИНТЕТАЗИ В ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИНАХ ЩУРІВ ЗА ДІЇ СТРЕСУ

¹Якубцова І.В., ¹Хілько Т.Д., ¹Преображенська Т.Д., ¹Остапченко Л.І.,
²Чехун В.Ф., ²Михайленко В.М., ³Макай Ш.

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

² Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є. Кавецького, Київ, Україна

³ Університет Західної Угорщини, Угорщина

e-mail: irinamaster@gmail.com

Дотепер ще не знайдено стреспротективного засобу, який міг би ефективно корегувати біохімічні і структурні зміни в організмі. Це потребує пошуку ефективних засобів, які підвищують адаптаційний потенціал організму за умов розвитку різних патологічних станів. Наші експерименти були спрямовані на дослідження впливу активних компонентів олії обліпіхи (*Hipporhaeo rhamnoides*) в комплексі з екстрактом фенугрека (*Trigonella foenum graecum*) і вітаміном U за умов виразки у щурів. Оскільки виникнення і розвиток патологічних порушень за умов стресу в першу чергу реагує імунна система, наш інтерес був пов'язаний з вивченням ключових ланок цієї системи.

Метою роботи було дослідження активності 2',5'- олігоаденілат-синтетази в тимоцитах, спленоцитах за дії стресу та в процесі застосування комплексу активних речовин при експериментальному ураженні шлунка у щурів.

Експерименти проводили на безпорідних білих щурах. Тварин розподіляли на групи: 1 – контроль; 2 – контрольні щури, яким протягом 8 діб вводили комплекс активних речовин, 3- щури, у яких моделювали гостру стресову виразку шлунка протягом 1 доби; 4- щури, з виразкою шлунка на 8 добу після дії стресу, 5 – щури з гострою виразкою шлунка, яким протягом 8 діб вводили комплекс активних речовин.

Аналіз якості та антиоксидантної стабільності з використанням методів ¹H ЯМР спектроскопії, УФ спектрофотометрії обліпіхової олії, яка була отримана з насіння та м'якоті плодів, показав значні відмінності в окисдаційній стабільності обліпіхової олії. Олія отримана з м'якоті плодів містила значну кількість каротиноїдів, однак ступінь її окиснення була значно більшою, ніж у олії, отриманої з насіння, що може супроводжуватись накопиченням цито- та генотоксичних перекисних вторинних продуктів. Нами було підібрано на підставі експериментальних досліджень оптимальну основу для створення комплексу з екстрактом фенугреку, активність якого вивчалась раніше.

Гістологічні дослідження показали, що після введення протягом 8 діб комплексу активних компонентів екстрактів обліпіхи, фенугрека та вітаміну U спостерігалось зменшення набряку серозної та м'язової оболонок. Менших розмірів набув набряк слизової оболонки шлунка, дистрофічні зміни клітин як поверхневого епітелію, так і клітин фундальних залоз були менше вираженими, порівняно з аналогічним терміном при дії стресу. Площа виразки зменшувалась за рахунок формування грануляційної тканини та тяжів епітеліальних клітин, які починали покривати зону ураження.

У контрольних тварин 2 групи зареєстровано підвищення активності 2',5'- олігоаденілат-синтетази у тимоцитах (в 1, 8 рази), у спленоцитах – (в 1,5 рази) на фоні введення комплексу активних речовин, що в свою чергу може впливати на індукцію інтерферону.

За умов стресової моделі виразкоутворення (3 група тварин) активність 2',5'- олігоаденілат-синтетази суттєво збільшувалась як в лімфоцитах тимуса (в 2,5 рази), так і в спленоцитах селезінки (в 1,7 рази) в порівнянні з показниками контрольних тварин 1 групи. Це може бути результатом активації інтерферон - залежного сигнального каскаду 2',5'- олігоаденілату, яка виникла у відповідь на дію стресового чинника.

На 8 добу після виникнення виразки шлунка (4 група тварин) активність досліджуваного ферменту все ще перевищувала показники інтактних тварин у тимоцитах (в 1,5 рази), у спленоцитах – (у 1,4 рази).

У тварин 5 групи з виразкою шлунка, яким протягом 8 діб вводили комплекс активних речовин виявлено, що активність 2',5'- олігоаденілат-синтетази була нижче в імунокомпетентних клітинах обох органів порівняно з тваринами 4 групи, відповідно у тимоцитах – в 1,3 рази, а в спленоцитах - в 1,2 рази. Можливо припустити, що при введенні комплексу активних речовин пригнічуються запальні процеси, рівень інтерферону знижується, що проявляється в тенденції до нормалізації активності 2',5'- олігоаденілат-синтетази.

Таким чином, отримані результати дозволяють передбачати можливість застосування комплексу біологічно активних речовин для посилення адаптивного потенціалу організму за умов дії стресогенних впливів.

Робота виконувалась за підтримки гранту НАНУ «Assessment of natural biologically active compounds as having antiulceros and anticancer potential».

THE INFLUENCE OF COMPLEX BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES ON ACTIVITY OF 2',5'-OLIGOADENYLATE-SYNTHETASE IN LYMPHATIC CELLS OF RATS UNDER STRESS

¹*Yakubtsova I.V., ¹Khilko T.D., ¹Preobrazhenska T.D., ¹Ostapchenko L.I.,
²Chekhun V.F., ²Mikhailenko V.M., ³Makay S.*

¹ Taras Shevchenko Kyiv National University¹, Kyiv, Ukraine

² R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine², Kyiv, Ukraine

³ University of West Hungary³, Hungary

e-mail: irinamaster@gmail.com

As for now, there is no found stress protective product that could effectively correct the biochemical and structural changes in the body. This requires finding effective means to increase the adaptive potential of the organism under various pathological conditions. Our experiments were aimed to study the influence of active components of Hippophao rhamnoides oil in combination with fenugreek extract (*Trigonella foenum graecum*) and vitamin U in conditions of ulcers in rats. Since the emergence and development of pathological disorders under stress primarily responds to the immune system, our interest was connected with the study of key points of this system.

The aim of work was to study the activity of 2', 5'-oligoadenylate-synthetase in thymocytes, splenocytes for the actions of stress and in the application of complex active substances in experimental gastric lesions in rats. Experiments were performed on wild white rats. Animals were divided into groups: 1 - control, 2 - rats, which simulated with acute stress ulcer within 1 day, 3 - rats with gastric ulcer at 8 days after exposure to stress, 4 - rats with acute gastric ulcer, which for 8 days took the complex of active substances.

Analysis of the quality and antioxidant stability using the methods of 1H NMR spectroscopy, UV spectrophotometry Hippophao rhamnoides oil, which was obtained from the seeds and fruits showed significant differences in oxidative stability of sea buckthorn oil. Oil obtained from the pulp contained a significant amount of carotenoids, but the degree of oxidation was significantly greater than that of oil obtained from seeds, which may be accompanied by the accumulation of cyto- and genotoxic peroxidation secondary products. We chose, for the basis of experimental studies, the optimal doses for the establishment earlier extracts from fenugreek.

Histological studies showed that after administration within 8 days of complex active components of sea buckthorn extract, and vitamin U of fenugreek decreased edema serous and muscle membranes. There were smaller swelling of the mucous membrane of the stomach, degenerative changes of the surface epithelial cells as well as cells of fundal glands were less pronounced compared to the same period under the influence of stress. Ulcer area decreased due to the formation of granulation tissue and strands of epithelial cells that began to cover the area of injury.

In control animals group 2, activity of 2', 5'-oligoadenylate-synthetase increased as in thymic lymphocytes (1.8 times) as well as in splenocytes in the spleen (1.5 times) at introduction of complex biologically active compounds which in turn may influence the induction of interferon.

In stress ulceration model group 3, activity of 2', 5'-oligoadenylate-synthetase increased as in thymic lymphocytes (2.5 times) as well as in splenocytes in the spleen (1.7 times) as compared to control animals group 1, which can be a result of activation of interferon - dependent signaling cascade 2', 5'-oligoadenylate, which emerged in response to stress factors.

On 8th day after the occurrence of gastric ulcer (group 4 animals), an activity of studied of enzyme is still higher than the standard level increased as in thymic lymphocytes (1.5 times) as well as in splenocytes in the spleen (1.4 times)

Investigation of complex biologically active compounds has shown that in animals of the experimental group 5, activity of 2', 5'-oligoadenylate-synthetase was lower number of immunocompetent cells in both organs compared to animals of experimental group 4 ulceration in thymic lymphocytes (1.3 times) as well as in splenocytes in the spleen (1.2 times) May assume that at the introduction of the complex of active substances inflammation processes are inhibited, reduced levels of interferon, which is manifested in the tendency to normalize the activity 2',5'-oligoadenylate-synthetase.

Thus, these results allow to predict the possibility of application of complex biologically active compounds to enhance the adaptive capacity of the organism under the effect of stressful influences.

Work performed with support of grant NAS «Assessment of natural biologically active compounds as having antiulceros and anticancer potential».

ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СБОРА *CROCUS SATIVUS*, *HYPERICUM PERFORATUM*, *ACHILLEA FILIPENDULINA* НА ПАРАМЕТРЫ КРОВИ ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

¹Шамилов Э.Н., ¹Рзаева И.А., ¹Абдуллаев А.С., ²Азизов И.В., ³Газыев А.Г.

*Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан

**Институт Ботаники НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан

***Институт Физиологии НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан

e-mail: elshanshamil@gmail.com

Препараты, полученные из лекарственных растений, обладают рядом преимуществ по сравнению с синтетическими средствами: низкой токсичностью, широким спектром фармакологической активности, способностью воздействовать на физиологические процессы, протекающие в организме человека и, соответственно повышать естественную защиту организма.

Известно, что радиация способствует возникновению глубоких патологических изменений в организме и наиболее чувствительных и важных в жизнеобеспечении физиологических систем, и в том числе в крови. С точки зрения функциональной оценки основное значение придается количественным характеристикам крови - числу эритроцитов, лейкоцитов, определению гемоглобина, скорости оседания эритроцитов.

Цель настоящей работы – оценить радиозащитное действие экстрактов полученных из растительного сбора, состоящего из шафрана посевного (*Crocus sativus*), зверобоя (*Hypericum perforatum* L) и тысячелистника таволгового (*Achillea filipendulina*).

В экспериментах использовали половозрелых крыс обоих полов линии Wistar в возрасте 5 месяцев, средней массой 160-180 грамм. Животные были разделены на три группы: Интактные (контроль без воздействия), подверженные ионизирующей радиации и животные, получивший 5мл 0,1% раствор экстракта растительного сбора перед облучением. Облучения проводили в аппарате RUM-17, напряжение 18 kV, сила тока 15 mA, фокус KFR (расстояния от источника радиационного действия) – 3 см, сила дозы 0,86 Грей/сек, общая доза - 7 Грей. Были проанализированы количественные показатели крови – РОЭ мм/с, объем гемоглобина мг/%, время свертывания крови, количество эритроцитов и лейкоцитов в 1мм³ – у животных после 24 часового спокойного состояния. Также оценивали общее состояние животных, фиксировали время гибели животных с момента введения экстракта во всех наблюдаемых группах.

Применение летальных доз ионизирующей радиации в контрольной группе способствовал развитию морфофункциональной недостаточности всего состава крови осложненного повреждением ряда жизненно важных органов и систем, что приводило к заметной летальности. В контрольной серии не наблюдали, каких либо случаев гибели животных за период наблюдения.

Было обнаружено, что под воздействием ионизирующей радиации скорость оседания эритроцитов крови животных значительно уменьшается. Наряду с этим выявлено, что у облученных животных время свертывания крови увеличилось. У группы животных, введенным экстракт растительного сбора, состоящего из шафрана посевного (*Crocus sativus*), зверобоя (*Hypericum perforatum*) и тысячелистника таволгового (*Achillea filipendulina*) до облучения в летальной дозе, частично нормализуется скорость оседания эритроцитов и свертывания крови, при этом сохраняется гомеостаз крови.

Работа выполнена при поддержке гранта STCU (проект № 5026).

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИШАЙНИКА *PARMELIA VAGANS* НА ГОМЕОСТАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА БЕЛЫХ КРЫС

Эдеева С.Е., Абушинова Н.Н., Бадмаева К.Е., Эльбикова А.А.

Калмыцкий государственный университет, Республика Калмыкия, Элиста, Россия
e-mail: badmaevase80@gmail.com

Язвенная болезнь – одно из самых распространенных заболеваний органов пищеварения во всех странах мира. Несмотря на успехи в гастроэнтерологии, распространенность язвенной болезни по-прежнему не имеет тенденции к снижению, а возникающие зачастую осложнения могут привести к инвалидизации и летальному исходу. Поэтому большое значение отводится проблеме поддержания гомеостаза слизистой оболочки желудка при воздействии на нее различных повреждающих факторов. Особое внимание уделяется роли природных лечебных факторов в процессе поддержания гомеостаза СОЖ. Современные экспериментальные исследования направлены на поиск полифункциональных препаратов, воздействующих на различные патогенетические факторы, лежащих в основе патологий желудочно-кишечного тракта, в том числе и язвенной болезни, и в наименьшей мере вызывающие побочные эффекты. В связи с этим, целью научно-исследовательской работы было изучение возможных протекторных противоязвенных свойств биологически активных веществ лишайника пармелии на гомеостаз слизистой оболочки желудка у крыс.

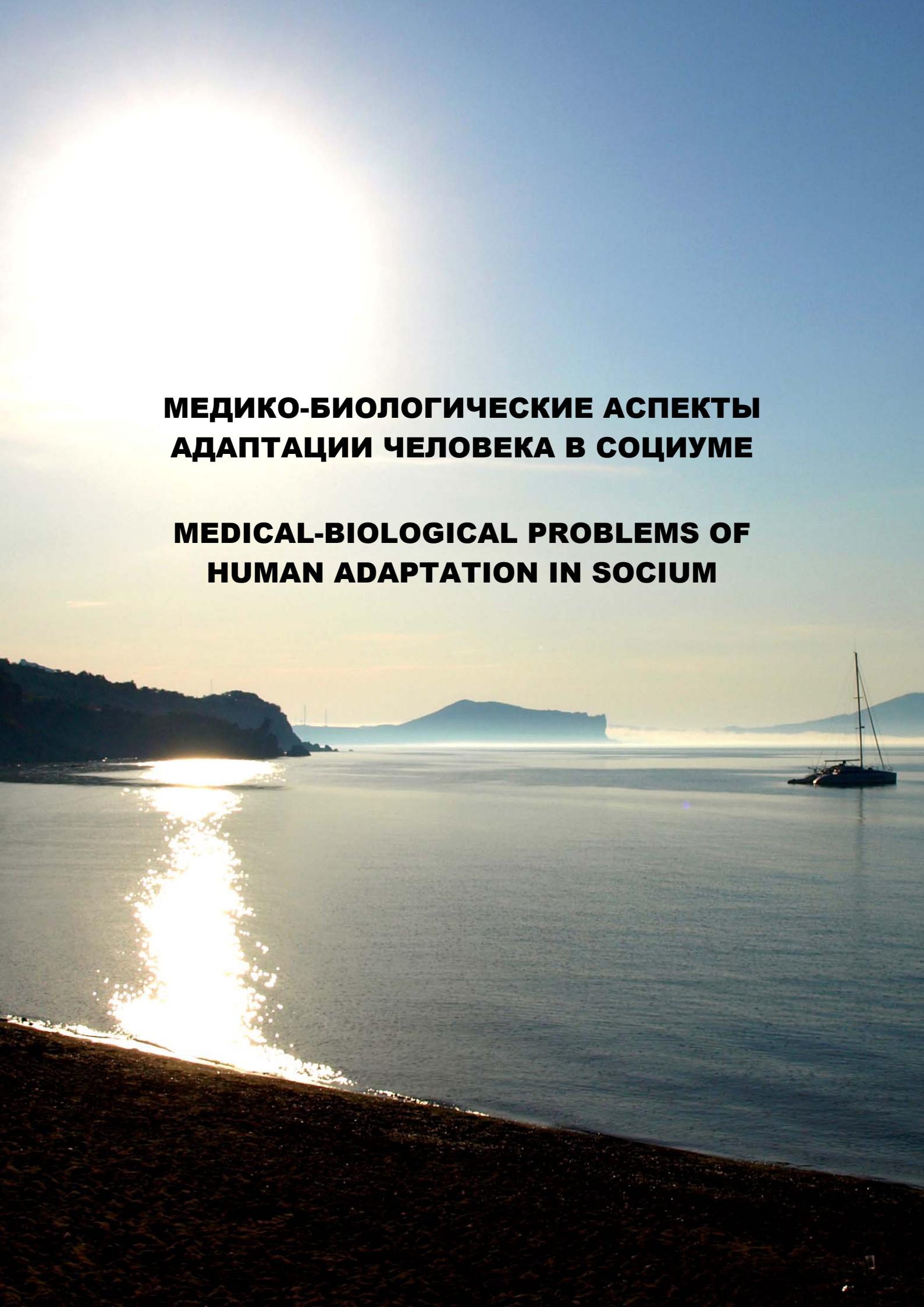
В экспериментах были использованы самцы белых беспородных крыс массой 200-250 грамм. Во всех случаях перед экспериментом животные подвергались 18-часовой пищевой депривации, а в случае этаноловой модели язвообразования лишались еще и воды. Исследование противоязвенных эффектов водного экстракта лишайника пармелии проводили на 3-х экспериментальных моделях язвообразования: этаноловая, стрессорная и модель перевязки пилоруса. Предварительно животные были разделены на 2 группы: контрольную, которая за 1 час до ulcerогенного воздействия получала *per os* физиологический раствор в объеме 1 мл/200г, и экспериментальную – которая в аналогичные сроки и в эквивалентном объеме получала водный раствор лишайника. Анализ повреждений в желудках проводили сразу после эвтаназии животных. Площадь повреждений подчитывали с помощью бинокулярной лупы с окулярмикрометром. Статистическую обработку результатов проводили при помощи компьютерного теста ANOVA, с использованием параметрического LSD-теста. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Как видно из представленных диаграмм, средняя площадь этаноловых повреждений у животных контрольной группы составила 100,1 мм². При внутрижелудочном введении водного раствора пармелии средняя площадь этаноловых геморрагий составила 22,6 мм². Статистический анализ выявил достоверную ($P < 0,05$) протекторную противоязвенную активность пармелии на этаноловой модели язвообразования, величина протекторного эффекта составила 77%. Предварительное введение водного раствора пармелии повышало устойчивость слизистой оболочки желудка к действию и стрессорного ulcerогенного фактора. Так, площадь стрессорных язв у животных контрольной группы составила 1,2 мм², а у животных контрольной группы – 0,2 мм². Статистическая обработка данных выявила достоверность ($P < 0,05$) протекторного противоязвенного действия пармелии и на данной модели язвообразования. На экспериментальной модели вызова язв «Перевязка пилоруса» также были получены аналогичные данные в отношении противоязвенных свойств лишайника пармелии. Величина протекторного противоязвенного эффекта составила 63%.

Таким образом, полученные в работе данные позволяют утверждать, что биологически активные вещества лишайника пармелии оказывают выраженное протекторное противоязвенное действие на различных экспериментальных моделях язвообразования, повышая устойчивость СОЖ к действию различных повреждающих факторов, таких как этанол, стресс и гиперсекреция HCl.



Рис. 1. Влияние биологически активных веществ лишайника пармелии на желудочный ulcerогенез у белых крыс различного генеза. * - $P < 0.05$.



**МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА В СОЦИУМЕ**

**MEDICAL-BIOLOGICAL PROBLEMS OF
HUMAN ADAPTATION IN SOCIUM**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СРЫВОВ ПСИХОСОМАТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕСС-ФАКТОРОВ СРЕДЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ НА НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ УРОВНЕ БИОФИЗИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Кершенгольц Е.Б., Кершенгольц Б.М.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, Россия
e-mail: kerelena@mail.ru, kerschen@mail.ru

Взаимодействие человека с окружающей средой, в том числе с социальной, в современном мире характеризуется нарастанием частоты и интенсивности стрессовых воздействий. В организме человека эволюционно сложился многоуровневый механизм физиолого-биохимических адаптаций к действию стресс-факторов среды, включающий на эндокринном уровне систему гипоталамус – гипофиз – кора (минерало- и глюкокортикостероиды) и мозговое вещество (адреналин) надпочечников (ГГН), для которой характерны отрицательные и положительные обратные связи – атрибуты самоорганизующейся системы. Например, действие стресс-фактора на организм приводит к стимуляции секреции адреналина мозговым веществом надпочечников, который, помимо других функций, возбуждает область гипоталамуса, ответственную за синтез кортикотропин-релизинг-гормона, активируя систему ГГН. Возникающее при этом повышение концентрации кортизола в крови усиливает действие адреналина на ткани и повышает устойчивость организма к стрессу и шоку (положительная обратная связь). В свою очередь глюко- и минералокортикостероиды, как известно, управляют формированием адаптивной реакции на уровне основного белково-углеводно-липидного и водно-минерального обмена, определяют уровень активности других эндокринных систем, иммунореактивности и т.д.

Вместе с тем, адаптивная реакция на стресс, включает в себя и перестройки на уровне нейрохимических медиаторов (адреналин, норадреналин, серотонин и др.), формируя её нейрофизиологическую составляющую. Например, секретируемый адреналин, является активатором триптофанлиролазы – фермента синтезирующего кинуренины (регуляторы тонуса сосудов) из триптофана, что в свою очередь приводит к снижению уровня серотонина в ЦНС, также образующегося из триптофана при участии фермента триптофангидролазы. Это, наряду с уменьшением уровня норадреналина при повышении концентрации адреналина, через определенное время вызывает склонение маятника психоэмоциональных состояний в более спокойную сторону. Затем, в норме, по принципу отрицательных обратных связей, снижение уровня норадреналина приводит к уменьшению концентрации адреналина и ... данный маятник вновь приходит в состояние относительного возбуждения.

Если же интенсивность стресс-факторов среды, в том числе социальной, становится неадекватной адаптивному потенциалу нейроэндокринной системы организма, то амплитуда колебаний, например, норадреналин-серотонинового маятника начинает резко увеличиваться, обуславливая формирование то депрессий, то психотических состояний, в пределе – маниакально-депрессивных или реактивных психозов. На практике, такие крайние формы срыва адаптации встречаются достаточно редко. В то время как встречаемость пограничных психосоматических состояний (неврозов, фобий, панических атак, состояний, характеризующихся навязанностью мыслей, действий и т.д.), зачастую сопровождающихся различными соматическими осложнениями, первичная причина которых заключается в стойком увеличении амплитуды колебаний серотонин-норадреналинового маятника и в «запоминании» этого на уровне перестроек межнейронных взаимодействий в ЦНС в определенных участках мозга, растет быстрыми темпами. Адаптации к стресс-факторам нейроэндокринных регуляторных систем все больше и больше «погружают» организм в данное состояние, раскачивая маятник, как психологической, так и биохимической составляющих. В результате усугубляются соматические проявления, повышенная тревожность, напряженность, страхи и т.д.

Для того чтобы выйти из данного состояния требуется уменьшить амплитуду колебаний «маятника», инициировать «саморазборку» тех нейронных кластеров, образование которых обеспечивало «запоминание» постстрессовых патологических нейроэндокринных регуляций. Соответственно, вернуть реакции в нужное русло, снять психоэмоциональную негативную память о данной постстрессовой реакции. Наш опыт работы в рамках кабинета психологической помощи населению, показывает высокую эффективность при купировании такого рода состояний, немедикаментозной биофизической технологией ЭМАТ, в сочетании с определенными психотерапевтическими приемами: за 3 года работы, эффективность составила 81%. Данная методика позволяет, разобрать те «зациклинности», которые сложились на межнейронном уровне, и вывести ЦНС и организм в целом из патологического «аттрактора».

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOCHEMICAL ASPECTS OF FAILURE IN HUMAN ADAPTATION PSYCHOSOMATIC EFFECT OF STRESS AND ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE CORRECTION OF THE POSSIBILITY OF THEIR LEVEL NEUROPHYSIOLOGIC BIOPHYSICAL METHODS

Kershengolts E.B., Kershengolts B.M.

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia
e-mail: kerelena@mail.ru, kerschen@mail.ru

Human interaction with the environment, including social, in the modern world are characterized by increasing frequency and intensity of stress effects. The human body formed a multi-level evolutionary mechanism of physiological and biochemical adaptations to the action of stress factors of the environment, including on the endocrine system of the level of the hypothalamus - hypophysis - crust (mineral- and glucocorticoids) and medulla (adrenaline), adrenal (HHA), which is characterized by negative and positive feedback - the attributes of self-organizing system. For example, the effect of stress factors on the human organism leads to stimulation of adrenaline secretion of the adrenal medulla, which, among other functions, stimulates the area of the hypothalamus, which is responsible for the synthesis of corticotropin-releasing hormone, activating the HHA system. This occurs when an increased concentration of cortisol in the blood increases the effect of adrenaline on the tissue and increases resistance to stress and shock (positive feedback). In turn, gluco- and mineral corticosteroids are known to control the formation of adaptive responses at the level of the main protein-carbohydrate-lipid and water-mineral metabolism, determine the level of activity of other endocrine systems, immune response, etc.

However, the adaptive response to stress includes the restructuring at the level of neurochemical mediators (adrenaline, noradrenaline, serotonin, etc.), forming its neurophysiological component. For example, the secreted adrenaline, is an activator of tryptophanpyrrolase - synthesizing enzyme kynurenine (regulators of vascular tone) from tryptophan, which in turn leads to a decrease in serotonin levels in the central nervous system (CNS), also formed from tryptophan by the enzyme tryptophanhydroxylase. This, along with a decrease in the level of noradrenaline with an increase concentrations of adrenaline, after a certain time causes the decline of the pendulum of psycho-emotional states in a more relaxed way. Then, in the norm, according to the principle of negative feedback, reducing the level of noradrenaline leads to a decrease in the concentration of adrenaline and the pendulum once again comes in a relative arousal state.

If the stress intensity factors of the environment, including social, is inadequate to adaptive potential of the neuroendocrine system of the organism, the amplitude of the oscillations, such as noradrenaline of serotonin row, the pendulum begins to rise sharply, causing the formation of a depression, the psychotic conditions, in the limit - a manic-depressive or reactive psychosis. In practice, such extreme forms of adaptation failure are rare. While the incidence of psychosomatic border states (neurosis, phobias, panic attacks, states characterized by obtrude of thoughts, actions, etc.), often accompanied by various somatic complications, the primary cause of which lies in the persistent increase in the oscillations amplitude of of serotonin-noradrenaline pendulum and "memorization" of the rearrangements at on the level of interneuronal interactions in the CNS in certain areas of the brain is growing rapidly. Adaptation to stressors neuroendocrine regulatory systems are more and more "immersed" in a given state of the organism, swinging the pendulum, as he psychological and biochemical components. As a result, exacerbated by the somatic manifestations increased anxiety, tension, fears, etc.

To exit this state is required to reduce the amplitude of oscillations "pendulum" initiate "self-disassembly" of the neuronal clusters, which ensured the formation of "remembering" abnormal post-stress neuroendocrine regulation. Accordingly, the back reaction in the right direction, remove the negative psycho-emotional memory of this post-stress reaction. Our work experience in the cabinet of psychological help to the population, shows high efficacy in relieving such conditions, medication-free biophysical EMAT technology, combined with specific psychotherapeutic techniques for the three years of work, efficiency was 81%. This technique allows to disassemble those "obsessions" that were formed on interneural level, and bring out of central nervous system and whole organism from the pathological "attractor".

Адаптационные стратегии живых систем

11-16 июня 2012, Новый Свет, АР Крым
Украина

ПРИМЕРЫ АДАПТАЦИОННЫХ ДИАГРАММ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Поляк Э.А.

Екатеринбург, Россия
e-mail: maket@bkural.ru

Естественная систематизация хронологических данных в связи с изменениями солнечной активности по химической методологии (Дж. Дальтон, Ш. Жерар, Д.И. Менделеев) позволила получить относительный параметр P с физическим смыслом отношения энергетических импульсов. Параметр P весьма чувствителен к изменениям хронологических данных. Это позволяет дополнить периодичность изменения солнечной активности в двенадцати группах (циклический календарь [1] и 11-летние циклы солнечной активности [2]) периодичностью изменения P в трех группах и получить адаптационные диаграммы, соответствующие различным видам интеллектуальной деятельности. Диаграммы показаны на рисунках.

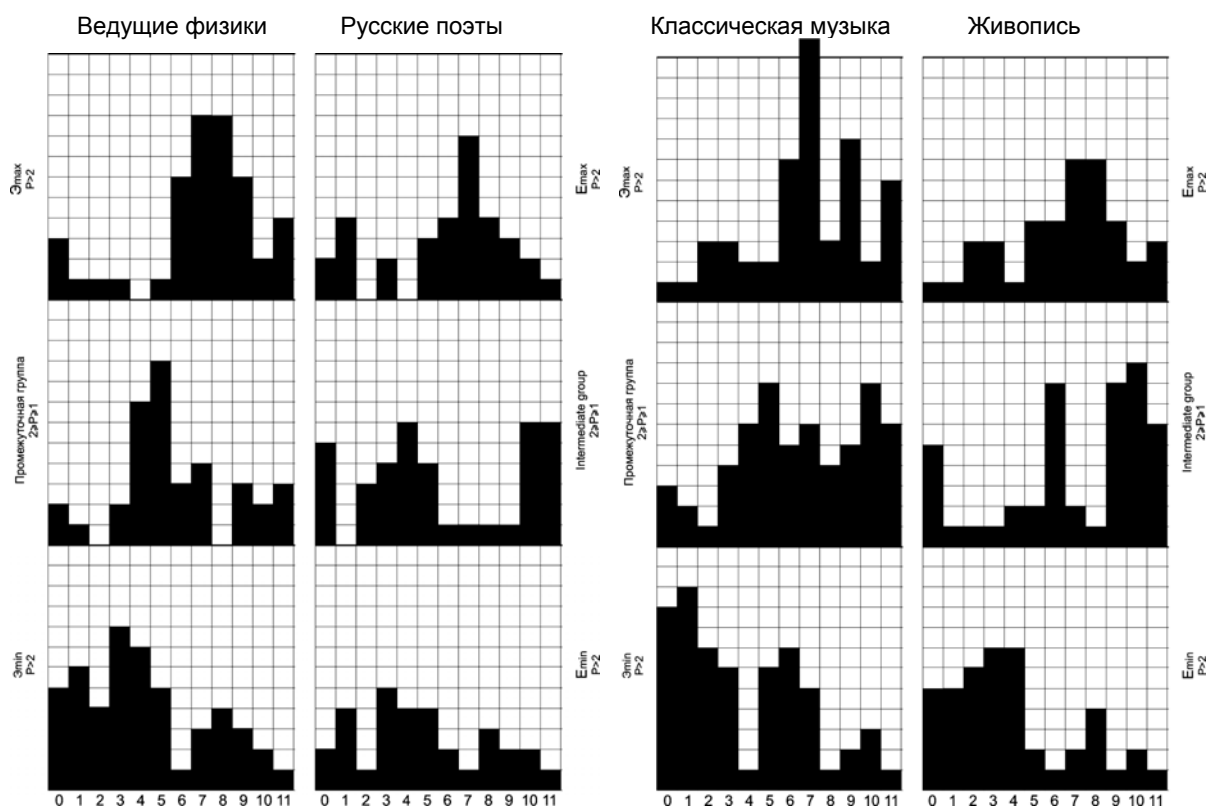


Рис. Примеры адаптационных диаграмм в пределах 11-летнего цикла.

Литература.

1. Волдомононов Н.В. Календарь, прошлое, настоящее, будущее – М.: Наука, 1987, с.15-17.
2. Эйгенсон М.С., Гневашев М.Н., Рубашев Б.М., Оль А.И. Солнечная активность и ее земные проявления – М.: Гос. изд. техно-теорет. лит., 1948, с. 30-34.
3. Поляк Э.А. Некоторые составляющие естественной систематизации хронологических данных. VIII Международная крымская конференция «Космос и Биосфера». Судак, Крым, Украина, 28.09-03.10.2009 г. Тезисы докладов. – Киев: Mavis, 2009, с.277-278.

Adaptive Strategies of Living Systems

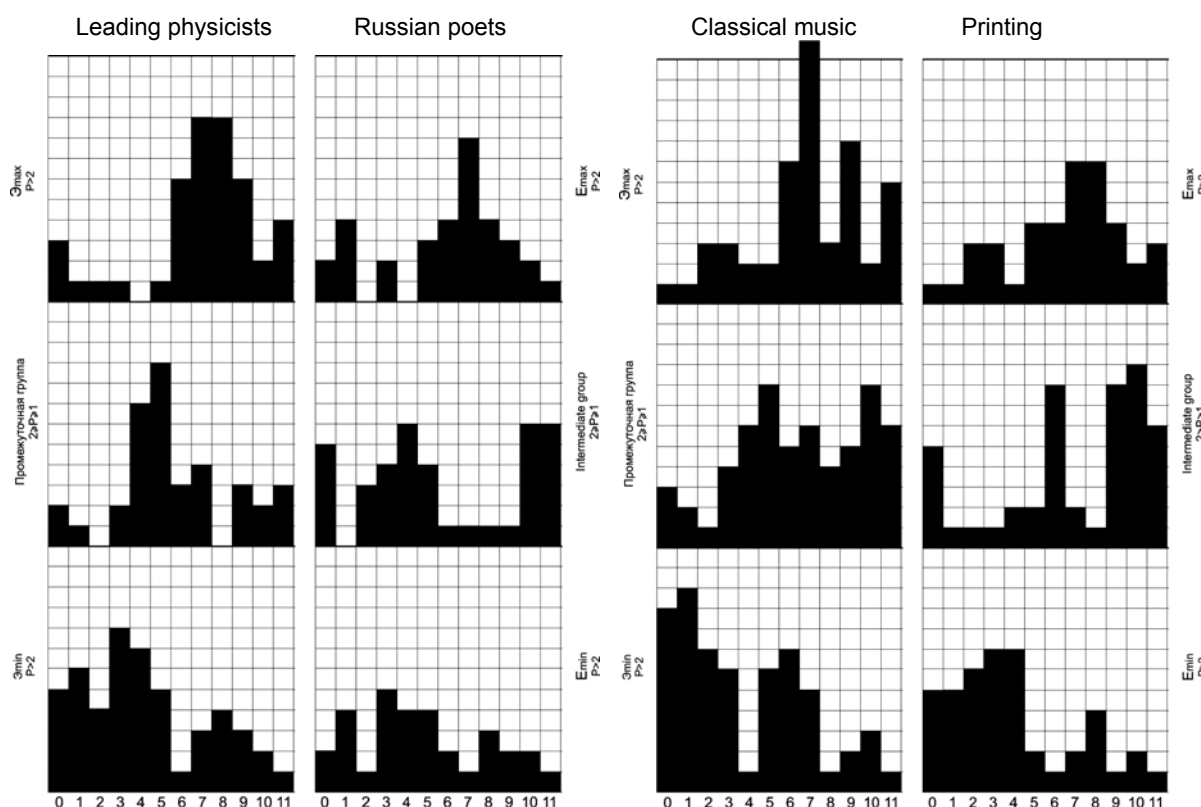
June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EXAMPLES OF ADAPTATION DIAGRAMS FOR DIFFERENT FORMS OF INTELLECTUAL ACTIVITY

Polyak E.A.

Ekaterinburg, Russia
e-mail: maket@bkural.ru

Natural systematization of chronological data in connection changes of sun's activity according to chemical methodology (J. Dalton, Sh. Jerar, D. Mendeleev) are changed from 1 under infinity, have the physical sense of relation of energetic impulses, sensibiliest to modification of calendar-chronological dates and that allows to complete periodicity of twelve groups (cyclic calendar [1], eleven years cycles of sun's activity [2]) by periodicity at the three groups Emin, E max and intermediate and to receive adaptational diagrams, corresponding to different forms of intellectual activity. Diagrams was showed at pictures and allow to receive on level of estimate optimal forms of intellectual activity.



Pic. Examples of adaptation diagrams for 11-year cycle

References

1. Волдоионов Н.В.//Календарь, прошлое, настоящее, будущее – М.: Наука, 1987, с.15-17.
2. Эйгенсон М.С., Гневышев М.Н., Рубашев Б.М., Оль А.И.//Солнечная активность и ее земные проявления – М.: Гос. изд. техно-теорет. лит., 1948, с. 30-34.
3. Polyak E.A.//Some components of natural systematization of chronological data. VIII International Crimean Conference. Sept. 28-Oct. 03 2009. Sudak, Crimea, Ukraine – Kiev: Mavis, 2009. P.277-278.

ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ СРАВНИТЕЛЬНАЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА АДАПТИВНОСТИ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

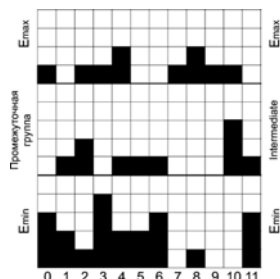
Поляк Э.А.

Екатеринбург, Россия
e-mail: maket@bkural.ru

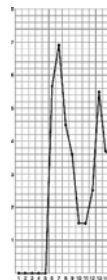
Обоснование и технология использования естественной систематизации хронологических данных в связи с изменениями солнечной активности при характеристике взаимодействия Космоса и Биосферы рассмотрен ранее в работах [1-7]. Исследования были направлены на утверждение и реабилитацию научного подхода к рассмотрению проблемы связей Космоса и Биосферы в концептуальном, смысловом и ценностном аспектах.

Содержание и названия цитированных материалов показывают, что здесь имело место осуществление сравнительной количественной оценки адаптивности человека к медико-биологическим условиям его функционального состояния в социуме к психологическим и физиологическим особенностям его поведения при реализации в различных видах интеллектуальной деятельности (научные дисциплины, шахматы, политические деятели).

Хронологические данные маркируются датами рождения исторических личностей с заведомо известными характеристиками их поведения и достижений. Характеристики находят в достоверных источниках. Результаты могут быть представлены в виде диаграммы. Медико-биологические аспекты адаптации человека в социуме показаны на примере, заимствованном из монографии [8]. Речь идет о динамике изменения относительного количества летальных исходов, зафиксированных в Свердловской области в 1988-2002 гг. при вызовах скорой помощи на предмет ликвидации последствий передозировки наркотиков. Здесь имеет место закономерно восходящий характер ветвей, соответствующих группам годов, относящихся к эпохам минимума и максимума солнечной активности, и закономерно нисходящий – соответствующий промежуточным группам. Таким образом, в последнем случае имеет место более высокий уровень адаптации человека к экстремальным условиям жизнеобеспечения. Очевидно, что аналогичный подход может быть использован при рассмотрении чрезвычайных происшествий, включая ДТП.



Пример адаптационной диаграммы.
Президенты США.



Изменение адаптивности в трех группах по данным [8].
1-15 – 1988-2002 гг.

Литература

1. Поляк Э.А. Практические аспекты использования естественной систематизации хронологических данных в связи с изменениями солнечной активности. – IX Международная Крымская конференция «Космос и Биосфера». Тезисы. 10-15 октября 2011 г., Алушта, Крым. – Симферополь: Дайпи, 2011, с.96, 97.
Он же, там же, с.94, 95//Естественное моделирование связей космоса и биосферы.
2. Поляк Э.А. Использование биологически активных веществ: очевидность влияния временных, хронологических и географических факторов//Международная конференция «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения». Новый Свет, Крым, Украина, 23-28 мая 2011. Тезисы – Киев: Изд. Mavis. 2011, с 713.
3. Поляк Э.А. Некоторые составляющие естественной систематизации хронологических данных/VIII Международная Крымская конференция «Космос и Биосфера». Судак, АР Крым, Украина, 28.09-03.10.2009. Тезисы – Киев: Mavis, 2009, с.277.
4. Поляк Э.А. Об одной из возможных причин негативной тенденции снижения уровня результатов российских спортсменов и шахматистов. V Международный Конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицина». С.-Петербург, 20.06-03.07.2009 г. Тезисы – С.-Петербург: Информнаука, 2009, с.277-278. Там же, с.279. Естественнонаучный анализ перспектив завоевания М.Карлсеном звания чемпиона мира по шахматам.
Он же, там же, с.280. Факт удивительной дискриминации в избирательной системе США.
5. Поляк Э.А. Шахматы, как учебная и научная дисциплина. В сборнике «Философское мировоззрение и картина мира». Четвертые Лойфмановские чтения (материалы Всероссийской научной конференции. Екатеринбург, 17-18.12.2009 г.) – Екатеринбург: Изд. Уральского университета, 2009, с.328-331.
6. Поляк Э.А. Периодический закон Д.И. Менделеева и естественная систематизация хронологических данных в связи с изменениями солнечной активности. XVIII Менделеевский Съезд по общей и прикладной химии. Москва, 23-28.09.2011 г. Тезисы докладов, т 4 – М.: Граница. 2007, с. 328.
7. Поляк Э.А. Естественная систематизация хронологических данных в связи с изменениями солнечной активности. IV Международный Конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицина». С.-Петербург, 03.07.2006 г. Тезисы, с.147. Сборник избранных трудов, с.86-94.
8. Талалаева Г.В., Вишневецкий Ю.Р., Шапко В.Г. Наркомания: аномальная форма адаптации молодежи – Екатеринбург: Изд. УГТУ-УПИ. 2007, с.99.

Adaptive Strategies of Living Systems

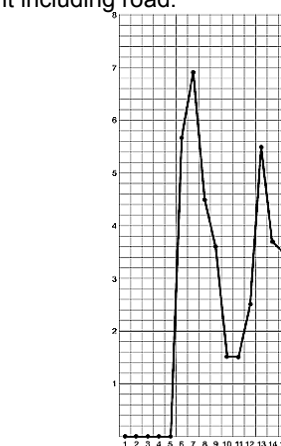
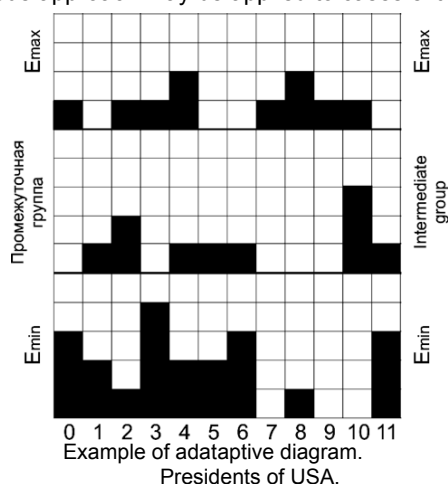
June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

A TENTATIVE COMPARATIVE DEMI-QUANTITATIVE ESTIMATION OF ADAPTATION OF ALIVE ORGANISMS

Polyak E.A.

Ekaterinburg, Russia
e-mail: maket@bkural.ru

Basis and technology of utilization of results the natural systematization of the chronological data in connection Sun's activity at elaboration of Model communication of Cosmos and Biosphere was examined before [1-7]. Investigations was made to statement and rehabilitation of scientific method to consideration of problem connections Cosmos and Biosphere at conceptual, common sense and valuable compositions. The contents and titles of quoting materials testify that tentative, comparative, quantative estimation of adaptation man to medical and biological conditions of their functional state, to physiological and psychological peculiarity of his conduct at different various aspects of intellectual public work (branch of science, chess, workers statesman). A success accompanies to extremal conditions there. Calendar years for period from 1610 can be marked years of birth historical personalities with known character, what are considered at reliable stokers. Results can be presented at form of tables and diagrams. Medical and biological aspects of adaptation man to conditions of security life is showed for example borrowing from monograph [8]. There is cited dynamic of change relative quantity of flying outcome of narcotics overdo it in the Sverdlovsk region at period 1988-2002 years. Picture reflects rising character of branches corresponding to group Emin and Emax while descending character corresponding to intermediate group. Thus at later case is more high level of adaptation of man to extremal conditions. It is obvious that analogous approach may be applied to cases extraordinary incident including road.



References

1. *Polyak E.A.* Practical aspects of investigation on results of the natural systematization of the chronological data in connection with alternation of the sun's activity. – IX International Crimean Conference "Cosmos and Biosphere". Alushta, Crimea, Ukraine. October 10-15 2011. Simpheropol: Diapy, 2011, p.96-98.
He is, in same place, p.94-95/Natural model bonds cosmos and biosphere.
2. *Polyak E.A.* Utilization of biological active substances: obvious phenomena of influence temporary chronological and geographical factors. International Conference "Biological active substances: Fundamental and applied questions of receipt and application". New World, Crimea, Ukraine. May 23-28 2011 – Kyiv: Mavis, 2011, p.713.
3. *Polyak E.A.* Some components of natural systematization of chronological data/VIII International Crimean Conference. Sudak, Crimea, Ukraine – Kyiv: Mavis, 2009, p.277.
4. *Поляк Э.А.* Об одной из возможных причин негативной тенденции снижения уровня результатов российских спортсменов и шахматистов. V International Congress "Low and superlow fields and radiation in biology and medicine". Санкт-Петербург. 29.06-03.07.2009. Abstracts – С.-Петербург: Информнаука. 2009, с.277-278.
He is, in same place, p.279, Естественнонаучный анализ перспектив завоевания М.Карлсеном звания чемпиона мира шахматам.
He is, in same place, p.280, Факт удивительной дискриминации в избирательной системе США.
5. *Поляк Э.А.* Шахматы, как учебная и научная дисциплина. В сборнике «Философское мировоззрение и картина мира». Четвертые Лойфмановские чтения (материалы Всероссийской научной конференции. Екатеринбург, 17-18.12.2009 г.) – Екатеринбург: Изд. Уральского университета, 2009, с.328-331.
6. *Polyak E.A.* Mendeleev's Periodic Law and natural systematization of the chronological data. XVIII Mendeleev Congress in general and applied Chemistry, v.4 – Moscow, September 23-28 2011 – Moscow: Граница. 2007, с. 328.
7. *Polyak E.A.* Natural systematization of the chronological data in connection alteration of activity sun. IV International Congress "Low and superlow fields and radiation in biology and medicine". Saint-Petersburg, 03-07.07.2006. Abstracts, p.147. Proceedings, p.88-94.
8. *Талалаева Г.В., Вишневецкий Ю.Р., Шапко В.Г.* Наркомания: аномальная форма адаптации молодежи – Екатеринбург: Изд. УГТУ-УПИ. 2007, с.99.

**МЕХАНИЗМЫ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ
АДАПТАЦИЙ**

**MECHANISMS OF PHYLOGENETIC
ADAPTATIONS**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ЭТАПЫ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕРОДА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА

Бакирова Г.Г., Чиков В.И.

Федеральное государственное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия
e-mail: vichikov@bk.ru

Проанализированы особенности распределения ^{14}C среди продуктов фотосинтеза листа и их экспорта в потребляющие органы растения при изменении массы образующихся ассимилятов. Показано, что при увеличении массы продуктов фотосинтеза включается ряд адаптационных процессов с постепенно возрастающим собственным временем полунасыщения. Самым быстродействующим оказывается процесс диффузии CO_2 в места карбоксилирования и связывание углекислоты с образованием фосфоглицериновой кислоты (доли секунды).

Образовавшийся избыток ФГК некоторое время не может быть восстановлен до сахаров и интенсивно метаболизирует по невосстановительному пути с образованием аланина, а через ФЭП-карбоксилированиемалата и аспартата (до одной-двух минут). Под давлением избытка ФГК увеличивается образование интермедиатов цикла Кальвина – фосфатов сахаров (ФЭС), которые также начинают накапливаться, так как их экспорт не может быть осуществлен в полной мере сложившейся системой отлаженного транспорта сахарозы по флоэме. В результате происходит накопление ассимилятов в апопласте листа (около нескольких минут). В это время возникают условия для нефотосинтетической метаболизации ФЭС (через шикиматный путь) до ароматических аминокислот предшественников фитогормонов (см. схему).

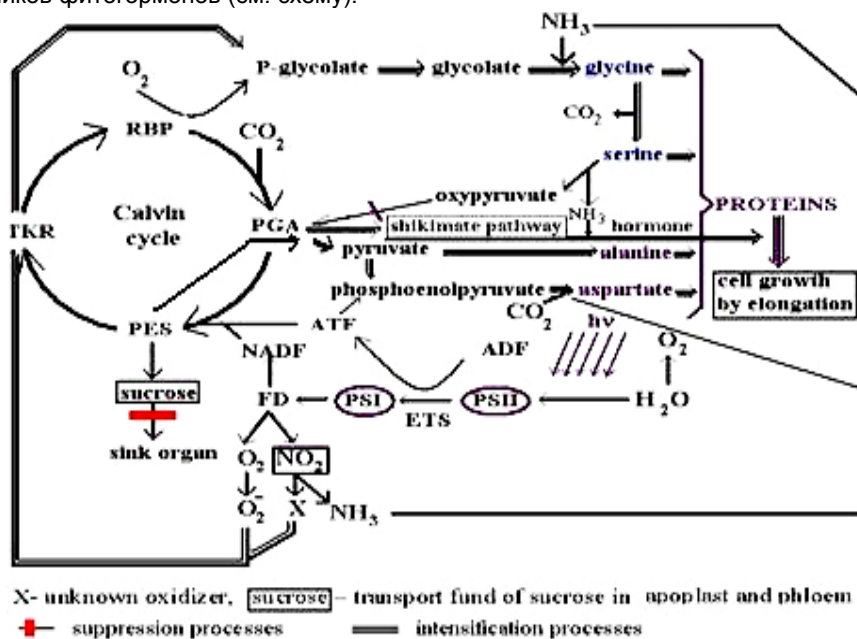


Fig. 1. Scheme of regulation of carbon photosynthetic metabolism (thick arrows: reactions activated by ybnhnty and assimilate inhibition).

X – unknown oxidizer. Sucrose transporter fund in apoplast and phloem is shown [Chikov, Abdrakhimov, Bakirova, Batasheva, 2007].

Созданный повышенный пул сахарозы, способствует большей ее загрузке во флоэмные окончания, но с повышенным количеством образовавшейся сахарозы не справляется система загрузки ее из апопласта во флоэмные окончания. Активность и количество ферментов обслуживающих существовавший до этого поток ассимилятов оказывается недостаточным. Происходит увеличение пула меченых продуктов фотосинтеза в апопласте и флоэмных окончаниях. В итоге, экспортный поток ассимилятов относительно снижается.

Постепенное накопление сахарозы во флоэмных окончаниях в пределах листовой пластинки приводит к относительному возрастанию содержания ^{14}C -сахарозы в низкомолекулярной фракции меченых продуктов фотосинтеза (30-60 минут). Далее ^{14}C -сахароза активно оттекает из листа и в это время проявляется успешность экспортной функции листа. При торможении оттока ассимилятов из листьев (при удалении потребляющих органов или увеличении нитратного питания) происходит их задержка в области флоэмных окончаний (до 2-3-х часов). Все изменения с распределением продуктов фотосинтеза по растению завершаются в основном в течение одного фотопериода.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

STAGES OF ADAPTATION OF CARBON PHOTOSYNTHETIC METABOLISM AFTER PHOTOSYNTHESIS INTENSIVITY CHANGE

Bakirova G., Chikov V.

Federal state organization of science Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics
Kazan Research Center of Russian academy of Sciences, Kazan, Russian Federation
e-mail: vichikov@bk.ru

Peculiarities of ^{14}C distribution among photosynthesis products of a leaf were analyzed as well as their export into the consuming plant organs during the change of developing assimilates mass. We show that within the increasing mass of photosynthesis products a number of adapting processes with its growing time of half-saturation is being turned on. The CO_2 diffusion process into the places of carboxylation and the binding of carbon dioxide with phosphoglyceric acid creation become the fastest (shares of a second). The resulting excess of the phosphoglyceric acid during a certain time can't be restored to sugars and intensively metabolize within the non-restoring way with alanine formation, and through ФЭП-карбоксилированием аланина и аспарата (up to 1-2 minutes).

Under the pressure of PGA excess Calvin-cycle intermediates – sugar phosphates – are being rapidly formed. Then they are also being accumulated because their export can't be fully done by the existing system of well-functioned transport of sucrose in the phloem. As a result assimilates are being accumulated in a leaf's apoplast (within several minutes). At the same time conditions for non-photosynthetic metabolism of sugar phosphates (through шикиматный way) up to aromatic aminoacids of phytohormones' precursors come up (see the scheme).

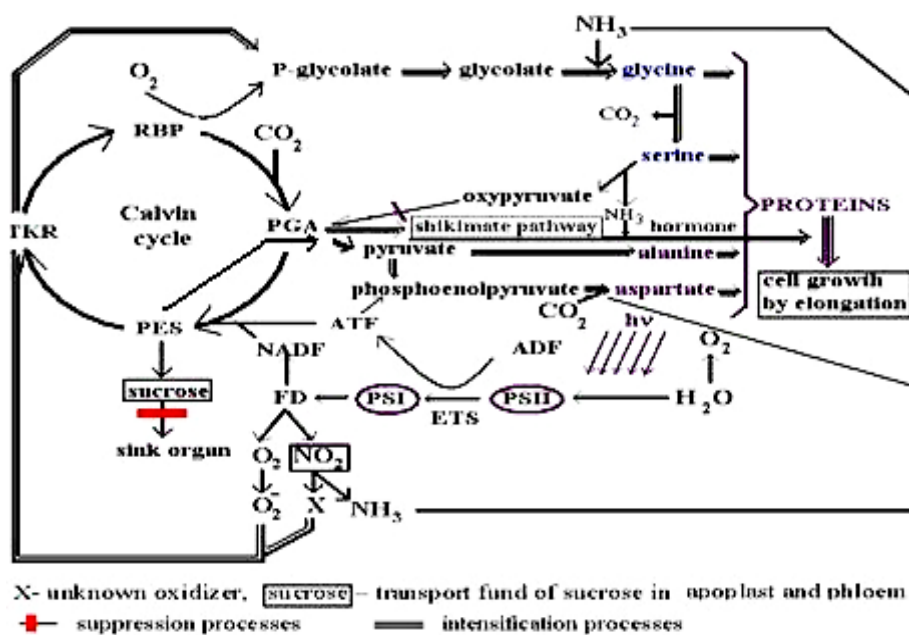


Fig. 1. Scheme of regulation of carbon photosynthetic metabolism (thick arrows: reactions activated by ybnhuty and assimilate inhibition).

X – unknown oxidizer. Sucrose transpoer fund in apoplast and phloem is shown [Chikov, Abdrakhimov, Bakirova, Batasheva, 2007].

A created raised sucrose pool helps to a greater loading into the phloem endings. Its loading system from the apoplast into the phloem endings can't handle with a raised amount of the sucrose created. The activity and amount of enzymes, servicing the existed flow of assimilates become insufficient. The apoplast and phloem ending pool of labeled photosynthesis products is being increased. As a result export flow of assimilates is being relatively decreased.

The gradual accumulation of sucrose in the phloem endings within the leaf leads to a relative increase of ^{14}C -sucrose in low-molecular fraction of labeled photosynthesis products (30-60 minutes). Subsequently ^{14}C -sucrose actively flows from the leaf. At the same a success of leaf export function comes up. During the decrease of assimilate flowing from the leaf (because of removal of consuming organs or increasing the nitrate nutrition) one can see their delay around the phloem endings (up to 2-3 hours).

All changes with distribution of photosynthesis products in plan was finished basically within one photoperiod.

ТРАНСПОРТ Cl^- У ГАЛОФИТОВ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ И УРОВНЕ ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ

^{1,2}Балнокин Ю.В., ¹Шувалов А.В., ¹Халилова Л.А., ¹Орлова Ю.В.,
¹Мясоедов Н.А., ^{1,3}Беляев Д.В., ¹Андреев И.М.

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Московский физико-технический институт, Москва, Россия
e-mail: balnokin@mail.ru

Исследован транспорт Cl^- у соленакапливающего галофита *Suaeda altissima* (L.) Pall.; солеисключающих галофитов *Thellungiella salsuginea* (Pall) O.E. Schulz и *Juncus sp.*, а также у галоксерофита *Artemisia lerchiana* (Web.). Впервые на выделенных из корней растений мембранных препаратах продемонстрировано функционирование Cl^-/H^+ -антипортеров. Функциональную идентификацию Cl^-/H^+ -антипортеров проводили с помощью оптических индикаторов, акридинового оранжевого, пиранина и сафранина О, позволяющих регистрировать изменения pH внутри мембранных везикул и изменения трансмембранного электрического потенциала ($\Delta\psi$), которые происходили при наложении на мембрану концентрационного градиента Cl^- ($\Delta p\text{Cl}$). При создании на мембране $\Delta p\text{Cl}$, направленного из наружной среды в везикулярный люмен, наблюдался транспорт H^+ из везикул (защелачивание люмена) и генерация $\Delta\psi$, отрицательного внутри везикул. Поддержание длительного $\Delta p\text{Cl}$ -зависимого транспорта H^+ из везикул требовало присутствия в среде проникающих катионов, тетрафенилфосфония⁺ или трис⁺, которые нейтрализовали отрицательные заряды, накапливающиеся в везикулярном люмене при работе Cl^-/H^+ -антипортера. Используя эти подходы, мы смогли наблюдать функционирование Cl^-/H^+ -антипортера в мембранах, выделенных из корней всех исследованных видов галофитов. В экспериментах с фракционированием мембран клеток корня *S. altissima* в линейном градиенте плотности иодиксанола (Opti-Prep) наиболее интенсивный Cl^-/H^+ обмен был обнаружен в везикулах аппарата Гольджи и был также найден в вакуолярной мембране. Мы предположили, что Cl^-/H^+ -антипортер тонопласта непосредственно осуществляет транспорт Cl^- из цитоплазмы в вакуоль, тогда как Cl^-/H^+ -антипортер аппарата Гольджи вовлечен в экспорт цитоплазматического Cl^- в вакуоль или в периплазматическое пространство посредством, соответственно, эндоцитозных или экзоцитозных структур. В пользу везикулярного транспорта Cl^- свидетельствуют результаты проведенного нами исследования ультраструктуры клеток органов *S. altissima* и *Th. salsuginea*. Внесение NaCl в питательный раствор, на котором культивировали растения, стимулировало образование у соленакапливающего галофита *S. altissima* преимущественно эндоцитозных, а у солеисключающего галофита *Th. salsuginea* – преимущественно экзоцитозных структур. Существенный вклад в формирование этих структур вносили мембраны аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулаума. Кроме того, в цитоплазме клеток корня и листа *S. altissima* методом электронной цитохимии, основанной на образовании электронно-плотных гранул AgCl при обработке тканей ионами Ag^+ , была обнаружена локальная аккумуляция Cl^- в зонах, прилегающих большей частью к тонопласту, что может указывать на аккумуляцию Cl^- в предвакуолярных компартментах.

Для выявления путей движения ионов Cl^- у *S. altissima* и *Th. salsuginea* в системе целого растения изучали распределение Cl^- по тканям и клеткам корня, стебля и листа. Локализацию Cl^- регистрировали двумя методами – с помощью флуоресцентного индикатора ионов Cl^- , MEQ (6-methoxy-N-ethylquinolinium iodide) и методом электронной цитохимии. Оба метода показали, что у двух видов галофитов ионы Cl^- движутся в корне к надземным органам по апопласту эпидермы и коры и что транспорт Cl^- практически не происходит по ксилеме. Это – новый, не известный ранее факт. С помощью флуоресцентного красителя берберина у обоих галофитов обнаружено наличие сильно развитых поясков Каспари в клеточных стенках эндодермы боковых корней, что препятствует загрузке Cl^- в сосуды ксилемы. Загрузка ксилемы ионами Cl^- происходит в главном корне в местах ответвления от него боковых корней и дальнейший транспорт Cl^- в стебле и листьях осуществляется по ксилеме. В соответствии с принадлежностью *S. altissima* к соленакапливающим галофитам, а *Th. salsuginea* – к солеисключающим, содержание Cl^- , а также и Na^+ в корнях и, особенно, в листьях у первого вида было существенно выше, чем у второго. Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что несмотря на наличие общих черт в транспорте Cl^- у соленакапливающего и солеисключающего галофитов, в частности, на участие в транспорте ионов у того и другого вида Cl^-/H^+ -антипортера, а также на идентичность путей транспорта Cl^- из корня в побег, имеется существенное отличие. У солеисключающего галофита *Th. salsuginea* основной вектор оттока Cl^- из корня направлен в наружную среду, тогда как у соленакапливающего галофита *S. altissima* поглощенные корнем ионы Cl^- транспортируются преимущественно в побег, где депонируются в вакуолях клеток листьев.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 12-04-00987-а.

Cl⁻ TRANSPORT IN THE HALOPHYTES AT CELLULAR AND WHOLE PLANT LEVELS

^{1,2}Balnokin Y.V., ¹Shuvalov A.V., ¹Khalilova L.A., ¹Orlova Y.V.,
¹Myasoedov N.A., ¹Kurkova E.B., ^{1,3}Belyaev D.V., ¹Andreev I.M.

¹ Timiryazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

e-mail: balnokin@mail.ru

Cl⁻ transport has been investigated in the salt accumulating halophyte *Suaeda altissima* (L.) Pall.; the salt excluding halophytes *Thellungiella salsuginea* (Pall) O.E. Schulz and *Juncus sp.*, as well in the haloxerophyte *Artemisia lerchiana* (Web.). For the first time, the activity of Cl⁻/H⁺-antiporters has been demonstrated in the isolated membrane preparations. The functional identification of the Cl⁻/H⁺-antiporters was carried out using optical indicators acridine orange, pyranine, and safranin O to monitor changes of pH inside the membrane vesicles and of the transmembrane electric potential ($\Delta\psi$) with the Cl⁻ gradient (ΔpCl) imposed on the membrane. The H⁺ transport from the vesicles (lumen alkalization) and the $\Delta\psi$ generation, negative inside, were observed when the ΔpCl directed from the exterior into the vesicle lumen on the membrane was established. The maintenance of the ΔpCl -dependent H⁺ transport from the lumen required presence of the permeable cations, tetraphenylphosphonium⁺ or Tris⁺, neutralizing negative charges accumulated inside the vesicles as a result of the operation of the Cl⁻/H⁺-antiporters. Using these approaches, we could observe the activity of the Cl⁻/H⁺-antiporter in the membranes isolated from roots of all halophyte species studied. When fractionating the *S. altissima* root cell membranes by centrifugation in the continuous density gradient of iodixanol (Opti-Prep), the most active Cl⁻/H⁺-exchange was observed in Golgi and also detected in tonoplast vesicles. We suggested that the tonoplast Cl⁻/H⁺-antiporter performs Cl⁻ transport from cytoplasm to vacuole directly whereas the Golgi Cl⁻/H⁺-antiporter is involved into the export of cytoplasmic Cl⁻ into vacuole or periplasmic area by means of endocytic or exocytic structures, respectively. The results of our ultrastructural study of *S. altissima* и *Th. salsuginea* cells indicate the existence of the vesicular Cl⁻ trafficking. The NaCl addition to the nutrient solution used for plant growth predominantly stimulated the development of the endocytic structures in the salt accumulating halophyte *S. altissima* and predominantly stimulated the development of the exocytic structures in the salt excluding halophyte *Th. salsuginea*. These structures were to a large extent derived from the Golgi and endoplasmic reticulum membranes. Furthermore, the local accumulation of Cl⁻ in the vicinity of the vacuolar membranes was detected by the electron cytochemistry as judged by the appearance of electron-dense AgCl granules following the treatment of the tissues with Ag⁺. This may indicate the Cl⁻ accumulation in the prevacuolar compartments. For elucidation of the Cl⁻ routes in *S. altissima* и *Th. salsuginea* at the whole plant level, the Cl⁻ distribution among tissues and cells of roots, stems, and leaves was studied. The Cl⁻ localization was determined by two methods, with the fluorescent Cl⁻ indicator MEQ (6-methoxy-N-ethylquinolinium iodide) and by the electron cytochemistry. Both methods originally showed that, in the two halophyte species, Cl⁻ ions are transported by roots to aerial organs via the apoplasts of epidermis and cortex, not via xylem. Using the fluorescent dye berberine staining the highly developed Casparian bands preventing Cl⁻ loading into the xylem vessels were detected in the cell walls of lateral roots of both halophytes. Rather, the Cl⁻ is loaded into xylem in the main root at the lateral roots branching points, thus the Cl⁻ transport in stems and leaves proceeds further via xylem. In accordance with the classification of *S. altissima* as a salt accumulating halophyte and of *Th. salsuginea* as a salt excluding halophyte, Cl⁻ and Na⁺ contents of leaves and to a smaller extent, roots of the former was considerably higher than of the latter. Taken together, these data indicate that in spite of the common features of the Cl⁻ transport in the salt accumulating and salt excluding halophytes, such as the participation of the Cl⁻/H⁺-antiporters in Cl⁻ transport in both species and the identity of Cl⁻ transport pathways from roots to shoots, there is an essential difference between them. In salt excluding halophyte *Th. salsuginea*, the most of Cl⁻ efflux from root is directed to the exterior while in salt accumulating halophyte *S. altissima* Cl⁻ ions taken up by roots are transported mainly to shoots to be compartmentalized to vacuoles there.

This work is supported by Russian Foundation for Basic Research grant № 12-04-00987-a.

КЛОНИРОВАНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА O61R (p12) ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Варенцова А.А., Казакова А.С., Власова Н.Н.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук
e-mail: Staffilokokk@yandex.ru

Возбудитель африканской чумы свиней (АЧС) - крупный ДНК-содержащий вирус, диаметром приблизительно 200 нм. Капсид построен из 50 структурных белков и состоит из нескольких концентрических слоев, укрывающих электронно-плотный нуклеоид, который содержит двухцепочечную ДНК размером около 200 т.п.о. Кор вируса заключен во внутреннюю липидную оболочку, располагающуюся под икосаэдрическим капсидом (Carrascosa M. et al., 1984).

Поскольку при длительной персистенции вируса в природе (более 3-х лет) происходит его естественная аттенуация, вполне вероятно, что в процессе пассирования могут быть затронуты гены, кодирующие белки прикрепления.

По литературным данным: p12 – поверхностный белок, консервативен, формирует димеры с молекулярной массой 17 кДа и является основным белком прикрепления. Анализ данных по изучению нуклеотидного сиквенса ДНК фрагмента, содержащий ген, кодирующий p12, показал, что его 5'-концевой регион является консервативным у всех вирусных изолятов, в то время как интергенный регион, расположенный далее по рамке считывания гена, значительно варьирует у различных изолятов (Angulo, A. et al., 1992).

Полноразмерный ген, кодирующий p12, клонировали в прокариотическом векторе, провели секвенирование и филогенетический анализ по гену O61R изолятов вируса АЧС, циркулирующего на территории Российской Федерации и Армении (Volgograd 2010, Elbrus 2008, Stavropol 2008, Orenburg 2009 и Armenia 2007).

Результаты сиквенса гена O61R изолятов Elbrus 2008 (JQ771677.1), Stavropol 2008 (JQ771679.1), Orenburg 2009 (JQ771678.1), Volgograd 2010 (JQ771680.1) и Armenia 2007 (JQ771676.1) опубликованы нами в GenBank.

Анализ нуклеотидной последовательности гена различных изолятов вируса АЧС, включающего открытую рамку считывания O61R, выявил вариабельные области данного гена между 250 по 260 нуклеотидами (nt) и между 310 и 330 nt.

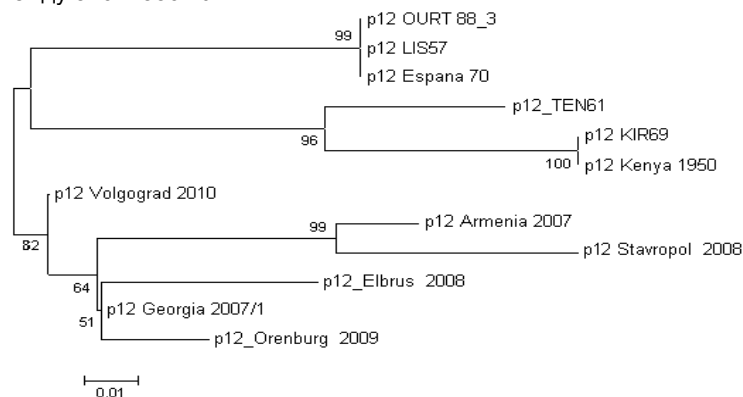


Рис. Дендрограмма, построенная на основании данных гомологии нуклеотидных последовательностей O61R (p12) штаммов и изолятов вируса АЧС, выделенных на территории Африки, Европы, Российской Федерации и Армении.

Филогенетический анализ по гену O61R показал, что российские изоляты и изолят Грузии (Georgia 2007/1) относятся к той же группе (субкластеру), что и Tengani 61 (TEN/61), но все 6 изолятов имеют между собой отличия в 7-15 nt, причем данные отличия позволяют распределить изоляты на группы и выявить их основные изменения (Рисунок). Изоляты Armenia 2007 и Stavropol 2008 составляют одну группу, Elbrus 2008, Orenburg 2009 и Georgia 2007/1 входят в другую группу, в то время как изолят Volgograd 2010 является представителем отдельной группы.

Выявленные отличия в последовательности гена, кодирующего p12, могут быть связаны с различным путями передачи и пассирования вируса. Формирование популяции вируса АЧС у изолята Volgograd 2010 проходило путем передачи вируса от одного дикого животного к другому, в то время как вирус других российских изолятов распространялся посредством человеческого фактора.

Таким образом, сравнительный анализ последовательностей гена, кодирующего p12, может внести свой вклад в изучение эволюции вируса и способствовать пониманию адаптационной стратегии и происхождения генетической гетерогенности вируса АЧС.

Литература

1. Angulo, A., Vinuela E., Alcamí A. 1992. Comparison of the sequence of the gene encoding the African swine fever virus attachment protein p12 from field virus isolates and viruses passaged in tissue culture. J. Virol. 66:3869-3872.
2. Carrascosa AL, Sastre I, Vinuela E. (1991) African swine fever virus attachment protein. J Virol 65:2283-2289.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CLONING AND COMPARATIVE ANALYSIS OF GENE SEQUENCES O61R (p12) VIRUS OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT REGIONS OF RUSSIAN FEDERATION AND ARMENIA

Varentsova A.A., Kazakova A.S., Vlasova N.N.

State Research Institution National Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology
of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Pokrov, Russia
e-mail: Staffilokokk@yandex.ru

The causative agent of African swine fever (ASF) - a large DNA-virus with a diameter of about 200nm. Capsid contains more than 50 structural proteins and consists of several concentric layers harboring an electron-dense nucleoid, which contains two chained DNA about 200 kbp. The core is enwrapped by an inner lipid envelope that lies beneath the icosahedral capsid (Carrascosa M. et al., 1984).

As for long-term persistence of the virus in nature (more than 3 years) is its natural attenuation, it is likely that may be affected by genes that encode attaching proteins.

Published research data have shown that p12 - a surface protein that is conservative, forms dimers with a molecular mass of 17 kDa and is a major protein of the attachment. Data analysis for the study of nucleotide sequencing of DNA fragment containing the gene encoding p12, showed that its 5'-terminal region is conserved in all viral isolates, whereas intergenic region located further in the reading frame of the gene varies widely among different isolates (Angulo, A. et al., 1992).

Full-size gene encoding p12 was cloned into the prokaryotic vector and performed phylogenetic analysis of gene O61R ASF virus isolates, circulating in the Russian Federation and Armenia (Volgograd 2010, Elbrus 2008, Stavropol 2008, Orenburg 2009 and Armenia 2007).

The results of gene sequencing of isolates O61R Elbrus 2008 (JQ771677.1), Stavropol in 2008 (JQ771679.1), Orenburg in 2009 (JQ771678.1), Volgograd 2010 (JQ771680.1) and Armenia in 2007 (JQ771676.1) published by us in GenBank.

Analysis of the nucleotide sequence of the gene of different ASF virus isolates, including the open reading frame O61R revealed a variable region of this gene between 250 to 260 nucleotides (nt) and between 310 and 330 nt.

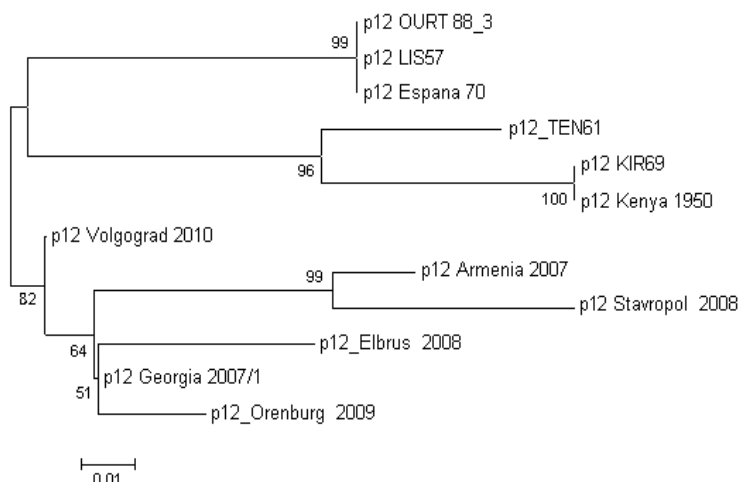


Figure. Neighbour-joining phylogenetic tree of O61R (p12) of ASF virus strains and isolates from Africa, Europe, Russia and Armenia.

Phylogenetic analysis of gene O61R showed that isolates and strains from Russia, Georgia (Georgia 2007/1) relate to the same group (subcluster), which Tengani 61 (TEN/61), but all six isolates have differences among themselves in the 7-15 nt., and these differences can divide isolates into groups and identify their key differences (Figure). Isolates of Armenia 2007 and Stavropol 2008 make up one group, Elbrus 2008, Orenburg 2009 and Georgia 2007/1 - another group, while the Volgograd 2010 isolate is representative of a particular group.

The detected differences in the sequence of the gene encoding p12 may be associated with different modes of transmission and the passage of the virus. The formation of ASF virus population isolates from Volgograd 2010 passed through transmission from a wild animal to another, while other Russian isolates of the virus spreading through the human factor.

Thus, a comparative analysis of gene sequences coding for p12, may contribute to the study of virus evolution and contribute to the understanding of the adapting strategy and mechanisms of the genetic heterogeneity origin of ASF virus.

References

1. Angulo, A., Vinuela E., Alcamí A. 1992. Comparison of the sequence of the gene encoding the African swine fever virus attachment protein p12 from field virus isolates and viruses passaged in tissue culture. J. Virol. 66:3869-3872.
2. Carrascosa AL, Sastre I, Vinuela E. (1991) African swine fever virus attachment protein. J Virol 65:2283-2289.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНК НА КОРНЯХ АССОЦИАТИВНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *PAENIBACILLUS POLYMYXA*

Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Игнатов В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии
и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук; Саратов, Россия
e-mail: room406@ibppm.sgu.ru

В ризосфере бактерии *Paenibacillus polymyxa* вместе с корнями растений работают как сообщества с повышенным уровнем сложности и пластичности, что позволяет данной системе адаптироваться к условиям окружающей среды. Некоторыми исследователями (1) симбиозы рассматриваются как биологические комплексы, возникающие в результате функционирования, а иногда и структурной интеграции генных систем неродственных организмов, благодаря чему партнеры реализуют новые программы развития и адаптации, недоступные для свободноживущих организмов. Известна способность *P. polymyxa* к проникновению в корневые ткани и колонизации корней растений с формированием биопленок, что, по мнению ряда исследователей, имеет существенное значение в увеличении сопротивляемости растений биотическим и абиотическим стрессам (2, 3).

Цель нашего исследования – оценить способность к колонизации корней пшеницы и формированию биопленок некоторых штаммов *P. polymyxa*, продуцирующих экзополисахариды (ЭПС). В результате нами была отмечена способность протестированных штаммов к образованию биопленок на абиотических поверхностях. Способность к закреплению на гидрофобной и гидрофильной поверхности снижалась в ряду штаммов 1465, 92, 1460, что, вероятно, определялось выходом и реологическими свойствами синтезируемых ими ЭПС (Рис. 1). Как установлено нами ранее (4), бактерии *P. polymyxa* 1465 отличались наибольшим выходом ЭПС (до 2 и 12 г/л на глюкозе и сахарозе соответственно), более высокой вязкостью культуральной жидкости и водных растворов ЭПС (вязкость 0,1% растворов ЭПС_{гл} – 4,5 мм²/с, ЭПС_{сах} – 1,4 мм²/с). По мнению ряда авторов, экзогликаны защищают бактерии биопленки от неблагоприятных воздействий окружающей среды, таких как осмотический шок, высыхание, УФ излучение, изменения pH среды и др. Коррелируют с полученными данными и результаты сравнения динамики прикрепления к корням проростков пшеницы бактерий *P. polymyxa*, которые демонстрируют более высокую адсорбционную активность штамма 1465 по сравнению со штаммом 1460 на всем протяжении контакта с корнями (от 15 мин до 48 ч). Так, число прикрепившихся к корням клеток *P. polymyxa* 1465 в среднем в 5 раз превышало таковое для штамма 1460, характеризующегося невысокой продукцией ЭПС и вязкостью их растворов. Как показано в работе (3), колонизация корней арахиса формирующимися биопленками бактериями *P. polymyxa* способствовала защите растений от болезней, вызываемых *Aspergillus niger*.

Основываясь на полученных результатах и принимая во внимание экспериментальные данные других исследователей, можно предположить, что ЭПС *P. polymyxa* играют существенную роль в процессах формирования растительно-микробных ассоциаций, что позволяет взаимодействующим партнерам лучше адаптироваться к условиям обитания.

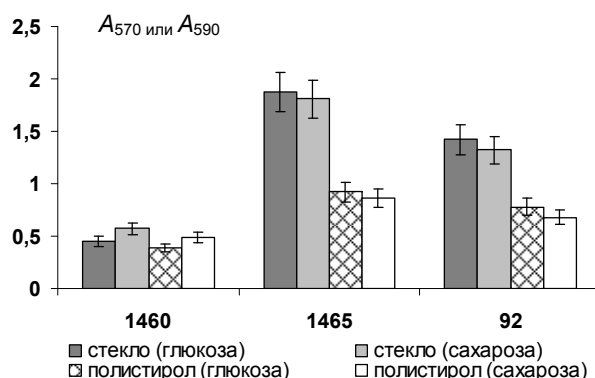


Рис. 1. Количественное определение способности *P. polymyxa* к формированию биопленок на абиотических поверхностях с использованием окрашивания бактерий кристаллическим фиолетовым.

Литература

1. Проворов Н.А., Воробьев Н.И., Андронов Е.Е. (2008) Макро- и микроэволюция бактерий в системах симбиоза. Генетика. 44(1): 12–28.
2. Timmusk S. and Wagner E.G.H. (1999) The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. Mol Plant-Microbe Interact. 12: 951–959.
3. Haggag W.M. and Timmusk S. (2008) Colonization of peanut roots by biofilm-forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease. J Appl Microbiol. 104(4): 961–969.
4. Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Матора Л.Ю., Бурыгин Г.Л., Игнатов В.В. (2008) Состав и иммунохимическая характеристика экзополисахаридов ризобактерий *Paenibacillus polymyxa* 1465. Микробиология. 77(5): 623–629.

ECOLOGICAL SIGNIFICANCE OF ROOT BIOFILM FORMATION BY THE ASSOCIATIVE BACTERIUM *PAENIBACILLUS POLYMYXA*

Yegorenkova I.V., Tregubova K.V., Ignatov V.V.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms
of Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russian Federation
e-mail: room406@ibppm.sgu.ru

In the rhizosphere, *P. polymyxa* bacteria operate together with plant roots as communities with increased levels of complexity and plasticity, allowing this system to adapt to the environmental conditions. Some investigators (1) consider symbioses to be biological complexes arising from the functioning (and sometimes the structural integration) of the gene systems of unallied organisms, owing to which the partners implement new programs of development and adaptation, which are unavailable to free-living organisms. It is known that *P. polymyxa* can penetrate root tissues and colonize plant roots to form biofilms, which is believed to be very important for increasing plant resistance to biotic and abiotic stresses (2, 3).

The aim of this study was to assess the ability to colonize wheat roots and form biofilms in several exopolysaccharide (EPS)-producing *P. polymyxa* strains. The strains tested by us were found to be able to form biofilms on abiotic surfaces. The ability to attach to hydrophobic and hydrophilic surfaces decreased in the order strain 1465 > strain 92 > strain 1460, which was possibly determined by the yields and rheological properties of the EPSs synthesized by these strains. As shown previously (4), *P. polymyxa* 1465 gave the highest EPS yields (up to 2 and 12 g l⁻¹ on glucose and sucrose, respectively) and the highest viscosities of the culture liquid and of aqueous EPS solutions (4.5 mm² s⁻¹ for 0.1% EPS_{GL} solutions and 1.4 mm² s⁻¹ for EPS_{SUC}). Some authors believe that exoglycans protect the biofilm bacteria against unfavorable environmental effects (osmotic shock, drying, UV radiation, changes in the pH of the medium, etc.). The results obtained by comparing the dynamics of *P. polymyxa* attachment to wheat seedling roots also correlate with the obtained data. The results demonstrate that the adsorption activity of strain 1465 was higher than that of strain 1460 throughout the period of contact with the roots (15 min to 48 h). More specifically, the number of root-attached cells of *P. polymyxa* 1465 was, on the average, fivefold greater than that of strain 1460, which was characterized by moderate EPS production and a moderate viscosity of EPS solutions. As shown in the work (3), peanut-root colonization by biofilm-forming *P. polymyxa* bacteria facilitated plant defense against diseases caused by *Aspergillus niger*.

On the basis of our results and others', we speculate that the EPSs of *P. polymyxa* play a large role in the formation of plant-microbe associations, which enables the interacting partners to better adapt to their living environments.



Fig. 1. Quantitative determination of *P. polymyxa*'s ability to form biofilms on abiotic surfaces by using crystal violet staining of the bacteria.

References

1. Provorov N.A., Vorobyov N.I., Andronov E.E. (2008) Macro- and microevolution of bacteria in symbiotic systems. *Russ J Genet* 44: 6–20.
2. Timmusk S. and Wagner E.G.H. (1999) The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. *Mol Plant-Microbe Interact.* 12: 951–959.
3. Haggag W.M. and Timmusk S. (2008) Colonization of peanut roots by biofilm-forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease. *J Appl Microbiol.* 104(4): 961–969.
4. Yegorenkova I.V., Tregubova K.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Ignatov V.V. (2008) Composition and immunochemical characteristics of exopolysaccharides from the rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* 1465. *Microbiology (Moscow, Russ Fed)* 77: 553–558.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КАК ОСНОВА УСТОЙЧИВОСТИ К ПЕССИМАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ

Жуйкова Т.В.,¹ Безель В.С.

ФГБОУ ВПО Нижнетагильская государственная социально педагогическая академия, Нижний Тагил, Россия

¹ Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

e-mail: hbfnt@rambler.ru, bezel@ipae.uran.ru

В основе устойчивости ценопопуляций в условиях смены природных условий лежит положение С. С. Четверикова (1926) о генетической и функциональной гетерогенности природных популяций любого вида. Подобная гетерогенность проявляется в изменчивости морфологических признаков, летальных эффектов, плодовитости, жизнеспособности особей и других признаков. Реакция генетически гетерогенных природных популяций на стрессирующие факторы среды выражается в изменении распределения популяционных параметров в большую или меньшую сторону.

В фоновых условиях популяционные параметры могут характеризоваться некоторым частотным распределением, которое является эволюционно закрепленным и гарантирует адекватную реакцию ценопопуляции на возможные изменения традиционных погодно-климатических условий. Многочисленными авторами отмечается, что при химическом стрессе имеет место отклонение этих распределений в большую или меньшую сторону. При этом возможна частичная утрата популяцией свойств, необходимых для адекватного реагирования на возможные изменения естественных условий среды. В этом случае, вероятно, адаптированная к токсическому стрессу популяция сохраняет тем большую способность адекватно реагировать на колебания «традиционных» природно-климатических условий, чем значительно перекрываются частотные распределения параметров, характеризующих фоновую и подверженную загрязнению популяции. При этом наиболее ценными для жизнеспособности популяции, адаптированной к токсическому стрессу будут те особи, которые максимально близки к модельному классу вариационного ряда параметров фона.

Рассмотрим, как изменяются частотные распределения длины корней проростков двух морфологических форм одуванчика лекарственного (форма Дальштедта – *Taraxacum officinale* f. *dahlstedtii* и форма гребенчатовидная – *T. officinale* f. *pectinatiforme*) семенное потомство которых было собрано на фоновых и загрязненных тяжелыми металлами (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+}) территориях. Были поставлены следующие эксперименты. Семена одуванчика проращивали в абсолютно идентичных условиях методом корневого теста в рупонной культуре на дистиллированной воде, при постоянных температуре, влажности и освещении в течение 30 дней. По окончании эксперимента наряду с другими показателями жизнеспособности измеряли максимальную длину корня. Сравнение полученных частотных распределений длины корней методом χ^2 показало, что семенное потомство загрязненного и фонового участков статистически не различается ($P > 0.05$). Поскольку в дистиллированной воде отсутствуют необходимые микроэлементы и питательные вещества, то проращивание в этих условиях следует рассматривать в качестве действующего на проростки стрессового фактора.

Более адекватными реальным условиям семенного воспроизводства могут быть эксперименты по проращиванию семян на соответствующих фоновых и загрязненных почвах. В первом эксперименте семенное потомство с фонового участка проращивали на почве с этого же участка, а семенное потомство с импактного участка культивировали на почве с загрязненного участка. Полученное в этих условиях практически полное совпадение частотных распределений длины корней проростков *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* и свидетельствует о том, что потомство фоновой и адаптированной к загрязнению ценопопуляций идентично ($\chi^2 = 7.06-9.05$, $P > 0.05$). В следующем эксперименте потомство растений с фонового и импактного участков проращивали на фоновой почве. При сравнении полученных частотных распределений установлено, что вариабельность длины корней проростков семян *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* с загрязненной территории незначительно уступает таковой у потомства с фонового участка. Однако перекрывание кривых значительное (*f. dahlstedtii*: $\chi^2 = 13.66$, $P > 0.05$; *f. pectinatiforme*: $\chi^2 = 19.87$, $P < 0.05$). Далее потомство с фонового и импактного участков проращивали на загрязненной почве. Сравнение методом χ^2 полученных частотных распределений показало значимое совпадение у *f. dahlstedtii* ($\chi^2 = 6.91$, $P = 0.99$). У *f. pectinatiforme* с загрязненного участка частотные распределения длины корней проростков смещены в сторону меньших значений, по сравнению с фоновыми ($\chi^2 = 27.19$, $P < 0.001$). Несмотря на это, отчетливо проявляется перекрывание кривых.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что родительские растения фоновых и загрязненных участках воспроизводят идентичное по свойствам потомство, которое способно адекватно реагировать на колебания «традиционных» условий. В процессе последующего онтогенеза в ценопопуляциях из этого потомства сохраняются особи, резистентные к условиям загрязнения среды и адекватно реагирующие на конкретные условия вегетационного сезона. Все выше сказанное дает ответ на вопрос «почему адаптированная к загрязнению популяция способна выжить и при смене традиционных условий?».

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (госконтракт № 5.5329.2011), Программы развития ведущих научных школ (НШ-5325.2012.4), гранта РФФИ (проект № 10-04-00146-а).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE HETEROGENEITY OF NATURAL POPULATIONS AS THE BASIS OF STABILITY TO THE PESSIMAL FACTORS

Zhuikova T.V., ¹Bezel V.S.

Nizhny Tagil State Social Pedagogical Academy, Nizhny Tagil, Russia

¹ Institute of Ecology of Plants and Animals of the Ural branch of the Russian Academy of Science, Yekaterinburg, Russia
e-mail: hbfnt@rambler.ru, bezel@ipae.uran.ru

In the basis of stability of cenopopulations in the conditions of the changes of natural conditions is the thesis by S. S. Chetverikov (1926) on genetic and functional heterogeneity of natural populations of any species. Such heterogeneity can be found in the changes of morphological characteristics, lethal effects, prolificacy, vital capacity of species and other characteristics. The response of genetically heterogeneous natural populations to stressful factors of the environment shows itself in the change of distribution of population parameters in the up or down.

In the background conditions the population parameters may be characterized by some frequency distribution which is evolutionarily fixed and assures the adequate response of the cenopopulation to the possible changes of traditional weather and climate conditions. Many authors note that there is a deflection of these distributions in the up or down under a chemical stress. With all this going on the population may lose a part of the characteristics necessary for the adequate reaction to the possible changes of the natural environmental conditions. In this case probably the population adapted to the toxic stress keeps a greater ability to react adequately to the changes of "traditional" natural-climatic conditions if there is significant covering of frequency distributions of the parameters that characterize the background and contaminated population. With all this going on the most valuable for the vital capacity of the population adapted to the toxic stress will be the species which are close to the maximum to the range of the variational series of the background parameters.

Let us consider root length frequency distribution of two morphological forms of dandelion (*Taraxacum officinale* f. *dahlstedtii* and – *T. officinale* f. *pectinatifforme*), seeds of which were gathered in a polluted with heavy metals (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+}) area and a background area. The following experiments were conducted. The seeds of dandelion were grown in absolutely identical conditions (distilled water, constant temperature, lighting and humidity) applying the method of root test in roll culture. At the end of the experiment the maximal length of root was measured besides other parameters of viability. The comparison of findings obtained by root length frequency chi-squared distribution revealed that there was not any difference in statistical parameters of seeds gathered both in a polluted with heavy metals area and a background area ($P > 0.05$). Growth in distilled water is a stressful factor for acrospires as distilled water is devoid of necessary major mineral elements and nutrients.

The experiments on growing seeds in a polluted and a background soils seem to be more adequate and closer to natural conditions. During the first experiment the seeds obtained in a background area were grown in the same background soil, but seeds obtained in an impacted area were grown in the polluted soil. The findings reveal almost full agreement in root length frequency distribution as far as f. *dahlstedtii* and f. *pectinatifforme* are concerned. It indicates the identity of breed both in a background and adapted for pollution cenopopulations ($\chi^2 = 7.06-9.05$, $P > 0.05$). During the next experiment the seeds obtained both in a background area and in an impacted area were grown in the background soil. The findings revealed that the variability of root length of seeds f. *dahlstedtii* and f. *pectinatifforme* obtained in a polluted soil was lower than it was in the background area. However the overlapping of curves was significant (f. *dahlstedtii*: $\chi^2 = 13.66$, $P > 0.05$; f. *pectinatifforme*: $\chi^2 = 19.87$, $P < 0.05$). The next step was the growing of seeds obtained both in a background area and in an impacted in the polluted soil. The findings obtained by frequency chi-squared distribution revealed significant agreement as far as f. *dahlstedtii* is concerned ($\chi^2 = 6.91$, $P = 0.99$). As concerns f. *pectinatifforme* in the polluted area root length frequency distribution shifted to lower indicators than in the background area ($\chi^2 = 27.19$, $P < 0.001$). Nonetheless the overlapping of curves was evident.

Thus the findings of experiments reveal that parental plants in background and polluted areas procreate identical progeny which is able to react adequately to fluctuation of "traditional" conditions. The following ontogenesis in cenopopulations results in survival of resistant to the pollution progeny which react adequately to concrete conditions of a vegetative season. The above replies to the question "why population adapted for pollution is able to survive in changed traditional conditions?"

This research is published with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (contract № 5.5329.2011) and Russian Foundation for Basic Research (project № 10-04-00146-a). This research is also made possible by the program of development of leading research centers (NSH-5325.2012.4).

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КОАДАПТАЦИИ В СИСТЕМЕ РАСТЕНИЯ-НЕМАТОДЫ

Зиновьева С.В., Удалова Ж.В.

Центр паразитологии ИПЭЭ РАН, Москва, Россия
e-mail: zinovievas@mail.ru

Проблема адаптации растений к стрессовым условиям среды, в том числе к заболеваниям, вызванным патогенами, является одним из основных направлений современной физиологии растений. Фитонематоды являются одним из факторов, вызывающих стресс у растений, который может выражаться в биологически важных нарушениях гомеостаза растительного организма. Нематоды обладают определенными структурами, способствующими их взаимодействию с растениями. Это - стилет, приспособленный для проникновения через клеточную стенку растения и изъятия пищевых ресурсов, железы пищевода, амфиды и кутикулярные выделения (1). Вещества, выделяемые нематодами (элиситоры), во многих случаях могут связываться с рецепторами растительной клетки, и далее через сигнальные системы растений воздействовать на экспрессию генов, определяющих ответную реакцию растений. У высокоспециализированных седентарных эндопаразитических нематод для обеспечения жизнедеятельности развились адаптивные стратегии, связанные с трансформацией нормальных клеток и превращением их в метаболически активные клетки, которые обеспечивают пищевые потребности нематоды.

В устойчивых растениях в ответ на инвазию возникает каскад биохимических процессов, приводящий к сложному комплексу защиты. Защитные механизмы растений на внедрение нематод включают в себя как вещества прямого антибиотического действия (конституционные и индуцированные), так и соединения, связанные с неполноценностью тканей хозяина для развития и размножения паразитов. Большую роль во взаимоотношениях растений и нематод играют соединения изопреноидной природы (2). Они могут препятствовать внедрению паразита в качестве химического барьера (преинфекционное действие), а в случаях преодоления такого барьера, действовать непосредственно на нематоду как токсин. Некоторые из этих соединений обладают антифидантными свойствами, могут действовать на ростовые и личинные процессы животного, влиять на вылупление личинок из яиц, подавлять действие холинэстеразы, блокировать распознавание растения-хозяина и т.д. Важно отметить факт адаптивного ответа растений на нематод различных по уровню адаптации к паразитизму. На примере исследования взаимоотношений подвижных (эврантных) и неподвижных (седентарных) нематод, паразитирующих на пасленовых (картофеле и томатах) было показано, что наряду с общими реакциями, которые обеспечивают выживаемость растений в условиях стресса, вызванного нематодами, растение способно реагировать адекватно специфическому воздействию паразитов. В случае проникновения в растения подвижных форм нематод, защитная реакция растений направлена на образование соединений, ограничивающих их распространение по тканям (фенолов, стероидных гликозидов). В случае заражения седентарными нематодами, происходит изменение растительного биогенеза с пути, свойственного здоровому растению, на путь образования токсичных продуктов (изменяется количественный и качественный состав стероидов и происходит образование фитоалексинов). Таким образом, паразит испытывает не только ингибирующее действие фитоалексина, но и лишается жизненно важных соединений, синтез которых у нематод отсутствует (стерины).

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-00792-а.

Литература

1. Zinovieva S.V. Parasitic nematodes as plant pathogens // "Comprehensive and molecular phytopathology" Eds. by Yu.Dyakov, V.Dzhavakhia, T.Korpela 2007, P.39-47.
2. Удалова Ж.В. Изопреноидные нематодические соединения из высших растений. //Тр. Ин-та паразитологии, Москва Наука 2011 Т.42, С.293-302.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PHYSIOLOGY-BIOCHEMICAL MECHANISMS OF COADAPTATION IN PLANT-NEMATODE SYSTEM

Zinovieva S.V., Udalova Zh.V.

Center of parasitology of IPEE RAS, Moscow, Russia
e-mail: zinovievas@mail.ru

The problem of adaptation of plants to stressful conditions of environment, including the diseases, caused by pathogens, is one of the main directions of the modern physiology of plants. Phytonematodes represent one of the factors causing a stress of plants, which can be expressed in biologically important infringements of a homeostasis of a plant organism. Nematodes have certain structures promoting their interaction with plants. These are the stylet, adapted for penetration through a cell wall of a plant and withdrawal of food resources, the esophageal gland secretory cells, the amphids and cuticular secrets as well (1). The substances excreted by nematodes (the elisitors), can bind to receptors of a vegetative cell, and further influence via the signal systems of plants an expression of the genes, which determine a response reaction of plants. The adaptive strategies have developed in specialized sedentary endoparasitic nematodes, providing their vital activity maintenance by means of transformation of normal cells into metabolically active cells, which meets the food requirements of nematodes.

A cascade of biochemical processes, leading to a complex of protection, occurs in resistant plants in response to the invasion. The mechanisms of protection of plants from introduction of nematodes include both substances of a direct antibiotic actions (constitutional and inducible), and substances related to inferiority of tissues of the plant host for development and reproduction of parasites. Isoprenoid substances play an important role in interrelations of plants and nematodes (2). These substances can interfere with invasion of a parasite as a chemical barrier (preinfection action), and to affect a nematode directly as a toxin in case of overcoming of the chemical barrier. Some isoprenoid substances possess antifeedant properties, and can influence negatively processes of growth and molting of a nematode, to influence larvae emerging from eggs, to suppress the cholinesterase action, to block the recognition of the host plant. It is important to note the fact of the adaptive response of plants to nematodes of different degree of adaptation to parasitism. Studies of interrelations of mobile (errant) and motionless (sedentary) nematodes, and solanaceae (a potato and tomatoes) they parasitize on, showed that together with general reaction, which provide survival of plants under conditions of the stress, caused by nematodes, plants are able to react adequately to specific influence of parasites. In case of penetration of mobile forms of nematodes, protective reaction of plants is aimed at formation of the substances limiting nematode spreading in tissues (phenols, steroid glycosides). In case of infection by sedentary nematodes, there occurs a change in plant biogenesis from the one, characteristic to healthy plant, to the one that is aimed at formation of toxic products (the quantitative and qualitative structure sterols change and formation of phytoalexines occurs). Therefore, the parasite is subjected to the inhibiting impact of the phytoalexine, and experiences the lack of vitally important substances (sterols), which they can not produce themselves.

Acknowledgements: Supported by RFBR 10-04-00792a

References

1. *Zinovieva S.V.* Parasitic nematodes as plant pathogens // "Comprehensive and molecular phytopathology" Eds. by Yu.Dyakov, V.Dzhavakhia, T.Korpela 2007, P.39-47.
2. *Udalova Zh.V.* Isoprenoid nematocidal compounds from higher plants.// Transaction of Inst. Parasitol. , M.: Nauka; 2000, Vol. 42, P.293-302.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ *CLETHRIONOMYS GLAREOLUS* SCHREBER, 1780 И *SYLVAEMUS URALENSIS* PALLAS, 1811 (RODENTIA) В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ ИХ ПИТАНИЯ

Зыков С.В., Фоминых М.А.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия
e-mail: svzykov@yandex.ru, elf13z@mail.ru

Адаптация краниального скелета грызунов к питанию определенными типами кормов проявляется на различных уровнях: 1) в особенностях строения зубной системы, 2) морфологических особенностях краниальных структур (6, 2, 7).

Целью данного исследования была оценка морфологических изменений челюсти рыжей полевки (*Cl. glareolus*) и малой лесной мыши (*S. uralensis*) с учетом их трофической специализации.

Cl. glareolus (N=54) и *S. uralensis* (N=38) были отловлены на Среднем Урале (в Висимском государственном биосферном заповеднике, 57°22'С.Ш. 59°50'В.Д.) в одних биотопах. Для анализа закономерностей морфологических адаптаций использованы несколько методов: 1) линейные промеры, 2) индексы и углы нижней челюсти и 3) метод геометрической морфометрии для описания формы челюсти. Трофические особенности исследуемых видов оценивали по литературным данным (4, 7, 5), а также по структуре микрорельефа эмали зубов.

Анализ микроструктуры эмали на жевательной поверхности гипоконида и энтокониды /m2 проведен на электронном сканирующем микроскопе TESCAN VEGA3. В результате проведенного анализа значимые межвидовые различия показаны только по количеству царапин на гипокониде и энтокониде /m2 – на эмали мышей их больше по сравнению с полевками ($F_{\text{цент. часть}}(1;32)=190,04$, $p<0,00$; $F_{\text{крайн. часть}}(1;32)=79,98$, $p<0,00$). Эмаль *S. uralensis* характеризуется более грубыми повреждениями, что может свидетельствовать о преобладании более грубого корма в спектре питания, по сравнению с *Cl. glareolus*.

Изменения формы нижней челюсти, отражающие трофические адаптации были изучены методом геометрической морфометрии. Для *S. uralensis* показана более узкая и вытянутая челюсть, более вытянутая диастема, короткий зубной ряд, а также наблюдаются изменения формы, положения отростков и угла челюсти по сравнению с рыжими полевками. Наблюдаемые трансформации нижней челюсти связаны с изменением строения жевательной мускулатуры в связи с различным типом жевательных движений у данных видов (3, 9).

Основываясь на подходе Воронцова Н.Н. (1) при исследовании морфологии нижней челюсти у *Cl. glareolus* и *S. uralensis*, нами рассчитаны индексы зеленоядности и семеноядности с использованием линейных признаков. Показано, что для рыжих полевок характерны более высокие значения индекса зеленоядности (mean value=39,11) при уменьшении значений индекса семеноядности (mean value=24,78) по сравнению с мышами. У малых лесных мышей, напротив, при увеличении семеноядности (mean value=30,16) значения индекса зеленоядности (mean value=25,90) меньше по сравнению с полевками.

Полученные результаты межвидовых различий рыжих полевок и малых лесных мышей по морфологии нижней челюсти отражают особенности трофических адаптаций этих видов, а также могут нести филогенетический сигнал.

Благодарности: к.б.н. Ю.А. Давыдовой и к.б.н. Е.А. Марковой (Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург) за помощь и ценные советы в ходе выполнения работы. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (проекты № 10-04-96102-р_урал_a и №12-04-01377-а).

Литература

1. Воронцов Н.Н. Экологические и некоторые морфологические особенности рыжих полевок (*Clethrionomys Tilesius*) европейского северо-востока // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1961. Т. 29. С. 101-136.
2. Воронцов Н.Н. Эволюция пищеварительной системы грызунов. Новосибирск: Наука, 1967. 232 с.
3. Воронцов Н.Н. Низшие хомякообразные (Cricetidae) мировой фауны. Л.: Наука, 1982. Ч.1. Морфология и экология. 452 с. (Фауна СССР. Млекопитающие; т.3.).
4. Громов И.М., Поляков И.Я. Млекопитающие. Л.: Наука, 1977. 502 с. (Фауна СССР; т. 3, вып. 8).
5. Европейская рыжая полевка / Башенина Н.В. и др. М.: Наука, 1981, 352 с.
6. Лебедкина Н.С. Морфофункциональный анализ черепа зайцев и полёвок: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1949. 19 с.
7. Окулова Н.М. Морфометрическая дифференциация популяций желтогорлой мыши в связи с анализом трофических адаптаций // Систематика и филогения грызунов и зайцеобразных: материалы конф. М., 2000. С. 121 – 125.
8. Окулова Н.М., Антонец Н.В. Сравнительная характеристика экологии мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) Днепровско-Орельского заповедника // Поволж. экол. журн. 2002. №2. С. 108-128.
9. Satoh K. Comparative functional morphology of mandibular forward movement during mastication of two murid rodents, *Apodemus speciosus* (Murinae) and *Clethrionomys rufocanus* (Arvicolinae) // J. of morphology 1997. Vol.231. 131–142.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MORPHOLOGICAL ADAPTATIONS OF *CLETHRIONOMYS GLAREOLUS* SCHREBER, 1780 AND *SYLVAEMUS URALENSIS* PALLAS, 1811 (RODENTIA) MANDIBLE RELATED TO THEIR DIET

Zykov S.V., Fominykh M.A.

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS, 620144, Yekaterinburg, 8 Marta street, 202
e-mail: svzykov@yandex.ru, elf13z@mail.ru

Rodents feeding adaptation to the specific type of food is developed on the different levels including 1) tooth structure, 2) morphological characteristics of cranial structure (6, 2, 7).

The aim of this study was to estimate the morphological modifications of the bank vole (*Cl. glareolus*) and Ural field mouse (*S. uralensis*) mandible related to their trophic specialization.

Cl. glareolus (N=54) и *S. uralensis* (N=38) was captured in the Middle Urals locality (Visim State Biosphere Reserve, 57°22' N, 59°50' E) in the same biotopes. Different methods were used to analyze the patterns of morphological adaptations: 1) a linear dimensions of mandible, 2) indices and angle dimensions of mandible, 3) geometric morphometrics method to describe the mandible shape. The feeding preferences of voles and mice were summarized from some published dietary data (4, 7, 5) and also we studied a tooth enamel microstructure.

Microwear analysis on the hypoconid and entoconid /m2 enamel surface were examined using a scanning electron microscope TESCAN VEGA3. Significant interspecific differences were shown in the number of scratches on the hypoconid and entoconid /m2: there were more scratches on the Ural field mice molar enamel than on the enamel of bank voles ($F_{\text{central part}(1;32)}=190,04$, $p<0,00$; $F_{\text{outside part}(1;32)}=79,98$, $p<0,00$). Molar enamel of *S. uralensis* was characterized by coarse scratches that were related to more abrasive diet in comparison with *Cl. glareolus*.

Mandible modifications in shape reflecting feeding adaptations were studied using a geometric morphometrics method. For *S. uralensis* a narrow and elongated mandible, more elongated diastem and a short molars row were described, and also shape modifications, position of processes and mandible angle in comparison with bank voles were observed. Those mandible transformations were related to masticatory system changes because of the different chewing movements in *Cl. glareolus* and *S. uralensis* (3, 9).

Based on the approach proposed by Vorontsov N. N. (1), we calculated the indices of herbivory and granivory using a linear dimensions in order to analyze the *Cl. glareolus* and *S. uralensis* mandible morphology. It was shown that in the bank vole the mandibles were characterized by high values of herbivory indices (mean value=39,11) and low values of granivory (mean value=24,78). Ural field mouse exhibited increased values of granivory (mean value=30,16) and decreased values of herbivory indices (mean value=25,90) as compared to bank vole.

Interspecific differences in mandible morphology of the bank vole and the Ural field mouse reflected the specific feeding adaptations and also the phylogenetic signal was shown.

Acknowledgements: to Yu.A. Davydova and E.A. Markova (Institute of Plant and Animal Ecology UB of RAS, Yekaterinburg) for the help and advice during the work. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (research grants №10-04-96102 and №12-04-01377-a).

References

1. Vorontsov N. N. Ecological and some morphological characteristics of the bank vole (*Clethrionomys Tilesius*) from the European Northeast // Proceeding of the Zoological Institute USSR. 1961. Tome 29. P. 101-136. [in Russian]
2. Vorontsov, N.N. Evolution of the Digestive System in Rodents. Novosibirsk: Nauka, 1967. 232 p. [in Russian]
3. Vorontsov N. N. Lower Hamsters (Cricetidae) of World Fauna. Nauka, Leningrad, 1982. Part 1: Morphology and Ecology. 452 p. ((Fauna of the USSR, Mammals. Tome 3). [in Russian]
4. Gromov I.M., Polyakov I.Ya. Mammals. Nauka, Leningrad, 1977. 502 p. (Fauna of the USSR, Tome 3, vyp. 8). [in Russian]
5. The European bank vole / Bashenina N V et al.. Nauka, Moscow, 1981. 352 p. [in Russian]
6. Lebedkina N.V. Morphofunctional Analysis of the Skull in Hares and Voles. Abstract of a thesis. Moscow, 1949. 19 p. [in Russian]
7. Okulova N.M. Morphometric differentiation of the yellow-necked mouse population related to analysis of feeding adaptation // Systematics and Phylogeny of Rodents and Lagomorphs. Moscow, 2000. P. 121-125. [in Russian]
8. Okulova N.M., Antonetz N.V. The comparative description of mice *Apodemus* (Rodentia, Muridae) ecology from Dneprovsko-Orealsky reserve // Povolzhskiy Journal of Ecology. 2002. №2. P. 108-128. [in Russian]
9. Satoh K. Comparative functional morphology of mandibular forward movement during mastication of two murid rodents, *Apodemus speciosus* (Murinae) and *Clethrionomys rufocanus* (Arvicolinae) // J. of morphology 1997. Vol.231. 131-142.

АДГЕЗИВНАЯ АДАПТАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Иванова Е.И., Джигоев Ю.П., Попкова С.М.

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, Иркутск, Россия
e-mail: ivanova.lem@gmail.com

Ухудшение экологической обстановки, приводящее к снижению защитных сил организма человека и всплеску заболеваний, связанных с нарушением бактериального баланса в желудочно-кишечном тракте, обуславливает постоянный интерес к изучению адаптационных механизмов индигенной микрофлоры. В ответ на изменения условий окружающей среды микроорганизмы включают ряд защитных механизмов для адаптации клеток в пределах нормы реакции вида (1). Адгезия микроорганизмов к рецепторам клеток макроорганизма - важнейший элемент их взаимодействия и адаптации, так как если не происходит адгезивного приспособления микроорганизмов к среде обитания в организме хозяев, то они выводятся из организма. Адгезивная активность – первый этап развития колонизации и в большинстве случаев необходима для представителей нормальной микрофлоры, тогда как у патогенных микроорганизмов рассматривается в качестве одного из стартовых механизмов развития инфекции. По данным ряда исследователей (Зайцева Е.А. и др., 2006; Цветкова Н.Б. и др., 2010) низкая температура и определенные субстраты (что обусловлено, в том числе режимом питания человека) способствуют повышению адгезивных свойств некоторых патогенных микроорганизмов. Таким образом, с целью выяснения конкурентных возможностей нормальной микрофлоры с патогеном за субстраты связывания целесообразно сравнение адгезивных свойств как представителей нормальной, так и патогенной микрофлоры (2).

В качестве исследуемых микроорганизмов были выбраны типичная *Escherichia coli* (25 культур), *Enterobacter spp.* (25) и *Klebsiella spp.* (25), выделенные от пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника. Как известно универсальной моделью для изучения адгезии различных микроорганизмов является система эритроциты-микроорганизм. В работе адгезивную активность оценивали с помощью методики, предложенной для энтеробактерий (3), которая позволяет охарактеризовать общую популяционную адгезивную активность аутоштаммов, и которая была адаптирована нами для каждого отдельного рода представителей семейства *Enterobacteriaceae*. В процессе проведения эксперимента учитывалось время начала ореолообразования с момента запуска эксперимента (начало прилипания эритроцитов к колонии микроорганизма), то есть, скорость адгезивной активности и мощность ореолообразования.

Скорость адгезивной активности *E. coli* варьировала от 5 до 60 сек, представителей родов *Klebsiella* и *Enterobacter* – от 2 до 22 сек и от 4 до 16 сек, соответственно. Результаты свидетельствовали о том, что начальная стадия адгезии данных микроорганизмов в основном достаточно быстрая и только 12-16% аутоштаммов имели большой временной показатель, то есть низкую начальную адгезивную активность. Сопоставление результатов показало, что скорость адгезии микроорганизмов родов *Enterobacter* и *Klebsiella* выше в 2-3 раза по сравнению с *E. coli*.

Далее оценивалось процентное соотношение колоний со слабым, средним, и высоким ореолообразованием в течение первых 5 минут. Было установлено, что основная масса аутоштаммов *E. coli* (96%) имела высокое ореолообразование, и только в 4% аутоштаммов в основном имели ореолы со средней мощностью ($p < 0,05$), при почти полном отсутствии колоний без ореола или со слабым ореолом. Предполагаем, что *E. coli* проявляет более высокие адгезивные свойства в условиях конкуренции с другими представителями условно-патогенными микроорганизмами (УПМ). По истечении 5 минут представители рода *Enterobacter* в 100% случаев имели очень высокое ореолообразование. Представители рода *Klebsiella* в большинстве случаев ($p < 0,05$) также имели высокое ореолообразование (92%).

Подводя итоги, отмечаем, что скорость адгезии *E. coli*, симбионта кишечного микробиоценоза, связана с наличием сопутствующей микрофлоры. Стимуляция адгезивной активности *E. coli lac+* при высоких титрах УПМ, вероятно, обеспечивает выживаемость этого компонента нормальной микробиоты в условиях ассоциативного симбиоза. Более высокая адгезивность УПМ свидетельствует о их конкурентных преимуществах за сайты адгезии к эпителиоцитам слизистой кишечника человека по сравнению с нормальной *E. coli*, что тоже может быть связано с особенностью изучаемых кишечных биоценозов лиц, у которых сформировался дисбиоз (патоценоз). Полагаем, что предлагаемый способ оценки популяционной адгезивности компонентов кишечного симбиоза позволяет учитывать коммуникационные способности ассоциантов в изменяющихся условиях обитания микроорганизма, для которых человек – его среда обитания.

Литература

1. Бухарин О.В., Гицбург А.Л., Романова Ю.М. (2005). Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина, С. 367.
2. Колганова Т.В. (2003). Корректирующее действие пробиотиков при экспериментальном дисбактериозе: дис. ... канд. биол. наук. Москва: РУДН, С. 139.
3. Гизатулина С.С., Биргер М.О., Кулинич Л.И. (1991). Способ оценки состояния микрофлоры кишечника человека по количеству адгезивно – активных бактерий и типу адгезинов. Журн. микробиол. № 2: 21–23.

ADHESIVE ADAPTATION ACTIVITY OF MICROORGANISMS HUMAN INTESTINE

Ivanova E.I., Dzhioev Yu.P., Popkova S.M.

FSSFO «Scientific Centre of the Family Health and Human Reproduction Problems» SB RAMS, Irkutsk, Russia
e-mail: ivanova.lem@gmail.com

The deterioration of ecological conditions leading to decrease of protective forces of organism of man and splash of diseases, connected with the violation of the bacterial balance in a gastrointestinal tract, causes constant interest to studying of adaptation mechanisms of normal microflora. In reply to changes of conditions of environment microorganisms activate a number of protective mechanisms for adaptation of cells within the norm of reaction of a species (1). The adhesion of microorganisms to the cell receptors of macroorganism is the first stage of their interaction and adaptation because if adhesive adaptation of microorganisms to the environment in the host organism doesn't occur, they are removed from the organism. Adhesive activity is the first stage of the development of colonization and in most cases is necessary for representatives of normal microflora, while for pathogenic microorganisms is considered as one of starting mechanisms of development of infection. According to some researchers (Zaitseva E.A. et al., 2006; Tsvetkova N.B. et al., 2010) the low temperature and certain substrates (that is caused, among other things, by the diet of the man) promote the increase of adhesive properties of some pathogenic microorganisms. Thus, with the purpose of finding out of competition possibilities of normal microflora with the pathogen for substrates of fastening comparison of adhesive properties of representatives of the normal and pathogenic microflora is advisable (2).

As the test microorganisms typical *Escherichia coli* (25 cultures), *Enterobacter spp.* (25) and *Klebsiella spp.* (25) were selected, isolated from patients in the survey for intestinal dysbiosis. As it is known universal model for studying the adhesion of various microorganisms is the system of erythrocytes - microorganism. In the work the adhesive activity was estimated by using the method proposed for enterobacteria (3), which allows to characterize the general population adhesive activity of autostrains, and which was adapted by us for each separate genus of the representatives of the family *Enterobacteriaceae*. In the course of the experiment the start time of aureole formation since the start of the experiment (the beginning of the sticking of the erythrocytes to the colony of the microorganism), were taken into account, i.e. the speed of the adhesive activity and power of the aureole formation.

The speed of adhesive activity of *E. coli* varied from 5 to 60 seconds, of representatives of genera *Klebsiella* and *Enterobacter* from 2 to 22 seconds and from 4 to 16 sec, respectively. The results showed that the initial stage of adhesion of these microorganisms are mostly quite fast and only 12-16% of autostrains had a great time rate, that is the low initial adhesive activity. Comparison of the results showed that the rate of adhesion of microorganisms of genera *Enterobacter* and *Klebsiella* higher in 2-3 times in comparison with *E. coli*.

Then we estimated the percentage of the colonies with low, average and high aureole formation during the first 5 minutes. It was found that majority of *E. coli* autostrains (96%) had a high aureole formation, and only 4% of autostrains basically had aureole with average power ($p < 0.05$), with almost complete absence of colonies without aureole or with a low aureole. We assume that *E. coli* exhibits high adhesive properties in the conditions of competition with other representatives of opportunistic microorganisms (OM). After 5 minutes representatives of the genus *Enterobacter* in 100% of the cases had very high aureole formation. Representatives of the genus *Klebsiella* in most cases ($p < 0.05$) also had high aureole formation (92%).

Summing up the results, we note that the speed of adhesion of *E. coli*, the symbiont of intestinal microbocenoses, is connected with presence of accompanying microflora. Stimulation of the adhesive activity of *E. coli* lac⁺ at a high titers of OM, possibly provides the survival of this component of the normal microbiota in the conditions of associative symbiosis. Higher adhesive properties of OM testifies to their competitive advantages for the sites of adhesion to human intestinal epithelial cells compared with normal *E. coli*, which can also be connected with features of the studied intestinal biocenosis of persons, which have formed dysbiosis (patotsenoz). We believe that that the proposed method of assessing population adhesion of components of the intestinal symbiosis allows to take into account the communication ability of associants in a changing conditions environment of a microorganism, for which man is his environment.

References

1. Bukharin O.V., Ginzburg A.L., Romanova Y.M. (2005). Mechanisms of a survival of the bacteria. Moscow: Medicine, P. 367.
2. Kolganova T.V. (2003). Corrective action of probiotics in the experimental dysbacteriosis: dis. ... cand. of boil. Sciences. Moscow: PFUR, P. 139.
3. Gizatulina S.S., Birger M. O., Kulinich L.I. (1991).). Method of assessment condition of the intestinal microflora of the person on the number of adhesive - active bacteria and the type of adhesins. Zh. Microbiology. № 2: 21-23.

МОЛЕКУЛЯРНА ФІЛОГЕНІЯ ЛИШАЙНИКІВ, АДАПТОВАНИХ ДО ПОСУШЛИВИХ УМОВ АЗІЇ

¹Кондратюк С.Я., ²Джеонг М.-Х., ³Зареї-Даркі Б.,
⁴Галаніна І.О., ⁴Яковченко Л.С., ²Хо Дж.-С.

¹ Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної Академії наук України, Київ, Україна
e-mail: ksya_net@ukr.net

² Корейський інститут вивчення лишайників Сунчонського національного університету, Сунчон, Корея
e-mail: jshur1@sunchon.ac.kr

³ Тарбіат Модарес університет, Нур, Іран
e-mail: zareidarki@modares.ac.ir

⁴ Ботанічний Сад-інститут, Далекосхідне відділення Російської Академії наук, Владивосток, Росія
e-mail: gairka@yandex.ru

Наведено результати молекулярної філогенії трьох груп лишайників, які є добре адаптованими до посушливих континентальних умов Азії. Перші молекулярні дані щодо видів роду *Protoparmeliopsis* були представлені в 1999 році (1). З того часу до складу роду включали *P. muralis*, *P. acharianum* та *P. laatokkaensis*. Нами було запропоновано доповнити склад роду ще дев'ятьма видами (*P. admontensis*, *P. bolcanum*, *P. configuratum*, *P. garovaglii*, *P. grantii*, *P. macrocyclos*, *P. pruinum*, *P. reuteri*, *P. riparium*) (2). Положення ще одного виду даного роду, зокрема *Protoparmeliopsis* sp. zar1 з провінції Есфахан Ірану, підтверджено за нашими результатами філогенетичного аналізу, що базується на даних щодо ядерної (ділянка ITS1/ITS2) та мітохондріальної ДНК (12S mtSSU ділянка – Рис. група 2). *Protoparmeliopsis* sp. zar1 подібний до виду *P. muralis*, однак відрізняється набагато ширшими спорами, а також природою справжнього ексипулу (псевдопрозоплектенхімною природою в розумінні Кондратюка та Чарнефельта (3)). Було виявлено також низку лишайників, що належать до родів *Lecanora*, *Speerschnideria* та *Caloplaca* та зростають разом з *Protoparmeliopsis* sp. zar1. Вони детально досліджуються і, можливо, також є новими для науки видами.

Один із вказаних видів лишайників, що зростає на гранітних відслоненнях Провінції Есфахан Ірану, за морфологічними ознаками був віднесений до роду *Lecania* (як *Lecania* sp. saf1). Однак за результатами молекулярної філогенії виявлено найтісніші родинні зв'язки даного виду з північно-американським видом *Speerschnideria euploca* (Рис. група 3), а також представниками родів *Japewia* та *Helocarpon*. Офіційний опис цього нового для науки виду планується опублікувати в складі роду *Speerschnideria*.

Вперше показано, що азійський вид '*Lecanora*' *baikalensis* виявляє найтісніші родинні зв'язки з євразійським видом *Boreoplaca ultrafrigida* та *Lobothallia* (Рис. група 1). З одного боку, це означає, що положення роду *Boreoplaca* в складі родини Ramalinaceae є дуже сумнівним. З другого боку - свідчить про необхідність додаткового вивчення положення виду '*Lecanora*' *baikalensis*, який виявляє близькість до родів *Steinia* та *Pycnora*.



Рис. Філогенетичне дерево представників трьох груп лишайників адаптованих до посушливих континентальних умов Азії побудоване за даними 12S mtSSU ділянки мітохондріальної ДНК.

Вдячність: Дослідження частково підтримані Державним Агенством з Науки, Інновацій та Інформації України (№317-2011-409).

Література

1. Arup U. & Grube M. (2000). Is *Rhizoplaca* (Lecanorales, Lichenized Ascomycota) a monophyletic genus? *Canadian J. of Botany* **78**: 318-327
2. Кондратюк С.Я. (2010). Протопармеліопсис – *Protoparmeliopsis* M. Choisy. А.М. Окснер „Флора лишайників України у двох томах”, том 2 випуск 3. Відп. Ред. С.Я. Кондратюк та О.Г. Ромс. Київ: Наук. Думка: 130-149.
3. Kondratyuk, S.Y. and Kärnefelt, I. (1997). *Josefpoeltia* and *Xanthomendoza* two new genera in the family Teloschistaceae (Ascomycotina). *Bibliotheca Lichenologica*, 68: 1-27.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MOLECULAR PHYLOGENY OF LICHEN-FORMING FUNGI ADAPTED TO ASIAN ARID CONDITIONS

¹Kondratyuk S., ²Jeong M.-H., ³Zarei-Darki B.,
⁴Galanina I.A., ⁴Yakovchenko L.S., ²Hur J.-S.

¹M.H. Kholodny Institute of Botany of National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: ksya_net@ukr.net

³Korean Lichen Research Institute, Sunchon National University, Sunchon, Korea
e-mail: jshur1@sunchon.ac.kr

³Tarbiat Modares University, Noor, Iran
e-mail: zareidarki@modares.ac.ir

⁴Botanical Garden Institute, Far East Division of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia
e-mail: gairka@yandex.ru

Results on molecular phylogeny of three groups of lichen-forming fungi adapted to arid conditions of Asia are provided. The first molecular data on the representatives of the genus *Protoparmeliopsis* are provided in 2000 (1). *P. muralis*, *P. acharianum* and *P. laetokkaensis* were included to the genus since that time. Further members of this genus (*P. admontensis*, *P. bolcanum*, *P. configuratum*, *P. garovaglii*, *P. grantii*, *P. macrocyclos*, *P. pruinosum*, *P. reuteri*, *P. riparium*) were recently proposed too (2). Position of one new species, i.e. *Protoparmeliopsis* sp. zar1 from Esfahan Province of Iran is confirmed by results of our phylogenetic analysis based on nuclear (ITS1/ITS2 genes, tree not included) and mitochondrial (12S mtSSU gene – Fig. group 2) data sets. *Protoparmeliopsis* sp. zar1 is similar to *P. muralis*, but differs in having much wider ascospores and pseudoprosoplectenchymatous true exciple (in sensu Kondratyuk and Kärnefelt 1997 (3)). A number of lichen-forming fungal species, belonging to the genera *Lecanora*, *Speerschnidera* and *Caloplaca* growing together with *Protoparmeliopsis* sp. zar1 are found too. They are under special revision and some of them are possibly new for science too.

Undescribed lichen from silicate outcrops of Esfahan Province of Iran was originally identified as *Lecania* sp. saf1. However after molecular phylogeny this material shows the closest relations to North American *Speerschnidera euploca* (Fig. group 3) and members of the genera *Japewia* and *Helocarpon*. Now it is planned to publish an official description of this taxon as *Speerschnidera*.

It is for the first time shown that '*Lecanora*' *baikalensis* has the closest similarities with *Boreoplaca ultrafrigida* and *Lobothallia* (Fig. group 1). On one side, position of the genus *Boreoplaca* in the family Ramalinaceae becomes questionable. On another side, position of '*Lecanora*' *baikalensis* showing close relation to the genera *Steinia* and *Pycnora* should be additionally clarified.



Fig. The phylogenetic tree of the representatives of three groups of lichen-forming fungi adapted to arid conditions of Asia based on the 12S mtSSU mitochondrial DNA.

Acknowledgements: In parts supported by The State Agency on Science, Innovations and Information of Ukraine (317-2011-409).

References

1. Arup U. & Grube M. (2000). Is Rhizoplaca (Lecanorales, Lichenized Ascomycota) a monophyletic genus? *Canadian J. of Botany* 78: 318-327
2. Kondratyuk S.Y. (2010). *Protoparmeliopsis* M. Choisy //Oxner A.M. 'Flora of the lichens of Ukraine', vol. 2, issue 3 /Eds. S.Y. Kondratyuk & O.G. Roms. Kiev: Nauk. Dumka: 130-149.
3. Kondratyuk, S.Y. and Kärnefelt, I. (1997). *Josefpoeltia* and *Xanthomendoza* two new genera in the family Teloschistaceae (Ascomycotina). *Bibliotheca Lichenologica*, 68: 1-27.

ЗМІНИ ВМІСТУ НЕОРГАНІЧНИХ ПОЛІФОСФАТІВ ЯК ПРОЯВ АДАПТАЦІЙНИХ СТРАТЕГІЙ МІКРОМІЦЕТІВ-ДЕСТРУКТОРІВ В УМОВАХ ЛІМІТУВАННЯ ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ

Кондратюк Т.О., Мирошник О.В.

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: takbiofak@ukr.net

Мікроміцети-деструктори характеризуються проявами широких амплітуд адаптивних реакцій на дію різноманітних факторів середовища (1). Резервом життєво необхідних метаболітів у більшості прокариот та нижчих еукариот виступають високомолекулярні неорганічні поліфосфати (ПФ), які приймають участь в регуляції метаболізму та дають можливість цим організмам швидко переходити до активного росту та розмноження (2). Показано, що ПФ обумовлюють формування механізмів адаптації мікроміцетів-деструкторів до впливу таких стрес-впливів як температурний шок та біоциди (3). Серед напрямків сучасних наукових досліджень актуальним є визначення морфолого-біохімічних ознак видів грибів, які пристосовуються до екстремальних умов, що характеризуються слідовими кількостями поживних речовин, зокрема за умов розвитку на будівельних та синтетичних полімерних матеріалах.

Метою нашої роботи було з'ясувати морфологічні прояви адаптивних стратегій мікроскопічних міцеліальних грибів в умовах лімітування джерела вуглецю в поживному середовищі. Тест-культурами слугували мікроміцети із колекції мікроскопічних грибів-деструкторів ННЦ «Інститут біології» (FCKU), ізольовані з пошкоджених оздоблювальних матеріалів стін приміщень, зокрема полімерів: *Aspergillus versicolor* 446, *Alternaria infectoria* 307, *Cladosporium sphaerospermum* 312, *C. cf. sphaerospermum* 362, *Penicillium funiculosum* 258. Застосовували стандартні середовища (картопляно-глюкозний агар, середовище Чапека-Докса (КГА, ЧДА) – контроль), ЧДА із 0,1 та 0,3% вмістом сахарози та голодний агар (ГА). Для дослідження вакуолізації та накопичення ПФ у клітинах грибів використовували метод забарвлення 0,02% розчином нейтрального червоного (neutral rot).

Аналіз отриманих результатів показав, що за умов розвитку тест-культур грибів на середовищах, лімітованих за джерелом вуглецю, відбуваються значні морфологічні зміни (в товщині вегетативних гіф, міжсептових відстанях тощо), а також у наявності, формі та розмірах вакуоль, локалізації гранул ПФ, які накопичуються як у вегетативних гіфах, так і в репродуктивних структурах (рамоконідіях грибів р. *Cladosporium*) (рис.).

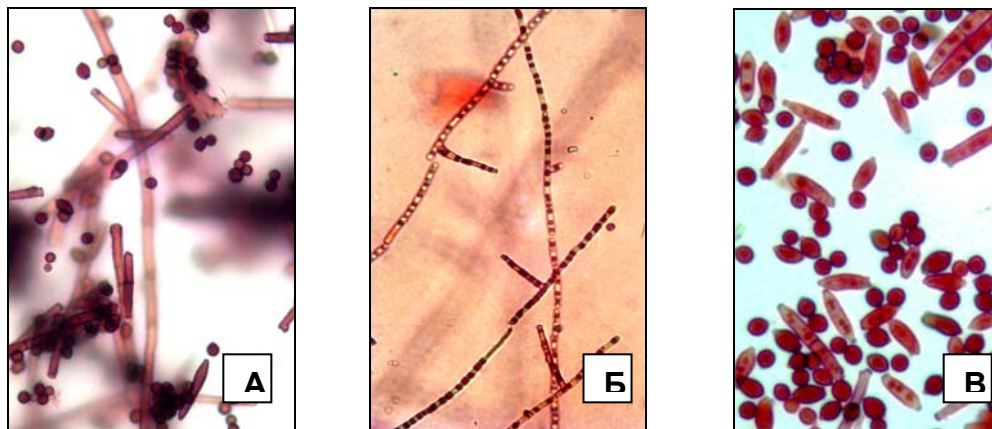


Рис. Вегетативні та репродуктивні структури *C. sphaerospermum* 312 FCKU за умов культивування на: А- КГА, Б – голодному агарі; В – ЧДА з 0,1% сахарози, (×400)

При зниженні концентрації сахарози в середовищі збільшується розмір вакуолей, гранули ПФ часто видовжуються, заповнюючи весь вільний простір клітини (у *A. infectoria* та *P. funiculosum*.) на відміну від контрольних варіантів, де гранули ПФ зазвичай дрібні та округлі. Отже, ПФ можуть обумовлювати формування механізмів адаптації мікроміцетів-деструкторів до колонізації та активного розвитку на виробках та матеріалах, лімітованих за доступним джерелом вуглецю.

Література

1. Власов Д.Ю. (2008). Мікроміцети в литобионтных сообществах: разнообразие, экология, эволюция, значение. Автореф. дис. докт. биол. наук. СПб: 36 с.
2. Кулаев И.С., Вагабов В.Н., Кулаковская Т.В. (2005). Высокомолекулярные неорганические полифосфаты: биохимия, клеточная биология, биотехнология. Москва: Науч. Мир: 215 с.
3. Перцева А.Д., Смирнов В.Ф., Воронина О.В. (2005). Влияние экстремальных воздействий на содержание полифосфатов и полифосфатную активность у микромицетов-деструкторов полимерных материалов. *Микол. и фитопатол.* 39, № 1: 53-58.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CONTENT OF INORGANIC POLYPHOSPHATES AS CHARACTER OF ADAPTIVE STRATEGIES OF MICROSCOPIC FUNGI-DESTRUCTORS IN CONDITIONS OF LIMITATION OF CARBON SOURCE

Kondratyuk T.O., Myroshnyk O.V.

«Educational and Scientific Centre» «Institute of Biology» Taras Shevchenko national university of Kyiv, Ukraine
e-mail: takbiofak@ukr.net

Microscopic fungi-destructors are characterized by wide range of amplitude of adaptive reaction on influence of various factors of environment (1). Highly molecular inorganic polyphosphates are reserve source of necessary metabolites in majority of prokaryotes and lower eukaryotes. They take part in regulation of metabolism and allow these organisms quickly start active growth and reproduction (2). Polyphosphates (PP) cause formation of mechanism of adaptation of microscopic filamentous fungi-destructors to influence of such stress-influences as temperature shock and biocides (3). Identification of morphologic-biochemical characters of fungal species adapted to extremal conditions which are characterized by very small quantities of nutrient substances, i.e. in conditions of development on building and synthetic polymer materials.

To clarify morphologic characters of adaptive strategies of microscopic filamentous fungi-destructors in conditions of limits of carbon source in nutrient was the main aim of this study. Filamentous fungi of collection of microscopic fungi-destructors of 'Institute of Biology' Educational and Scientific Centre, Taras Shevchenko Kiev National University isolated from damaged various materials of building walls, especially polymers: *Aspergillus versicolor* 446, *Alternaria infectoria* 307, *Cladosporium sphaerospermum* 312, *C. cf. sphaerospermum* 362, *Penicillium funiculosum* 258.] serve as test-cultures. Standard medium (potato-glucose agar medium (PGA), Chapeka-Doks medium (CDM) as control and CDM with 0.1 and 0.3% of saccharose and pure agar (PA) was used. Method of coloring by 0.2% solution of neutral rot was used to investigate vacuolization and accumulation PP in fungal cells was used.

Analysis of data obtained shows that considerable morphological exchanges (thickness of vegetative hyphae, distances between septa etc.) as well as in presence, form and measurements of vacuoles, PP grain localization which accumulated in both vegetative hyphae and reproduction structures (ramoconidia of *Cladosporium* (Fig.)) found in condition of development of fungal test cultures on medium with limited carbon content.

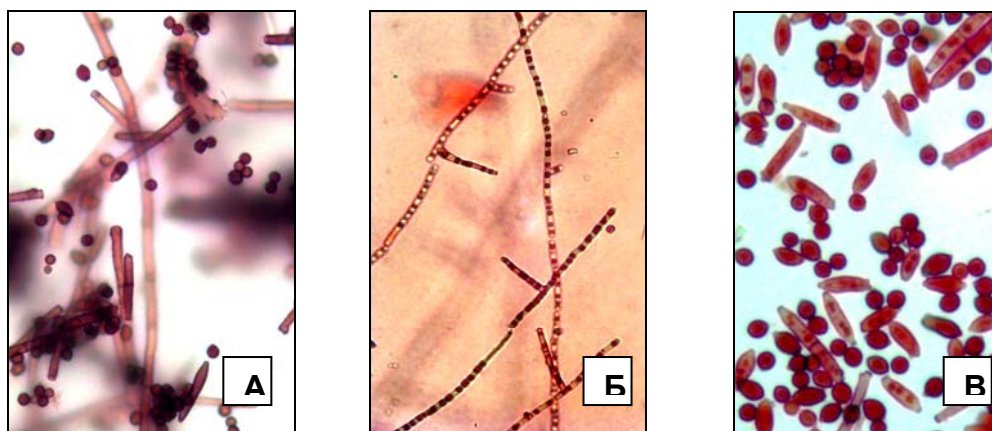


Fig. Vegetative and reproductive structures of *Cladosporium sphaerospermum* in conditions of culture: A – PGA medium, b – pure agar medium, c – CDM with 0.1% saccharose content (x400).

Measurements of vacuoles become larger, PP grains often becoming longer filling in the whole cell content (in *A. infectoria* and *P. funiculosum*) at lower concentration of saccharose while PP grains in control were usually much smaller and rounded. Thus PP may cause formation of mechanism of adaptation of filamentous fungi-destructors to colonization and active development on products and building materials with limited available carbon content.

References

1. Vlasov D.Y. (2008). Filamentous fungi in lithobiont communities: diversity, ecology, evolution, importance. Avtoref. of thesis of Dr. Sc. Sankt-Petersburg: 36 p.
2. Kulaev I.S., Vagabov V.N., Kulakovskaya T.V. (2005): High molecular inorganic polyphosphates: biochemistry, cell biology, biotechnology. Moscow: Nauch. Mir: 215 p.
3. Pertseva A.D., Smirnov V.F., Voronina O.V. (2005). Influence of extremal factors on polyphosphates content and polyphosphate activity in filamentous fungi-destructors from polymer materials. Mycol. and phytopatol. **39**. №1: 53-58.

МЕТАНОБРАЗУЮЩИЕ АРХЕИ В БОЛОТАХ ЮЖНОЙ И ТИПИЧНОЙ ТУНДРЫ

^{1,2}Кривушин К.В., ²Хангер С., ²Дрэйк Г.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия

² Университет г. Байройт, Германия
e-mail: krivushin@bk.ru

Северные болота и тундра отвечают за треть эмиссии метана, поступающего в атмосферу из переувлажненных ландшафтов (1). Заболоченные низменности Западной Сибири являются наиболее протяженной зоной распространения болот на Земле (2). Ввиду огромной протяженности, эти болота занимают несколько климатических зон, каждая из которых характеризуется собственным потоком эмиссии метана (3).

Целью нашей работы было провести сравнительное исследование микробных сообществ метанобразующих архей торфяных горизонтов болот, расположенных в южной и типичной тундре. Образцы торфа были отобраны в течение августа 2010 года на ключевых участках в типичной («Гыда») и южной («Ясавей») тундре. Ключевой участок «Гыда» (подзона типичной тундры; координаты: 70.90° с.ш., 78.53° в.д.) располагался в 5 км на восток от посёлка Гыда Ямало-Ненецкого Автономного Округа. Ключевой участок «Ясавей» (подзона южной тундры; координаты: 67.35° с.ш., 78.91° в.д.) располагался в 15 км к югу от посёлка Тазовский Ямало-Ненецкого Автономного Округа. Этот участок приурочен к левобережной террасе реки Таз.

Для оценки реакции сообщества метаногенов на добавление субстратов образцы торфа анаэробно инкубировали на среде имитирующей состав поровой воды торфа при +15°C и отсутствии света. Состав газовой фазы контролировали периодическими измерениями посредством газохроматографического анализа. Динамику концентрации ацетата в культуральной среде отслеживали при помощи жидкостной хроматографии высокого разрешения. Реакцию сообщества метанобразующих архей определяли по изменению структуры библиотек клонов фрагмента гена 16S rPHK, полученного путем обратной транскрипции соответствующих рибонуклеиновых кислот, выделенных до и после инкубирования образцов.

Образование метана в анаэробных микрокосмах участка «Гыда» стимулировалось добавлением H₂ / CO₂ и ацетата. В то же время, эти субстраты не оказывали значимого влияния на метаногенез в образцах участка Ясавей, что свидетельствует об отсутствии субстратного лимитирования для образования метана, а так же о том, что оно происходило из эндогенных субстратов. Анализ библиотек клонов 16S rPHK, полученных при разных вариантах инкубирования образцов, показал доминирование представителей родов *Methanosarcina* и *Methanosaeta* в образцах торфа типичной тундры. В образцах обоих участков происходил существенный рост концентрации ацетата при добавлении H₂ / CO₂, в особенности в присутствии ингибитора метаногенеза (бромэтансульфоновой кислоты), что свидетельствует о высокой активности ацетогенов.

Таким образом, несмотря на сходные физико-химические условия, за исключением температурного режима, микробное сообщество, участвующее в образовании метана в образцах типичной тундры по сравнению с образцами торфа болота южной тундры, показало значимый отклик на добавление субстратов и большую аккумуляцию метана. Данное наблюдение свидетельствует о его высокой потенциальной метанобразующей активности.

Литература

1. Fung I, Lerner JJ, Matthews E, Prather M, Steele LP & Fraser PJ 1991. Three-dimensional model synthesis of global methane cycle. *J Geophys Res* 96: 13033–13065.
2. Panikov, N.S. 1994. CH₄ and CO₂ emission from northern wetlands of Russia: Source strength and controlling mechanisms. In *Proceedings of the International Symposium on Global Cycles of Atmospheric Greenhouse gases*. Sendai: Tohoku University, 100-112.
3. Matthews, E., and Fung, I. 1987. Methane emission from natural wetlands: Global distribution, area, and environmental characteristics of sources. *Global Biogeochem Cycles* 1: 61–86.

METHANOGENS IN SOUTH AND TYPICAL TUNDRA BOGS

^{1,2}Krivushin K., ²Hunger S., ²Drake H.L.

¹ Soil Cryology Laboratory, Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science, Pushchino, Russia

² Department of Ecological Microbiology, University of Bayreuth, Bayreuth, Germany
e-mail: krivushin@bk.ru

Northern wetland and tundra ecosystems may contribute as much as one-third of total global wetland methane emissions (1). The West Siberian wetlands are situated in the West Siberian Lowland and are the largest wetland area on Earth (2). They are considered to be the most potent terrestrial source of atmospheric methane. These wetlands consist of a number of different ecosystems spanning several climatic zones such as bogs, fens, forests etc., each of which exhibits its own potential for CH₄ production (3).

Two West Siberian peat bog permafrost affected soils were investigated. The samples were collected at "Gida" key site (arctic tundra, 70.90° N, 78.53° E) located about 5 km from Gida settlement (Yamalo-Nenetsky Avtonomnyy Okrug) and a key site "Yas" (southern tundra, 67.35° N, 78.91° E) located about 15 km from Tasovskiy settlement (Yamalo-Nenetsky Avtonomnyy Okrug). Depth of peat layers were 25-30 cm. Permafrost were observed at a depth of about 30 cm.

To evaluate respond of methanogenic community on substrate supplements set of soil microcosms were designed. GC and HPLC measurements during cultivation were performed. Changes in methanogenic community structure were checked by 16S rRNA cloning approach.

Methane production in anoxic microcosms of soil from Gida was stimulated by supplemental H₂ / CO₂ and acetate. In contrast, these supplemental substrates did not stimulate methanogenesis by Yas soils, suggesting that methanogenesis was not substrate limited and operative at maximal capacity from endogenous substrates. H₂ / CO₂ significantly stimulated acetate production by both soils, and inhibition of methanogenesis with 2-bromoethane sulfonate yielded enhanced acetate production, suggesting that acetogens were active in both soils. Analysis of archaeal 16S rRNA sequences retrieved from the different treatments suggested that *Methanosarcina* and *Methanosaeta* were dominant methanogenic taxa in Gida soils.

Despite similar physico-chemical conditions methane producing community of typical tundra bog show significant positive feedback on substrate supplement and higher methanogenesis rate in comparison with south tundra bog. This observation indicate high potential methanogenic activity of typical tundra bogs.

References

1. Fung I, Lerner JJ, Matthews E, Prather M, Steele LP & Fraser PJ 1991. Three-dimensional model synthesis of global methane cycle. *J Geophys Res* 96: 13033–13065.
2. Panikov, N.S. 1994. CH₄ and CO₂ emission from northern wetlands of Russia: Source strength and controlling mechanisms. In *Proceedings of the International Symposium on Global Cycles of Atmospheric Greenhouse gases*. Sendai: Tohoku University, 100-112.
3. Matthews, E., and Fung, I. 1987. Methane emission from natural wetlands: Global distribution, area, and environmental characteristics of sources. *Global Biogeochem Cycles* 1: 61–86.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СРЕДИ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ В ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ (ВОСТОЧНАЯ СИБИРЬ)

¹Лац А.А., ¹Жданова С.Н., ¹Огарков О.Б., ²Алексеева С.И.

¹ФГБУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск

²ГУЗ Областной противотуберкулезный диспансер, Иркутск

e-mail: hh0413@yandex.ru

В настоящее время туберкулез остается серьезной проблемой, являясь одним из наиболее распространенных инфекционных заболеваний во всем мире [1]. Одной из причин, обуславливающих рост заболеваемости туберкулезом, указывается распространение штаммов пекинского генотипа Beijing, которые могут иметь адаптивные преимущества (резистентность к антибиотикам, повышенная вирулентность) [2]. Поэтому научный и практический интерес представляет изучение взаимосвязи антибиотикорезистентности и генотипов штаммов МБТ, что и явилось целью настоящей работы.

В ходе работы было проведено типирование ДНК микобактерий с помощью метода MIRU-VNTR по 12 локусам и делеционного анализа по RD 207 [2, 3, 4]. Всего было исследовано 140 штаммов за период 2010-2011гг. от больных туберкулезом, находившихся на лечении в Иркутском противотуберкулезном диспансере, из них 105 впервые выявленных случая и 35 – хронических.

Исследованные штаммы распределились следующим образом: 101 представитель семейства Beijing (72 %), 8 – Ural (5,7 %), 4 – LAM (2,9 %), 5 – X (3,6 %), 2 – Haarlem (1,4 %), а также по 1 (0,7 %) штамму из семейств Uganda I и S. К неклассифицированным штаммам Orphan (без делеции в RD 207, характерной для штаммов Пекин) были отнесены 18 (12,9 %) изолятов.

В исследуемой выборке (рис.1) преобладают антибиотикорезистентные формы туберкулеза (72%) с высокой долей первичной лекарственной устойчивости – 51%. Наиболее распространенной комбинацией

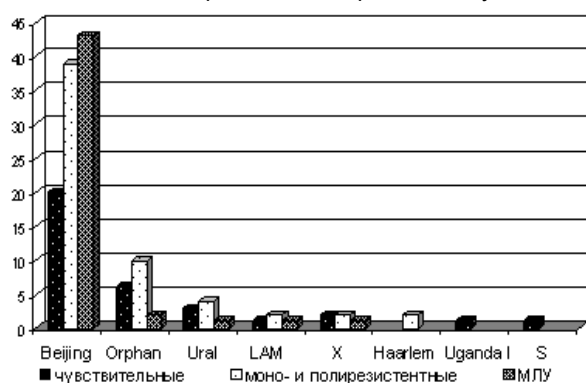


Рис.1. Лекарственная устойчивость МБТ, выделенных от больных, находящихся на лечении в Иркутском противотуберкулезном диспансере в 2010–2011 гг., %

при множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) были изониазид+рифампицин+стрептомицин (32%), изониазид+рифампицин+этамбутол (25%) и изониазид+рифампицин+канамицин (12%).

Велика доля моно- и полирезистентных штаммов: 42,1%, штаммов Beijing – 27,8%, неклассифицированных – 6,4%, Haarlem – 1,4%, по 0,7% LAM и X. МЛУ регистрировалась у 34,3% пациентов, из них 30% были инфицированы штаммами пекинского генотипа Beijing, 1,4% – семейством Orphan, и 0,7% – Ural, LAM и X.

Чувствительность к антибиотикам чаще отмечалась среди неклассифицированных штаммов Orphan (4,3%), а также единичных представителей S и Uganda I (по 0,7 %), внутри

семейства Beijing – у изолятов группы M2 (7,9%).

По результатам данного исследования клинические штаммы, отнесенные к преобладающему семейству Beijing (72,0 %), более часто были ассоциированы с лекарственной устойчивостью, нежели представители других генетических семейств. Эта связь была установлена как среди всей выборки больных ($\chi^2 = 7,82$, $p = 0,02$), так и среди впервые выявленных ($\chi^2 = 8,24$, $p = 0,016$). Вместе с тем, внутри семейства Beijing представлены чувствительные формы, ассоциированные с группами M2 и неклассифицированными штаммами.

Выявлено разнообразие генотипов семейства Beijing, которое отличается полирезистентностью и множественной лекарственной устойчивостью.

Таким образом, генотипирование штаммов МБТ обеспечивает выявление эпидемически значимых семейств *M. tuberculosis*, что способствует совершенствованию мониторинга за туберкулезом путем изучения молекулярных особенностей распространения возбудителя туберкулеза.

Литература

1. Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б. (2010). Пекинский генотип *M. tuberculosis*. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 4: 50 – 53.
2. Supply P., Lesjean S., Savine E., Kremer K., van Soolingen D., Locht C., et al. (2001). Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units. *J. Clin. Microbiol.* 39 (10): 3563–3571.
3. Reed M., Pichler K.V., McIntosh F., Mattia A. et al. (2009). Major *Mycobacterium tuberculosis* Lineages Associate with Patient Country of Origin. *J. Clin. Microbiol.* 47(7): 1119–1128.
4. Weniger T., Krawczyk J., Supply P., Niemann S., Harmsen D. (2010). MIRU-VNTRplus a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria // *Nucleic Acids Res.* – 2010. – Vol. 38, Suppl. – P. 326–331.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE SPREAD OF DRUG RESISTANCE AMONG DIFFERENT GENOTYPES OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN TUBERCULOSIS PATIENTS IN THE IRKUTSK REGION (EASTERN SIBERIA)

¹Lats A. A., ¹Zhdanova S.N., ¹Ogarkov O.B., ²Alexeeva S.N.

¹FSSFE Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS

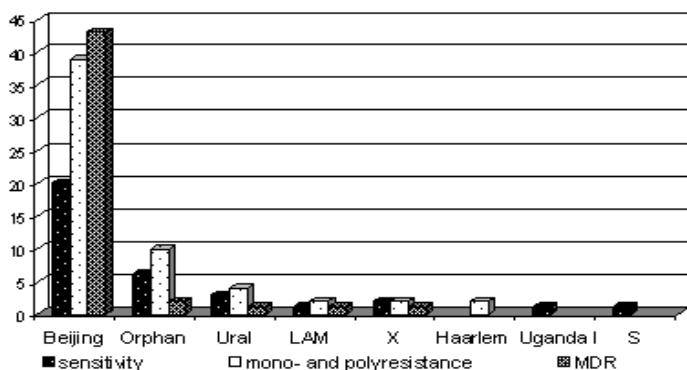
²SEH Irkutsk regional antitubercular dispensary

e-mail: hh0413@yandex.ru

At present, tuberculosis remains a serious problem, being one of the most common infectious diseases worldwide [1]. One of the reasons for the increase in the incidence of tuberculosis is the spread of strains of the Beijing genotype, which could have adaptive advantages (antibiotic resistance, increased virulence) [2]. Therefore, studying of the relationship of antibiotic resistance and the genotypes of strains of the MBT, which was the purpose of this paper, is of scientific and practical interest.

During the work DNA typing of Mycobacterium using the MIRU-VNTR on 12 loci and deletion analysis on RD 207 [2, 3, 4] was carried out. A total of 140 strains investigated for the period 2010 to 2011 years of TB patients treated at the Irkutsk TB Dispensary, of which 105 were newly diagnosed cases and 35 - chronic.

Studied strains were distributed as follows: 101 member of the family Beijing (72%), 8 - Ural (5,7%), 4 - LAM (2,9%), 5 - X (3,6%), 2 - Haarlem (a , 4%), as well as one (0,7%) strain of Uganda families I and S. 18 (12,9%) isolates were classified as unclassified strains Orphan (without deletions in RD 207, a characteristic of the Beijing strains).



Pic 1. Drug resistance of MBT, isolated from patients treated in TB Dispensary Irkutsk in 2010-2011, %

In the studied sample (pic.1), antibiotic-resistant forms of TB (72%) with a high share of second primary drug resistance - 51% prevail. The most common combinations for multidrug resistance MDR were isoniazid + rifampicin + streptomycin (32%), isoniazid + rifampicin + ethambutol (25%) and rifampicin + isoniazid + kanamycin (12%).

Proportion of mono- and multi-drug resistant strains is high: 42.1%, strains of Beijing - 27,8%, unclassified - 6,4%, Haarlem - 1,4%, 0,7% LAM and X. MDR was recorded in 34.3% of patients, of whom 30% were infected with strains of

the Beijing genotype Beijing, 1,4% - of the Orphan family, and 0,7% - of Ural, LAM and X.

Sensitivity to antibiotics were more common among the unclassified strains Orphan (4,3%), as well as individual representatives of S and Uganda I (0,7%), within the family of Beijing - among M2 group isolates (7,9%).

According to the results of this study clinical strains, assigned to the prevailing family Beijing (72,0%), were more frequently associated with drug resistance, rather than representatives of other genetic families. This link has been established among the entire sample of patients ($\chi^2 = 7,82$, $p = 0,020$), and among the newly diagnosed ($\chi^2 = 8,24$, $p = 0,016$). However, within the Beijing family there were sensitive forms associated with the groups M2 and unclassified strains.

The diversity of genotypes of the family Beijing, which have polyresistance and multidrug resistance was revealed.

Thus, genotyping of strains MBT ensures the identification of epidemiologically important families of M. tuberculosis, which contributes to improving the monitoring of tuberculosis by studying the molecular characteristics of the spread of the causative agent of tuberculosis.

References

1. Savilov Ye.D., Sinkov V.V., Ogarkov O.B.. (2010). The Beijing genotype of M. tuberculosis. Epidemiology and infectious diseases. 4: 50 – 53.
2. Supply P., Lesjean S., Savine E., Kremer K., van Soolingen D., Locht C., et al. (2001). Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of Mycobacterium tuberculosis based on mycobacterial interspersed repetitive units. J. Clin. Microbiol. 39 (10): 3563–3571.
3. Reed M., Pichler K.V., McIntosh F., Mattia A. et al. (2009). Major Mycobacterium tuberculosis Lineages Associate with Patient Country of Origin. J. Clin. Microbiol. 47(7): 1119–1128.
4. Weniger T, Krawczyk J, Supply P, Niemann S, Harmsen D. (2010). MIRU-VNTRplus a web tool for polyphasic genotyping of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria // Nucleic Acids Res. – 2010. – Vol. 38, Suppl. – P. 326–331.

ОСНОВНЫЕ СТРАТЕГИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ И УСТОЙЧИВОСТИ СООБЩЕСТВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ (В ПРОСТРАНСТВЕ И ВРЕМЕНИ)

Литвинов Ю.Н.

Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Основные положения экологии сообществ или синэкологии животных были изложены в научных трудах второй половины девятнадцатого века. Первоначальные исследования были связаны с изучением распределения организмов в сообществах в зависимости от их численных характеристик, или количества видов обитающих на определенной площади. Анализ функций и графиков кривых доминирования-разнообразия, числа видов и площади позволил определять закономерности наполнения видами определенных территорий, оценивать качественный и количественный состав сообществ животных, ограниченных масштабом исследования.

Значительный вклад в теоретические положения синэкологии внесло применение методов информации при изучении количественных показателей качественно-количественного состава сообществ. Информационные индексы разнообразия отображают комплекс различий между экологическими условиями существования разных сообществ. Хорошие результаты дает применение таких методов как анализ фазовых портретов сообщества, методы многомерного анализа, корреляционный анализ.

В нашем институте на основе многолетнего изучения сообществ мелких млекопитающих в разных ландшафтно-географических районах Сибири успешно применен набор методов, позволяющих получить комплексную оценку экологического состояния сообществ, в пространственном и временном аспекте.

В таблице приводятся основные показатели пространственных и временных параметров сообществ мелких млекопитающих.

Показатель:	Экологическое значение
Суммарная численность и ее дисперсия	Показатели суммарной численности видов в сообществе и многолетнего разброса ее значений
Индексы разнообразия их дисперсия, графический анализ	Информационные показатели равномерности структуры доминирования, выравниваемости сообщества
Фазовый портрет сообщества	Метод дает возможность визуального изучения траектории суммарных показателей разнообразия сообщества в многомерном пространстве его состояний, с определением устойчивости по амплитуде колебаний
Компонентный анализ	Показатель суммарного влияния основных факторов на ординацию видов, составляющих сообщества в факторном пространстве и роль (дисперсия) групп главных факторов (компонент) в этом распределении.
Связность на основе корреляционного анализа	Показатель синхронизации движения численности у популяций разных видов по годам или в пространстве, оценка количества хорошо выраженных связей в сообществе
Ранговый состав видов в сообществе	Роль доминантов, структурообразующих видов, видов со средней численностью и редких в формировании видового и численного состава сообщества.
Устойчивость	Понятие которое складывается из анализа основных параметров характеристики сообществ

Анализ усредненных пространственных и временных характеристик сообществ мелких млекопитающих позволяет говорить о них как о структурно-сложившихся информационных системах, изменения в которых, обусловлены динамическими природно-климатическими, зонально-ландшафтными и антропогенными факторами. Нарушения структуры сообщества, как обратимые, так и необратимые на больших и малых территориях на наш взгляд служат примером микроразвивающихся процессов на экосистемном уровне. Многолетняя динамика взаимозависимых численных характеристик в сообществе отображает связи между видами, которые формируют адаптивные комплексы. Сила корреляционных связей в сообществах, позволяет определять их связность и судить об их стабильности и устойчивости к действию различных факторов.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BASIC STRATEGIES OF FUNCTIONING AND STABILITY OF SMALL MAMMAL COMMUNITIES (IN TIME AND SPACE)

Litvinov Yu.N.

Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

The main principles of synecology or ecology of animal communities were described in the scientific works of the second half of the nineteenth century. Initial studies were related to the analysis of distribution of organisms in communities according to their numerical characteristics, or the number of species inhabited a particular area. Analysis of functions and curves of dominance and diversity, distribution of species number let to determine basic patterns of species composition, the qualitative and quantitative characteristics of animal communities of studied areas.

The use of the methods of information in the study of qualitative and quantitative composition of the communities made significant contribution to the theoretical principles of synecology. Diversity indices reflect the complex differences between the environmental conditions of different communities. Good results can be obtained by using such methods as phase portraits of communities, correlation and multivariate analysis.

A set of methods that provide a comprehensive assessment of the ecological condition of the communities in spatial and temporal aspects successfully applied in our institute in long-term investigations of small mammal communities from different regions of Siberia.

The table shows the main indicators of spatial and temporal parameters of small mammal communities.

Parameter:	Ecological interpretation
The total number and its variance	Indicators of the total number of species in the community and long-term variation of its values
Diversity indices and their dispersion, graphical analysis	Informational measures the uniformity, dominance structure and evenness of the community
Phase portraits of community	Visual assessment of the trajectory of diversity indicators of the community
Principal components analysis	Evaluation of the total impact of factors on the ordination of species that make up the community in the factor space
Connexity on the basis of correlation analysis	Assessment of synchrony of population dynamics of different types and quantities of well-defined relationships in the community
The ranking of species in the community	The role of species with different abundance in the formation the community structure.
Resistance	The concept which consists of analyzing the main characteristics of community

Analysis of the different characteristics of communities allows us to speak of them as informational systems, which fluctuate under dynamic climatic, zonal and anthropogenic factors. Distortions of the community structure, reversible or irreversible, in our view, can serve as examples of microevolutionary processes at the ecosystem level.

Long-term dynamics of characteristics of a community reflects the links between the species that form adaptive systems. The strength of correlations in the communities can identify their connexity and assess their stability and resistance to the action of various factors.

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ К ПОДВОДНОМУ И ВОЗДУШНОМУ ЗРЕНИЮ

Масс А. М.

Институт проблем экологии и эволюции им.Северцова А.Н. Российской Академии Наук, Москва, Россия
e-mail: alla-mass@mail.ru

В процессе эволюции зрительная система морских млекопитающих приобрела целый ряд механизмов адаптации к подводному и воздушному зрению. Многие виды морских млекопитающих (китообразные, сиреновые) проводят всю свою жизнь под водой; однако необходимость дышать воздухом вынуждает их придерживаться поверхностных слоев воды. Другие морские млекопитающие (ластоногие, морские выдры) проводят значительную часть своей жизни на суше. В результате зрительная система этих животных приобретает заметную морфологическую и функциональную специализацию, направленную на обеспечение восприятия зрительных изображений как в воздушной, так и в водной среде. Сравнительные исследования обнаруживают различные механизмы адаптации этих видов. Настоящая работа представляет обзор экспериментальных данных, полученных на представителях четырех групп морских млекопитающих: китообразных (дельфинов и китов), ластоногих (тюленей, морских львов и моржа), сиреновых (ламантина) и морской выдры (калана). Анатомия глаза, оптика, послойная организация сетчатки, топография распределения ганглиозных клеток по поверхности сетчатки на тотальных препаратах сетчатки обсуждаются преимущественно в ключе адаптации зрительной системы к воздушному и подводному зрению. Особенности условий подводного обитания (оптические свойства воды, низкая освещенность в глубоких слоях, резкие перепады освещенности при погружении, сильное рассеяние света, создаваемое планктоном и др. свойства) предъявляют определенные требования к морфологии глазного яблока и его преломляющим структурам. Под водой зрение водных млекопитающих эмметропично (свет фокусируется на сетчатке). Многие из них имеют механизмы компенсации воздушной миопии, позволяющие достичь эмметропии и на воздухе. Подводное зрение должно работать в условиях широкого варьирования освещенности, поэтому сокращение зрачка возможно в широких пределах, и форма зрачка специфична у разных видов. У ластоногих существенна роль светоотражающего тапетума. В сетчатке морских млекопитающих, подобно сетчатке сумеречных наземных млекопитающих, преобладают палочки, однако существует небольшое количество колбочек, которые обеспечивают остаточное цветное зрение. Характерным свойством сетчатки китообразных и ластоногих является большой размер и низкая плотность ганглиозных клеток. Исследования топографического распределения ганглиозных клеток по поверхности сетчатки на тотальных препаратах выявили в сетчатке китообразных две области максимальной концентрации ганглиозных клеток (области наилучшего видения), локализованные в темпоральном и назальном секторах сетчатки. У ластоногих и морской выдры в сетчатке обнаружена только одна такая область. Таким образом, зрительная система морских млекопитающих демонстрирует высокий уровень развития и располагает рядом специфических свойств, связанных с адаптацией к восприятию зрительных изображений в воде и в воздухе.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTIVE FEATURES OF AQUATIC MAMMALS' VISUAL SYSTEM UNDERWATER AND AQUATIC VISION

Mass A.M.

Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: alla-mass@mail.ru

The visual system of aquatic mammals demonstrates a number of adaptations to both underwater and aerial vision. Many aquatic mammals (cetaceans, sirenians) spend their entire life in the water; however air-breathing confines them to a near-surface layer of water. Other marine mammals (pinnipeds, sea otters) spend a significant part of their life on land. As a result, the visual systems of these groups feature remarkable morphological and functional specializations for both underwater and aerial vision that are apparent in the optics, retina, and other eye structures. This presentation offers a review of functional anatomy of eye (based particularly on experimental data) in four groups of aquatic animals: cetaceans (toothed and baleen whales), pinnipeds (seals, sea lions, and walruses), sirenians (manatees and dugongs), and sea otters. Eye anatomy and optics, retinal laminar morphology, and topography of ganglion-cell distribution are discussed with particular reference to aquatic specializations for underwater versus aerial vision. These species demonstrate various extent of their adaptation to the aquatic environment. The structure of the eye cup and the refractive structures of the eye in cetaceans are determined primarily by the optical properties of the aquatic medium, low luminosity deep in water, strong light scatter by particles (plankton and others) suspended in water, and so on... Aquatic mammals display emmetropia (i.e., refraction of light to focus on the retina) while submerged, and most have mechanisms to achieve emmetropia above water to counter the resulting aerial myopia. As underwater vision necessitates adjusting to wide variations in luminosity, iris muscle contractions create species-specific pupil shapes that regulate the amount of light entering the pupil and, in pinnipeds, work in conjunction with a reflective optic tapetum. The retina of aquatic mammals is similar to that of nocturnal terrestrial mammals in containing mainly rod photoreceptors and a minor number of cones (however, residual color vision may take place). A characteristic feature of the cetacean and pinniped retina is the large size of ganglion cells separated by wide intercellular spaces. Studies of topographic distribution of ganglion cells in the retina of cetaceans revealed two areas of ganglion-cell concentration (the best-vision areas) located in the temporal and nasal quadrants; pinnipeds, sirenians, and sea otters have only one such area. In general, the visual system of marine mammals demonstrates a high degree of development and a number of specific features associated with adaptation for vision in both the aquatic and aerial environments.

ВЫЯВЛЕНИЕ СОРТОВ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА, ИМЕЮЩИХ ИНСЕРЦИЮ LIS-1 И ПОТЕНЦИАЛЬНО АДАПТИВНЫХ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

¹Мельникова Н.В., ¹Большева Н.Л., ¹Рачинская О.А., ^{1,2}Сперанская А.С., ¹Юркевич О.Ю.,
^{1,2}Лакунина В.А., ²Криницина А.М., ¹Беленикин М.С., ³Кишлян Н.В., ¹Зеленин А.В.,
¹Муравенко О.В., ¹Кудрявцева А.В.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

³Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт льна Российской академии сельскохозяйственных наук, Торжок, Россия
e-mail: mnv-4529264@yandex.ru

Лен (*Linum usitatissimum* L.) является одной из важнейших технических культур. Уникально высокая пластичность генома льна делает его удобным объектом для исследования регуляторных механизмов адаптации растений к стрессовым факторам внешней среды, а также формирования генетического разнообразия и эволюции геномов растений. Показано, что при адаптации к определенным стрессовым факторам окружающей среды (недостаточное или избыточное питание, засуха, высокая температура) в некоторых линиях льна-долгунца происходят наследуемые изменения структуры генома. Растения, унаследовавшие такие изменения, были названы генотрофами (Durrant, 1962; Evans et al., 1966). Процесс формирования генотрофов, устойчивых к низкому содержанию питательных веществ в почве и/или к засухе сопряжен с появлением в определенном сайте генома инсерции LIS-1 (Chen et al., 2005). Несмотря на то, что механизмы формирования и функции инсерции LIS-1 в настоящее время мало изучены, эта последовательность является одним из наиболее эффективных молекулярных маркеров для выявления форм льна с высокой пластичностью генома и повышенной адаптационной способностью.

В данной работе проведен скрининг 42 сортов льна-долгунца, выращенных в ГНУ ВНИИЛ Россельхозакадемии в полевых условиях в 2011 г., с целью выявления сортов с повышенной адаптационной способностью к абиотическим стрессам. Геномная ДНК, выделенная из листьев льна, исследовалась на наличие инсерции LIS-1 с помощью ПЦР с парами праймеров GGGTTTCAGAACTGTAACGAA и GAGGATGGAAGATGAAGAAGG; GGGTTTCAGAACTGTAACGAA и GCTTGGATTAGACTTGGCAAC (Chen et al., 2009), детектирующих наличие или отсутствие инсерции, соответственно. Результаты оценивались методом электрофореза в агарозном геле (рис.). Последовательность LIS-1 была обнаружена в 14 сортах льна-долгунца: Дипломат, Лада, Ленок, Тост 3, Могилевский 2, Прибой, Смолич, А29, Мерилин, TMP 1919, Глазовский кряж, Г1071/4, Liral Prince, Stormont Cirrus. Сорта, имеющие инсерцию LIS-1, заслуживают особого внимания при дальнейших исследованиях механизмов адаптации льна-долгунца к неблагоприятным факторам внешней среды и при селекции новых сортов, устойчивых к абиотическим стрессам.

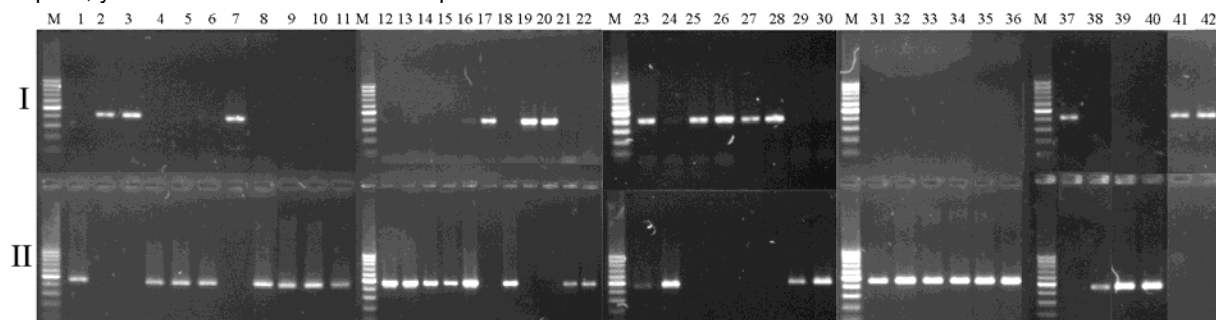


Рис. Наличие инсерции Lis-1 в сортах льна. I ПЦР с праймерами, детектирующими наличие Lis-1; II ПЦР с праймерами, детектирующими отсутствие Lis-1. Сорта льна на дорожках: 1- Новаторский, 2-TMP 1919, 3-Глазовский кряж, 4-1147, 5-Светоч, 6-Nike, 7- Liral Prince, 8-4v-29, 9-Алексим, 10-Лира, 11-Океан, 12-Альфа, 13-Горизонт, 14-Лавина, 15-Зарянка, 16-Василек, 17-Прибой, 18-Тост 4, 19-Дипломат, 20-Лада, 21-Славный, 22-Тверской, 23-Ленок, 24 - А-93, 25-Тост 3, 26-Могилевский 2, 27-Смолич, 28 -А29, 29-Антей, 30-Русич, 31-Оршанский, 32-К6, 33-Виксоил V-2, 34-Донской 95, 35-Форд, 36-Томский 16, 37-Мерилин, 38-Смоленский, 39 -Ки-5, 40-ЛМ-98, 41-Stormont Cirrus, 42 Г 1071/4. М-100 bp маркер.

Работа выполнена при поддержке грантов МК-6205.2012.4, РФФИ №10-04-01212, 12-04-01469-а, 11-08-00716.

Литература

1. Durrant A. (1962). The environmental induction of heritable change in *Linum*. *Heredity*. 17: 27-61.
2. Evans G.M., Durrant A., Rees H. (1966). Associated nuclear changes in the induction of flax genotrophs. *Nature*. 212: 697-699.
3. Chen Y., Schneeberger R.G., Cullis C.A. (2005). A site-specific insertion sequence in flax genotrophs induced by environment. *New Phytol.* 167: 171-180.
4. Chen Y., Lowenfeld R., Cullis C.A. (2009) An environmentally induced adaptive (?) insertion event in flax. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* 1(3): 38-47.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

IDENTIFICATION OF FIBER FLAX VARIETIES WITH INSERTION LIS-1, POTENTIALLY ADAPTIVE TO ADVERSE ENVIRONMENTAL CONDITIONS

¹Melnikova N.V., ¹Bolsheva N.L., ¹Rachinskaya O.A., ^{1,2}Speranskaya A.S., ¹Yurkevich O.Yu.,
^{1,2}Lakunina V.A., ²Krinitina A.M., ¹Belenikin M.S., ³Kishlyan N.V., ¹Zelenin A.V., ¹Muravenko O.V.,
¹Kudryavtseva A.V.

¹Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

³All-Russian Research Institute for Flax, Russian Academy of Agriculture, Torzhok, Russia
e-mail: mnv-4529264@yandex.ru

The flax (*Linum usitatissimum* L.) is one of the most important technical crops. Due to unique genome plasticity, flax is a convenient object for studying the regulatory mechanisms of adaptation to environmental stressors, genetic diversity, and genome evolution in plants. Heritable genome alterations have been shown to occur in some flax varieties during adaptation to certain stress factors, such as insufficient or excess nutrient conditions, drought, or high temperatures. The plants with such inherited changes were termed genotrophs (Durrant, 1962; Evans et al., 1966). The formation of genotrophs resistant to a low soil nutrient content and/or drought is associated with appearance of insertion LIS-1 at a specific site of the plant genome (Chen et al., 2005). Although the induction mechanisms and functions of insertion LIS-1 are still insufficiently studied, this sequence represents one of the most efficient molecular markers for finding the flax varieties with high genome plasticity and adaptation capacities.

In this research, 42 fiber flax varieties grown at All-Russian Research Institute for Flax of the Russian Academy of Agriculture under field conditions in 2011 were screened for enhanced abilities to adapt to abiotic stressors. The genome DNA isolated from flax leaves was tested for the presence of insertion LIS-1 using PCR with primer pairs GGGTTTCAGAACTGTAACGAA and GAGGATGGAAGATGAAGAAGG; GGGTTTCAGAACTGTAACGAA and GCTTGGATTTAGACTTGGCAAC (Chen et al., 2009), which detected the presence or absence of the insertion, respectively. The results were assessed using agarose gel electrophoresis (figure). The LIS-1 sequence was found in 14 varieties of fiber flax: Diplomat, Lada, Lenok, Tost 3, Mogilevskii 2, Priboi, Smolich, A29, Marilyn, TMR 1919, Glazovskii Kryazh, G1071/4, Liral Prince, and Stormont Cirrus. The varieties with insertion LIS-1 deserve special attention in further studies of flax adaptation to adverse environmental factors and in breeding of new resistant varieties.

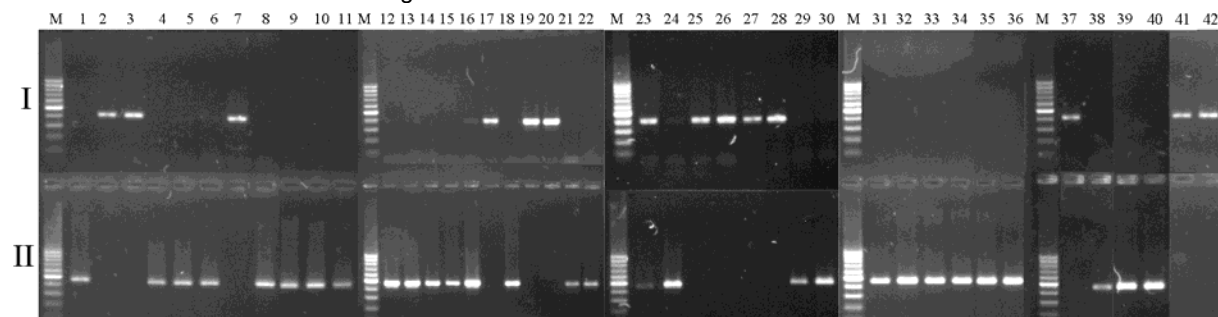


Figure. The presence of insertion Lis-1 in different flax varieties. I PCR with primers detecting the presence of Lis-1; II PCR with primers detecting the absence of Lis-1. Varieties on lanes: 1 - Novatorskii, 2 - TMR 1919, 3 - Glazovskii Kryazh, 4 - 1147, 5 - Svetoch, 6 - Nike, 7 - Liral Prince, 8 - 4v-29, 9 - Aleksim, 10 - Lira, 11 - Okean, 12 - Alfa, 13 - Gorizont, 14 - Lavina, 15 - Zaryanka, 16 - Vasilek, 17 - Priboi, 18 - Tost 4, 19 - Diplomat, 20 - Lada, 21 - Slavnyi, 22 - Tverskoi, 23 - Lenok, 24 - A-93, 25 - Tost 3, 26 - Mogilevskii 2, 27 - Smolich, 28 - A29, 29 - Antei, 30 - Rusich, 31 - Orshanskii, 32 - K6, 33 - Viksoil V-2, 34 - Donskoi 95, 35 - Ford, 36 - Tomskii 16, 37 - Marilyn, 38 - Smolenskii, 39 - Ki-5, 40 - LM-98, 41 - Stormont Cirrus, 42 - G 1071/4. M - 100 bp marker.

The work was financially supported by grants MK-6205.2012.4, RFBR 10-04-01212, RFBR 12-04-01469-a and RFBR 11-08-00716

References

1. Durrant A. (1962). The environmental induction of heritable change in *Linum*. *Heredity*. 17: 27-61.
2. Evans G.M., Durrant A., Rees H. (1966). Associated nuclear changes in the induction of flax genotrophs. *Nature*. 212: 697-699.
3. Chen Y, Schneeberger R.G., Cullis C.A. (2005). A site-specific insertion sequence in flax genotrophs induced by environment. *New Phytol*. 167: 171-180.
4. Chen Y., Lowenfeld R., Cullis C.A. (2009) An environmentally induced adaptive (?) insertion event in flax. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* 1(3): 38-47.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА КРОВИ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КАРЕЛИИ

Моисеева Т.А.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия
e-mail: tima3909@rambler.ru

Свойства иммунности в той или иной степени присущи всем известным видам живой материи. (1) У представителей разных таксономических групп животных механизмы иммунитета сходны по своему генезису и сущности; в их строении обнаруживаются общие черты. Конкретные же механизмы иммунитета, их разнообразие и степень сложности определяются особенностями организации живых существ, то есть местом каждого биологического вида на эволюционной лестнице. Полученные нами в данной работе результаты по определению иммуноглобулинов основных классов – А, G, М и продуктов распада клеточных мембран – Р-белков (3) (как методического плана, так и сравнительно - эволюционные характеристики иммунного статуса мелких млекопитающих Карелии) - могут являться одними из доказательств данных тезисов.

Для количественного определения иммуноглобулинов методом РИД (Радиальной Иммунодиффузией в геле) в сыворотке крови мелких млекопитающих мы использовали моноспецифические антисыворотки к иммуноглобулинам человека, полученные из лаборатории иммунохимии Московского института микробиологии и эпидемиологии им. Гамалеи. Предположение, что такие исследования возможны, основывались на работе Чернохвостовой Е. В. с соавт. (6), где исследуется диапазон перекрёстных реакций между иммуноглобулинами животных и человека с помощью моноспецифических кроличьих и овечьих антисывороток к иммуноглобулинам человека. В работе этих авторов показано, что моноспецифические сыворотки к иммуноглобулинам человека удалось использовать в ряде случаев для количественного определения иммуноглобулинов животных методом РИД. На основании вышеизложенного мы определяли иммуноглобулины основных классов - А, G, М - в сыворотке крови у представителей следующих видов: *Sorex araneus* (обыкновенная бурозубка), *Gletrionomis glareolus* (рыжая полёвка), *Microtus agrestis* (тёмная полёвка), отловленных нами из природных популяций на территории таёжного северо-запада России (Карелия), а также *Mus musculus* (домовая мышь), содержащуюся в условиях вивария (г. Петрозаводск). Нами установлено, что оптимальным является разведение антисыворотки в 2 раза меньшее, чем при определении иммуноглобулинов человека. Удалось выявить IgG у всех перечисленных видов; ни у одной из исследуемых таксономических групп не удалось выявить IgA. IgM идентифицировали у обыкновенной бурозубки и не смогли идентифицировать у рыжей и тёмной полёвок и домовой мыши.

Для определения уровней Р-белков у мелких млекопитающих, отловленных нами из природных популяций, мы использовали мышиную анти-Р-сыворотку, полученную из лаборатории иммунохимии Московского института микробиологии и эпидемиологии им. Н.Ф. Гамалеи. С помощью этой анти-Р-сыворотки удалось определить количество Р-белков в сыворотке крови представителей следующих родов: *Gletrionomis glareolus* (рыжая полёвка), *Microtus agrestis* (тёмная полёвка), *Mus musculus* (домовая мышь). Не получено результатов при определении Р-белков у *Sorex araneus* (обыкновенная бурозубка). Поскольку Р-белки представляют собой не что иное, как продукты распада клеточных рецепторов, очевидно, можно говорить о большом сходстве клеточных рецепторов у мышей и полёвок (семейство Мышиные Murida, отряд Грызуны Rodentia). Отсутствие результатов по определению Р-белков с помощью мышинной анти-Р-сыворотки у относящихся к отряду Насекомоядные (Insectifora) землероек - бурозубок может свидетельствовать о различии определённых участков клеточных рецепторов у мышей и бурозубок - ответственных, вероятно, за преципитирующие (агглютинирующие) свойства или функции.

Литература

1. Болотников И. А., Румянцев С. Н. Биология иммунитета. – Петрозаводск, 1991.
2. Ивантер Э. В. и др. Адаптивные особенности мелких млекопитающих. – Л., 1985.
3. Кульберг А. Я. Регуляция иммунного ответа. – М., 1986.
4. Моисеева Т.А. Иммунологические механизмы устойчивости мелких млекопитающих Карелии. – Дисс. канд. биол. наук. – Петрозаводск, 2000.
5. Моисеева Т.А. Иммунологические показатели мелких млекопитающих Карелии как ценного элемента кормовой базы охотничьих животных / Вестник охотоведения. – 2010. - Т. 7. – № 2. - С. 349-352.
6. Чернохвостова Е. В. и др. Исследование антигенных связей иммуноглобулинов животных и человека с помощью антисывороток к иммуноглобулинам человека // Журн. микробиол. и эпидемиол. – 1975. - № 2. – С. 41-45.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE RESEARCH OF THE HUMORAL FACTORS OF THE KARELIAN TERRESTRIAL MAMMALS BLOOD IMMUNITY

Moiseeva T.A.

Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia
e-mai: tima3909@rambler.ru

The properties of immunity are inherent in all known kinds of living matters. (1) The mechanisms of the representatives of different taxonomical clusters of animals immunity are similar in their genesis and essence; the common features are discovered in their structures. The concrete mechanisms of immunity and their variety and degree of complexity are determined by the characteristics of the breathers structure, in the meaning of the place of every species during evolution. The results of determining P- proteins (3) (both methodological kind and comparatively – evolutionary characteristics of the Karelian terrestrial mammals immune status) that we got in this work can be one of the evidences of these thesis.

For quantitative determination of immunoglobulin in the mammals serum by RID method (radial immune diffusion in gel) we used mono specific antisera for human immunoglobulin that we got from Moscow Microbiological and Epidemiological Institute named after Gamalej laboratory. The offers of possibility of such researches were based on the works of Chernohvostovoj E. V. (6), where the diapason of crossed reactions between human and animal immunoglobulin is researched with the help of mono specific rabbit and cheep serums and human immunoglobulin. In the work of these authors it is demonstrated that mono specific serums for human immunoglobulin were possibly used in some cases for quantity determination of animal immunoglobulin be RID method. On the basis of all written we determined main classes immunoglobulin – A, G, M – in blood serum of such species as *Sorex araneus*, *Gletrionomis glareolus*, *Mikrotus alreatis* from the South – West of Russia and *Mus musculus* from Petrozavodsk vivarium. We have been established that the dilution of serum twice less than establishing human immunoglobulin is optimal. We found out IgG of all these species; we couldn't find out IgA. IgM was identify from *Sorex araneus* and could not identify it from all the others.

For identifying of terrestrial mammals from natural conditions P-proteins levels we used murine anti-P-serum that we got from Moscow Microbiological and Epidemiological Institute named after Gamalej laboratory. With the help of this serum we could determine quantity of P-proteins in the blood serum of *Gletrionomis glareolus*, *Mikrotus alreatis*, *Mus musculus*. We did not research P-proteins results of *Sorex araneus*. We can say about big similarity of murine and vole receptor cites because P-proteins are the product of receptor cites decay. The luck of results of determining P-proteins with the help of murine anti-P-serum of Insectifora shrews can demonstrate the difference of defined areas of receptor cites of mice and shrews – that are in charge of agglutinating properties and functions.

References

1. *Bolotnikov I A., Rumjancev S. N.* Biology of Immunity. – Petrozavodsk, 1991.
2. *Ivanter E. V. and others.* Adaptive Features of Terrestrial Mammals. – L., 1985.
3. *Kylberg A. J.* Regulation of Immune Answer. – M., 1986.
4. *Moiseeva T.A.* Immune Mechanisms of Karelian Terrestrial Mammals Steadiness. – Diss. – Petrozavodsk, 2000.
5. *Moiseeva T.A.* Karelian Terrestrial Mammals Immune Indices like a Valuable Element of Hunting Animals Food Supply. – 1010. – T. 7. - №2. – P. 349-352.
6. *Chernohvostova E.V. and the others.* Research of Antigenic Ties of Human and Animal immunoglobulin with the help of anti serums to human immunoglobulin // Mag. Microb. And epidem. – 1975. – № 2. – P. 41-45.

ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО ГОРИЦВЕТА ВЕСЕННЕГО (ADONIS VERNALIS L.)

Огородник Л.Е.

ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
e-mail: kotelkina@ukr.net

Горицвет весенний (*Adonis vernalis* L.) является ценным лекарственным растением и принадлежит к редким и охраняемым видам Украины и других стран. В траве и корневищах этого растения содержатся гликозиды сердечного действия, главными из которых являются цимарин и адонитоксин, поэтому препараты *Adonis* L. широко используются в медицинской практике для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Основными показаниями к их применению являются хроническая недостаточность сердечной деятельности и невроз сердца. Кроме того, препараты горицвета обладают седативным, мочегонным, противоаллергическим, противоастматическим действиями. Неконтролируемые сборы этих дикорастущих растений и другие неблагоприятные факторы привели к резкому сокращению ареала распространения этого ценного вида. С целью сохранения вида представляется актуальным интродукция этого растения.

Растения горицвета весеннего были собраны на территории Украины (Пятихатский район, Широковский район Днепропетровской области) и высажены в открытый грунт на участке лекарственных растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси. В течение первого года вегетации растения нормально развивались без признаков болезней. На второй год на стеблях и листьях появились темные пятна, растения стали усыхать. У пораженных растений обнаружена сухая бурая корневая и стеблевая гниль. Из пораженных образцов корневищ и стеблей были отобраны изоляты бактерий рода *Pseudomonas* и гриба рода *Alternaria*. Фитопатологический анализ пораженных образцов корневищ, стеблей и семян горицвета из открытого грунта, изоляцию бактерий и изучение их биологических свойств проводили по общепринятым методикам (Бельтюкова К.И., 1968). Для сравнительных исследований в работу были подключены из коллекции отдела фитопатогенных бактерий Института микробиологии и вирусологии НАН Украины типовой штамм *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 8982 ATCC (15713), *Pseudomonas fluorescens* 8937 (908) и выделенный ранее нами из герберы *Pseudomonas fluoro-violaceus* 189 (2). Все референтные штаммы вызывают гнилостные процессы на растениях. Морфологические особенности грибных патогенов изучали, используя микроскоп Olympus - BX41, идентификацию их проводили согласно определителям Пидопличко Н.М. (1977) и Гелюты В.П. (1981). Всего нами проанализировано 30 пораженных образцов, выделено 80 изолятов бактерий и два вида грибов. По биохимическим свойствам патогенные изоляты отнесены к *Pseudomonas fluoro-violaceus* и *Bacillus* sp. Черную пятнистость стеблей и листьев горицвета вызывают грибы рода *Alternaria*. С помощью микроскопических исследований в тканях этих растений также выявлены шаровидные клейстотеции гриба *Sphaerotheca*, т.е. имеет место смешанная грибная инфекция.

Т.о., на растениях горицвета весеннего в открытом грунте на территории ботанического сада выявлены поражения бактериального и грибного происхождения.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

AGENTS OF DISEASES OF INTRODUCED ADONIS (ADONIS VERNALIS L.)

Ogorodnyk L.E.

ESC "Institute of biology" Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: kotelkina@ukr.net

Adonis (*Adonis vernalis* L.) is a valuable medicinal plant and belongs to the rare species, which are protected in Ukraine and other countries. Grass and rhizomes contain glycosides of cardiac action, the main of which are cymarin and adonitoxin, so, preparations of Adonis L. are widely used in the practice for treatment of cardiovascular diseases. The main statement for activity and neurosis of heart. Besides that, preparations of adonis have soporific, diuretic, anti-allergic, anti-asthmatic actions. Unreliable harvests of these wild plants and another unfavourable factors led to sharp reduction of area of spreading of this valuable species. With the aim of preservation of this species the process of introduction of this plant is an important and actual task.

Plants of adonis were collected at the territory of Ukraine (Pyatihatski district, Shirokovski district of Dnepropetrovskaya region) and transplanted into the opened soil on the plot of medicinal plants of the Central botanical garden NAS of Belarus. During the first year of vegetation the development of plants was normal without symptoms of diseases. Next year dark spots appeared on the stems and leaves, plants began to dry up. There were revealed dry brown root and stem rot on these plants. From affected patterns of rhizomes and stems we isolated bacteria of genus *Pseudomonas* and fungi of genus *Alternaria*. Phytopathological analysis of affected patterns of rhizomes, stems and seeds of adonis from opened soil, isolation of bacteria and investigation of the biological properties we made according to generally accepted methods (Beltyukova and another, 1968). For comparative investigations we used typical strains *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 8982ATCC, *Pseudomonas fluorescens* 8937(908) and isolated earlier from herbera *P. fluoro-violaceus* 189(2). All referent strains cause rot processes of plants. We studied morphological features of fungal pathogens, used microscope Olympus-BX41 and identification was carried out according to methods of Pidoplichko N.M. (1977) and Gelyuta V.P. (1989).

There were analyzed 30 affected patterns, selected 80 bacterial isolates and 2 species of fungi. According to biochemical properties pathogenic isolates were attached to *Pseudomonas fluoro-violaceus* and *Bacillus* sp. Fungi of genus *Alternaria* cause black spot of stems and leaves of adonis. With the help of microscopic investigations there were revealed spherical kleistotheciums of fungi of genus *Sphaerotheca* in the tissues of this plant, so, there is a mixed fungal infection.

Thus, there were revealed affections of bacterial and fungal origin on the plants of adonis (*Adonis vernalis* L.), which is growing in the opened soil at the territory of the botanical garden.

ВЫЯВЛЕНИЕ ИНТЕГРАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ГЕНОМЫ ЧЕЛОВЕКА И НЕКОТОРЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Парамонов А.И., Джигеев Ю.П.

ФГБУ Научный Центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск, Россия
e-mail: Paramonov_a.i@mail.ru

Геномы позвоночных содержат многочисленные копии вирусных последовательностей, приобретённые в течение эволюции. Недавние исследования показали наличие в геномах растений, насекомых и позвоночных большого количества копий неретровирусных последовательностей [4,7]. Это доказывает, что источники генетического наследования в геномах позвоночных значительно более разнообразны, чем ранее предполагалось [5,6]. Сохранение и экспрессия некоторых из этих эндогенных последовательностей, потенциальные взаимосвязи между их присутствием и сопротивляемостью вида к соответствующим заболеваниям дают основания предполагать, что их наличие предоставляет селективное преимущество популяциям хозяев. Известно, что виды, содержащие в своём геноме фрагменты вирусного генетического материала, могут быть более устойчивы к этому патогену, чем не содержащие их [3].

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), относящийся к роду *Flavivirus*, является возбудителем одного из опаснейших природно-очаговых заболеваний на территории России и Евразии. Целью данной работы был поиск возможных участков интеграции генома ВКЭ в геномы человека и некоторых млекопитающих. Изучение этих участков даст ценную информацию для понимания механизмов устойчивости к вирусу, а также установления путей козволюции вируса и хозяина.

Поиск интеграций генома был произведён при помощи онлайн-интерфейса программы Nucleotide Blast [1,2], алгоритм blastn, оптимизированный для поиска гомологий в разнородных нуклеотидных последовательностях. Поиск интеграций генома был произведён с использованием полногеномных нуклеотидных последовательностей прототипных штаммов трёх генотипов ВКЭ (Найдорф, Васильченко, Софьин), а также последовательностей штаммов 886-84 и 178-79, доступных в базе данных GenBank.

Был произведён скрининг против находящихся в публичном доступе геномных последовательностей человека (human genomic plus transcript, human G+T) и домовой мыши (mouse genomic plus transcript, mouse G+T), а также против базы референсных геномных последовательностей (reference genomic sequences, refseq_genomic) с исключением последовательностей вирусов (Taxid:10239).

Проведённый анализ позволяет с большой долей вероятности утверждать, что геномы исследованных организмов содержат участки, гомологичные участкам генома ВКЭ или другого флавивируса, которые, по всей вероятности, являются результатом интеграции вирусного генетического материала. Проведённый поиск показал наличие 34 достоверно совпадающих участков. Длина этих фрагментов выравнивания не превышает 68 нуклеотидов, однако доля совпадающих остатков велика (не менее 79 %). Доля пробелов в выравниваниях не превышала 5 %. 27 из всех обнаруженных фрагментов находятся в геноме шимпанзе. Большая часть из них имеют идентичную нуклеотидную структуру и рассеяна в седьмом геномном скаффолде. В геноме человека найдены три, а в геноме мыши – четыре фрагмента. Все найденные фрагменты лежат в межгенном пространстве.

Помимо этого, в геномах всех трёх позвоночных найдено большое количество участков малой протяженности, показывающих высокую гомологию, однако имеющих низкую достоверность ($p > 0,05$). В ходе предварительного поиска в геноме шимпанзе с высоким значением достоверности ($p < 0,001$) были обнаружены гомологичные ВКЭ фрагменты протяжённостью до 1500 нуклеотидов. Однако в результате проверки обнаружилось, что эти фрагменты выявляются лишь при анализе геномных последовательностей из базы RefSeq и отсутствуют в полногеномных последовательностях генома шимпанзе, содержащихся в других базах.

Обнаруженные участки геномов ВКЭ у разных организмов не совпадают между собой, что позволяет предположить их независимую и сравнительно недавнюю интеграцию. Абсолютное преобладание количества интегрированных фрагментов в геноме шимпанзе – вида, обитающего на территориях массового распространения флавивирусов, по сравнению с мышью и человеком, может свидетельствовать о том, что подобные интеграции повышают сопротивляемость организма хозяина к соответствующим вирусам.

Литература

1. Altschul S.F. et al. Basic local alignment search tool // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215 (3). – P. 403–410.
2. Basic Local Alignment Search Tool. [Электронный ресурс] : сайт. – <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>
3. Belyi V.A., Levine J.A., Skalka A.M. Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient bornavirus and ebolavirus/marburgvirus sequences in vertebrate genomes // PLoS Pathog. – 2010. – Jul 29, 6(7): e1001030.
4. Horie M. et al. Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes // Nature. – 2010. – Vol. 463. – P. 84–87.
5. Maori E. et al. Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination // J. Gen. Virol. – 2007. – Vol. 88. – 3428–3438.
6. Geuking M.B. et al. Recombination of retrotransposon and exogenous RNA virus results in nonretroviral cDNA integration // Science. – 2009. – Vol. 323. – P. 393–396.
7. Crochu S. et al. Sequences of flavivirus-related RNA viruses persist in DNA form integrated in the genome of Aedes spp. mosquitoes // J. Gen. Virol. – 2004. – Vol. 85. – P. 1971–1980.

IDENTIFICATION OF THE INTEGRATION OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS GENETIC MATERIAL IN THE GENOMES OF HUMAN AND SOME MAMMALS

Paramonov A.I., Dzhioev Yu.P.

FSSFE Scientific centre of family health and human reproduction problems, Irkutsk, Russia
e-mail: Paramonov_a.i@mail.ru

Vertebrate genomes contain multiple copies of viral sequences, acquired in the course of evolution. Recent studies have shown the presence of a number of copies of non-retroviral sequences in the genomes of plants, insects and vertebrates [4; 7]. This proves that the sources of genetic inheritance in the genomes of vertebrates are much more diverse than it was previously assumed [5, 6]. Conservation and expression of some of these endogenous sequences, the potential relationship between their presence and resistance to the relevant diseases suggest that their presence provides selective advantage to host populations. It is known that the species comprising in its genome fragments of the viral genetic material may be more resistant to this pathogen than that do not contain them [3].

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) of the genus *Flavivirus* is the causative agent of one of the deadliest natural focal diseases in Russia and Eurasia. The aim of this study was to find possible sites of integration of the genome of TBEV in the genomes of humans and some mammals. The study of these sites will provide valuable information for understanding the mechanisms of resistance to the virus, as well as determination of ways of virus and host co-evolution.

Search for genome integrations was performed using the online interface of Nucleotide Blast program [1, 2], the algorithm *blastn*, optimized for homology search in heterogeneous nucleotide sequences. Search for genome integrations was performed using complete genome nucleotide sequences of prototype strains of the three genotypes of TBEV (Naidorf, Vasilchenko, Sofjin), as well as sequences of strains 886-84 and 178-79, available in the database GenBank.

Screening was carried out against publicly available sequences of human genome (human genomic plus transcript, human G + T) and the house mouse (mouse genomic plus transcript, mouse G + T), as well as against the database of reference genomic sequences (reference genomic sequences, *refseq_genomic*) with the exception of the viral sequences (Taxid: 10,239).

Conducted analysis let us assume with high probability what genomes of studied organisms contain sites, homologous to parts of TBEV genome, which are the most likely are result of integration of viral genetic material. Our search revealed presence of 34 significant congruent sites. The length of these alignment fragments is no more than 68 nucleotides, but the proportion of matching residues is high (not less than 79%). Proportion of gaps in alignments did not exceed 5%. 27 out of all detected fragments are located in the genome of chimpanzee. Most of them have identical nucleotide structure and dispersed in the seventh genomic scaffold. In the human genome were found three, and in the mouse genome - four fragments. All found fragments lie in the intergenic space.

In addition, in genomes of all three vertebrates were found a large number of short sites, showing high homology, but with low significance ($p > 0.05$). In a preliminary search in the genome of a chimpanzee with a high significance ($p < 0.001$) were found TBEV homologous fragments up to 1500 nucleotides long. However, the inspection revealed that these fragments are detected only in the analysis of genomic sequences from the RefSeq database and are absent in the chimpanzee complete genome sequences contained in other databases.

Discovered TBEV genome fragments in different organisms do not match each other, suggesting their independent and relatively recent integration. Absolute predominance of the integrated fragments in the genome of the chimpanzee - specie that inhabits the territories of the mass distribution of flaviviruses, compared with the mouse and human, may indicate that such integrations increase the resistance of the host to the corresponding viruses.

References

1. *Altschul S.F. et al.* Basic local alignment search tool// J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215 (3). – P. 403–410.
2. Basic Local Alignment Search Tool. [Электронный ресурс] : сайт. – <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>
3. *Belyi V.A., Levine J.A., Skalka A.M.* Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient bornavirus and ebolavirus/marburgvirus sequences in vertebrate genomes // PLoS Pathog. – 2010. – Jul 29, 6(7): e1001030.
4. *Horie M. et al* Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes // Nature. – 2010. – Vol. 463. – P. 84–87.
5. *Maori E. et al.* Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination // J. Gen. Virol. – 2007. – Vol. 88. – 3428–3438.
6. *Geuking M.B. et al.* Recombination of retrotransposon and exogenous RNA virus results in nonretroviral cDNA integration // Science. – 2009. – Vol. 323. – P. 393–396.
7. *Crochu S. et al.* Sequences of flavivirus-related RNA viruses persist in DNA form integrated in the genome of *Aedes* spp. mosquitoes // J. Gen. Virol. – 2004. – Vol. 85. – P. 1971–1980.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

¹Петровская Л.Е., ²Лукашев Е.П., ³Новотоцкая-Власова К.А.,
³Спирина Е.В., ³Ривкина Е.М., ^{1,2}Долгих Д.А.

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

³Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия

e-mail: lpetr65@yahoo.com

Вечная мерзлота, занимающая около 26% поверхности Земли и 50% территории России, представляет собой грунты и осадочные породы, находящиеся по меньшей мере 2 года при температуре 0°C и ниже. Для этой среды характерно одновременное воздействие постоянных отрицательных температур, фоновой ионизирующей радиации, низкой доступности воды и питательных веществ на протяжении геологически значимого отрезка времени. Доказана способность различных про- и эукариотических микроорганизмов сохранять жизнеспособность в вечной мерзлоте (1), а также восстанавливать ее после размораживания как в лабораторных условиях, так и в результате глобального потепления.

В частности, бактерии *Exiguobacterium sibiricum*, *Psychrobacter arcticum* и *Psychrobacter cryohalolentis*, выделенные из вечномерзлых грунтов, обладают способностью к росту в широком диапазоне температур (от -5 до +40°C) после криоконсервации на протяжении геологического времени (2). Исследование геномов, а также транскриптомный и протеомный анализ этих микроорганизмов открывают уникальную возможность изучения механизмов молекулярной адаптации экосистем вечной мерзлоты.

Одним из способов эволюционной адаптации психрофильных микроорганизмов является синтез холодоактивных белков (3). Задачей нашей работы является поиск их кодирующих последовательностей в геномах бактерий, клонирование, а также изучение свойств полученных белков и сравнение их с гомологами мезофильных и термофильных микроорганизмов.

Анализ генома *P. cryohalolentis* позволил обнаружить наличие у этой бактерии липолитической системы, представленной внутриклеточными ферментами, секретируемой липазой и эстеразой, прикрепляемой к мембране с помощью липопротеинового сигнала (4). Некоторые из соответствующих генов были экспрессированы в клетках *E. coli*. Исследование свойств полученных белков показало, что температурный оптимум их активности находится в диапазоне 25-35°C, что характерно для холодоактивных ферментов. При этом эстераза *P. cryohalolentis* демонстрирует относительную термостабильность, сохраняя около 50% активности после инкубации в течение 45 минут при 90°C.

В геноме *E. sibiricum* обнаружен потенциальный ген бактериородопсина (ESR). Полученный нами рекомбинантный белок связывает ретиналь и демонстрирует типичный для бактериородопсина спектр поглощения с максимумом 534 нм. Установлено, что ESR обладает рядом специфических особенностей, в частности, достаточно высокой термостабильностью, что может представлять интерес для технологических разработок в области наноэлектроники (5).

Результаты проведенных исследований демонстрируют наличие специфических молекулярных механизмов адаптации представителей микробных сообществ вечной мерзлоты. Одним из таких механизмов, по-видимому, является синтез белков, обладающих активностью и стабильностью в широком температурном диапазоне, что обеспечивает выживаемость микроорганизмов как в замороженных грунтах, так и после их оттаивания в результате повышения температуры среды.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 10-05-00079, программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» и Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 г.

Литература

1. Vishnivetskaya T.A., et al. (2006). Bacterial community in ancient Siberian permafrost as characterized by culture and culture-independent methods. *Astrobiology*. 6(3):400-14.
2. Rodrigues D.F., et al. (2009). Biogeography of two cold-adapted genera: *Psychrobacter* and *Exiguobacterium*. *ISME J.* 3(6):658-65.
3. Hyoux A., et al. (2004). Extreme catalysts from low-temperature environments. *J Biosci Bioeng.* 98(5):317-30.
4. Novototskaya-Vlasova K.A., et al. (2012). Cloning, Purification, and Characterization of a Cold-Adapted Esterase Produced by *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T from Siberian Cryopeg. *Submitted to FEMS Microbiol Ecol.*
5. Petrovskaya L.E., et al. (2010). Predicted bacteriorhodopsin from *Exiguobacterium sibiricum* is a functional proton pump. *FEBS Lett.* 584(19):4193-6.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MOLECULAR ADAPTATION MECHANISMS OF PERMAFROST MICROORGANISMS

¹Petrovskaya L.E., ²Lukashev E.P., ³Novototskaya-Vlasova K.A.,
³Spirina E.V., ³Rivkina E.M., ^{1,2}Dolgikh D.A.

¹Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²M.V. Lomonosov Moscow State University, Biological Department, Moscow, Russia

³Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
e-mail: lpetr65@yahoo.com

Permafrost makes up about 26% of the land surface of the Earth, including 50% of Russia. Permafrost poses unique challenges to its resident biota including prolonged exposure to subzero temperature, gamma radiation from soil minerals, limited accessibility of water and organic matter. Nevertheless numerous pro- and eukaryotic microorganisms preserve viability in permafrost conditions (1), and restore growth after thawing in laboratory conditions and also as a result of global warming.

In particular, bacteria *Exiguobacterium sibiricum*, *Psychrobacter arcticum* and *Psychrobacter cryohalolentis*, isolated from permafrost sediments, are able to grow in the wide range of temperatures (from -5 to +40 °C) after cryoconservation for geological time period (2). Their genomic, transcriptomic and proteomic analysis open unique possibility to investigate the molecular mechanisms of permafrost ecosystems adaptations.

Synthesis of cold-active proteins by psychrophilic microorganisms represents one of their evolutionary adaptation approaches (3). We aimed at the search of such coding sequences in available "permafrost" genomes, their cloning and study of the properties of expressed proteins including comparison with mesophilic and thermophilic homologues.

Analysis of *P. cryohalolentis* genome revealed the presence of lipolytic system composed of intracellular enzymes, secreted lipase and lipoprotein esterase (4). Several corresponding genes were expressed in *E. coli* cells. The temperature optimum of the catalytic activity was 25-35 °C, which is typical for cold-active enzymes. Surprisingly an esterase from *P. cryohalolentis* demonstrated relative thermostability, preserving about 50% of its activity after incubation for 45 minutes at 90 °C.

A potential bacteriorhodopsin gene (ESR) has been revealed in *E. sibiricum* genome. Recombinant ESR binds retinal and demonstrates typical absorption spectrum with a maximum at 534 nm. We have shown that ESR possesses several unique characteristics including high thermostability which is important for nanoelectronic applications (5).

Results of our studies demonstrate the presence of specific molecular adaptation mechanisms in permafrost bacteria. To our opinion, synthesis of proteins with activity and stability in wide temperature range is one of the clues to the viability of permafrost microorganisms both in frozen state and after permafrost melting as a result of global warming.

Acknowledgements: This work was supported by RFBR grant №10-05-00079, Russian Academy of Sciences program "Molecular and cellular biology" and the Federal Targeted Program on Scientific and Scientific-Pedagogical Staff of Innovative Russia for 2009 - 2013.

References

1. Vishnivetskaya T.A., et al. (2006). Bacterial community in ancient Siberian permafrost as characterized by culture and culture-independent methods. *Astrobiology*. 6(3):400-14.
2. Rodrigues D.F., et al. (2009). Biogeography of two cold-adapted genera: *Psychrobacter* and *Exiguobacterium*. *ISME J.* 3(6):658-65.
3. Hoyoux A., et al. (2004). Extreme catalysts from low-temperature environments. *J Biosci Bioeng.* 98(5):317-30.
4. Novototskaya-Vlasova K.A., et al. (2012). Cloning, Purification, and Characterization of a Cold-Adapted Esterase Produced by *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T from Siberian Cryopeg. *Submitted to FEMS Microbiol Ecol.*
5. Petrovskaya L.E., et al. (2010). Predicted bacteriorhodopsin from *Exiguobacterium sibiricum* is a functional proton pump.
6. *FEBS Lett.* 584(19):4193-6.

АДАПТИВНАЯ РОЛЬ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОКАЛИЗАЦИЙ ПРИ РЕПРОДУКТИВНОМ ПОВЕДЕНИИ ДОМОВЫХ МЫШЕЙ (*MUS MUSCULUS*)

Плеханова А.С., Егорова М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: ema6913@yandex.ru

Известно, что домовые мыши ведут общественный образ жизни, который они умело организуют в непосредственной близости от жилища человека, сочетая характерное для сумеречных грызунов строительство нор и близость людей. Необходимой предпосылкой и следствием социального образа жизни мышей является богатство их акустической коммуникации. Домовые мыши живут семьями по 15 – 20 особей и для общения друг с другом используют разнообразные акустические сигналы, среди которых на сегодняшний день известны порядка одиннадцати вокализаций (1-3). Исследования вокального репертуара домовых мышей показали, что их акустические сигналы занимают два практически не перекрывающихся частотных диапазона – звуковой и ультразвуковой, причем форманты звуковых и ультразвуковых криков различаются более, чем на порядок. Иными словами, в процессе акустической коммуникации мыши используют два существенно различающихся частотных канала. Каково же приспособительное значение такого феномена?

На сегодняшний день среди ультразвуковых вокализаций домовой мыши наиболее известны крик «покинутого» мышонка и ультразвуковой крик самца. Ультразвуковой крик «покинутого» издают слепые, беспомощные мышата, потерявшие гнездо (1,2,4). Крик стимулирует материнское поведение взрослых мышей – поиск потерявшегося и возвращение его в гнездо (2). Взрослые самцы излучают ультразвуковые сигналы при попытках спариться с самкой в ответ на ее оборонительный крик (4). Что же лежит в основе выделения в ультразвуковой диапазон частот вокализаций, сопровождающих именно эти элементы поведения?

Для ответа на поставленный вопрос нами выполнено исследование акустической структуры крика «покинутого» мышонка и ультразвукового крика самца у домовых мышей – гибридов линий СВА и C57BL/6 - и тех элементов поведения, которые этими криками сопровождаются.

Полученные результаты показали, что крик «покинутого» представляет собой громкий (80 - 90 дБ УЗД) сигнал, образованный единственной гармоникой, локализованной в области 50 – 60 кГц. Очевидно, что смещение основной частоты крика бедствия мышонка в высокочастотную ультразвуковую область является одним из способов адаптации детенышей мыши к проживанию в норах, так как в результате многократного отражения от стен ультразвуковые крики могут распространяться дальше звуковых. Это обеспечивает дистантное общение грызунов, и повышает шанс того, что мышенок будет услышан самкой и возвращен в гнездо (1,2). Кроме этого, основная форманта ультразвуковых вокализаций мышат локализована вне слухового диапазона частот хищников, питающихся мышами (5).

Малый по интенсивности ультразвуковой крик самца также был образован преимущественно единственной гармоникой. Причем, в зависимости от поведенческой ситуации, ее основная частота находилась в области 70 кГц или 40 кГц. Анализ поведения партнеров позволил установить, что ультразвук с основной частотой в области 70 кГц самец издавал непосредственно в момент садок, т.е. при максимальном эмоциональном напряжении, в то время как ультразвуковые вокализации с частотой порядка 40 кГц генерировал при ухаживании за самкой между попытками спариться. Сравнение акустических характеристик ультразвукового крика самца и крика «покинутого» мышонка продемонстрировало высокую степень сходства между этими сигналами.

Таким образом, выявленное сходство позволяет предположить, что ультразвуковой крик самца представляет собой имитацию крика беспомощного мышонка и направлен на снижение стресса и дискомфорта самки, что уравнивает эмоциональное напряжение половых партнеров, создавая оптимальные условия для их контакта. Обсуждается адаптивное значение различий в основной частоте ультразвуковых криков самца (70 кГц и 40 кГц) применительно к фазе полового контакта.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-00969).

Литература

1. Ehret, G. (1980). Development of sound communication in mammals. *Advances in the Study of Behavior*. Vol.II: 192 – 193.
2. Haack, B., Markl, H., Ehret, G. (1983). Sound communication between parents and offspring. *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. Springfield: 57 – 97.
3. Whytney G., Nyby J. (1983). Sound communication among adults. *The auditory psychobiology of the mouse*. Springfield: Charles C. Thomas: 98-129.
4. Portfors C. V. (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in lab oratory rats and mice. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* Vol. 46 (1): 28–34.
5. Константинов А.И., Мовчан В.Н.(1985). Звуки в жизни зверей. Ленинград: ЛГУ: 304 С.

ULTRASOUND VOCALIZATIONS IN HOUSE MOUSE (*MUS MUSCULUS*) REPRODUCTIVE BEHAVIOR

Pleckanova A.S., Egorova M.A.

I.M.Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and biochemistry RAS, Russia, Saint-Petersburg
e-mail: ema6913@yandex.ru

It is known, that house mice are remarkable for their social way of life which they skillfully equipped in a direct closeness to human homes combining the building of burrows typical for twilight rodents and neighborhood of people. The necessary premise and a consequence of social way of life is a high diversity of acoustic communication in house mice. House mice combine into families on 15 – 20 individuals and use various acoustic signals for the communication. Their vocal repertoire includes at least eleven vocalizations (1-3). The study of vocal repertoire of house mice revealed that their acoustic signals occupy two almost nonoverlapping frequency ranges - the sound and ultrasound that is main formants of the sound and ultrasound calls differ by more than an order. In other words, mice in their acoustic communication use two different frequency channels. What is the adaptive meaning of this appearance?

At the present time the ultrasound call of mouse pups and ultrasound call of the adult male are the most well-known among mice ultrasound vocalizations. The ultrasound call of mouse pups is emitted by the blind, helpless mouse pups lost a nest (1,2,4). This signal releases the maternal behavior of adult mice – searching for the lost pup and coming him back to the nest (2). Adult males emit ultrasound calls when trying to couple with the female in response to female defensive calls (3). Why namely these vocalizations are shifted into the ultrasound frequency range?

To answer this question we have studied the acoustic structure of ultrasound call of mouse pups and ultrasound call of adult male and video recordings of behavior accompanied by these vocalizations in house mice - hybrids of lines CBA and C57BL/6.

The results showed that the ultrasound call of mouse pups is a loud (80 - 90 dB SPL) signal formed by single harmonics localized in the frequency range about 50 - 60 kHz. Obviously, that localization of distress call of mouse pups in the high-frequency ultrasound range is one of the mice adaptations to life in burrows, since ultrasound signals because of their multiple reflections from the walls could cover longer distances than sound ones. Thus ultrasound nature of pups distress call increases the chance that mouse pup would be heard by female and returned back to the nest (1,2). In addition, the main formant of ultrasound vocalizations in pups is localized outside the hearing frequency range of predators, fed mice (5).

Low-intensity ultrasound call of the adult male was basically consists of single harmonics. Depending on semantic loading of signal, its fundamental frequency could be at 70 kHz or 40 kHz. Analysis of video recordings revealed that the male emitted ultrasound calls with the main frequency about 70 kHz directly at the moment of pairing, i.e. at the emotional exaltation, while ultrasound vocalizations with frequency about 40 kHz male emitted during courting the female between attempts to couple. Comparison of acoustic characteristics of ultrasound calls of male and ultrasound calls of mouse pups showed a strong similarity between both signals.

So, such similarity between mouse pups and adult male ultrasound vocalizations suggests that the ultrasound call of male imitates vocalizations of helpless mouse pups. It aimed to decrease stress and discomfort of the female to balance the emotional pressure of sexual partners and thus create an optimal conditions for contact between them. The adaptive significance of differences in fundamental frequency of the ultrasound calls of male (70 kHz and 40 kHz) is discussed with respect to the stage of sexual contact.

Supported by the Russian Foundation for Basic Research (project N. 12-04-00969)

References

1. *Ehret, G.* (1980). Development of sound communication in mammals. *Advances in the Study of Behavior*. Vol.II: 192 – 193.
2. *Haack, B., Markl, H. Ehret, G.* (1983). Sound communication between parents and offspring. *The Auditory Psychobiology of the Mouse*. Springfield: 57 – 97.
3. *Whytney G., Nyby J.* (1983). Sound communication among adults. *The auditory psychobiology of the mouse*. Springfield: Charles C. Thomas: 98-129.
4. *Portfors C. V.* (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in lab oratory rats and mice. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* Vol. 46 (1): 28–34.
5. *Константинов А.И., Мовчан В.Н.* (1985). Звуки в жизни зверей. Ленинград: ЛГУ: 304 С.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛОКАЛЬНЫХ АДАПТАЦИЙ

Салменкова Е.А.

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия
e-mail: salm@vigg.ru

Локальная адаптация – это процесс, при котором естественный отбор увеличивает частоту неких признаков (генотипов) в популяции, которые повышают выживаемость или репродуктивный успех особей, обладающих этими признаками (генотипами) (1). Изучение локальных адаптаций важно: 1) для познания процессов эволюции, 2) в связи с тем, что адаптация играет большую роль в генетической дивергенции популяций и создании внутривидового генетического разнообразия, а значит, в стабильности и устойчивости вида, 3) для создания программ восстановления популяций или организации аквакультуры. В идеале выявление адаптаций включает демонстрацию действия естественного отбора на развитие некоего признака в популяции и раскрытие природы соответствующего селективного механизма, который предпочитает этот признак (2). Однако на практике такое исследование встречает много трудностей.

Для изучения локальных адаптаций в популяциях используются различные подходы. В отношении количественных признаков (морфологических, экологических, физиологических, поведенческих и т.п.) применяются подходы количественной генетики, позволяющие оценить генетическую компоненту их изменчивости (наследуемость признака), на которую фактически и действует естественный отбор.

Один из подходов – изучение интродуцированных видов или популяций, т.к. успешные интродукции за пределы видовых ареалов, приводящие к формированию самовоспроизводящихся популяций, могут сопровождаться адаптивными изменениями в них, сравнительно с исходными популяциями. Так, мы исследовали морфозологические и популяционно-генетические изменения, произошедшие у тихоокеанской горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum), интродуцированной в бассейн Белого моря, где за несколько поколений сформировались ее самовоспроизводящиеся популяции с высокой численностью. Показано, что закрепление горбуши в новом ареале привело, под влиянием случайного генетического дрейфа и селективных процессов, к специализации, проявляющейся в значительных сдвигах по различным морфозологическим признакам, в т.ч. признакам с высокой наследуемостью, и к увеличению гомозиготности по различным молекулярным маркерам, в т.ч. по селективно значимым локусам МНС (3). Популяционно-генетические и морфозологические изменения, наблюдавшиеся у дальневосточного пиленгаса (*Liza haematocheilus* Temminck & Schlegel), вселенного в Азовское и Черное моря, также указывает на формирование новых локальных адаптаций в новом ареале (4).

В последние годы в связи с успехами молекулярно-генетических технологий наблюдается всплеск интереса к изучению отбора, как основы адаптации, на молекулярно-генетическом уровне. Разработаны методы популяционной геномики, позволяющие выявлять эффекты отбора непосредственно в генах или в их молекулярных маркерах (5). На наших глазах возникает адаптационная геномика (6).

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00866, грантами программ РАН «Живые системы. Динамика и сохранение генофондов» и «Фундаментальные основы управления биоресурсами».

Литература

1. Futuyma D.J. (1986) *Evolutionary Biology*. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA. 600 p.
2. Taylor E.B. (1991) A review of local adaptation in Salmonidae. *Aquaculture*, 98: 185-207.
3. Gordeeva N.V., Salmenkova E.A. (2011) Experimental microevolution: transplantation of pink salmon into the European North. *Evol. Ecol.* 25: 657-679.
4. Омельченко В.Т., Салменкова Е.А., Махоткин М.А. (2004) Дальневосточный пиленгас: генетическая структура популяций и ее изменения при акклиматизации. *Генетика*, 42(3): 1113-1122.
5. Nielsen E.E., Hemmer-Hansen J., Larsen P.F., Bekkevold D. (2009) Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. *Mol. Ecol.* 18: 3128-3150.
6. Davidson W.S. (2012) Adaptation genomics... *Mol. Ecol.* 21: 219-222.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

GENETIC MECHANISMS OF LOCAL ADAPTATIONS

Salmenkova E.A.

N.I. Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: salm@vigg.ru

Local adaptation is a process by which natural selection increases the frequency of traits (genotypes) within a population, that enhance the survival or reproductive success of individuals possessing such traits (genotypes) (1). Study of local adaptations is important: 1) for understanding of the processes of evolution, (2) in connection with a significant impact of adaptation in the genetic divergence of populations and the creation of intraspecific genetic diversity, and, consequently, in stability and sustainability of a species, 3) to develop programs of restoring populations or organization of aquaculture or artificial breeding. Ideally, the identification of adaptation includes a demonstration of the action of natural selection on forming a trait within population and detailing the nature of corresponding selective mechanism, which has favoured this trait (2). However, in practice, such research meets many difficulties.

For the study of local adaptations in populations there are different approaches. In respect of quantitative traits (morphological, ecological, physiological, behavioural, etc.) the approaches of quantitative genetics are applied, allowing to evaluate the genetic component of variability of a trait (its heritability), on which actually natural selection acts. One of the approaches is a study of introduced species or populations, since the successful introduction beyond their natural ranges, resulting in the formation of self-reproducing populations, may be accompanied by some adaptive changes in them, compared with source populations. Thus, we investigated morpho-ecological and population genetic changes in Pacific pink salmon (*Oncorhynchus gorbusha* Walbaum), introduced into the White sea basin, where their self-reproducing populations of high abundance were formed for several generations. It was shown that establishing pink salmon in the novel area resulted in specialization under the influence of random genetic drift and selective processes. This manifested itself as significant changes in various morpho-ecological features, including those with high heritability, and as increased homozygosity for various molecular markers, including selectively neutral ones and selectively important major histocompatibility complex loci (3). Population genetic and morpho-ecological changes observed in the far east pilengas (*Liza haematocheilus* Temmink & Schlegel), introduced into the Azov and Black seas, also pointed to the formation of new local adaptations in the novel area (4). In recent years, in line with successes of molecular-genetic technologies, a surge of interest in study of selection as the basis of adaptation, are observed at the molecular genetic level. Various methods of population genomics have been developed to identify signatures of selection directly in genes or in their molecular markers such as SNP, EST etc. (5). In front of our eyes, adaptation genomics are arising (6).

Acknowledgements: Supported by RFFI grant № 10-04-00866 and grant of Programs of Presidium RAN "Living nature. Part: Dynamics and conservation of gene pools" and "Fundamental bases of biological resources management".

References

1. Futuyma D.J. (1986). *Evolutionary Biology*. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA. 600 p.
2. Taylor E.B. (1991). A review of local adaptation in Salmonidae. *Aquaculture*, 98: 185-207.
3. Gordeeva N.V., Salmenkova E.A. (2011). Experimental microevolution: transplantation of pink salmon into the European North. *Evol. Ecol.* 25: 657-679.
4. Омельченко В.Т., Салменкова Е.А., Махоткин М.А. (2004). Дальневосточный пиленгас...генетическая структура популяций и ее изменения при акклиматизации. *Генетика*, 42(3): 1113-1122.
5. Nielsen E.E., Hemmer-Hansen J., Larsen P.F., Bekkevold D. (2009). Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. *Mol. Ecol.* 18: 3128-3150.
6. Davidson W.S. (2012). Adaptation genomics: next generation sequencing reveals a shared haplotype for rapid early development in geographically and genetically distant populations of rainbow trout. *Mol. Ecol.* 21: 219-222.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АБЕРРАЦИЙ У ПЛОТВЫ (*Rutilus rutilus* L.), ЛЕЩА (*Abramis brama* L.) И ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ F1 В ЛИЧИНОЧНЫЙ ПЕРИОД

Слынько Е.Е., Слынько Ю.В.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина Российской Академии Наук, Борок, Россия
e-mail: elena@ibiw.yaroslavl.ru

Изучали морфологические нарушения на ранних стадиях развития под влиянием отдаленной гибридизации на примере рыб. В контролируемых по основным абиотическим параметрам экспериментальных условиях получен материал по чистому лещу (ЛхЛ), плотве (ПхП) и их реципрокным гибридам первого поколения плотва х лещ (ПхЛ), лещ х плотва (ЛхП) в эмбриональный и личиночный периоды.

В раннем развитии, как в группах чистых видов, так и гибридов F1, выявлены зародыши и личинки, которые характеризовались наличием морфологических aberrаций. Обнаруженные нами отклонения в организмах затрагивали в первую очередь туловищный и хвостовой отделы позвоночника (сращения, искривления), желточный мешок (дистрофия, гипертрофия, искажение формы), сердечно-сосудистую систему (гипертрофия, редукция околосердечной сумки; смещение, недоразвитие сердца). После выхода из яйцевых оболочек, эти патологии сказывались на размерах, двигательной активности и жизнеспособности самой личинки.

Проведя сравнительный анализ имеющихся данных, установлено, что по числу aberrаций гибридная группа ПхЛ превышала все остальные опытные варианты и в сумме составила 8 типов нарушений. В группе чистой плотвы ПхП и в гибридной группе ЛхП отмечено по 7 типов aberrаций. Самыми немногочисленными по типам отклонений в развитии оказалась варианты скрещиваний «чистого» леща - выявлено 6 типов aberrаций. Это согласуется с ранее полученными данными по сеголеткам (Слынько и др., 1991).

С одной стороны, типы aberrаций в гибридных группах мало отличаются от типов aberrаций в группах чистых видов. Это является дополнительным доказательством в пользу жизнеспособности гибридов, поскольку в природных популяциях анализируемых видов неоднократно выявлялись случаи обнаружения половозрелых экземпляров гибридов (Schwartz, 1981).

С другой стороны, более высокая частота встречаемости аномалий в раннем развитии гибридов объясняется дискоординацией работы континированных геномов скрещивающихся видов. Необходимо отметить, что родительские виды плотвы и леща по морфологическим и генетическим характеристикам значительно дистанцированы друг от друга, - у плотвы размер генома составляет 2.0 пг/2С, а у леща 2.6 пг/2С (Гинатулин, 1984). Предполагается, что эволюционное становление видов плотва и лещ происходило в поле перманентной естественной гибридизации с большим количеством разных видов, что могло отразиться на ряде свойств структурного характера, защищающего целостность генома плотвы от повреждающих воздействий (Слынько, 2000).

Полученные данные по частоте встречаемости нарушений в раннем развитии гибридов F1 в значительной степени объясняются с позиций Б.Ф. Чадова о существовании генетической программы системной реакции в ответ на структурные преобразования генома (Чадов, 1981).

Поскольку морфологические нарушения на ранних этапах развития у позвоночных могут быть наследственно обусловлены, в связи с этим обсуждаются вопросы связанные со взаимодействием ядерных геномов, в частности хох-генов и ядерно-цитоплазматические взаимодействия. На примере реципрокных вариантов гибридов анализируются взаимодействия материнского и отцовского геномов.

Литература

1. *Schwartz F.J.* World literature to fish hybrids, with an analysis by family, species and hybrid. // Supplement 1. NOAA Tech.Rep. NMFS SSRF-750, U.S. Department of Commerce. 1981. P. 507.
2. Слынько Ю.В., Герасимов Ю.В., Гречанов И.Г. Морфологическое описание и частота встречаемости aberrантных особей среди различных по генотипам локуса пероксидазы сердечной мышцы групп сеголеток леща, *Abramis brama*. // *Вопр. икhtiологии*. 1991. Т. 31. № 6. С. 1010-1014.
3. Гинатулин А.А. Структура, организация и эволюция генома позвоночных. М.: Наука, 1984, 294 с.
4. Слынько Ю.В. Система размножения межродовых гибридов (*Rutilus rutilus* L.), леща (*Abramis brama* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.) (Leuciscinae: Cyprinidae). // *Дисс.на соискание уч.ст. к.б.н.* Санкт-Петербург. 2000. 138 с.
5. Чадов Б.Ф. Поведение хромосом в митозе и мейозе и хромоцентральная организация ядра у *Drosophila melanogaster*. // *Молекулярные основы генетических процессов*. М.: Наука. 1981. С. 463-474.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF ABERRATIONS AT ROACH (*Rutilus rutilus* L.), BREAM (*Abramis brama* L.) AND THEIR HYBRIDS OF THE FIRST GENERATION (F1) AT EARLY STAGES OF DEVELOPMENT

Slynko E.E., Slynko Yu.V.

Federal State budgetary establishment of a science Institute for biology of inland waters of I.D.Papanin of the Russian Academy of Sciences, Borok, Russia
e-mail: elena@ibiw.yaroslavl.ru

Studied morphological infringements at early stages of development under the influence of the remote hybridization on an example of fishes. In supervised on the cores of abiotic parameters experimental conditions the material on clear bream (BxB), roach (RxR) and them reciprocally hybrids of the first generation roach x bream (RxB), bream x roach (BxR) in embrionicals and larvals periods of development.

In early development as in groups of clear species, and hybrids F1, embrionic and larvae which were characterised by presence of morphological aberrations are revealed. The deviations found out by us in organisms mentioned first of all body and tail departments of a backbone (curvatures), yolk sac (a dystrophy, a hypertrophy, form distortion), cardiovascular system (a hypertrophy, a reduction about cordial bags; displacement, dystrophy of hearts). After an exit from eggs covers, these pathologies affected the sizes, impellent activity and viability of the larva.

Having carried out the comparative analysis of available data, it is established, that on number of aberrations for hybrid group RxB exceeded all other skilled variants and in the sum has made 8 types of infringements. In group of clear roach RxR and in hybrid group BxR it is noted on 7 types of aberrations. Not most numerous on types of deviations in development had appeared variants of crossings clear bream - 6 types of aberrations are revealed. It will be co-ordinated with earlier received data on yearlines (Slynko et al., 1991).

On the one hand, aberrations types in hybrid groups differ from this types in groups of clear species a little. It is the additional proof in favour of viability of hybrids as in natural populations of analyzed species detection cases adult hybrids (Schwartz, 1981) repeatedly came to light.

On the other hand, higher frequency of occurrence of anomalies in early development of hybrids speaks by discoordinate worksof contaminated genomic of crossed species. It is necessary to notice, that parental species roach and bream under morphological and genetic characteristics it is considerable distant from each other, - at roach the genomic size makes 2.0 pg/2C, and at bream 2.6 pg/2C (Gynatulin, 1984). It is supposed, that evolutionary formation of species roach and bream occurred in the field of permanent natural hybridization to a considerable quantity of different species that could be reflected in a number of properties of the structural character protecting integrity genomes of roach from damaging influences (Slynko, 2000).

The obtained data on frequency of occurrence of infringements in early development of hybrids F1 substantially have a talk B.F.Chadova's positions about existence of the genetic program of system reaction in reply to structural transformations генома (Chadov, 1981).

As morphological infringements at early stages of development at vertebrate animals can be caused, in this connection questions connected with interaction nuclear genomes, in particular hox-genes and nucleo-cytoplasmatic interactions are discussed. On an example of reciprocal variants of hybrids interactions matherly and fatherly реомов are analyzed.

References

1. *Schwartz F.J.* World literature to fish hybrids, with an analysis by family, species and hybrid. // Supplement 1. NOAA Tech. Rep. NMFS SSRF-750, U.S. Department of Commerce. 1981. 507 p.
2. *Slynko J.V., Gerasimov J.V., Grechanov I.G.* The morphological description and frequency of occurrence of aberrantes individuals among various on locus peroxidase genotypes a cardiac muscle of groups bream yearlines, *Abramis brama*.// Vopr. Ichthyology. 1991. T. 31. № 6. P. 1010-1014.
3. *Gynatulin A.A.* Structure, the organisation and evolution генома позвоночных. M: the Science. 1984. 294 p.
4. *Slynko Yu.V.* System of reproduction of interpatrimonial hybrids roach (*Rutilus rutilus* L.), bream (*Abramis brama* L.) and blue bream (*Abramis ballerus* L.) (Leuciscinae: Cyprinidae).// Diss.by competition Ph.D., St.-Petersburg, 2000, 138 p.
5. *Chadov B.F.* Behaviour of chromosomes in a mitosis both meiosis and chromocentric organisation at *Drosophila melanogaster*. // Molecular bases of genetic processes. M: Science publ. 1981. P. 463-474.

ЭКСТРЕМОБИОНТНЫЕ ВИДЫ. СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНЫХ ГЕОКЛИМАТИЧЕСКИХ КАТАСТРОФ

Слынько Ю.В.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина
Российской Академии Наук, Борок, Россия
e-mail: syv@ibw.yaroslavl.ru

На примере видов рыб рода *Oreoleuciscus*, обитающих в экстремальных условиях Центральной Азии было проведено исследование их эколог-генетических особенностей. Известно, что предковые формы рода на рубеже плейстоцена и плиоцена подверглись катастрофическому воздействию – активная фаза орогенеза, сопровождавшаяся извержением Хангайского супервулкана и глобальным похолоданием (5). В результате этих событий *Oreoleuciscus* оказались практически единственными из представителей богатой миоценовой фауны, переживших эту катастрофу. В настоящее время диапазон условий обитания видов данного рода выходит далеко за пределы оптимальных для подавляющего большинства рыб семейства Cyprinidae по всей совокупности основных абиотических факторов. Генетико-биохимическое и молекулярно-генетическое изучение *Oreoleuciscus* позволило выявить несколько принципиальных особенностей группы. Были обнаружены специализированные преобразования изоферментов и локусов их кодирующих по лактатдегидрогеназе и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе, вероятно повышающих степень их устойчивости к экстремальным воздействиям. На основании анализа изменчивости локуса *cyt b* мтДНК было показано, что для группы характерны исключительно высокие темпы накопления нуклеотидных замен, обеспечивших невероятно высокие скорости дивергенции группы и видообразования, в сравнении с другими таксонами семейства. Аналогичные молекулярно-генетические результаты приводятся по другой группе видов рыб р. *Tribolodon* (эндемиков Японского моря) (6). Предполагается, что именно необычайно высокая скорость нуклеотидных преобразований обеспечивает формирование способности осуществлять жизнедеятельность в экстремальных условиях и предоставляет этим видам возможность успешного преодоления и выживания в условиях глобальных геоклиматических катастроф.

Вводится и обосновывается понятие экстремобионтных видов, как организмов, способных жить, размножаться и эволюционировать в экстремальных условиях обитания. Даются представления о таксономическом составе этой категории и основных биологических характеристик. Определяются отличия экстремобионтов от стено-, эври-бионтов и экстремофилов. Экстремобионтные виды включают в себя, как представителей высокоспециализированных стенобионтных видов (тех из них, которые уже традиционно определяются, как экстремофилы (1, 2)), так и тех эврибионтных видов, чей диапазон обитания значительно превышает интервалы жизненных оптимумов той таксономической группы к которой они принадлежат. В отличие от экстремофилов экстремобионты способны существовать и в нормальных условиях. К такого рода видам принадлежат отнюдь не только вирусы и прокариоты, в частности археи и бактерии, но и эукариоты (грибы, растения и животные), в том числе позвоночные. Подавляющее большинство (почти без исключений) экстремобионтных видов относится к категории реликтов и эндемиков. Как правило, в геологическом прошлом Земли эти виды смогли выжить в глобальных геоклиматических катастрофах и приспособиться к совершенно критическим условиям существования. На примере экстремофильных видов было установлено, что ключевой их особенностью являются принципиально скорректированные способы упаковки ДНК и организации транскрипции (3) в целях повышения степени их защиты от неблагоприятных условий, что правда характерно только для прокариот экстремофилов, а также наличие особых геномных участков, обеспечивающих специализированную биохимическую продукцию (4), что наблюдается как у прокариот, так и эукариот.

Обсуждаются причины, вызывающие столь быстрые изменения генома. На примере ряда экстремобионтных видов, реликтов и эндемиков регионов Понто-Каспия и Северной Америки демонстрируется реализация экстремобионтного потенциала в современных условиях.

Литература

1. Кальвин М. Химическая эволюция. — М.: Мир, 1971. — 140 с.
2. Cavicchioli, R. Extremophiles and the search for extraterrestrial life // *Astrobiology* 2 (3) :281–292, Fall 2002
3. Forterre, P., Confalonieri, F., Charbonnier, F. & Duguet, M. (1995). Speculations on the origin of life and thermophily - review of available information on reverse gyrase suggests that hyperthermophilic prokaryotes are not so primitive. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* 25, 235-249.
4. Coquelle N, Fioravanti E, Weik M, Vellieux F, Madern D. Activity, stability and structural studies of lactate dehydrogenases adapted to extreme thermal environments. // *J Mol Biol.* 2007 Nov 23;374(2):547-62. Epub 2007 Sep 22.
5. Сычевская Е.К. Пресноводная ихтиофауна неогена Монголии. М.: Наука, 1989. 144 с.
6. Imoto J., Saitoh K., Adachi J., Sasaki T. et. al. Phylogenetic position of the Altaic fish genus *Oreoleuciscus* in Leuciscinae based on mitogenome sequences // International Symposium "Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics (MAPEEG-2009)", Vladivostok — MBS "Vostok", September 6-11, 2009. http://www.imb.dvo.ru/misc/barcoding/files/MAPEEG-2009/Imoto_et_al._MAPEEG-2009.pps

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE EXTREMOBIOLOGICAL SPECIES. STRATEGY OF A SURVIVING IN THE CONDITIONS OF GLOBAL GEOCLIMATIC ACCIDENTS

Slynko Yu.V.

Federal State budgetary establishment of a science Institute of biology of inland waters of I.D.Papanina of the Russian Academy of Sciences, Borok, Russia
e-mail: syv@ibiw.yaroslavl.ru

On an example of fish species of genera *Oreoleuciscus* dwelling in extreme conditions of the Central Asia research their ecologist-genetic of features has been carried out. It is known, that ancestral forms on a boundary pleistocenic and pliocenic have undergone to catastrophic influence - an awake phase orogenesis, accompanied by eruption of the Hangajsky supervolcano and a global cold snap (5). As a result of these events *Oreoleuciscus* have appeared practically unique of representatives rich miocenic faunas, gone through this accident. Now the range of conditions of a habitation of species of the given genera leaves far beyond optimum for the overwhelming majority of fishes of family Cyprinidae on all set of the basic abiotic factors. Genetik-biochemical and molekular-genetic studying of *Oreoleuciscus* has allowed to reveal some basic features of bunch. Specialised transformations of isoenzymes and their locuses coding on LDH and G-6-PDH, possibly raising level their stability to extreme influences have been found. On the basis of analysis of variability of a locus *cyt b* mtDNA it has been shown, that for bunch exclusively high rates of accumulation nucleotidic changings which have provided improbably high speeds of divergence of bunch and formation of species, in comparison with others taxons of families are characteristic. Similar molekular-genetic dates are resulted on another fish species genera *Tribolodon* (endemics of sea of Japan) (6). It is supposed, what exactly extraordinary high speed nucleotidic transformations provides ability formation to carry out ability to live in extreme conditions and gives to these species possibility of successful overcoming and a surviving in the conditions of global geoclimatic accidents.

The concept of extremobiotic species as organisms, capable to live, propagate and evolve in extreme conditions of a habitation is introduced and proved. Representations about taxonomical a compound of this category and the basic biological characteristics are given. Differences of extremobiotic from steno - evri-biotic and extremophiles are defined. Extremobiotic species include, as representatives of specialized stenobiotic species (those from them which are already traditionally defined how extremophiles (1, 2)), and eurybiotic species, whose range of a habitation considerably exceeds intervals of vital optimum of that taxonomical bunches to which they belong. Unlike extremophiles extremobiotics are capable to exist and in normal conditions. To such species viruses and procariotes, in particular apxei and bacteria, but also eucariotes (mushrooms, plants and animals), including backboned belong at all only. The overwhelming majority (almost bar none) of extremobiotic species concerns a category of relicts and endemics. As a rule, in the geological past of the Earth these species could persist in global geoclimatic accidents and adapt to absolutely critical conditions of existence. On an example of extremobiotic species it has been established, that their key feature are essentially corrected mode of DNA packings and the organisations of a transcriptional (3) with a view of increase of degree of their protection from very bad conditions, that the truth presence special genomic the fields providing specialised biochemical production (4) that is observed as at procariotes and eucariotes is characteristic only for extremophilic procariotes and also.

The causes, determinated so fast changes of a genome are discussed. On a number example extremobiotic species, relicts and endemics of regions of Ponto-Caspian sea and the North America realisation of extremobiotic potential in modern conditions is shown.

References

1. Calvin M. Himicheskaja evolution. - M: the World, 1971. - 140 with.
2. Cavicchioli R. Extremophiles and the search for extraterrestrial life. *Astrobiology* 2 (3):281-292, Fall 2002
3. Forterre, P., Confalonieri, F., Charbonnier, F. AND Duguet, M. (1995). Speculations on the origin of life and thermophily - review of available information on reverse gyrase suggests that hyperthermophilic prokaryotes are not so primitive. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* 25, 235-249.
4. Coquelle N, Fioravanti E, Weik M, Vellieux F, Madern D. Activity, stability and structural studies of lactate dehydrogenases adapted to extreme thermal environments. *J Mol Biol.* 2007 Nov 23; 374 (2):547-62. Epub 2007 Sep 22.
5. Sychevsky E.K. Freshwater fish fauna of a neogene of Mongolia. M: the Science, 1989. 144 with.
6. Imoto J., Saitoh K., Adachi J., Sasaki T. et. al. Phylogenetic position of the Altaic fish genus *Oreoleuciscus* in Leuciscinae based on mitogenome sequences//International Symposium "Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics (MAPEEG-2009)", Vladivostok - MBS "Vostok", September 6-11, 2009. http://www.imb.dvo.ru/misc/barcoding/files/MAPEEG-2009/Imoto_et_al._MAPEEG-2009.pps

АДАПТАЦИЯ СЛУХА КИТОВ И ДЕЛЬФИНОВ К АКУСТИЧЕСКИМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Супин А.Я.

Институт проблем экологии и эволюции Российской Академии Наук. Москва, Россия
e-mail: alex_supin@mail.ru

Слуховая система зубатых китообразных (зубатых китов, дельфинов, морских свиней) характеризуется глубокой модификацией звукопроводящих путей, приспособленных к восприятию звука в водной среде с более высоким, чем у воздуха, акустическим импедансом, а также рядом уникальных свойств. Высокий, по сравнению с воздухом, акустический импеданс воды потребовал перейти от восприятия звука через низкоимпедансную мембрану (барабанную перепонку у наземных млекопитающих) к восприятию через ее высокоимпедансный аналог – костную тимпанальную пластинку. Это, в свою очередь, позволило значительно расширить диапазон воспринимаемых звуковых частот. Слуховая система китообразных функционирует в очень широком диапазоне частот – более 100-150 кГц, в отличие от нескольких десятков кГц у большинства наземных животных, в частности, 16–20 кГц у человека.

Помимо широкого диапазона воспринимаемых звуковых частот, слуховая система китообразных приобрела еще ряд уникальных особенностей. В частности, ее пороги абсолютной чувствительности составляют от 10^{-13} до 10^{-14} Вт/м² (для сравнения – у человека отличие от 10^{-12} Вт/м²). Но особый интерес представляют исключительно высокие показатели временной и частотной селективности. Временное разрешение слуховой системы китообразных характеризуется временем интегрирования около 0.3 мс, что в частотной шкале соответствует полосе частот модуляции до 1700 Гц. Это более чем на порядок выше, чем у человека (время интегрирования 7–10 мс и, соответственно, предельные частоты модуляции 50–70 Гц). Частотная селективность слуховой системы китообразных также в несколько раз острее, чем у человека: она соответствует добротности слуховых частотно-избирательных фильтров от 30 до 50 (в отличие от 9–10 у человека). Причем такая острая селективность характерна для всего частотного диапазона слуха, вплоть до самых высоких – более 100 кГц – частот. Пространственная избирательность слуховой системы китообразных характеризуется шириной луча приема от ± 6 до $\pm 11^\circ$, а зависимость интерауральной разности интенсивности от азимута составляет около 2 дБ/град, что может обеспечивать пространственное разрешение до 0.5°.

Уникальные способности слуховой системы китообразных способствуют успешному функционированию их биосонара. Кроме того, обнаружение таких возможностей слуховой системы вносит значительный вклад в понимание фундаментальных механизмов слуха. А именно, острая частотная избирательность в широком частотном диапазоне слуха китообразных показывает, что «активный» механизм частотной селективности способен функционировать по крайней мере в этом (до 150 кГц) диапазоне. Уточняется роль пространственного и временного кодирования в обеспечении острой частотной селективности: временное кодирование нереально для звуковых частот порядка 100 кГц, поэтому пространственное кодирование достаточно, чтобы обеспечить высокую частотную селективность.

Специальный интерес представляет анализ факторов, ограничивающих временную и частотную селективность слуховой системы большинства наземных млекопитающих и человека. Меньшие, по сравнению с китообразными, возможности слуховой системы наземных млекопитающих не обусловлены недостаточностью нейрофизиологических ресурсов. Отсюда следует, что пределы временного разрешения и частотной селективности у воздушно-слышающих млекопитающих отражают компромисс между требованиями к этим двум характеристикам слуха. Широкий частотный диапазон слуха китообразных позволил совместить высокое временное разрешение и острую частотную селективность. Таким образом, адаптация к водной среде не только обеспечила нормальное функционирование слуха, но и открыла возможность для расширения ряда показателей слуха китообразных.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF HEARING TO ACOUSTICAL FEATURES OF THE AQUATIC MEDIA IN WHALES AND DOLPHINS

Supin A. Ya.

Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences. Moscow, Russia
e-mail: alex_supin@mail.ru

The auditory system of odontocetes (toothed whales, dolphins, and porpoises) features deep modification of sound-conductive structures adjusted to the aquatic media of high acoustic impedance as well as a number of unique abilities. The high acoustic impedance of water as compared to air provoked the transition from sound perception through a low-impedance membrane (the tympanic membrane of terrestrial mammals) to perception through its high-impedance analog (the bone tympanic plate). This allowed the system to widen the perceivable range of sound frequencies. The auditory system of odontocetes is capable of functioning within a very wide frequency range, wider than 100–150 kHz, unlike a few tens of kHz in majority of terrestrial mammals, in particular, 16 to 20 kHz in humans.

Apart from the wide frequency range, the auditory system of odontocetes features several other unique capabilities. In particular, its sensitivity is characterized by absolute thresholds of 10^{-13} to 10^{-14} W/m², contrary to much lower limits in majority of terrestrial mammals (for comparison: 10^{-12} W/m² in humans). Exclusively high temporal resolution and frequency tuning of the odontocete's hearing are of special interest. The temporal resolution of the system is characterized by the integration time of about 0.3 ms, which in frequency domain corresponds to the cut-off modulation frequency of 1700 Hz. It is more than an order of magnitude higher than in humans: the integration time of 7 to 10 ms and the cut-off modulation frequency of 50 to 70 Hz. The frequency tuning in odontocetes is also several times more acute than in humans. It is characterized by frequency-tuned filter quality of 30 to 50 (in humans, it is 9 to 10). Noteworthy, this acute frequency tuning is characteristic of the overall frequency range of hearing, including frequencies above 100 kHz. The directional selectivity is characterized by the receiving beam width of ± 6 – 11° and interaural intensity difference-vs-azimuth rate of about 2 dB/deg, which may be a basis of spatial resolution of 0.5° .

Many of these features serve for successful functioning of the biosonar. Apart from that, discovering of unique abilities of the odontocete's auditory system contributes to knowledge of some basic mechanisms of hearing. Specifically, the high frequency tuning within a wide frequency range indicates that the "active" mechanism of frequency tuning is capable of functioning at least within that (up to 150 kHz) range. The role of spatial and temporal coding in frequency tuning is clarified: the temporal coding is not possible at frequencies of an order of 100 kHz, so spatial coding alone is capable to provide the acute frequency tuning.

Factors delimiting the temporal and frequency resolution of hearing in majority of terrestrial mammals are of special interest. The lower capabilities of hearing in terrestrial mammals, as compared to cetaceans, are not restricted due to insufficient neurophysiological resources. So it follows that the limits of temporal and frequency resolution in aerial-hearing mammals reflect a compromise between requirements to these two hearing features. The wide frequency range of odontocete's hearing allows to combine high temporal resolution with acute frequency tuning. Thus, the adaptation to the high-impedance aquatic media not only provided normal functioning of the auditory system but also opened a possibility for progress in several respects of hearing in odontocetes.

ПАРФОРСНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ КАК МЕХАНИЗМ БЫСТРОЙ АДАПТАЦИИ

Суслев В.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

По данным палео- и неонтологии инвазия таксона в новую эконишу/биотоп осуществляется за короткое время малыми популяциями¹ (*i*), параллельно в разных субтаксонах и/или частях ареала таксона (*ii*), с параллелизмом адаптаций² (*iii*), причем возможно, но не обязательно, что бедный преадаптациями таксон поведет инвазию успешнее, чем богатый³ (*iv*). Дилемма Холдейна (ДХ) запрещает быструю адаптивную эволюцию: если плата за отбор выше резерва репродукции популяции, ей грозит случайная гибель. Отсюда, специализация наиболее вероятна для малой популяции, а инвазия ее в новую эконишу возможна лишь как редкая случайная двойная сальтация – онтогенетическая и ценотическая⁴. Рост изменчивости опасен, если он не подкреплен ростом численности, либо механизмом поиска/генерации преадаптаций (1), не повышающим плату за отбор. Предложенный в качестве такового нейтраллизм М.Кимуры плохо согласуется с *i-iv*, а механизмы краткого роста изменчивости (вспышки мутаций, транспозиций, эпигенетических изменений)⁵, равно как и генокопирование модификаций в рамках нормы реакции (НР)⁶ ограничены ДХ, если набор (пре)адаптивных мутаций или модификаций уже не был создан в ходе предыдущего филогенеза⁷.

Предложен сценарий парфорсной эволюции (фр. *par force* — через силу). Необычные условия инициируют как отбор в популяции, так и стресс у ее особей. По Г.Селье неспецифический адаптационный синдром – стресс, кратковременно обеспечивает устойчивость организма к ряду стрессоров (ПР – перекрестная резистентность), но в долговременной перспективе ведет к истощению и/или гибели (дистресс). Для малой популяции с точки зрения платы за отбор выгоднее изменить (пролонгировать ПР, купирование дистресса) течение стресса селекцией небольшой группы его генов, чем тестировать все мутации генома в поисках преадаптаций. Консерватизм генов стресса обеспечит параллелизм адаптаций в удаленных частях ареала и/или в разных субтаксонах. Стресс-устойчивые особи смогут начать инвазию не дожидаясь специфических адаптаций, чье формирование, лишь после адаптации к хроническому стрессу, может пойти – кроме тотального перебора мутаций генома и сценариев $\alpha\text{-}\gamma$ ⁶ – рекрутированием (дуплицированных) генов стресса в генные сети онтогенеза. Выявлены примеры реализации сценария и границы его применимости.

Благодарности: РФФИ 10-04-01310, ИП Президиума РАН 6.8, 30.29, No.28 «ВОЕ», НШ-5278.2012.4.

Литература

1. Коростышевский М.А., Штабной М.Р., Ратнер В.А. (1974). О некоторых стохастических закономерностях эволюционного процесса // Вопросы математической генетики. Новосибирск, 5-32.

¹В пользу чего в неонтологии говорят прямые наблюдения (см. сноску 2), а в палеонтологии – редкость промежуточных форм и их находок (*a*), временно исчезающих из летописи (*lazarus-taxa*) (*b*), и краткость периодов выхода из стазиса (архаическое разнообразие) (*c*). Контрбаланс векторов отбора по А.С.Северцову объясняет *c*, но не *a* и *b*.

²Яркий пример – освоение голубями посадки на деревья за считанные поколения, параллельно и независимо в разных частях синантропного ареала. Параллелизм в субтаксонах: яркий пример – выход позвоночных на сушу.

³Показательно освоение безводных сред современными рыбами. Хотя эвпреадаптации (легочное, пузырное, кишечное, лабиринтовое и т.п. дыхание) широко распространены, их носители в большинстве – водные формы: воду покидают вынуждено или переживают засуху в анабиозе. Систематически активны вне воды жизненные формы типа угря или *Periophthalmus* – с инадаптивными простыми системами дыхания воздухом или даже без них – задерживающие дыхание (ползуны – *Leuresthes*; прыгуны – летучие рыбы, *Gasteropelecidae*).

⁴Онтогенетическая сальтация – формирование преадаптации и ее фиксация в популяции. Ценотическая – пересечение пессимального края предковой ниши (тем более широкого, чем больше реализованная ниша не совпадает с фундаментальной), попытки приближения к которому – NB – отбор должен был пресекать весь предыдущий филогенез.

⁵С точки зрения ДХ любые транспозиции, эпигенетические изменения и модификации отличаются от мутаций лишь частотой возникновения и реверсий. Описанные случаи быстрой адаптивной эволюции за счет вспышек мутаций, транспозиций, эпигенетических изменений и т.д. открыты на больших популяциях.

⁶Сперва рост изменчивости за счет модификаций, затем – отбор независимо возникших мутаций, копирующих фенотип модификаций (по И.И.Шмальгаузену – α), или стабилизирующих онтогенез модификаций (по Е.И.Лукину и В.С.Кирпичникову – β), или оптимизирующих его по бюджету “время-энергия” (по Г.Турессону или А.Н.Горбаню – γ). Другие сценарии генокопирования модификаций – комбинации и развитие $\alpha\text{-}\gamma$.

⁷Сценарии $\alpha\text{-}\gamma$ неявно предполагают, что адаптивных модификаций в НР много больше, чем неадаптивных (исключая А.Н.Горбаня, чей сценарий, взамен, требует времени). Это верно лишь для “знакомых” факторов – часто встречавшихся в предыдущем филогенезе (желательно и в онтогенезе в малых дозах – даже хороший пловец может утонуть, растерявшись при судороге или просто испугавшись, иными словами, даже если адаптивная модификация есть, ее онтогенез могут блокировать физиология или фактор среды, что лучше всего изучено на модификациях поведения). Кроме того, в $\alpha\text{-}\gamma$ не учитывается дезадаптивная цена модификаций – морфозы, чья частота растет при дестабилизации НР.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PAR FORCE EVOLUTION AS A MECHANISM OF RAPID ADAPTATION

Suslov V.V.

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

According to the paleo-and neontology data the invasion of a new taxon into a new ecological niche/habitat is performed by small populations⁸(*i*); in parallel at different subtaxa and/or in parts of the geographic range of the taxon (*ii*); adaptations arise as parallelisms too⁹(*iii*); although possibly but not necessarily, the taxon poor in preadaptations may provide invasion with more success than rich¹⁰ one (*iv*). In order to avoid casual extinction (degeneration) of small populations the Haldane's dilemma (HD) says "no" to the rapid adaptive evolution, if the cost of selection is more than the reproduction can pay. Therefore, the most probable trend for a small population is specialization. Invasion is also possible but only as a rare occasional double saltation (ontogenetic and cenotic¹¹). The growth of variability is dangerous if it is not support by the population growth or mechanisms of the search/generation of preadaptations (1) without increase of cost of selection. Proposed as such mechanism the M.Kimura's neutralism is in poor agreement with *i-iv*. Mechanisms of any sharp increase of a variability (mutation/transposition flash, epigenetic changes etc)¹² just like genocopying of modifications within the norm of reaction (NR)¹³ are limited by HD and ought to work only if some set of (pre)adaptive mutations/modifications had already been accumulated in phylogenesis¹⁴.

A scenario called *par force* (French: by necessity) evolution is proposed. Unusual environmental conditions initiate both natural selection in a population and the stress from its individuals. As a non-specific adaptation-related syndrome (after H.Selye), the stress provides resistance to adverse factors (cross-resistance - CR) in a short term; however, it becomes devastating in a long term (distress). Thus, for a small population, it is better to make peace with the stress (by prolonging CR, by neutralizing distress) by running selection on a small set of stress-response genes than by testing all mutations in the genome in search of preadaptations. Conservatism of stress and its basic genes set can provide some parallelism in adaptations and invasions in subtaxa and some parts of the geographic range in parallel manner. Stress-resistant individuals can begin the invasion (initially as brief excursions to new habitat) without waiting of specific adaptations. Selection of specific adaptations can start after adaptations to chronic stress by enumeration of genome mutational pool, scenarios α - γ ¹³, incorporation of (duplicated) genes of stress to development networks. The examples of the *par force* scenario realization and the applicability limits were identified.

Acknowledgements: RFBR 10-04-01310, IP Presidium RAS 6.8, 30.29, No.28 «BOE», Sci. School-5278.2012.4.

References

1. Korostyshevsky M.A., Schtabnoy M.R., Ratner V.A. (1974). On some principles of evolution viewed as a ctochastic process // Problems of mathematical genetics. Novosibirsk, 5-32. (in Russ.)

⁸In neontology it is proved by the direct observations (footnote 2). In paleontology it is proved by the rarity of transitional fossils and their findings (*a*) temporarily disappearing from the fossil record (lazarus-taxa) (*b*) and a shortness of the periods out of stasis (archaic diversity) (*c*). Only *c*, but not *a* and *b* explained by counterbalance the vectors of natural selection (after A.S.Severtsov).

⁹A prominent example is the mastering of perching on trees by pigeons that occurred independently in parallel at various parts of their synanthropic range within few generations. The origin of terrestrial vertebrates is a good example of parallelism in subtaxa.

¹⁰An illustrative example is the colonization of land areas by modern fish species. Although eupreadaptations (lung, swimbladder, intestinal, labyrinth and the other types of respiration) are frequent, their possessors are mainly aquatic species. They either involuntarily quit water or survive dry periods in torpor. Some species are normally active outside water: those with inadapive simple air respiration systems (living forms as eels or *Periophthalmus*) or even species without such systems, able to temporarily arrest respiration: grunion (*Leuresthes*), flying fish, and hatchetfish (*Gasteropelecidae*).

¹¹Ontogenetic saltation includes the formation of a preadaptation and its fixation in the population. Cenotic saltation includes trespassing the pessimal margin of the previous niche (which selection was supposed to prevent any attempt at approaching during past phylogenesis – *nota bene*) and invasion of a new niche. The higher the mismatch between the niche that is occupied and the niche that is fundamental, the wider the pessimal margin.

¹²Importantly, in DH terms epigenetic changes and modifications differ from mutations just by the frequencies of occurrences and reversions. Events of rapid evolution due to the mutation or transposition flash, epigenetic changes were found in large populations.

¹³Includes a variability increase due to modifications within the NR followed by selection of independently occurring mutations, which mimic the phenotype of the modifications (after I.I.Shmalhausen - α) or somehow stabilize ontogenesis of the adaptive modifications (after E.I.Lukin and V.S.Kirpichnikov - β) or optimize ontogenesis of the modifications in "time-energy" budget terms (after G.Turesson or A.N.Gorban - γ). Other scenarios of evolution by genocopying of modifications becomes reduced to the α - γ .

¹⁴Scenarios of α - γ implicitly assume that adaptive modifications in the NR much more than non-adaptive (excluding A.N.Gorban's scenario that, instead, requires time). This is true only for "familiar" factors – often met in the course of phylogenesis (desirable in small doses in ontogenesis of the individual. Even if the modification in NR is adaptive, its ontogenesis can block by factors of physiology or environment. This is best studied in the modification of behavior. For example, even a good swimmer can drown if lose courage by cramp or just scared. In addition, morphoses as desadaptive cost of modification does not consider in the α - γ . The frequency of morphoses increases with the destabilization of the NR.

ЗАКОН ОПЕРЕЖАЮЩЕГО РАЗВИТИЯ ОБСЛУЖИВАЮЩЕЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ

Суслов В.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

Ароморфоз и алломорфоз связаны с инвазией в новую эконишу¹⁵. Мотивация инвазии редуцируется к конкуренции инвайдеров с аборигенами (i^a), усилению конкуренции в предковой нише/лицензии инвайдеров (i^b), околонеutralному заполнению¹⁶ лицензии вследствие вымирания аборигенов (ii^a) или их отступления (ii^b) от ее зон пессимальности (ЗП) из-за прогрессивной специализации (по В.В.Жерихину). Так как отбор до аро/алломорфоза пресекает приближение предков к ЗП, остается неясным, почему уже на ранних стадиях формирования аро/алломорфоза у потомков этот вектор вдруг меняется на противоположный¹⁷. Г.Ф.Осборн, впервые поставивший этот вопрос, обратил внимание, на редкие, но повторяющиеся находки инвайдеров с бедным инадаптивным набором или даже без него проникающих/пересекающих ЗП¹⁸ и предположил, что они несут аристократы. Маркер аристократов - гиперактивность особей. Но чем она вызвана и за какие преимущества отбираются гиперактивные особи Осборн не мог удовлетворительно объяснить (1).

В пессимальной среде особи запускают стресс-реакцию. Отсюда любая специфическая адаптация к конкретному средовому фактору эволюционирует на фоне неспецифической адаптации¹⁹. Так, кислородный фотосинтез и дыхание невозможны без адаптации к токсическому действию O_2 . Зрительная чувствительность - без защиты от фотохимической токсичности, все трое - без системы защиты от свободных радикалов. В эволюции организмов неспецифическая адаптация предшествует специфической и обслуживает ее, предоставляя гены для рекрутирования. Отметим, из-за перекрестной резистентности стресса - часто не одной, а несколькими специфическими адаптациями. Это можно считать законом опережающего развития обслуживающей инфраструктуры, взаимодополнительным к закону корреляций Кювье²⁰, справедливому лишь для прогрессирующей специализации. Инвайдеры Осборна выживали благодаря развитым стресс-системам, чья эволюция может провоцировать аро/алломорфоз. В свою очередь существенное развитие неспецифической адаптации замедляет/делает ненужным развитие специфической адаптации²¹.

Благодарности: РФФИ 10-04-01310, ИП Президиума РАН 6.8, 30.29, No.28 «ВОЕ», НШ-5278.2012.4.

Литература

1. Osborn H.F. (1934.) Aristogenesis, the Creative Principle in the Origin of Species. Amer. Nat. 68(716): 193-235.

¹⁵ В первом случае она добавляется к предковой, во втором - сменяет ее. По А.С.Северцову ароморфные признаки адаптивны в обеих нишах/лицензиях, алломорфные - только в новой.

¹⁶ Архаическое разнообразие инвайдеров. По мере заполнения лицензии между таксонами-инвайдерами вновь вспыхивает конкуренция, отбирающая/формирующая эвадптивные формы.

¹⁷ Возможно лишь задолго после, а не в ходе формирования морфофизиологического ароморфного комплекса (например, обмен видами между Северной и Южной Америкой после "блестящей изоляции"). По данным палеонтологии провинциализация ареала, должная вести к усилению конкуренции, чаще дает всплеск параллельных идиоадаптаций, а не аро/алломорфоз по i^b . Виды "предпочитают" передел оставшегося оптимального лицензионного пространства выходу в ЗП.

¹⁸ Так, с 1870 гг. фиксируются редкие залеты египетской цапли (*Bubulcus ibis*) в Южную Америку (стойкая популяция - с 1930 гг.). Эпизодические экскурсии бегемотов в море фиксируются с 1870 гг до настоящего времени, несмотря на падение их численности, должное ослабить конкуренцию. По Г.Симпсону представители *Equus* начинают миграцию в Евразию, несмотря на вакантные пространства в Северной Америке, занятые в дальнейшем.

¹⁹ Неспецифическая адаптация - способность системы/структуры организма одной функцией парировать разные факторы. Напротив, полифункциональная система в аналогичной ситуации отвечает на каждый фактор особой функцией. Принцип смены функций применим только к полифункциональным системам. Стресс - важнейший, но не единственный тип индуцибельной неспецифической адаптации (можно вспомнить врожденный иммунитет, неопобию и т.д.). Наиболее древни конститутивные неспецифические адаптации (GC-состав ДНК, прурфридинг ее оснований и т.д.). Более того, основные молекулы жизни содержат резонансные структуры (чередующиеся двойные и одинарные связи и кольца), что позволяет сочетать амбивалентные качества - прочность и реакциспособность, склонность и образовывать, и рвать нековалентные связи. То есть, способность неспецифически реагировать - такое же фундаментальное свойство жизни как обмен веществ и конвариантная редупликация. Оно унаследовано от добиологической эволюции и страховало и ограничивало дивергентную эволюцию, направленную в основном на выработку специфических адаптаций.

²⁰ Специализация отдельного органа животного к определенному образу жизни вызывает соответствующие изменения других органов, что позволяет животному более успешно выполнять жизненные функции.

²¹ Так, колонизация безводных биотопов современными рыбами не связана напрямую с совершенством их воздушного дыхания. Соревнование диапсид и терапсид от перми до мела - это в основном соревнование двух неспецифических адаптаций: вертикальной постановки конечностей и теплокровности. Победили сумевшие их совместить млекопитающие и птицы. Саблезубость у хищных млекопитающих - специфическая адаптация, кстати, требующая сложного гормонального обслуживания - возникла многократно. Но саблезубы регулярно вытеснялись хищниками с простыми неспецифическими адаптациями (сильная челюстная мускулатура, не ограничивающая способ атаки и умерщвления жертвы).

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE PRINCIPLE OF ADVANCED EVOLUTION OF SERVICE INFRASTRUCTURE

Suslov V.V.

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

When an aromorphosis takes place, a new econiche is added to the one previously occupied by the taxon; when an allomorphosis takes place, the previous niche is abandoned for a new one²². Motivation to the invasion becomes reduced to the competition between invaders and indigenous (i^a); the reinforcement of the competition between invaders within ancestral niche/license (i^b); the filling of niche/license in semineutral manner²³ due to indigenous extinction (ii^a) or retreat (ii^b) from pessimal regions (PR) of niche/license due to progressive specialization (after V.V. Zherikhin). Because natural selection before any aro/allomorphosis acts to prevent the invader's ancestors from approaching the PR of any ecological license (or the pessimal margins of their niche), it remains unclear why this vector suddenly starts to point in the opposite direction as early as at the earliest stages of aro/allomorphosis formation²⁴. H.F. Osborn was the first to ask this question. Rare but repeated occurrences of invaders, which, with their poor (or even zero) inadaptive sets of adaptations, invade PR nonetheless²⁵, came to his attention. He proposed that invaders carry aristogenes. The marker of the presence of aristogenes is excessive activity. But the questions as to what causes this activity and what advantages this activity gives are not the ones that Osborn could answer in a satisfying way (1).

In pessimal environment any individual starts the stress-reaction. Hence, at non-specific (NS) adaptive background any specific (S) adaptation to concrete environmental factor evolves²⁶. For example, an oxygenic photosynthesis and respiration are impossible without adaptation to the O₂ toxic property. Visual perception is impossible without a protection from photochemical toxicity and all three are impossible without a free-radical protection. In organism's evolution the NS-adaptation precedes the S-adaptation, serves the S-adaptation provided (duplicated) genes for recruitment. Note due to stress cross-resistance a one NS-adaptation can provide genes for several S-adaptations. This can be considered as the principle of advanced evolution of service infrastructure. The principle is complementary to the Cuvier's principle of the correlation of parts²⁷ which valid for progressive specialization only. Osborn's invaders survived due to developed stress-systems. Evolution of the ones can provoke the aro/allomorphosis. In their turn the considerable development of NS-specific adaptation can slow down or made useless the development of S-adaptation²⁸.

Acknowledgements: RFBR 10-04-01310, IP Presidium RAS 6.8, 30.29, No.28 «BOE», Sci. School-5278.2012.4.

References

1. Osborn H.F. (1934.) Aristogenesis, the Creative Principle in the Origin of Species. Amer. Nat. 68(716): 193-235.

²² After A.S. Severtsov, aromorphic traits should be adaptive in both niches/licenses, but allomorphic ones in new niche/license only.

²³ Archaic diversity of invaders. In course of filling of a license a competition between taxa of invaders breaks out again and selects or shapes evadapted forms.

²⁴ The i^a can only long after but not in course of the shape of morphophysiological aromorphic complex (for example exchange of species between North and South Americas after "splendid isolation"). According to paleontology data the provincialization of the area, which ought to reinforcement of the competition, often result in the boom of parallel idioadaptations instead of the aro/allomorphosis under i^b . Species "prefer" redistribution of the remaining license space instead of invasion into PR.

²⁵ So, since 1870s, rare flights of the cattle egret (*Bubulcus ibis*) to South America have been recorded. A stable population formed in 1930s. Occasional sea excursions of hippos recorded with the 1870's to the present despite the drop in their numbers, which should weaken competition. After G.Simpson specimens of Equus started migrating in Eurasia, despite the vacant area in North America which occupied later.

²⁶ The NS-adaptation is ability of some system or structure to parry different factors by one function. Conversely, multifunctional system in analogous situation parries certain factor by certain function. The Dorn's principle of succession of function applies to multifunctional systems only. The stress is major but not single type of inducible NS-adaptations (can remember innate immunity, neophobia, etc.). Constitutive NS-adaptations as GC content and DNA proofreading etc. are the oldest. Besides this the fundamental molecules of life contain resonance structure (alternating single and double bonds and rings). This allows combine the ambivalent qualities as the strength and ability to reactions, the propensity to form and break non-covalent bonds. Hence, the ability to non-specific parry is the fundamental property of life as for example metabolism and convariant reduplication. This property inherited from the prebiotic evolution and insured and limited a divergent evolution which mainly pointed at the shaping of specific adaptations.

²⁷ The specialization of a part to a particular habit of life will cause changes in the animal's other parts such that the animal will perform its living functions more efficiently.

²⁸ So, the colonization of waterless habitats by modern fish species is not directly related to its perfection as air-breathers. During the Permian-Cretaceous interval a competition between Diapsids and Therapsids mainly is competition between two NS-adaptations. The first is a vertical arrangement of limbs, the second is a homeothermy. The winners are mammals and birds that managed to combine them. S-adaptation in predatory mammals is sabertooth forms which formed many times by the way the saber tooth development requires NS hormonal support. But sabertooths regularly excluded by predators with NS-adaptation (strong jaw musculature which not restrict the attack and killing manner).

ВСЕГДА ЛИ ИНАДАПТАЦИЯ – НЕУДАЧА?

Суслов В.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

Сценарии адаптивного компромисса (АК - по А.П.Раснищину) и trade off (ТФ - по Дж.Б.Холдейну) видят причины неравномерности адаптивной эволюции в противоречиях оптимизации скоррелированных²⁹ признаков. Инадаптивные, и эвадптивные компромиссы формируются во время временного ослабления отбора, но после этого ожидается: среди факторов среды (ФС) или их групп, адаптация будет парировать прежде всего лимитирующий - самый неоптимальный, смертоносный ФС (1), но по мере его нейтрализации эвадпация допустит оптимизацию и по другому ФС, инадаптация – нет. Так инадаптивная - опережающая перестройку предплюсны и запястья - редукция пальцев копытных оптимизирует скорость бега, но снижает прочность конечности (2). Отсюда, инадаптивные таксоны – неудачные компромиссы, эволюция направлена от лимитируемой инадаптивности к эвадптивности, тем более совершенной, чем меньше у таксона лимитирующих ФС (1). Исключения³⁰ объясняются в литературе для каждого случая особо, ad hoc.

Любой признак – комплекс адаптаций неспецифических (НС-а) и специфических (С-а). С-а может эволюционировать на фоне НС-а, лишь если организм может отрецептировать данный ФС (включая лимитирующий). Иначе (например, нет нужных рецепторов) адаптивность поддерживаться НС-а, в частности стрессом³¹. К нему, а не к ФС и пойдет адаптация (продолгование перекрестной резистентности, купирование дистресса). Пока ФС выступает не как (лимитирующий) тестер, а как один из релизеров стресса, оптимизация по ФС маловероятна³². В ряду хищников жертва формирует С-а против хищника близкого размерного класса - даже при полной несъедобности жертвы, она будет убита или искалечена, прежде чем хищник крупного размерного класса в этом убедится, против него возможны лишь НС-а³³. В свою очередь хищники, минимизируя риск на охоте, вынуждены специализироваться, либо также прибегать к НС-а. Охота – стресс и как всякий стресс ограничена во времени³⁴. Итак, мощная НС-компонента адаптивности может сохранять инадаптивные признаки таксонов и снижать актуальность оптимизационного сценария эволюции³⁵.

Благодарности: РФФИ 10-04-01310, ИП Президиума РАН 6.8, 30.29, No.28 «ВОЕ», НШ-5278.2012.4.

Литература

1. Gurban A.N. et al. (2009) General Laws of Adaptation to Environmental Factors. Math. Model. Nat. Phenom. 4(6): 1-53.
2. Ковалевский В.О. (1875) Остеология двух ископаемых видов из группы копытных. М.: 1-61.
3. Михеева Е.В. и др. (2006) Адаптация европейской рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus* Schreber) к условиям природной биогеохимической провинции с избыточным содержанием никеля, кобальта и хрома. Ж.О.Б. 67(3): 212-221.
4. Li Z.W. et al. (2009) The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. BMC. Evol. Biol. 2009. 9:215.

²⁹ АК не конкретизирует характер корреляции признаков. ТФ рассматривает корреляцию как распределение ограниченного ресурса на формирование одних признаков в ущерб другим, что ближе к В.О.Ковалевскому (2).

³⁰ К таковым можно отнести неравноценность эвадпации и успеха следующих за ней инвазий (см. "Парфорсная эволюция как механизм быстрой адаптации") (а) и редкость в эволюции таких предсказуемых теорией (1) эвадпаций, как абсолютный хищник (b) и форма, сочетающая преимущества К- и г-стратегий размножения (с). Самолимитирование через подрыв репродуктивной и/или пищевой базы, изученное на островных биотах – это следствие не формирования, а инвазии извне форм, близких к b и c лишь в данной биоте. В лучшем случае это объясняет краткость существования, но не редкость появления b и c. Абсолютный хищник формировался редко, на суше лишь дважды: бипедальные архозавры и человек. Высокий репродуктивный потенциал г-стратегов должен растиражировать случайно возникшее слабое повышение стойкости потомства к ФС, регулярно снижающим его численность (например, выедание молоди г-стратегов). Но таксоны с К- и г-стратегиями размножения (например, у насекомых, рыб, земноводных) устойчиво существуют параллельно.

³¹ Так, выживание популяции полевок в районе, неблагоприятном по Ni, Co, Cr, обусловлено адаптацией к стрессу (3).

³² По крайней мере, до формирования специфической рецепции на данный ФС как на особый стрессор - релизер стресс-реакции, что может инициировать формирование специфической по данному ФС адаптации на базе НС-компоненты адаптивности. Так, у насекомых гены малых белков теплового шока формируют стресс-индуцируемый ортологичный кластер и паралоги со стрессор-зависимой или эндогенной экспрессией (4). Формирование в эволюции эндогенного релизера стресса (или других элементов НС-адаптивности) также снижает вероятность появления С-адаптации, чем можно объяснить редкость форм типа c (ритмика размножения г-стратегов эндогенна или близка к ней (по А.С.Мончадскому)).

³³ Пока косвенный отбор на усиление С-адаптаций не сделает их значимыми и для крупного размерного класса (ядовитость членистоногих для млекопитающих; скунс - единственная аналогичная адаптация среди млекопитающих), либо пока жертва не сформирует предупреждающую сигнал, как правило, тоже неспецифичную – для широкого круга агрессоров.

³⁴ Что делает маловероятным форму b. Доминирование бипедальных архозавров как хищников началось, когда парасагитальное положение конечностей из факультативного стало конститутивным.

³⁵ Так, инадаптивную терморегуляцию индо-малайская харза на Дальнем Востоке компенсирует стресс-адаптацией - стайной охотой на копытных зимой, "греясь" мясом жертв.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

IS INADAPTATION A FAILURE ALWAYS?

Suslov V.V.

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
e-mail: valya@bionet.nsc.ru

Scenarios of the adaptive compromise (AC, after A.P.Rasnitsyn) and trade off (TF, after J.B.S.Haldane) see causes of unevenness of adaptive evolution as conflicts between correlated³⁶ features in course optimization. Both inadaptive and euadaptive compromises are shape during transient relaxations of selection, but what happens next? From among environmental factors (EFs) or their groups, adaptation will primarily be standing up against the limiting factor, which is the least optimal and the most deadly (1); however, as its neutralization will be more and more obvious, euadaptation will turn on another EF, while inadaptation will never do that. Thus, inadaptive reduction of digits in hoofed animals (this reduction runs ahead of alterations in the tarsus and carpus) is good for running, but not for the mechanical strength of the limbs (2). Therefore, inadaptive taxa represent lame compromise; evolution goes from deterred inadaptation towards euadaptation, and the fewer limiting EFs a particular taxon is faced with, the more perfect this euadaptation is (1). In the literature, each exception³⁷ to this scenario is explained on an ad hoc basis.

Any characters is the complex of no-specific (NS-a) and specific (S-a) adaptations. The S-a ought to evolve on the NS-a background if organism can recognize the EF (include limiting one). Otherwise (e.g. without necessary receptors) organism's fitness will be supported by NS-a, in particular by stress³⁸. Adaptation will be standing up against the stress but not EF. The adaptation includes the prolonging cross-resistance phase and/or neutralizing distress. Probability of the EF-specific optimization is low during the EF acts as one of the stress-releasers but not the tester in selection³⁹. Any prey can develop specific adaptations only against predators that are similar in size rank to it: even if a prey is absolutely inedible, a very high size-rank predator will kill or maim it nonetheless – only NS-a can help⁴⁰. Predators in turn must specialize or use the NS-a to minimize the hunter risk. Hunting is a stress and as any stress limited by time⁴¹. Finally, the strong NS-a component of fitness can preserve inadaptive characters of the taxa and decrease urgency of the optimization scenario in evolution⁴².

Acknowledgements: RFBR 10-04-01310, IP Presidium RAS 6.8, 30.29, No.28 «BOE», Sci. School-5278.2012.4.

References

1. Gorban A.N. et al. (2009) General Laws of Adaptation to Environmental Factors. Math. Model. Nat. Phenom. 4(6): 1-53.
2. Kowalevsky V.O. (1875) Osteology of two fossil species of a group of ungulates. M.: 1-61. (in Russ.)
3. Mikheeva E.V. et al. (2006) Adaptation of the bank vole (*Clethrionomys glareolus* Schreber) to conditions of biogeochemical province with abnormally high content of nickel, cobalt and chromium. Journ.Gen.Biol. 67(3): 212-221. (in Russ.)
4. Li Z.W. et al. (2009) The small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. BMC. Evol. Biol. 2009. 9:215.

³⁶ AC does not specify the nature of the correlation characters. TF considers correlations as distribution of the limited resource between developing characters in favor of the one and harmfully for another (that is closer to terms of V.O.Kowalevsky (2)).

³⁷ These include the disparity of the euadaptation and success of following invasions (see "Par force evolution as a mechanism of rapid adaptation") (a) and rarity of theoretically predictable (1) euadaptations as the absolute predator (b) and living form combining of advantages of K- and r-strategies of reproduction (c) in course evolution. Studied at events of the island biota any self-limitation through the erosion of reproductive and/or food basis it is a consequence of the invasion from outside but not in situ shaping of the forms that are similar at b and c only in this biota. At best, it explains the brevity of existence, but not uncommon occurrence of b and c. Absolute predator is rarely formed, on the land only twice as bipedal archosaurs and as human. The high reproductive potential of r-strategists ought to replicate arisen by chance a weak increase in resistance of offspring against EFs which regularly decrease its quantity (e.g. eating of juvenile r-strategists). But taxa with K- and r-strategies of reproduction stably exist in parallel (e.g. in insects, fishes, amphibians).

³⁸ E.g., population of voles in the area with increased Ni, Co, Cr content survives due to adaptation to stress (3).

³⁹ As yet the specific sensitivity to the EF as special releaser (stressor) of stress-reaction will not formed. After that can be initiated formation of the EF-specific adaptation on the base of NS-component of fitness. E.g. genes of insect's small heat shock proteins include a common stress-induced ortholog cluster and species-specific paralogous genes characterized by endogenous induction or selective stress induction by specific stressors (4). Uncommon occurrence of living forms like c can be explain by the shaping of the endogenous stress-releaser (or same releasers for another elements of NS-fitness) that decrease probability of the EF-specific adaptation rising (reproductive rhythmicity of r-strategists is endogenous or close to it (after A.S.Monchadsky)).

⁴⁰ As yet the indirect selection to intensification of S-a will not make the S-a as significant against high size-rank predators (arthropods toxicity against mammals; skunk as the only analogous adaptation among mammals) or a prey will form warning signal as a rule against wide range of predator i.e. non-specific.

⁴¹ Therefore, living forms like b is unlikely. Bipedal archosaurs domination as predator began when parasagittal position of the limbs become constitutive but not optional.

⁴² E.g., in winter Indo-malayan kharza (*Martes flavigula*) on the Far East compensates for the inadaptive thermoregulation by stress-adaptation such as the social hunting of hoofed animals and "warms itself" by preys flesh.

МОДУЛЬНЫЙ ПРИНЦИП ОРГАНИЗАЦИИ КАК АДАПТАЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ БАКТЕРИЙ

Сухарев Ю.С.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, Украина
e-mail: Yuriy_sukharev@mail.ru

Модульность — весьма распространенный принцип организации и рационализации сложных систем. Природа давно уже доказала, что выживают и процветают сложные системы, имеющие модульное строение. Преимуществами модульных систем являются способность к масштабированию и росту, упрощение процесса воспроизводства, функциональная специализация модулей, отказоустойчивость и более быстрое приспособление к меняющимся условиям среды.

В настоящее время накапливается всё больше данных, свидетельствующих о существовании в микробных клетках плазмидных комплексов, т.е. комбинаций двух и более различных плазмид в одной клетке [1,2,3], вероятно обеспечивая таким образом селективные преимущества бактериям в борьбе за выживание. Составляющие плазмидного комплекса влияют на вирулентность бактерий-хозяев, что в свою очередь отражается на тяжести вызываемых ими заболеваний.

С эпизоотической точки зрения наиболее опасна передача детерминант вирулентности и резистентности к антибиотикам от одного вида микроорганизмов к другому. В пищеварительном тракте в больших количествах содержатся энтеробактерии, что создает условия для трансмиссивной передачи плазмидных комплексов [4,5,6,7].

Было показано, что штаммы энтеротоксигенных *Escherichia coli* способны передавать путем конъюгации (или трансдукции) *Ent*⁺– плазмиды совместно с *R*⁺– факторами не только вертикально, т.е. от одной генерации клеток к другой и от патогенных к апатогенным штаммам, но и горизонтально – от одного вида бактерий к другим. При селекции, под влиянием антибиотиков, резистентные токсигенные штаммы выживают за счет чувствительных и, размножаясь, становятся доминирующей частью микрофлоры кишечника. Увеличение количества резистентных к антибиотикам токсигенных штаммов приводит к ускоренной трансмиссии детерминант устойчивости и токсигенности, и как следствие этого, осуществляется их дальнейшая экспансия.

Способность *E.coli* обмениваться генетическим материалом с другими представителями семейства *Enterobacteriaceae*, приводит к возникновению новых микробиоценозов, состоящих из токсигенных и одновременно резистентных к антибиотикам микроорганизмов, что прямо подтверждает применимость модульной теории эволюции, согласно которой новые признаки могут быть результатом не только мутаций, но и обмена генами или блоками генов и на межвидовом уровне.

Литература

1. Бондаренко, В. М., Мавзютов А. Р. (2002). Типы секреции регуляции функциональной активности молекул, ассоциированных с патогенностью энтеробактерий. Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 5: 86–91.
2. Osek J. (2003). Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E.coli* isolates from pigs with diarrhea. Vet. Microbiol. 91(1): 65–72.
3. Vu-Khac H., Holoda E., Pilipcinec E. (2006). Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia. Vet. J. 174: 176–187.
4. Макаров В.В., Гусев А.А., Панин А.Н. (2000) Трансмиссивные генетические детерминанты патогенности. Ветеринария. 3:16–21.
5. Шахов А.Г. (2003). Этиология и профилактика желудочно-кишечных и респираторных болезней телят и поросят. Ветеринарный консультант.1: 4–5.
6. Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois C.M. (2003). Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *E. coli* to serum and in pathogenicity. Inf. & Immun. 719(1): 536–540.
7. Do T.N., Cu P.H., Nguyen H.X. (2006). Pathotypes and serogroups of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from preweaning pigs in north Vietnam. 55: 93–99.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MODULAR ORGANIZATION AS THE ADAPTATION STRATEGIES OF BACTERIA

Sukharev Yu.S.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Ukraine
e-mail: Yuriy_sukharev@mail.ru

Modularity - a very common principle of organization and rationalization of complex systems. Nature has long been proven that survive and thrive complex systems with modular structure. The advantages of modular systems is the ability to scale and growth, simplify the process of reproduction, functional specialization modules, fault tolerance and more rapid adaptation to changing environmental conditions.

At the present time accumulates more and more evidence of the existence of microbial cells, plasmid complexes, ie combinations of two or more different plasmids in one cell [1,2,3] may thus providing a selective advantage to bacteria in the struggle for survival. The components of a complex plasmid affect the virulence of bacterial hosts, which in turn affects the severity of diseases caused by them.

From the point of view of the epizootic transmission of the most dangerous determinants of virulence and antibiotic resistance of micro-organisms from one species to another. In the digestive tract contains large amounts of enterobacteria, which creates conditions for vector-borne transmission of plasmid tkompleksov [4,5,6,7].

It was shown that enterotoxigenic *Escherichia coli* strains are able to transfer by conjugation (or transduction) Ent⁺ - plasmid together with the R⁺ - factors not only vertically, ie, from one cell generation to another and from pathogenic strains of apatogennym, but also horizontally - from one bacterial species to another. When breeding, under the influence of antibiotic-resistant strains of toxigenic survive through sensitive and multiply, become the dominant part of the intestinal microflora. Increasing the number of antibiotic-resistant strains of toxigenic leads to rapid transmission of determinants and stability of toxigenicity, and as a consequence, by their further expansion.

Cposobnoct *E.coli* exchange genetic material with other members of the family *Enterobacteriaceae*, leading to the emergence of new microbiocenoses consisting of toxigenic and simultaneously resistant to antibiotics of microorganisms, which directly confirms the applicability of the modular theory of evolution, according to which new features can be the result not only mutations but also exchange of genes or blocks of genes and interspecific level.

References

1. Бондаренко, В. М., Мавзютов А. Р.(2002). Типы секреции регуляции функциональной активности молекул, ассоциированных с патогенностью энтеробактерий. Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 5: 86–91.
2. Osek J. (2003). Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E.coli* isolates from pigs with diarrhea. Vet. Microbiol. 91(1): 65–72.
3. Vu-Khac H., Holoda E., Pilipcinec E. (2006). Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia. Vet. J. 174: 176–187.
4. Макаров В.В., Гусев А.А., Панин А.Н. (2000) Трансмиссивные генетические детерминанты патогенности. Ветеринария. 3:16–21.
5. Шахов А.Г. (2003). Этиология и пофилактика желудочно-кишечных и респираторных болезней телят и поросят. Ветеринарный консультант.1: 4–5.
6. Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois C.M. (2003). Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *E. coli* to serum and in pathogenicity. Inf. & Immun. 719(1): 536–540.
7. Do T.N., Cu P.H., Nguyen H.X. (2006). Pathotypes and serogroups of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from preweaning pigs in north Vietnam. 55: 93–99.

АДАПТАЦИИ К ПЕРЕЖИВАНИЮ ЗИМНЕГО ПЕРИОДА В ПОДСЕМЕЙСТВЕ ХОМЯКОВЫХ (CRICETINAE)

Ушакова М.В., Суров А.В.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Россия, Москва
e-mail: ushakovam@gmail.com

Изучение экологических адаптаций к холодному периоду важно как для определения резервов организма млекопитающих, так и для исследований формирования устойчивости к холодовому стрессу у людей. Зима - критическое время года для большинства видов животных. У млекопитающих сформировались различные эколого-физиологические адаптации для переживания неблагоприятных условий, в том числе изменение терморегуляции. Одни животные ведут активный образ жизни и даже размножаются зимой, другие малоактивны в этот период. Какие адаптации сформировались в подсемействе хомяковых, широко распространенных в Палеарктических степях и полупустынях? Мы исследовали динамику температуры тела в зимний период 2008-2011 у 8 видов хомяковых подсемейства Cricetinae при естественных световых и температурных условиях на НЭБ «Черноголовка» Московской области. Получены данные по: *Phodopus campbelli*, *Ph.sungorus*, *Ph.roborovsky*, *Cricetulus barabensis*, *Cr.longicaudatus*, *Allocricetulus eversmanni*, *All.curtatus*, *Mesocricetus raddei*. Все зверьки, кроме *Ph.sungorus* были рождены в природе.

Полученные данные свидетельствуют о существовании различных стратегий переживания зимы внутри подсемейства. Так, у всех средних хомяков - *Mesocricetus raddei* зафиксирована настоящая спячка, с понижением температуры тела до 5°C более 2 суток (1). При сильных морозах зверьки погибли. У эверсмановых хомяков нами впервые описана настоящая спячка, с понижением температуры тела до 5°C более суток (2). Однако, не все зверьки данных видов впадали в спячку, к тому же, падения температуры были нерегулярными. При расшифровке данных по спячке у одной самки показано, что продолжительность сна коррелирует с температурой окружающей среды ($R=0,418$, $n=32$, $p=0,017$), чем ниже температура среды, тем быстрее зверек остывал, и тем быстрее надо было просыпаться, чтобы не умереть. Эверсмановы хомяки, в отличие от средних хомяков, не впадали в спячку при сильных морозах, обладая, таким образом, большей экологической пластичностью. Вероятно, менее стабильные условия среды в местах обитания этих видов позволили сформироваться такой способности в процессе эволюции.

Температура тела у мелких хомяков родов *Phodopus* и *Cricetulus* колебалась в пределах 33-38°C. У некоторых особей каждого вида мы наблюдали редкие оцепенения (торпоры) - падения температуры тела до 16-30°C в течение 3-12 часов. Однако не выявлено сочетаний конкретных условий среды, вызывающих торпор. Вероятно, его проявление зависит от индивидуальных характеристик животного. Торпоры чаще происходили в январе в диапазоне температур от -15 до -5°C, их глубина положительно коррелировала с температурой среды. Поскольку это явление случалось редко, предполагается, что торпор является депонированным ресурсом организма, позволяющим снизить энергозатраты, и проявляется он только в экстремальной для организма ситуации. Наблюдения показывают, что зверьки рода *Phodopus* активны весь год и даже размножаются зимой. Это явление нередко происходит зимой в лаборатории, но и в природе в начале февраля нами была поймана беременная самка джунгарского хомячка.

Итак, в подсемействе хомяковых можно выделить три стратегии переживания неблагоприятного холодного периода - истинная облигатная спячка, факультативная спячка и активность в течение всей зимы, перемежаемая кратковременными оцепенениями. Различия в стратегиях переживания зимних условий видов могут быть связаны со средней массой тела исследуемых видов. Чем крупнее животное, тем больше нужно затратить энергии на обогрев, тем более энергетически выгодно впасть в спячку. С другой стороны, доступность пищевого ресурса также различается между выделенными экологическими группами. Пищевой ресурс у мелких хомячков родов *Cricetulus* и *Phodopus*, в отличие от более крупных родов *Mesocricetus* и *Allocricetulus*, не лимитирован в течение почти всего года, что позволяет им быть круглогодично активными и даже размножаться зимой.

Литература

1. Ушакова М.В., Суров А.В., Чунков М.М.-Р., Омаров К.З. (2011). Особенности зимней биологии хомяка Радде *Mezocricetus raddei*. Материалы конференции "Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа" Ереван. Армения: 303-305
2. Ушакова М.В., Феоктистова Н.Ю., Петровский Д.В., Гуреева А.В., Найденов С.В., Суров А.В. (2010). Особенности зимней спячки хомячка Эверсмана (*Allocricetulus eversmanni*, Brandt, 1859) из Саратовского заволжья. Поволжский экологический журнал. 4: 415-422
3. Ushakova M.V., Kropotkina M.V., Feoktistova N.Yu., Surov A.V. (2012). Daily Torpor in Hamsters (Rodentia, Cricetinae). Russian Journal of Ecology, Vol. 43, 1: 62-66.

ADAPTATIONS OF CRICETINAE SPECIES TO THE WINTER PERIOD

Ushakova Maria V., Surov Alexey V.

Severtsov Institute of ecology and evolution Russian Academy of Science. Moscow, Russia
e-mail: ushakovam@gmail.com

Study of winter ecological adaptations is important for both the estimation of body reserves in mammals in general and the search for the ways to increase the coldstress resistance in humans. Winter is the most crucial period in life for many mammalian species. There are different strategies to survive during cold seasons which include fattening, fur enrichment, gathering in groups, and digging deeper burrows before winter starts. One of such strategies – different modes of hibernation. The true hibernation is known in ground squirrels, marmots, bats, hedgehogs etc.

We investigated the adaptivity of temperature dynamic strategies in model group of small mammals - Cricetinae, Rodentia. We measured the body temperature dynamics of 8 species of Palaearctic hamsters during 2008-2011 winter seasons using temperature recording devices implanted into the peritoneal cavity. Animals were kept in natural photoperiod and temperature at the Chernogolovka biological station of SIEE RAS (Moscow region) in single cages with nest material and food ad libitum. However they couldn't dig their own burrows in the cages and lived in the wooden boxes. The species under study were *Phodopus campbelli*, *Ph.sungorus*, *Ph.roborevskyi*, *Cricetulus barabensis*, *Cr.longicaudatus*, *Allocrietulus eversmanni*, *All.curtatus*, *Mesocricetus raddei*. During true hibernation, the body temperature decreases to about $+1 - +7^{\circ}\text{C}$ for more then 12 hours, during daily torpor the body temperature decreases not so low and lasts less then 12 hours.

So we found out 3 different ways of hamster's adaptations to the cold season.

True hibernation observed at all experimental individuals of *M. raddei* with the body temperature decreases to about $+5^{\circ}\text{C}$ for more then 48 hours (1). Animals did not warm up during severe frosts and died. The animals of genus *Allocrietulus* could hibernate, but some individuals did not hibernate at all or did it irregularly. It is predictable that the duration of hibernation phase correlates with the ambient temperature ($R=0,418$, $n=32$, $p=0,017$), - if the temperature decreases the animal cooling down faster and it should begin to warm up faster for not to die (2). They never hibernated when outside temperature was lower than -10°C and were active. Some could fall into torpor. So, they are more ecologically labile compare to *M.raddei*.

All other species of small hamsters did not hibernate at all, but in some *Phodopus* and *Cricetulus* individuals we observed daily torpor (3). No specific combinations of conditions causing torpor was identified. Apparently, it is determined by some individual characteristics. However torpors were the most frequent in January, at temperatures from -15 to -5°C ; their depth was positively correlated with the ambient temperature. Since torpor is a rare event, it is assumed to be a stored resource of the body allowing it to save energy and occurring only in extreme situations. *Phodopus* species even could give birth in winter time. We observed pregnant djungarian hamster female in nature in Feb.

So, the data we have obtained are the evidence of the three strategies of thermoregulation: obligate hibernation, optional hibernation and daily torpor. We explain these strategies by the differences in species body masses and food availability in nature. The bigger animals need more energy to save heat during the cold season. The food for small hamsters is available all over the year, for bigger hamsters food resources are more limited and usually time to fall.

References

1. Ушакова М.В., Суров А.В., Чунков М.М-Р., Омаров К.З. (2011). Особенности зимней биологии хомяка Радде *Mezocricetus raddei*. Материалы конференции "Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа" Ереван. Армения.: 303-305
2. Ушакова М.В., Феоктистова Н.Ю., Петровский Д.В., Гуреева А.В., Найденов С.В., Суров А.В. (2010). Особенности зимней спячки хомячка Эверсмана (*Allocrietulus eversmanni*, Brandt, 1859) из Саратовского заволжья. Поволжский экологический журнал. 4: 415-422
3. Ushakova M.V., Kropotkina M.V., Feoktistova N.Yu., Surov A.V. (2012). Daily Torpor in Hamsters (Rodentia, Cricetinae). Russian Journal of Ecology, Vol. 43, 1: 62–66.

АДАПТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ И РЕАКЦИЯ ЦИСТ СОВРЕМЕННЫХ И ИСКОПАЕМЫХ АРКТИЧЕСКИХ ИНFUЗОРИЙ *COLPODA STEINII* (COLPODEA, CILIOPHORA) НА НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС

Шатилов А.В.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия
e-mail: nastya.shat@rambler.ru

Сообщества организмов, выделенных из многолетнемёрзлых пород восточной Арктики, обладают малоизученной стратегией сохранения жизнеспособности в геологическом масштабе времени. Большинство обнаруженных ископаемых простейших способны формировать криптобиотическую стадию, цисты покоя - особые морфологические структуры, устойчивые к неблагоприятным воздействиям. Вероятно, цисты простейших, сохранившие жизнеспособность в условиях вечной мерзлоты, имеют особые адаптивные механизмы, позволившие им благополучно перенести сверхдлительный анабиоз.

Целью настоящего исследования было сравнить ответ и адаптации цист ископаемых и современных арктических инфузорий на стрессовые воздействия высушивания, периодического переохлаждения и замораживания.

Исследовали клональные культуры *Colpoda steinii*, полученные из образцов: 1) современной тундровой мерзлотно-глеевой почвы, 2) многолетнемёрзлых голоценовых отложений, возраст которых составлял 1-3 тыс. лет, 3) многолетнемёрзлой позднеплейстоценовой погребенной почвы, радиоуглеродный возраст которой составлял 32 тыс. лет. В ходе эксперимента предварительно высушенные или хранящиеся в жидкой минеральной среде цисты инфузорий подвергали периодическому переохлаждению до -5°C (42 цикла) и замораживанию до -20°C (8 циклов) без применения криопротекторов. Диагностическими критериями для распознавания живых и мёртвых клеток были избраны: способность цист к эксцитированию, состояние проницаемости цитоплазматической мембраны, изменение морфологии и ультраструктуры клеток. Повреждения мембран выявляли методом Live-Dead окрашивания с использованием флуоресцентных красителей акридинового оранжевого (АО) и пропидиум йодида (PI). Применение этого метода позволяло наблюдать в цистах явления некроза и репарации.

Установлено, что длительное повторяющееся воздействие низких температур на цисты инфузорий вызывает не только ожидаемую гибель части клеточной культуры, но и активацию процессов, направленных на устранение или снижение степени внутриклеточных повреждений. Комплекс этих реакций, проходящих в покоящихся клетках, обеспечивает адаптацию инфузорий к изменившимся условиям жизни и сохранение жизнеспособности части популяции. Ограничивающим фактором такой метаболической активности было содержание доступной воды в цистах. Сравнительный анализ показал, что цисты ископаемых цилиат *Colpoda steinii* хуже адаптированы к стрессу высушивания, периодического переохлаждения и замораживания - оттаивания, чем цисты современных тундровых инфузорий того же вида.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

RESPONSE AND ADAPTIVE STRATEGIES OF CYSTS OF MODERN AND ANCIENT ARCTIC CILIATES *COLPODA STEINII* (COLPODEA, CILIOPHORA) TO COLD STRESS

Shatilovich A.V.

Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science,
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
e-mail: nastya.shat@rambler.ru

Communities of organisms isolated from the eastern Arctic permafrost have the little-known strategy of the cell survival over geologically long time. Most of the viable ancient protists are capable to form cryptobiotic stages, resting cysts - morphological structures that are resistant to adverse effects. Protozoa cysts, conserved in permafrost (at stably low temperatures, without water and oxygen), are believed to have special adaptive mechanisms that allow them to survive during extremely long cryptobiosis.

The objective of this study was to investigate the response and adaptation of cysts of ancient and modern Arctic ciliates on stress of drying and repeated freeze-thaw cycles.

We investigated clonal cultures *Colpoda steinii*, obtained from the samples: 1) modern tundra gley soils, 2) Holocene permafrost sediments whose age was 1-3 thousand years, and 3) Late Pleistocene permafrost buried soil, radiocarbon age which was 32 thousand years. In the experiment, dried and stored in liquid mineral medium cysts of ciliates were exposed to periodic cooling to -5° C (42 cycles) and freezing at -20° C (8 cycles) without cryoprotectors. Diagnostic criteria for recognition of living and dead cysts were chosen: the ability to **excystment**, the permeability changes in the cytoplasmic membrane, changes in morphology and ultrastructure of cells. Membrane damage was revealed by Live-Dead staining using fluorescent dyes acridine orange (AO) and propidium iodide (PI). This method was applied to observe necrosis and repair processes in the cysts.

It is found that prolonged and repeated exposure of low temperatures on cysts of ciliates leads to not only the death of part of the cell culture, but also the activation of processes aimed at eliminating or reducing of intracellular damage. The set of the reactions taking place in resting cysts, provides the ciliates adaptation to the changing conditions of life and preservation of the viable part of population. The limiting factor of this metabolic activity was the amount of available water in the cysts.

We showed that the cysts of ancient ciliates *Colpoda steinii* are adapted to the stress of drying, repeated freeze-thaw cycles and hypothermia less than the cysts of modern tundra ciliates of the same species.

ЭКОСИСТЕМА МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ. АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ АМЕБОИДНЫХ PROTISTA К ИЗМЕНИВШИМСЯ УСЛОВИЯМ ПРИ ОТТАИВАНИИ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Шмакова Л.А., Шатилов А.В., Ривкина Е.М., Гиличинский Д.А.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия
e-mail: lushmakova@gmail.com

В условиях стабильной отрицательной температуры, радиации, отсутствии доступной жидкой воды и кислорода в многолетнемерзлых отложениях Арктики на протяжении геологически значимого периода времени сохраняются живые прокариотические и эукариотические организмы и продукты их метаболизма. Таким образом, вечная мерзлота является частью криобиосферы Земли (1). Огромная масса живых организмов законсервирована в толщах мерзлоты и во время локального оттаивания мерзлых массивов, например при разрушении береговой линии Ледовитого океана, рек и озер, в результате процесса термокарста в современный биологический круговорот поступают организмы вышедшие из длительного криптобиоза (2).

В последние десятилетия наблюдается тенденция к повышению температуры многолетнемерзлых отложений, а, следовательно, закономерно ожидать масштабное интегрирование древней биоты в современные экосистемы.

Среди прочих организмов, успешно переживаемых длительную криоконсервацию в мерзлоте и способных полностью восстановить активную жизнедеятельность, в лабораторных условиях, идентифицированы гетеротрофные протисты разных морфологических групп: амебоидные протисты, жгутиконосцы и инфузории (3). Все выделенные простейшие являются обычными для современных мест обитания и выделяются из современных тундровых почв. Стратегией, позволяющей им переживать циклы промерзания и оттаивания, является образование специфических криптобиотических стадий жизненного цикла (цист покоя) на время неблагоприятных условий. В благоприятных условиях происходит их эксцистирование, питание и размножение. Среди амебоидных протист, выделенных из мерзлых образцов голоценового и позднелайстоценового возраста были идентифицированы представители родов *Acanthamoeba*, *Flemella*, *Acramoeba*, *Vanella* (*Gimnamoeba*). Трофозиты выделенных амеб имеют небольшие размеры до 30 мкм, в жизненном цикле присутствует стадия цисты покоя. Чаще всего встречались представители рода *Acanthamoeba*, наиболее древние из выделенных акантамеб пребывали в состоянии криптобиоза 38000 лет. Нам не удалось обнаружить значимых отличий в морфологии, физиологии и последовательностях 18S ДНК древних и современных штаммов акантамеб. Мы считаем, что переход в сверхдлительный криптобиоз амебоидных протист и успешный выход из него обеспечивают механизмы инцистирования и эксцистирования.

Не вызывает сомнения то, что и при естественном оттаивании мерзлотных толщ, древние протисты успешно встраиваются в современные экосистемы тундровых ландшафтов. При развитии сценария глобального потепления они так же найдут свои ниши в изменяющихся экосистемах

Литература

1. Gilichinsky DA, Rivkina EM (2011) Permafrost microbiology. Encyclopedia of Geobiology, eds Reitner J, Thiel V (Springer, New York), pp 726–732.
2. Vorobyova, E. Soina, V. Gorlenko, M. Minkovskaya, N. Zalinova, N. Mamukelashvili, A. Gilichinsky, D. Rivkina, E. Vishnivetskaya, T. (1997) The deep cold biosphere: Facts and hypothesis. FEMS Microbiol Rev 20:277–290.
3. Шатилов А.В., Л.А. Шмакова, С.В. Губин, Д.А. Гиличинский (2010) Жизнеспособные простейшие в вечной мерзлоте Арктики. Криосфера Земли, т. XIV, № 2, с. 69–78

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PERMAFROST ECOSYSTEMS. ADAPTIVE STRATEGIES OF AMOEBOID PROTISTA TO CHANGING CONDITIONS OF THE THAWING PERMAFROST

Shmakova L.A., Shatilovich A.V., Rivkina E.M., Gilichinsky D. A.

Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science,
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
e-mail: lushmakova@gmail.com

Eucaryotic and procaryotic microorganisms survive in Arctic permafrost over geological time in the conditions of constant negative temperature, radiation, absence of liquid water and oxygen. Thus, permafrost is a part of the Earth's cryobiosphere (1). A huge mass of viable microorganisms and products of their metabolic activity are preserved in permafrost sediments. During permafrost thawing due to anthropogenic or natural factors (erosion of sea, river and lake coastlines; thermocarst processes), ancient biota gets re-involved into the modern ecosystem after a long period of cryptobiosis (2).

In the last decade, there has been a trend for an increase in permafrost temperature. Consequently, a massive re-integration of the ancient biota into modern ecosystems may be expected.

Among other microorganisms that survive long-term cryoconservation in permafrost and that are capable of fully regaining their metabolic activity, we have isolated heterotrophic protists. They belong to different morphological groups – amoebas, ciliate, flagellate (3). All identified species are commonly found in modern tundra soils. Amoeboid protists isolated from the permafrost belong to the genii *Acanthamoeba*, *Flamella*, *Vanella*, *Acramoeba*. All amoebas have trophozoite of a small size (10-30 mkm). Their life cycle includes a phase of cryptobiotic state, that is, resting cyst. The *acanthamoeba* species were isolated more often than the others. The oldest *Acanthamoeba* strain is dated at 38,000 years. We did not find any substantial differences in the morphology, physiology and 18S DNA-sequences between the ancient and modern *acanthamoebas*.

We believe that transition of Amoeboid protists to a long-term cryptobiosis and their return to an active metabolic state during permafrost thawing is achieved through the encysting and excysting mechanisms. It appears that during natural thawing of the permafrost, ancient protists successfully integrate into modern tundra ecosystems. Should climate change follow a global warming scenario, they too will find their niche in the changing ecosystems.

References

1. Gilichinsky DA, Rivkina EM (2011) Permafrost microbiology. Encyclopedia of Geobiology, eds Reitner J, Thiel V (Springer, New York), pp 726–732.
2. Vorobyova, E. Soina, V. Gorlenko, M. Minkovskaya, N. Zalinova, N. Mamukelashvili, A. Gilichinsky, D. Rivkina, E. Vishnivetskaya, T. (1997) The deep cold biosphere: Facts and hypothesis. FEMS Microbiol Rev 20:277–290.
3. Shatilovich A.V., Shmakova L.A., Gubin S.V., Gilichinsky D.A. (2010) Viable protists in Arctic permafrost. Earth's Cryosphere, т. XIV, № 2, pp 69–78

ГЕНОМНАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У ОБЫКНОВЕННОЙ ПОЛЕВКИ *MICROTUS ARVALIS* OBSCURUS ВБЛИЗИ СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЫ АРЕАЛА

Ялковская Л.Э., Маркова Е.А.

Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской Академии Наук, Екатеринбург, Россия
e-mail: lida@ipae.uran.ru

Актуальность эколого-генетических исследований на границах видовых ареалов определяется теоретической и практической значимостью выявления механизмов адаптационного процесса в периферийных популяциях (Pérez-Tris et al., 2000; Holt, 2003; Kawecki, 2008; Price, Kirkpatrick, 2009), а также необходимостью моделирования ответа природных популяций в условиях все возрастающего антропогенного воздействия на местообитания и климат (Sexton et al., 2009).

У обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*, кариоформа *obscurus*) в пределах Уральского региона сопоставлены показатели геномной и морфологической изменчивости в популяциях вблизи северной границы распространения и ряде точек на основном ареале. Исследования проведены в 12 локалитетах (51°07'–60°38' СШ 53°28'–62°08' ВД), два из которых расположены к северу от 60° с.ш. – северный предел распространения вида. Видовую принадлежность полевок группы «arvalis» определяли цитогенетическим методом по метафазным клеткам костного мозга. Характеристиками геномной изменчивости служила частота клеток с хромосомными aberrациями, наличие хромосомного полиморфизма, в частности, гетероморфизм 5-й аутосомы и встречаемость самок с кариотипом X0, известные для данного вида на Урале и в других регионах (Akhverdyan et al., 1999; Gileva et al., 2005). В качестве показателей морфологической изменчивости рассматривали степень усложнения жевательной поверхности зубов, их билатеральную асимметрию с использованием морфотипического подхода, встречаемость редких и aberrантных морфотипов зубов (Markova et al., 2010).

На северном пределе распространения на Урале обыкновенная полевка приурочена к открытым местообитаниям и наиболее многочисленна близ поселений человека, тогда как в зональных типах ландшафтов (северная тайга) не встречается. Морфотипическая структура изменчивости зубов *M. arvalis* была в целом сходной с таковой в популяциях на Северном, Среднем и Южном Урале: основными морфотипами МЗ были вариации *typica* и *duplicata*, m1 – морфотип I, наиболее типичный для данного вида. Редкие морфотипы зубов обнаружены не были. Отсутствовали также aberrантные морфотипы, либо аномалии в строении зубной системы, что характерно в целом для уральских популяций вида (Markova et al., 2010). Доля животных с асимметричными сочетаниями морфотипов была невысокой – 21%; сходный уровень морфотипической асимметрии выявлен также и в популяциях на Среднем и Южном Урале.

Частота хромосомных aberrаций у обыкновенной полевки в локалитетах, расположенных на северной границе ареала, была сопоставима с таковой в популяциях Среднего и Южного Урала. На северном пределе распространения не обнаружено носителей гетероморфизма по 5-й аутосоме. В одном из северных локалитетов обнаружена самка с кариотипом X0, однако наличие единичных особей с таким кариотипом отмечено и в других локалитетах, в частности, на Среднем Урале (Gileva et al., 2005).

Таким образом, в популяциях *M. arvalis* вблизи северной границы распространения не выявлено повышения концентрации редких генетических признаков и мутаций. Уровень стрессированности периферийной популяции (по геномным параметрам) не превышает такового в популяциях в пределах основной части ареала. Морфотипическое разнообразие зубов и доля животных с асимметричными сочетаниями морфотипов в целом сходны с таковыми в популяциях этого вида на Урале. Полученные данные по изменчивости фенотипических и генетических признаков обыкновенной полевки на периферии видового ареала свидетельствуют об отсутствии сдвигов, позволяющих предполагать изменение направления действия отбора на границе ареала по сравнению с его основной частью. На основании анализа морфологической изменчивости и цитогенетических данных можно сделать вывод об отсутствии краевого эффекта в изученных периферийных популяциях *M. arvalis* на Северном Урале.

Работа выполнена при поддержке РФФИ грант №10-04-96101 и грантом НШ-5325.2012.4.

Литература

1. Akhverdyan M.R., Lyapunova E.A., Vorontsov N.N., Teslenko S.V. (1999). Intrapopulation autosomal polymorphism in the common vole *Microtus arvalis* of Transcaucasian region. *Russian Journal of Genetics*. 35(12): 1452–1463.
2. Gileva E.A., Yalovskaya L.E., Polyavina O.V., Bol'shakov V.N. (2005). Common voles of the *Microtus arvalis* group in Urals: genome instability and chromosomal polymorphism. *Dokl. Biol. Sci.* 405 (5): 699–701.
3. Holt R.D. (2003). On the evolutionary ecology of species ranges. *Evol. Ecol. Res.* 5: 159–178.
4. Kawecki T.J. (2008). Adaptation to marginal habitats. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 39: 321–342.
5. Markova E.A., Malygin V.M., Montuire S., Nadachowski A., Quéré J.-P., Ochman K. (2010). Dental Variation in Sibling Species *Microtus arvalis* and *M. rossiaemeridionalis* (Arvicolinae, Rodentia): Between-Species Comparisons and Geography of Morphotype Dental Patterns. *Journal of Mammalian Evolution*. 17 (2): 121–139.
6. Pérez-Tris J., Carbonell R. & Tellería J.L. (2000). Abundance distribution, morphological variation, and juvenile condition of robins *Erithacus rubecula* in their Mediterranean range boundary. *Journal of Biogeography*. 27: 879–888.
7. Price T.D., Kirkpatrick M. (2009). Evolutionarily stable range limits set by interspecific competition. *Proc. R. Soc. London Ser. B*. 276: 1429–1434.
8. Sexton J.P., McIntyre P.J., Angert A.L., Rice, K.J. (2009). Evolution and ecology of species range limits. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40: 415–436.

GENOMIC AND MORPHOLOGICAL VARIATION IN *MICROTUS ARVALIS* OBSCURUS AT THE NORTHERN LIMIT OF ITS DISTRIBUTION IN THE URALS

Yalkovskaya L.E., Markova E.A.

Institute of plant and animal ecology, the Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia
e-mail: lida@ipae.uran.ru

Ecological and genetic studies at margins of a species range have both theoretical and practical implications. Theoretical issues are related to the origin and functioning of the mechanisms of adaptedness in peripheral populations to their conditions of existence, and the practical ones are concerned with predicting the responses of populations to human-driven habitat transformation and range shifts (Pérez-Tris et al., 2000; Holt, 2003; Kawecki, 2008; Price, Kirkpatrick, 2009; Sexton et al., 2009).

Genomic and morphological variation is studied in common vole (*Microtus arvalis*, obscurus karyotypic form) at the northern limit of its distribution in the Urals. 12 localities are studied (51°07'–60°38'N 53°28'–62°08'E). Among them, the two localities represent the most northern populations of the species known in the Urals (Northern Urals, above 60°N). *M. arvalis* obscurus is identified based on karyological data. To assess genomic variation, we study frequencies of chromosome aberrations in metaphases of bone marrow cells, chromosome polymorphism in autosomes of the 5th pair, and presences of females with karyotype XO known in the populations of the species (Akhverdyan et al., 1999; Gileva et al., 2005). Morphological variation was analyzed based on dental complexity, bilateral asymmetry of morphotype dental patterns, and frequency of rare morphs and dental aberrations (Markova et al., 2010).

At the northern limit of its distribution in the Urals, the common vole is confined to anthropogenically transformed biotopes around human settlements and does not occupy zonal types of habitats (northern taiga zone). Peripheral populations do not differ significantly from those in the Middle and Southern Urals with respect to morphotype dental patterns: basic morphs of M3 are represented by typica and duplicata, and morphotype I of m1 is over-dominating in all populations. No rare morphs or dental aberrations are found in the marginal populations. Proportion of individuals with asymmetric dental patterns is about 21%, thus is comparable to non-peripheral populations.

The frequency of chromosome aberrations in common vole in the localities at the northern range limit is comparable to that in populations occurring in the Middle and Southern Urals. No heteromorphism involving the 5th pair of autosomes is found in the peripheral localities. One female with karyotype XO is found in one of the peripheral localities, however the presence of single individuals with karyotype XO is known in other Uralian localities, in particular in the Middle Urals (Gileva et al., 2005).

Thus, the peripheral populations of *M. arvalis* in the Urals exhibit no genetic specificity. The level of stress (based on genomic data) is not higher at the northern distribution limit than in the main part of the species range. Morphologically, the northern peripheral populations are similar to those occurring in the Middle and Southern Urals. Our results suggest that there is neither genetic nor morphological shift found in the populations of common voles occurring at the northern limit of the species distribution in the region. The results allow us to conclude that there is no range-edge effect revealed in *M. arvalis* at the northern limit of its distribution in the Urals.

Acknowledgments: Supported by RFBR (grant №10-04-96101) and the grant for support of the Leading Scientific Schools of Russia (5325.2012.4).

References

1. Akhverdyan M.R., Lyapunova E.A., Vorontsov N.N., Teslenko S.V. (1999). Intrapopulation autosomal polymorphism in the common vole *Microtus arvalis* of Transcaucasian region. *Russian Journal of Genetics*. 35(12): 1452–1463.
2. Gileva E.A., Yalkovskaya L.E., Polyavina O.V., Bol'shakov V.N. (2005). Common voles of the *Microtus arvalis* group in Urals: genome instability and chromosomal polymorphism. *Dokl. Biol. Sci.* 405 (5): 699–701.
3. Holt R.D. (2003). On the evolutionary ecology of species ranges. *Evol. Ecol. Res.* 5: 159–178.
4. Kawecki T.J. (2008). Adaptation to marginal habitats. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 39: 321–342.
5. Markova E.A., Malygin V.M., Montuire S., Nadachowski A., Quéré J.-P., Ochman K. (2010). Dental Variation in Sibling Species *Microtus arvalis* and *M. rossiaemeridionalis* (Arvicolinae, Rodentia): Between-Species Comparisons and Geography of Morphotype Dental Patterns. *Journal of Mammalian Evolution*. 17 (2): 121–139.
6. Pérez-Tris J., Carbonell R. & Tellería J.L. (2000). Abundance distribution, morphological variation, and juvenile condition of robins *Erithacus rubecula* in their Mediterranean range boundary. *Journal of Biogeography*. 27: 879–888.
7. Price T.D., Kirkpatrick M. (2009). Evolutionarily stable range limits set by interspecific competition. *Proc. R. Soc. London Ser. B*. 276: 1429–1434.
8. Sexton J.P., McIntyre P.J., Angert A.L., Rice, K.J. (2009). Evolution and ecology of species range limits. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40: 415–436.

THE FIRST POLISH RECORD OF *BATRACHIUM* × *FELIXII* EVIDENCED BASED ON MOLECULAR ANALYSIS

Magdalena Jopek, Joanna Zalewska-Gałosz

Institute of Botany of Jagiellonian University, Krakow, Poland
e-mail: surowkamagdalena@gmail.com

Interspecific hybridization is an important source of plant diversity. In some cases hybridization can result in formation of stabilized hybrids (1), which are often vigorous and long-persistent, even in the absence of one or both parental species (2,3). Also in genus *Batrachium* interspecific hybridization is one of the important factors shaping taxonomic diversity. Unfortunately morphological identification of *Batrachium* hybrids is difficult and often debatable. Molecular tools, recently commonly applied also in taxonomy, allow more efficiently tests of the origin of different morphotypes and track the hybridization events in *Batrachium* history. In a light of the current state of knowledge *Batrachium* × *felixii* is a hybrid between *B. trichophyllum* and *B. circinatum*. The hybrid distribution is limited to Asia and Russian part of Europe. During the present study putative *Batrachium* × *felixii* individual from Poland together with set of potential parental species were molecularly analyzed. The hybrid origin was confirmed by direct sequencing of nuclear (ITS) and two chloroplast regions: *rpl32-trnL* and *rps12-rpl20* intergenic spacers. Additionally PCR-RFLP of ITS region was also performed. Study proved that *B. ×felixii* occurs in Poland and therefore its distribution can be wider than it was expected until now.

Acknowledgements: The study was financially supported by National Science Centre, decision no DEC-2011/01/B/NZ8/00099.

References

1. Kaplan Z. (2010): Hybridization of *Potamogeton* species in the Czech Republic: diversity, distribution, temporal trends and habitat preferences. – *Preslia* 82: 261–287.
2. Preston C. D., Hollingsworth P. M. & Gornall R. J. (1998): *Potamogeton pectinatus* L. × *P. vaginatus* Turcz. (*P. ×bottnicus* Hagstr.), a newly identified hybrid in the British Isles. – *Watsonia* 22: 69–82.
3. Zalewska-Gałosz J., Ronikier M. & Kaplan Z. (2010): Discovery of a new, recurrently formed *Potamogeton* hybrid in Europe and Africa: molecular evidence and morphological comparison of different clones. – *Taxon* 59: 559–566

TESTING SEX AND VIABILITY OF *RUMEX ACETOSA* SEEDS

Mizia Patryk, Kwolek Dagmara, Cygan Magdalena, Joachimiak Andrzej

Department of Plant Cytology and Embryology, Institute of Botany, Jagiellonian University
Grodzka, Kraków, Poland
e-mail: patryk.mizia@uj.edu.pl

One of the most interesting and intensively studied phenomenon in population genetics of dioecious plants is the deviation from a balanced gender proportion. In herbaceous species with developed chromosomal sex determination the observed sex ratio is most often female-biased (Correns 1928, Rychlewski & Zarzycki 1986, Korpelainen 2002, Kwolek & Joachimiak 2011). Many pre- and postzygotic mechanisms for this phenomenon were suggested, but majority of authors agree that the reduced proportion of males in populations is related to the genetic degeneration of male sex chromosomes (Y chromosomes).

It was shown that in populations of *Rumex acetosa* (XX/XY₁Y₂ sex chromosome system) female-biased sex ratios gradually develops as the life stages proceed (Błocka et al. 2007), but the role of the reduced viability and/or abortion of male embryos in this process has not been satisfactorily explained. Our investigation focused on the determination of sex (PCR with primers for male-specific sequences RAYSI and RAYSII) and viability (tetrazoline test) of seeds in this model dioecious species.

References

1. Błocka-Wandas M., Sliwińska E., Grabowska-Joachimiak A., Musiał K., Joachimiak A.J. 2007. Male gametophyte development and two different DNA classes of pollen grains in *Rumex acetosa* L., a plant with an XX/XY₁Y₂ sex chromosome system and female-biased sex ratio. *Sex. Plant Reprod.* 20: 171-180.
2. Correns C. 1928. Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. Bornträger, Berlin, Germany.
3. Korpelainen H. 2002. A genetic method to resolve gender complements investigations on sex ratios in *Rumex acetosa*. *Mol. Ecol.* 11: 2151-2156.
4. Kwolek D, Joachimiak A.J. 2011. Seed sexing revealed female bias in two *Rumex* species. *Acta Soc. Bot. Pol.* 80, *in press*.
5. Rychlewski J., Zarzycki K. 1986. Genetical and ecological mechanisms regulating the sex ratio in populations of *Rumex thyrsiflorus* Fingerh. (*Polygonaceae*). *Veroff. Geobot. Inst. ETH* 87: 132-140

АДАПТАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ В ПОЛУГODOVЫХ И 11-ЛЕТНИХ ЦИКЛАХ СОЛНЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ

¹Вишневский В.В., ²Рагульская М.В., ²Руденчик Е. А.

¹ Институт проблем математических машин и систем, Украина, Киев

² Институт земного магнетизма и распространения радиоволн, Россия, Москва
e-mail: ramary2000@yahoo.com

Обычно в распоряжении исследователей адаптационных технологий живых систем имеются либо данные одновременных измерений по однородной статистической группе изучаемых объектов (так называемые поперечные измерения), либо данные динамических измерений с меняющимися объектами изучения (стандартные данные медицинской статистики). Такие массивы данных в силу своей особенностей своей подборки априори существенно линеаризуют исследуемую динамическую задачу. Однако, когда длительное время исследуется изменение медицинских параметров одного и того же человека относительно самого себя, безусловно существует память единого организма относительно его предыдущего состояния, и каждое следующее состояние зависит от его предыстории. Т. е. получаемые в длительных мониторингах ряды медицинских данных не являются статистически независимыми, а полученные закономерности адекватно описываются только уравнениями нелинейной динамики. Таким образом, данные длительных мониторинговых многолетних измерений постоянных индивидуумов или биообъектов других уровней организации биосферы (продольные измерения) требуют специальных статистических подходов и позволяют выявить существенно нелинейные процессы адаптации живых систем к различным факторам внешней среды.

В докладе представлены результаты длительного научного гелиофизического мониторинга «Гелиомед» физиологических параметров организма человека и окружающей среды на базе распределенной по различным городам телекоммуникационной сети научных центров, работающих на едином оборудовании и по единому протоколу исследований с он-лайн регистрацией текущих данных на едином портовом сервере. Общая база данных – более 60 000 измерений, 2003-2010 гг. И мониторинговых измерений ИЗМИРАН 1998-2012 гг (более 500 000 измерений). Исследования проводятся на 3х уровнях организации биосферы: уровне клеточных структур, уровне организма человека, уровне этноса.

Выявлено, что статистическое распределение рядов медико- биологических параметров постоянных обследуемых за цикл солнечной активности (СА):

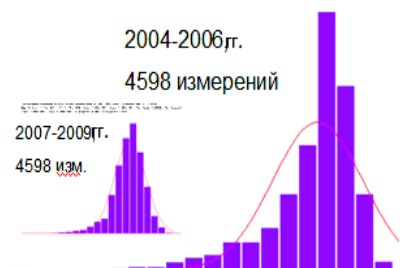
- Существенно отличается от нормального
- Варьируется по годам в зависимости от фазы СА (рис.1)
- Мах. приближенными к нормальному (гауссовскому)

распределению являются медицинские параметры периода минимума СА

Доказано существование нескольких фиксированных универсальных индивидуальных программ адаптации к космогеофизическим факторам. На базе данных полного периода солнечной активности рассмотрены особенности индивидуальных адаптационных реакций в зависимости от сезона года и фазы цикла солнечной активности. Найденная сезонная закономерность чередования систем управления типа «сеть» и типа «пирамида» сохраняется в индивидуальных данных за 23й солнечный цикл с максимумом 2000-2001 гг и минимумом 2006-2009 гг. Наши исследования показывают наличие динамики и полугодовых волн степени внутренней связанности организма, проявляющиеся максимумами в осенне-весенний период и минимумами в летне-осенний. Возможно, именно этим фактором (в сочетании с недостаточностью адаптационных резервов отдельных членов человеческой популяции в осенне-весенний период и максимальным среднегодовым количеством магнитовозмущенных дней в периоды равноденствия) и вызваны сезонные обострения хронических заболеваний.

Рассмотрена роль шумов в задаче адаптационных изменений и обеспечении устойчивости биологических систем. На базе результатов совокупного анализа нелинейной динамики сердца и поведения эталонных клеточных структур высказано предположение, что наблюдаемые нелинейные адаптационные механизмы являются атавистическими проявлениями эволюционной адаптации древних экосистем в период существенно нелинейной активности древнего Солнца 3,8 - 4 млрд. лет назад.

Работа поддержана Программой № 28 «Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем» и российско-болгарским проектом «Гео-сол».



Литература

1. Коллективная монография «Биотропное воздействие космической погоды» под редакцией М. В. Рагульской. 2010 г, Санкт- Петербург, Из-во « ВВМ», 312 стр.
2. Рагульская М.В., Руденчик Е. А., Зукакишвили Е. Г. Особенности статистической обработки мониторинговых рядов данных (по результатам гелиомедицинского эксперимента ИЗМИРАН 1998-2011 гг). «Солнечная и солнечно-земная физика», Пулково, октябрь 2011, стр. 76-77

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИСТОСТРУКТУРЫ КОСТНОЙ ТКАНИ ДОННЫХ И ПЕЛАГИЧЕСКИХ ВИДОВ БАЙКАЛЬСКИХ COTTOIDEI

¹Толмачева Ю.П., ²Бун М.М.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт
Сибирского отделения РАН, Иркутск, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального
образования «Ангарская государственная техническая академия», Ангарск, Россия
e-mail: tjul78@mail.ru

Исследование адаптивной эволюции байкальских Cottoidei представляет интерес в связи с особыми свойствами экосистемы озера Байкал, связанными с его древностью, разнообразием субаквальных ландшафтов и наличием больших групп близкородственных видов. В зависимости от особенностей биотопического распределения, кottoидные рыбы подразделяются на несколько экологических групп (донные, бентопелагические и пелагические), две последних являются вторичнопелагическими, т.е. произошли от предковых донных форм (Талиев, 1955; Сиделева, Козлова, 2010). Вследствие перехода к пелагическому образу жизни в процессе эволюции рыбы выработали ряд приспособлений, позволяющих им обитать в толще воды, в том числе и облегчение скелета вследствие уменьшения его минерализации (Сиделева, Козлова, 2010). Настоящая работа посвящена исследованию гистоструктуры костной ткани байкальских кottoидных рыб, относящихся к различным биотопическим группам.

Материалом для настоящего исследования послужили остеологические препараты челюстных костей 3 видов байкальских кottoидных рыб, принадлежащих к трем различным биотопическим группам: 1) бентические (прибрежные): *Batrachocottus baicalensis* (Dybowski, 1874); 2) бентопелагические: *Cottocomephorus inermis* (Jakowlew, 1890); 3) пелагические: *Comephorus baicalensis* (Pallas, 1776). Исследование гистологических структур костной ткани челюстного аппарата проведено по стандартной методике (Меркулов, 1969). Морфометрический анализ препаратов проводился с использованием бинокулярного светового микроскопа производства С. Zeiss (увеличение 125) и программного обеспечения анализа изображений ImageScope Color (Москва, 2008).

Проведенный гистологический анализ позволил установить, что общий тип микроструктуры костной ткани челюстного аппарата у исследуемых видов сходен и представлен грубоволокнистой тканью, характерной для костных рыб (Meunier, Desse, 1986). В местах контакта костей сохраняются уплотненные участки хрящеподобной ткани. Поверхность каждой кости образована компактной структурой, под которой располагаются костные полости, соединенные анастомозами и образующие единую сетчатую систему (рисунок). Внутри полостей отмечены остатки остеобластов, которые разрушаются при подготовке препарата. Специфические особенности в строении костной ткани, в основном, были отмечены у представителей пелагической группы (рис. А). Площадь сетчатой структуры по продольному срезу у *Comephorus baicalensis* в среднем составляла 65.1% (от общей площади среза), в то время как у донных и бентопелагических видов данная величина была существенно ниже 43.1 и 45.5%, соответственно (рис. Б). Очевидно, что уменьшение плотности костей у пелагических видов является одним из способов облегчения скелета, связанных с приспособлением к обитанию в пелагиали.

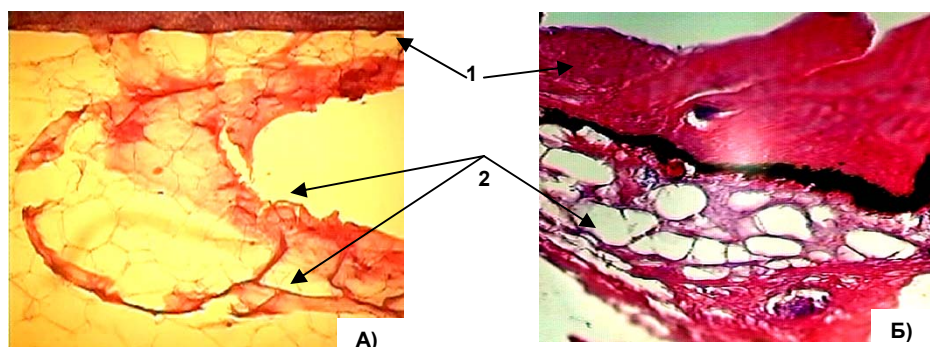


Рис. Гистроструктура сочленовой кости anguloarticularе А) *Batrachocottus baicalensis*: Б) *Comephorus baicalensis*. 1- компактная ткань, 2- костные полости. Увеличение x125.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-3457.2011.4 «Исследование биомеханических основ преобразования челюстного аппарата рыб на основе применения 3D конечно-элементной модели».

Литература

1. Меркулов Г.А. (1969). Курс патогистологической техники. Л.: Медицина. 423 с.
2. Сиделева В.Г., Козлова Т.А. (2010). Сравнительное изучение эндемичных кottoидных рыб (Cottoidei) в связи с их приспособлением к обитанию в пелагиали озера Байкала. // Тр. Зоол. ин-та. 4:433-447.
3. Талиев Д.Н. (1955). Бычки-подкаменщики Байкала. М.-Л.: Изд-во АН СССР. 603 с.
4. Meunier F.J., Desse G. (1986). Les hyperostose les Téléostéens: description, histolog et problèmes étiologique// Ichthyophysiol. Acta. 10: 130—141.

**АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ
ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНОГО
ПОТЕПЛЕНИЯ**

**ADAPTIVE STRATEGY OF ECOSYSTEMS
IN A GLOBAL WARMING**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

Adaptive Strategies of Living Systems

РАЗНООБРАЗИЕ ЧЕРНОЗЕМОВ, ОБУСЛОВЛЕННОЕ ПАЛЕОКРИОГЕНЕЗОМ, В УСЛОВИЯХ СОВРЕМЕННОГО КЛИМАТА

Алифанов В.М., Гугалинская Л.А.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия
e-mail: alifanov_v@mail.ru

Проблема происхождения черноземов является одной из наиболее значимых в современном почвоведении. Начало ее разработки связано с именем В.В.Докучаева (1893), интерес к проблеме сохранен и сейчас (Русский чернозем, 1983; Добровольский и др., 1992; Алифанов и др., 2010). Целью проводимых исследований являлось изучение роли процессов палеокриогенеза и процессов изменения современного климата в истории формирования черноземов заказника «Каменная степь».

Получены результаты особенностей морфогенеза почв, показывающие значительное влияние процессов палеокриогенеза на формирование и современную дифференциацию свойств черноземов. На дневной поверхности развиты структурные проявления палеокриогенеза - полигонально-блочный и слитно-полигональный типы микрорельефа. Выявлены и систематизированы палеокриогенные признаки в почвах, оказывающие влияние на процессы современного почвообразования на разных уровнях структурной организации черноземов: на уровне почвенного покрова, почвенного профиля, почвенного горизонта. Дифференциация черноземов по элементам палеокриогенного микрорельефа проявляется на уровне подтипа почв. Структура почвенного покрова в связи с этим представляет собой комплексный почвенный покров в виде кольцеобразных, ритмически повторяющихся, элементарных почвенных ареалов. Анализ многолетней динамики колебаний уровня грунтовых вод (УГВ) в черноземах Каменной степи четко показывает тенденцию их подъема (рис.). Ухудшение состояния черноземов из-за подъема

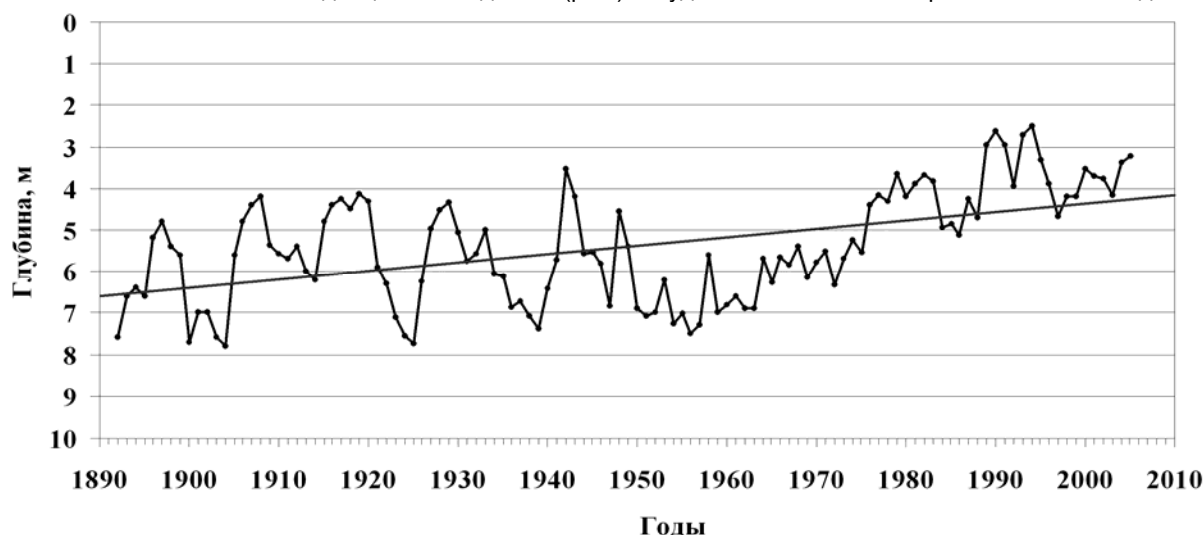


Рис. Кривая многолетнего колебания УГВ в черноземах Каменной степи

УГВ проявляется, в первую очередь, в палеокриогенных микропонижениях, поскольку именно здесь капиллярная кайма грунтовых вод максимально приближается к дневной поверхности. Поглощающий комплекс черноземов в межблочных понижениях насыщается натрием более чем на 20 % от суммы поглощенных катионов. В результате формируются черноземы солонцеватые. Структура почвенного покрова в связи с этим становится трёхкомпонентной. Современные тренды развития и функционирования черноземов вызывает сильную тревогу и озабоченность из-за ухудшения современного состояния почв. Результаты исследований следует рассматривать не только как оценку, но и прогноз влияния отдельных природных процессов по их опасному воздействию на компоненты почвенного покрова в условиях изменения климата в семиаридных территориях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (11-04-00354, 11-04-01083).

Литература

1. Алифанов В.М., Гугалинская Л.А., Овчинников А.Ю. Палеокриогенез и разнообразие почв центра Восточно-Европейской равнины. М.: ГЕОС, 2010. 160 с. + вкл.
2. Добровольский Г.В., Шишов Л.П., Щербаков А.П. Состояние, прогноз и повышение плодородия черноземов // Вестник РАСХН. 1992. №5. С.24-27.
3. Докучаев В.В. Избранные сочинения. Т.1. Русский чернозем. М., 1948. С. 25-435.
4. Русский чернозем - 100 лет после Докучаева. М.: Наука. 1983. 304 с.

THE VARIETY OF CHERNOZEMS CAUSED BY PALEOCRYOGENESIS IN THE CONDITIONS OF MODERN CLIMATE

Alifanov V. M., Gugalinskaya L.A.

Institute of physical and chemical and biological problems of soil science
of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
e-mail: alifanov_v@mail.ru

The problem of the chernozems genesis is one of the most significant in modern soil science. The beginning of its working out is connected with V.V. Dokuchaev name (1893), the interest to a problem is preserved and now (Russian Chernozems..., 1983; Dobrovolsky, etc., 1992; Alifanov, etc., 2010). The purpose of executable researches is studying of an influence of paleocryogenic processes and processes of a modern climate change in the history of formation and modern functioning of chernozems on the «Stone steppe preserve».

Results of soils morphogenesis features, showing the considerable influence of paleocryogenic processes on the formation and modern differentiation of chernozems properties are received. On a day surface the structural displays of the paleocryogenesis - polygonal-block and together-polygonal types of a microrelief are developed. Paleocryogenic signs in the soils, influencing on processes of modern soil formation at different levels of the structural organization of chernozems: at level of a soil cover, a soil profile, a soil horizon are revealed and systematized. Differentiation of chernozems on elements of paleocryogenic is shown at level of a soil subtype. In this connection the soil cover structure represents a complex soil cover in a kind of ring-shaped, uniformly repeating elementary soil areals. The analysis of perennial dynamics of a groundwater level (GWL) in chernozems on «Stone steppe preserve» accurately shows a tendency to its lifting (fig.). Deterioration of a chernozem conditions generated by the GWL-lifting is shown, first of all, in paleocryogenic interblock

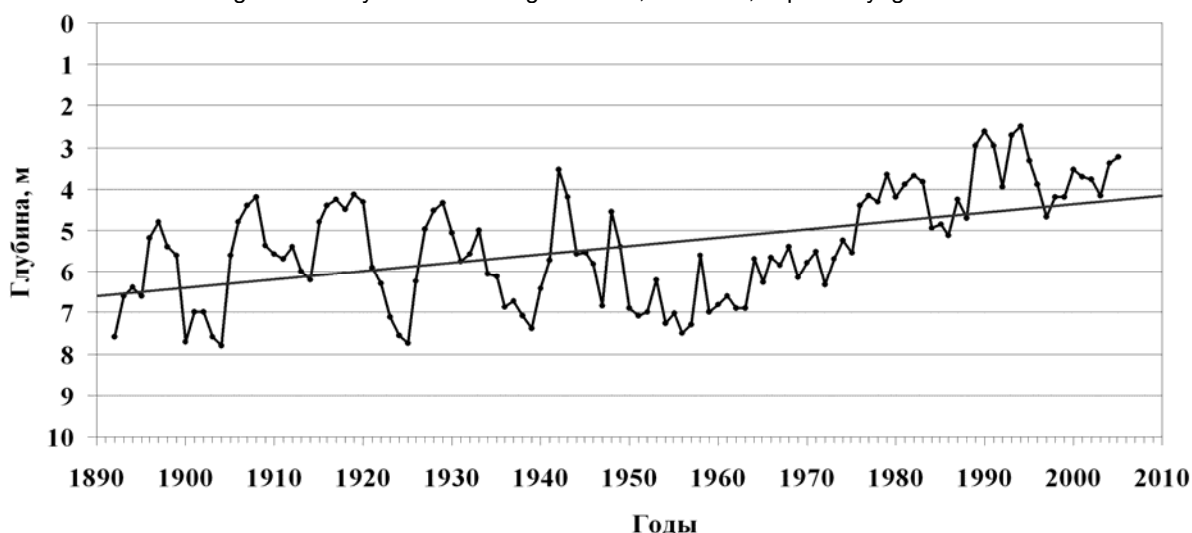


Figure. A curve of perennial GWL-fluctuation in chernozems of "Stone steppe preserve"

microlowlands as here the capillary fringe of ground waters as much as possible approaches to a day surface. The absorbing complex of chernozems in interblock microlowlands is saturated with sodium more than on 20 % from the sum of the absorbed cations. The chernozems solonetzic are as a result formed. In this connection the soil cover structure becomes ternary. Modern trends of development and functioning of chernozems causes strong alarm and concern because of deterioration of a current state of soils. Results of researches should be considered not only as an estimation, but also as the forecast of influence of separate natural processes on their hazardous influence on a soil cover components in the conditions of climate fluctuation in territories with a semiarid climate.

Work is executed with financial support of the Russian Federal Property Fund (11-04-00354, 11-04-01083).

References

1. Alifanov V. M., Gugalinskaya L.A., Ovchinnikov A.J. *Paleocryogenesis and a variety of soils of the center of East European plain*. M: GEOC, 2010. 160 with. + incl.
2. Dobrovolsky G. V., Shishov L.L., Scherbaks A.P. *A condition, the forecast and increase of fertility of black earth/the Bulletin of Russian Academy of Agrarian Sciences*. 1992. №5. C.24-27.
3. Dokuchaev V.V. *The Selected Compositions. T.1. Russian Chernozems*. M, 1948. PP. 25-435.
4. *Russian Chernozems - 100 years after Dokuchaev*. M: the Science. 1983. 304 p.

БИОТОПИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ МУРАВЬЕВ *FORMICA LEMANI* В ГОРНОЙ СУБАРКТИКЕ СЕВЕРО-ВОСТОКА АЗИИ И ПОТЕПЛЕНИЕ КЛИМАТА

Жигульская З.А.

Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, Россия
e-mail: aborigen@ibpn.ru

Несмотря на общий интерес, проявляемый к глобальным изменениям климата, работ, посвященных их влиянию на субарктические экосистемы северо-востока Азии явно недостаточно (1, 2). Между тем, распространение в горной Субарктике беспозвоночных животных в значительной мере определяется температурными условиями зимовки, и даже небольшие вариации сезонных минимумов могут существенно сказываться на их пространственном распределении (3, 4). Удобный объект для подобных исследований - муравьи *Formica lemani*. Учеты их численности проведены в верховьях р. Колымы дважды с интервалом около 30 лет.

В конце 70-х гг. *F. lemani* была распространена в бассейне верховий Колымы только в ограниченном числе биотопов. Их главная черта - глубокое (до 2,5 м) и быстрое оттаивание. У классического гнезда муравьев *F. lemani* нижние зимовочные камеры находятся на глубине 1–1,5 м. На Колыме стереотип устройства гнезда сохраняется, поэтому здесь *F. lemani* отсутствует в тех местообитаниях, где глубину ходов в почве осенью ограничивает высокий уровень зеркала мерзлоты.

Биотопы, заселяемые *F. lemani*, приурочены исключительно к южным склонам с небольшими по площади остепненными и луговыми послепожарными группировками, а также с редко встречающимися на Колыме парковыми хорошо дренируемыми лиственничниками и осинниками. На степных склонах со значительным участием луговых и лугово-степных видов растений плотность гнезд была велика (18-34 на 100 м²). В парковых лиственничниках на склонах *F. lemani* поселялась на открытых щебнистых с бедным травостоем участках с плотностью 8-10 гнезд на 100 м².

На побережье Охотского моря, характеризующем более мягким климатом (5) по сравнению с континентальными районами, *F. lemani* обычный вид. Здесь он повсюду многочислен в горно-лесном поясе и, благодаря отсутствию вечной мерзлоты на большей части территории, может устраивать глубокие зимовочные камеры почти повсеместно.

Учитывая локальное распространение *F. lemani* в континентальных районах и практически повсеместное на Охотоморском побережье (3), мы изучили степень зависимости этого вида от температуры зимовки как одного из вероятных факторов, ограничивающих его распространение.

Как было показано ранее (3), уязвимость зимующих муравьев *F. lemani* от низких температур определяется их небольшой (относительно других изученных видов) холодоустойчивостью. Порог переносимых ею температур лежит в области -15...-17°C (3) при минимумах в зимовочных камерах в -12°C.

Спустя 30 лет (в 2006 г.) гнезда *F. lemani* были обнаружены как в прежних биотопах примерно с той же численностью, так и в местообитаниях, где их в конце 70-х не было. Значительное число гнезд *F. lemani* (до 5 на 100 м²) было зафиксировано на заросших отвалах горнопромышленных полигонов, на земляных валах, образовавшихся при прокладке кюветов вдоль ныне заброшенных проселочных дорог, на корневых выворотах упавших крупных лиственниц по заболоченным пологим шлейфам склонов и т.д. Муравьи не вымерзли во многих вновь заселенных биотопах, хотя глубина расположения зимовочных камер была ограничена 40-60 см (против обычных 80-150 см), так как несколько глубже находилось зеркало мерзлоты.

Столь значительное расширение биотопического спектра *F. lemani* на протяжении последних десятилетий за счет вновь заселенных местообитаний мы связываем с потеплением климата. Анализ многолетнего хода минимальных температур в период с 80-х годов XX века по первое десятилетие XXI века, проведенный А.В. Алфимовым (4, 6), показал, что средние минимумы повысились на 3-4°C.

Подъем экстремумов и стал причиной отмеченного во время учетов в 2006 г. расширения круга биотопов, пригодных для зимовки *F. lemani*. Ранее аналогичная тенденция повышения средних минимумов температуры почвы и расширения спектра населяемых биотопов в последние десятилетия была отмечена нами в описанном районе для муравья *Formica exsecta* (6).

Выявленная связь позволяет прогнозировать динамику населения *F. lemani* и в других частях субарктического пояса в зоне распространения вечной мерзлоты. Примененный подход может оказаться продуктивным и при анализе изменения пространственного распределения других чувствительных к холоду животных.

Литература

1. Влияние изменений климата на экосистемы р. Амур. (2006). М.: WWF России: 126 с.
2. Семенов С.М., Гельвер Е.С. (2002). Изменчивость годового хода среднесуточной температуры воздуха на территории России в XX веке // Докл. Академии наук. Т. 386. № 3: 389-394.
3. Берман Д.И., Алфимов А.В., Жигульская З.А., Лейрих А.Н. (2007). Зимовка и холодоустойчивость муравьев на северо-востоке Азии. М.: Товарищество научных изданий КМК: 261 с.
4. Алфимов А.В., Берман Д.И., Жигульская З.А. (2009). Многолетние изменения зимних температур в бассейне верхней Колымы и их влияние на биоту. Сообщение 1 // Вестник СВНЦ ДВО РАН. № 1: 16-25.
5. Клюкин Н.К. (1970). Климат // Север Дальнего Востока. М.: Наука: 102-132.
6. Алфимов А.В., Берман Д.И., Жигульская З.А. (2010). Пульсация численности тонкоголового муравья (*Formica exsecta*) и изменения климата на северо-востоке ареала // Зоол. журн. Т. 89. № 12: 1456-1467.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOTOPICAL DISTRIBUTION, COLD HARDINESS OF THE ANTS *FORMICA LEMANI* IN THE MOUNTAIN SUBARCTIC OF THE NORTH-EAST OF ASIA AND CLIMATE WARMING

Zhigulskaya Z.A.

Institute of Biological Problems of the North, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia
e-mail: aborigen@ibpn.ru

Despite general interest to the global climatic changes, there is evident lack of works devoted to influence of the latter on the subarctic ecosystems of the north-east of Asia (1, 2). Meanwhile, distribution of invertebrates over the mountain Subarctic is largely determined by the temperature conditions of wintering, and even slight variations of seasonal minimums can have considerably impact on their spatial distribution (3, 4). Suitable objects for these type explorations are the ants *Formica lemani*. Their censuring was undertaken twice in the upper reaches of the Kolyma R. with the interval of about 30 years.

In late 1970-ies *F. lemani* was distributed in the basin of the upper reaches of the Kolyma only in restricted number of biotopes. The main feature of the latter is deep (down to 2.5m) and rapid thawing through. Classic nest of the ants *F. lemani* has low wintering chambers at a depth of 1-1.5m. Stereotype of the nest construction remains on the Kolyma territory, that is why *F. lemani* is absent in the habitats where the channel depth is restricted in autumn by high level of the permafrost table.

Biotopes inhabited by *F. lemani* are located strictly on the south-faced slopes with small by territory steppe and meadow after fire groupings, and with rare over the Kolyma basin park well-drained larch and aspen forests. Over the steppe slopes with significant vegetation of meadow and meadow steppe plant species nest density was great (18-34 per 100 m²). In the park larch forest slopes *F. lemani* inhabited open shingle with poor grass stand sites with density 8-10 nests per 100 m².

Over the coastline of the Sea of Okhotsk, which is characterized by milder climate (5) comparing to the continental areas, *F. lemani* is a usual species. It is numerous in the mountain forest belt and due to the absence of permafrost over the most part of the territory, can make deep wintering chambers almost everywhere.

Taking into account local distribution of *F. lemani* in the continental areas and almost omnipresent occurrence over the coast of the Sea of Okhotsk (3) degree of dependence of this species on the wintering temperature has been studied as one of probable factor restricting its distribution.

As it was shown earlier (3), survival capability of wintering *F. lemani* depending on low temperatures is determined by their low (comparing to other studied species) cold hardness. Long-term tolerable temperatures lie within -15 ... -17°C (3) under minimums -12°C in wintering chambers.

After 30 years (2006) nests of *F. lemani* were found both in the previous biotopes with about the same number and in those habitats, where they had been absent in late 1970-ies. Considerable number of nests of *F. lemani* (up to 5 per 100 m²) was reported on the overgrown dumps of mining polygons, earth mounds of ditches along the abandoned country roads, among roots of the fallen large larches on the marshy smooth slopes and so on. The ant did not froze in many newly inhabited biotopes despite of the fact that the depth of their wintering chambers was restricted to 40-60 sm (opposite to usual 80-150 sm), since permafrost table was located somewhat deeper.

Such significant broadening of biotopical spectrum of *F. lemani* for the last decades due to the newly inhabited areals is connected with the climate warming. Analysis of the long-term variation of temperatures from the 80-ies of the XX century to the 1st decade of the XXI century carried out by A.V. Alfimov (4, 6) showed increase of average minimums on 3-4°C.

Raise of extrema was the cause of the noted during censuring in 2006 broadening of biotopes' range suitable for wintering of *F. lemani*. Earlier an analogous tendency of increase of average minimums of soil temperature and widening of the inhabited biotopes' range for the last decades was noted for the ant *Formica exsecta* in the described region (6).

The revealed relationship lets to forecast population dynamics of *F. lemani* also in other regions of subarctic belt in the zone of permafrost spread. The applied method can be efficient during analysis of spatial distribution change of other sensitive to cold animals.

References

1. Influence of climatic changes on ecosystems of the Amur river. (2006). M.: WWF of Russia. 126.
2. Semenov S.M. and Gelfer E.S. (2002). Variability of the Annual Pattern of Average Daily Air Temperatures in the Territory of Russia in the XX Century. *Doklady Ross. Akad. Nauk.* 386(3): 389-394.
3. Berman D.I., Alfimov A.V., Zhigulskaya Z.A., Leirikh A.N. (2007). Wintering and cold hardness of ants in the North-East of Asia. M.: KMK Scientific Press Ltd. 261.
4. Alfimov A.V., Berman D.I., Zhigulskaya Z.A. (2009). Long-Term Changes in Winter Temperatures in the Upper Kolyma R. Area and Their Impact. Communication I. *Vestnik DVO RAN.* No. 1: 16-25.
5. Klyukin N.K. (1970). Climate // The North of the Far East. M.: Nauka: 102-132.
6. Alfimov A.V., Berman D.I., Zhigulskaya Z.A. (2010). Fluctuation in the Narrow-Headed Ant (*Formica exsecta*. Hymenoptera, Formicidae) Number and Climatic Changes in the Northeastern Part of Its Habitat // *Zoologicheskii Zhurnal.* Vol. 89. No.12:

СРАВНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ИЗОЛИРОВАННОЙ СТЕПНОЙ ЭКОСИСТЕМЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ КЛИМАТИЧЕСКИХ ТРЕНДОВ

Зеленская Н.Н.

Институт Фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия
e-mail: zelen_1@rambler.ru

За последние 100 лет (1907 – 2006 гг.) по России в целом потепление составило 1,29 градуса С., при среднем глобальном – в 0,74 градуса С. [1]. Все это позволяет ожидать адаптационного отклика экосистем и получить новые данные о диапазонах их основных динамических характеристик. Интегральным выражением интенсивности процессов в экосистеме может служить годовая продукция. Выявить оптимальный диапазон продуктивности возможно на пограничных участках с широкой амплитудой условий среды. Наши исследования проведены на изолированном участке степи (урочище Долы) Приокско-Террасного биосферного заповедника (ПТЗ). Получены и проанализированы данные о диапазонах естественной изменчивости продуктивности экосистемы Долов за временной интервал порядка 35 лет.

Степную экосистему ПТЗ относят к разнотравно-злаковым луговым степям. Среднемноголетнее значение продуктивности эталонных луговых степей (Курская область) характеризуется величиной в 18,0 т/га/год [2], исследуемой экосистемы до потепления – 11,5 т/га/год.

Анализ температурного режима воздуха в ПТЗ подтвердил наличие явного положительного тренда среднегодовой температуры воздуха (не менее 2 градусов) в годы последнего солнечного цикла. Годовая продукция за последние 11 лет достигала значений от 11,0 до 33,0 т/га/год. Для сравнения, продукция контрольного цикла (1975-1985 гг.) составляла от 5,0 до 18,0 т/га/год (Рис.). При этом в контрольном цикле продукция в 18,0 т/га/год отмечалась лишь однажды, а в последнем цикле – на протяжении каждого второго сезона.

Динамика прироста фитомассы хорошо согласуется с гидротермическими условиями сезонов. В течение последнего солнечного цикла возрастание эффективных температур в ранневесенний период (начало вегетации) опережал многолетнюю норму почти вдвое, что в сочетании с влагой талых вод, при обычно засушливой весне, делает более благоприятным старт всех эколого-ценотических групп растений.

Положительный климатический тренд последнего солнечного цикла приблизил степную экосистему ПТЗ к зональному типу. Средняя годовая продукция достигла 18,0 т/га/год, сравнявшись с таковой для зональных степей. Диапазон оптимальной годовой продукции луговой степи (т.е. продукции сезонов, близких по гидротермическим показателям к норме) можно обозначить интервалом от 12,0 до 19,0 т/га/год.

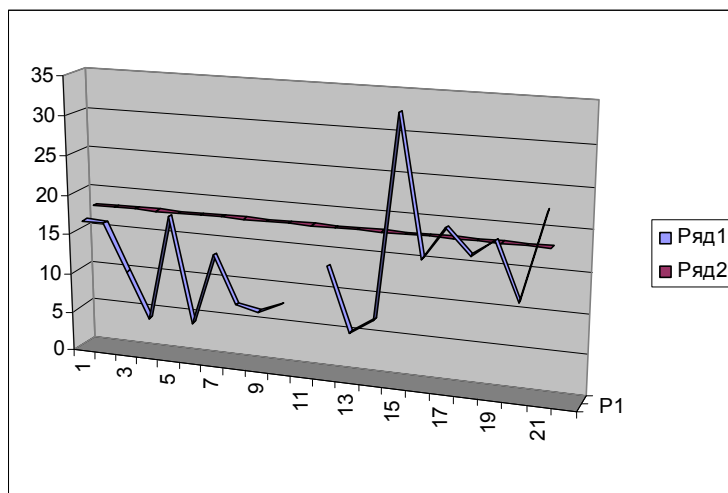


Рис. Динамика продуктивности степной экосистемы «Долы» в сравнении с эталонной для луговых степей. По оси абсцисс – годы наблюдений (два солнечных цикла), по оси ординат – общая годовая продукция экосистемы, в т/га (ряд 1 – продуктивность Долов за два солнечных цикла; ряд 2 – средняя продуктивность луговых степей Курской области).

Литература

1. Оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации. Т. 1. Изменения климата. – М., Росгидромет, 2008. 227 с.
2. Семенова-Тян-Шанская А.М. Динамика степной растительности. // М.-Л.: Наука, 1966. 174 с.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

COMPARISON OF THE FUNCTIONAL PARAMETERS OF THE ISOLATED STEPPE ECOSYSTEM WITH A CHANGE IN THE CLIMATIC TRENDS

Zelenskaya N.N.

Institute of Basic Biological Problem, RAS, Pushino, Russia
e-mail: zelen_1@rambler.ru

In the last 100 years (1907 - 2006) the climate warming in Russia was 1,29 degrees C., while the global average was equal to 0,74 degrees C. [1]. This data make it possible to expect the adaptive response of ecosystems and to obtain new information about the ranges of their fundamental dynamical characteristics. Annual production can serve as an integral characteristic of the intensity of processes in the ecosystem.

Steppe ecosystem "Doly" of Prioksko-Terrasny Reserve (PTR) belongs to meadow steppes. Average perennial values of the productivity of standard meadow steppes (Kursk region) are characterized by the value of 18,0 t/ha/year [2], while for the ecosystem of PTR before the warming being investigated the value is 11,5 t/ha/year.

The analysis of air temperature conditions in PTR has confirmed the presence of the explicit positive trend (not less than 2 degrees) of the average annual temperature of air in the years of the last cycle of solar activity. Annual production in the last 11 years has reached values from 11,0 to 33,0 t/ha/year. For comparison the production of control cycle (1975-1985) ranged from 5,0 to 18,0 t/ha/year (Fig.). While the production of 18,0 t/ha/year was noted only once in the control cycle, it was seen during each second season in the last cycle.

The dynamics of growth of phytomass will agree well with the hydrothermal conditions of seasons. An increase of effective temperatures in the early spring period (beginning of vegetation) advanced long-standing standard almost twice during the last cycle of solar activity, which in combination with the moisture of melt waters, with usually the arid spring, makes more favorable the start of all ecological groups of plants.

The positive climatic trend of the last cycle of solar activity brought steppe ecosystem of PTR closer to the zone type. Average annual production has reached 18,0 t/ha/year which is close to the production of the zone steppes. It is possible to designate the range of the optimum annual production of meadow steppes (i.e. of the production of seasons which are close in the hydrothermal indices to the standard) to the range of 12,0 to 19,0 t/ha/year.

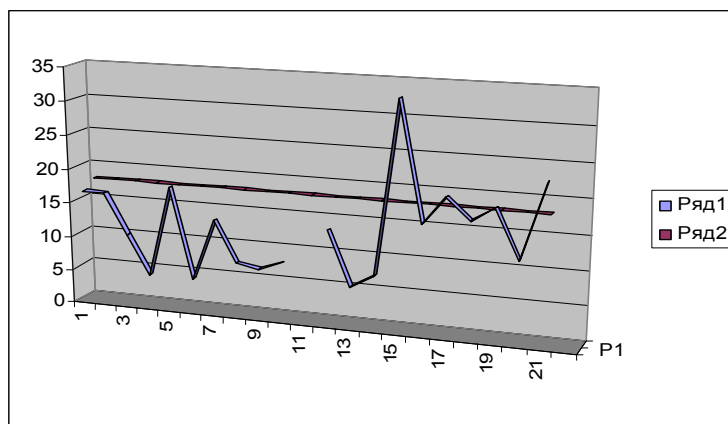


Fig. The dynamics of the productivity of steppe ecosystem "Doly" in comparison with the standard for the meadow steppes. Along the X-axis are years of observations (two cycles of solar activity), along the Y-axis is the general annual production of the ecosystem (in t/ha). Number 1 is the productivity of "Doly" ecosystem during two cycles of solar activity; number 2 is the average productivity of the meadow steppes of Kursk region.

References

1. Оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации. Т. 1. Изменения климата. – М., Росгидромет, 2008. 227 с.
2. Семенова-Тян-Шанская А.М. Динамика степной растительности. // М.-Л.: Наука, 1966. 174 с.

ВОПРОСЫ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ ИЗМЕНЕНИЯМ КЛИМАТА: РАЗРАБОТКА СИСТЕМ РАННЕГО ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Карлин Л.Н., Трубина М.А.

Российский государственный гидрометеорологический университет, Россия
e-mail: trubina@rshu.ru

Введение. В России имеется многолетний опыт изучения влияния погоды на здоровье человека, в том числе и экстремальных погодных явлений [1]. Были выявлены особенности реагирования на геофизические возмущения, показана высокая значимость для здоровья человека сочетанного воздействия метеорологических, геомагнитных и гравитационных возмущений [2]. Определенный успех был достигнут в долгосрочном медицинском гелиометеопрогнозировании и разработке методов коррекции и профилактики метеотропных реакций. В данный период наблюдается увеличение частоты экстремальных погодных явлений, касающихся здоровья человека, к которым можно отнести:

- Волны тепла, ведущие к заболеваниям и случаям смерти, обусловленным перегревом организма.
- Выпадение осадков, влекущие за собой вспышки заболеваний, передающимся водным путем, а в некоторых регионах кровососущими насекомыми.
- Аномалии осадков, влекущие за собой наводнения/засухи.
- Грозы и высокую влажность воздуха, ведущую к кратковременному увеличению респираторных и сердечнососудистых заболеваний.

Актуальность. Известно, что наибольшее влияние на организм человека оказывают также кратковременные процессы, связанные с резкой сменой погодообразующих факторов: частые и резкие колебания температуры и влажности воздуха, ветра, атмосферного давления, а особенно большая амплитуда этих изменений. Такая ситуация наиболее опасна для тех людей с ослабленной сердечнососудистой системой: в дни с неблагоприятной погодой отмечается увеличение числа инфарктов и инсультов. Погодозависимыми являются болезни обмена веществ организма человека, аллергические и инфекционные заболевания (вазомоторный ринит, сенная и желтая лихорадки, бронхиальная астма, малярия, и др.) [3]. Проблема установления причинно-следственных связей между состоянием (качеством) окружающей среды и здоровьем населения является одной из ведущих среди социальных и прогностических задач в мире [4, 5]. Особенно актуальными являются вопросы адаптации населения к изменению (потеплению) климата и к ухудшению экологической обстановки, и стратегии принятия превентивных мер на государственном уровне.

Пути решения. Именно сейчас наступило время, когда на основе кооперации и координации усилий ученых многих стран, развития партнерства, внедрения их опыта, могут быть решены задачи изучения механизмов адаптации и выработки совместных адаптационных стратегий. Будущее научное развитие климатоадаптации должно быть высокотехнологичным, включающим:

1. Создание инновационных программ предупреждения (прогноза) при Национальных гидрометеорологических службах на основе непрерывного телемониторинга (системы сложных устройств, управляющих решений и непрерывного контекстного анализа поступающей информации и пр).

2. Широко развитые международные телекоммуникационные сети.

Важную роль в реализации мер по предотвращению и реагированию на угрозы здоровью, связанные с климатом, играют также системы здравоохранения. Они в частности могут выполнять следующие виды деятельности:

- укреплять медико-санитарные подходы к контролю болезней и охране здоровья;
- осуществлять прогнозирование и раннее выявление воздействий на здоровье человека, проводить профилактические мероприятия;
- обеспечивать достоверное информирование общества об экстремальных явлениях погоды.

Принимая во внимание наблюдаемое повышение заболеваемости и смертности, связанное, с воздействием жарких погод, вызванных ростом числа и интенсивности волн тепла, необходимо развивать более широкое международное сотрудничество в области построения эффективных систем наблюдения и раннего предупреждения об опасной для здоровья погоде [6].

Литература

1. Адаптация к экстремальным геофизическим факторам и профилактика метеотропных реакций. Тезисы докладов регионального симпозиума. – Новосибирск, 1989. – 196 с.
2. Андропова Т.И., Деряпа Н.Р., Соломатин А.П. Гелиометеотропные реакции здорового и больного человека. - Л.: Медицина, 1982. - 248 с.
1. Изменение климата и здоровье России в XXI веке. Сб. материалов международного семинара (5-6 апреля 2004 г.). под.ред.Н.Ф. Измерова, Б.А. Ревича, Э.И. Коренберга. М.: Изд. «АдамантЪ», 2004.- 260 с.
2. World Health Organization [электронный ресурс] <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/environment-and-health/Climate-change>
3. World Meteorological Organization [электронный ресурс] http://www.wmo.int/pages/index_ru.html
4. Трубина М.А. Инновационные методы и технологии оценки биотропности погоды. Аналитический вестник «Влияние климатических изменений на окружающую среду и здоровье человека». № 4 (349) часть II. Совет Федерации Федерального собрания РФ. Москва, - 2008 г. С 11-29.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

QUESTIONS OF HUMAN'S ADAPTATION TO EXTREME CLIMATE CHANGE: DEVELOPMENT OF SYSTEMS EARLY WARNING

Karlin L.N., Trubina M.A.

The Russian State Hydrometeorological University, Russia
e-mail: trubina@rshu.ru

Introduction. Russia has long experience of studying the influence of weather on human health, including extreme weather events [1]. Were found to respond to particular geophysical disturbances, showed high significance for human health effects of combined meteorological, geomagnetic and gravitational perturbations [2]. Some progress has been made in long-term medical forecasts and developing methods for correcting and preventing meteorotropic reactions. During this period, an increase in the frequency of extreme weather events on human health, which include:

- Heat waves, leading to illness and deaths caused by overheating of the body.
- Precipitation, entailing disease outbreaks transmitted by water, and in some regions of the blood-sucking insects.
- Anomalies of precipitation, giving rise to floods / droughts.
- Thunderstorms and high humidity, leading to a transient increase in respiratory and cardiovascular diseases.

Relevance. It is known that short-term processes also have the greatest impact on the human body associated with an rapid change of weather factors: the frequent and sharp fluctuations in temperature and humidity, wind, barometric pressure, and especially the large amplitude of these changes. This situation is most dangerous for people with compromised cardiovascular system: in the days of unfavorable weather, there is increased heart attacks and strokes. Are weather-dependent metabolic diseases of the human body, allergic and infectious diseases (vasomotor rhinitis, hay fever, and yellow, asthma, malaria, etc.) [3]. The problem of establishing causal relationships between the state (quality) of the environment and public health is one of the leading predictors of social and challenges in the world [4, 5]. Of particular concern are the issues of adaptation to change (warming) climate and the deterioration of ecological environment, and strategies for preventive measures at the state level.

Solutions. Right now is the time when the basis of cooperation and coordination among scientists of many countries, the development of partnerships, the introduction of their experience, the problem can be solved by studying the mechanisms of adaptation and development of cooperative adaptation strategies. The future of scientific development should be a high klimato -adaptationsii, including:

A. Creating innovative prevention programs (forecast) in national hydrometeorological services on the basis of continuous tele-monitoring systems (complex devices that control the making and continuous contextual analysis of incoming information, etc).

Two. Extensive development of international telecommunications networks.

Important role in the implementation of measures to prevent and respond to health threats related to climate, are also the health care system. They in particular, can perform the following activities:

- Strengthen health approaches to disease control and health;
- Carry out forecasting and early detection of impacts on human health, carry out preventive measures;
- Ensure that correct information society on extreme weather events.

Given the observed increase in morbidity and mortality related to exposure to hot weather, caused by the increasing number and intensity of heat waves, it is necessary to develop more extensive international cooperation in the field of building effective surveillance and early warning of dangerous weather, health [6].

References

1. Adaptation to extreme geophysical factors and prevention meteorotropic reactions. Abstracts of the regional symposium. - Novosibirsk, 1989. - 196 p.
2. Two. Andronov, TI, Deryapa NR, Solomatin AP Geliometeoropnyye response of healthy and sick people. - L.: Medicine, 1982. - 248 p.
3. Izmenenie climate and health in the twenty-first century Russia. Sat Materials of the international workshop (5-6 April 2004). pod.red.N.F. Izmerov, BA Revich, EI Korenberg. Moscow: Izd. "Adamant", 2004. - 260.
4. World Health Organization [electronic resource] <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/environment-and-health/Climate-change>
5. World Meteorological Organization [electronic resource] http://www.wmo.int/pages/index_ru.html
6. Trubina MA Innovative techniques and technology assessment biotrophic weather. Analytical Bulletin "Climate change impacts on the environment and human health." № 4 (349) Part II. The Federation Council of Federal Assembly of Russian Federation. Moscow - Since 2008 11-29.

ЭМИССИЯ CO₂ ИЗ ПОЧВ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ И ЕЕ ОТКЛИК НА СОВРЕМЕННЫЕ КЛИМАТИЧЕСКИЕ ТРЕНДЫ И АНОМАЛИИ

Лопес де Гереню В.О., Курганова И.Н.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия
e-mail: vlopes@mail.ru

Оценка адаптационного потенциала экосистем к текущим изменениям климата сегодня является приоритетной задачей экологии. Согласно наблюдениям Российской метеорологической службы и данным IPCC (1), увеличение среднегодовой температуры воздуха на территории Европейской части России за период с 1976 по 2006 было значительно выше, чем средней глобальной температуры за тот же период и составило 1,51°C против 0,57°C. Было показано (2), что с 1961 по 1990 гг. экстремально теплые годы в Европе наблюдались один раз в 20 лет и, согласно существующим прогнозам, в 2071-2100 гг. этот период сократится до 1-2 лет в Южной Европе и до 5 лет в Скандинавии. По сценариям различных региональных климатических моделей (3), почти на всей территории Европейской части России (ЕЧР) будет усиливаться засушливость климата. Цель нашего исследования состояла в оценке влияния наблюдаемых климатических изменений и экстремальных погодных явлений на эмиссию CO₂ из почв различных экосистем Центральной части России, выполненной на основе сопряженного анализа трендов и аномалий основных климатических параметров (температура воздуха и количество осадков) и эмиссионной составляющей углеродного цикла.

Непрерывные круглогодичные измерения потоков CO₂ из почв проводились в пяти различных экосистемах умеренной зоны (Россия, Московская обл., 54°50'N, 37°35'E), расположенных на дерново-подзолистых (лес и луг) и серых лесных почвах (лес, луг и агроценоз). Поток CO₂ из почв (F_{CO2}) измерялся камерным методом еженедельно с января 1998 по декабрь 2011. Было найдено, что в течение этого периода каждый четвертый год был экстремально засушливым: значения гидротермического коэффициента (ГТК) для этих лет отклонялись от среднего значения ГТК за последние 40 лет на величину, превышающую значение STD. Наблюдаемое усиление засушливости климата на изучаемой территории определило негативный тренд F_{CO2} в изучаемых экосистемах (Рис.1 А). Наблюдаемое уменьшение эмиссии CO₂ из песчаных дерново-подзолистых почв было более значительным, чем из серых лесных суглинистых. Экстремальные погодные условия, выражающиеся в сильном годовом дефиците осадков и засушливости, значительно сильнее снижали среднегодовую величину F_{CO2} в наземных экосистемах, чем экстремально теплые условия (Рис. 1 Б).

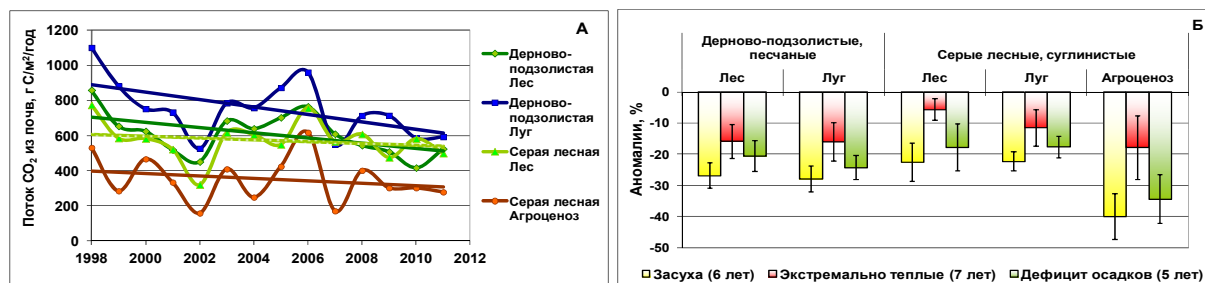


Рис. 1. Текущие тренды годовых потоков CO₂ из почв (А) и аномалии годовых потоков CO₂ из почв (F_{CO2}), вызванные различными экстремальными климатическими явлениями (Б) в 1998-2011 гг.

Проведенный анализ позволяет заключить, что отклик F_{CO2} на большинство экстремальных погодных аномалий был значительно выше в агроценозах, чем в естественных экосистемах. Аномалии эмиссии CO₂ из почв, вызванные летними засухами и экстремально теплыми зимами были выше на песчаных дерново-подзолистых почвах, чем на суглинистых серых лесных почвах. Тип землепользования и структура почв являются основными показателями, определяющими отклик почвенного дыхания на происходящие изменения климата. Так, естественные экосистемы, в почве которых содержится больше толерантной грибной микрофлоры, менее чувствительны к изменениям климата, чем агроценозы. Суглинистые почвы обладают более высокой влагоемкостью и, вследствие этого, более устойчивы к экстремальным погодным условиям, чем песчаные. Можно предположить, что усиление засушливости климата на территории ЕЧР приведет к уменьшению общей эмиссии CO₂ из почв в этом регионе.

Благодарности: Исследования были поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований (проекты 12-05-00197-а, 12-04-00201-а) и программой Президиума РАН №4.

Литература

1. Assessment report on climate change and its consequences in Russian Federation (general summary). Moscow. 2008. 24 p. (available: http://climate2008.igce.ru/v2008/pdf/resume_ob_eng.pdf)
2. Nikulin G., Kjellstro E., Hansson U. et al. 2011. Evaluation and future projections of temperature, precipitation and wind extremes over Europe in an ensemble of regional climate simulations. *Tellus A*. 63(1): 41-55.
3. Золотокрылин А.Н., Виноградова В.В., Черенкова Е.А. Динамика засух в Европейской России в ситуации глобального потепления, Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем., СПб.: Гидрометеиздат, 2007, Т. 21, стр 160-161.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

THE RESPONSE OF SOIL CO₂ EMISSION IN VARIOUS ECOSYSTEMS OF CENTRAL RUSSIA TO THE CURRENT CLIMATIC TRENDS AND ANOMALIES

Lopes de Gerenyu V.O., Kurganova I.N.

Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pushchino, Russia
e-mail: vlopes@mail.ru

The assessment of ecosystem adaptation potential to the current climatic changes is the priority in ecology and other environmental sciences. According to observations provided by the Russian meteorological network and available data of IPCC Fourth Assessment Report, the mean warming for the period 1976–2006 in European Russia was much higher than global warming for the same period and amounted to 1.51°C versus 0.57°C (1). The simulation results show the reduction of recurrence time of warm extremes from 20 yr in 1961–1990 to 1–2 yr over southern Europe and to 5 yr over Scandinavia in 2071–2100 (2). Under some scenarios, regional climate projections show the amplification of drier conditions over most of European Russia (3). The recurrence of soil droughts will increase both in central and in southern regions of Russia due to the decline in soil moisture during spring and summer. To assess the effect of current climatic changes on carbon cycle in terrestrial ecosystems, the coupled analysis of climatic and soil CO₂ emission (E_{soil}) trends and anomalies through 1998–2011 were carried out in various ecosystems of Central Russia over the monthly, seasonal, and annual time scales.

The year-round continued measurements of soil CO₂ emission were carried out in five temperate ecosystems (Russia, Moscow region, 54°50'N, 37°35'E) located on Albeluvisols (forest and grassland) and Phaeozems (forest, grassland, and cropland). The rate of respiratory CO₂ flux from soil surface was measured *in situ* by closed chamber method from January 1998 through December 2011 at 7–10 days intervals. During the observation period, every fourth year was found to be extremely dry: the anomalies of hydrothermal coefficient (HTC) for these years were higher than a standard deviation for mean HTC through the last 4 decades. The significant enhancement of aridity in the area studied evoked the negative trends of E_{soil} in temperate ecosystems (Fig. 1 A). The observed negative E_{soil} -trends were more significant in sandy soils in comparison with loamy ones and in agroecosystems versus natural ones. The extreme meteorological events that were expressed in strong deficit of year precipitation, summer droughts as well as extreme warm conditions induced the negative anomalies of annual E_{soil} in temperate ecosystems (Fig. 1 B).

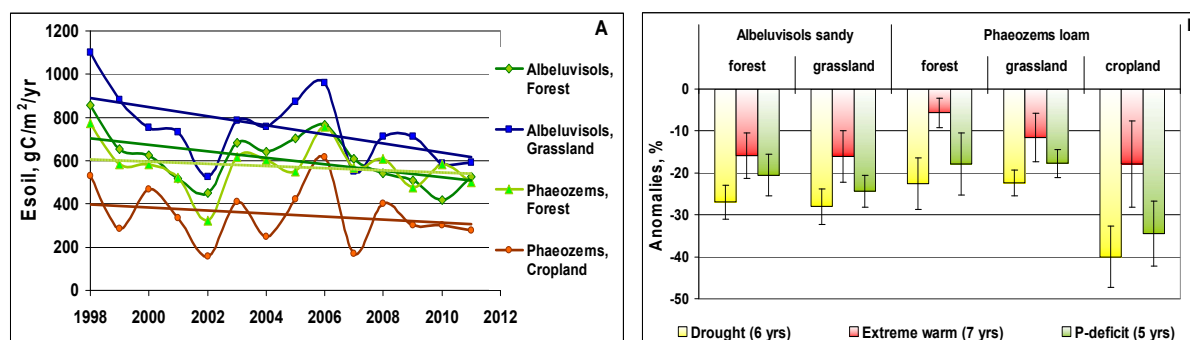


Fig 1. The current time trends in annual soil CO₂ emission (A) and mean anomalies of E_{soil} induced by different extreme events (B) during 1998–2011.

The analysis fulfilled allows us to conclude that the response of soil respiration to the majority of extreme weather events was much higher in cropland than in natural ecosystems. The anomalies of soil CO₂ emissions induced by summer droughts and extremely warm conditions during cold period were higher in sandy Albeluvisols than in clay Phaeozems. The land use and soil texture are the main underlying drivers that determine the response of soil respiration to the current climatic changes. Owing to the dominance of more tolerant fungi microflora in the soils, natural ecosystems are less sensitive to climate change than agroecosystems. Due to the higher water holding capacity, the clay soils are more persistent to the extreme weather conditions than sandy soils. It can be expected that the observed enhancement of climate aridity in European Russia leads to the decrease of total soil CO₂ emissions due to the significant E_{soil} decline in agroecosystems located mostly on southern regions of Russia as well as E_{soil} reduce in natural ecosystems of central regions.

Acknowledgements: This study was supported by Russian Foundation for Basic Researches (projects 12-05-00197-a, 12-04-00201-a) and Program of Presidium of Russian Academy of Sciences N4.

References:

1. Assessment report on climate change and its consequences in Russian Federation (general summary). Moscow. 2008. 24 p. (available: http://climate2008.igce.ru/v2008/pdf/resume_ob_eng.pdf)
2. Nikulin G., Kjellstro E., Hansson U. et al. 2011. Evaluation and future projections of temperature, precipitation and wind extremes over Europe in an ensemble of regional climate simulations. *Tellus A*. 63(1): 41–55.
3. Zolotokrylin A.N., Vinogradova V.V., and Cherenkova E.A. Dynamics of droughts in the European territory of Russia upon global warming,” in *Problems of the Ecological Monitoring and Modeling of Ecosystems*(Gidrometeoizdat, St. Petersburg, 2007), Vol. XXI. P. 160–182 [in Russian].

ЗАКОНОМЕРНОСТИ АДАПТАЦИИ ТРАВЯНИСТЫХ ЭКОСИСТЕМ ПОЛУПУСТЫННЫХ ТЕРРИТОРИЙ СЕВЕРНОГО ПРИКАСПИЯ К ПОТЕПЛЕНИЮ КЛИМАТА

Сиземская М.Л., Сапанов М.К.

Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Московская обл, Россия
e-mail: sizem@mail.ru

На Прикаспийской низменности за последние 60 лет произошло существенное изменение климата, проявившееся в общем повышении годовой температуры воздуха на 1.3 °С (в основном, за счет потепления зимних месяцев на 2.2 °С), увеличении количества летних осадков на 60 мм, повышении уровня грунтовых вод на 2,1 м. Эти процессы обусловили общую мезофитизацию региона, вызвав трансформацию видового разнообразия и структуры целинных травянистых фитоценозов [1].

На примере растительных ассоциаций, развитых на солончаковых солонцах, занимающих более 50 % территории полупустынного солонцового комплекса, изучены закономерности формирования целинного травостоя и его адаптации к особенностям изменения климата.

Выявлено, что за последние 60 лет произошло увеличение в целом продуктивности травостоя и появление в его составе все более мезофильных группировок. Так, на солончаковых солонцах вместо прутняково-чернополынных [2] начинают доминировать более мезофильные чернополынно-прутняковые растительные сообщества. Черная полынь (*Artemisia rauciflora*) полностью утрачивает присущие ей ранее господствующие (до 90%) позиции в структуре сообщества, составляя лишь 25% от общей продуктивности (в среднем, 9.7 ± 3.1 ц/га), а продуктивность прутняка (*Kochia prostrata*) возрастает в 3 раза (Рис.).

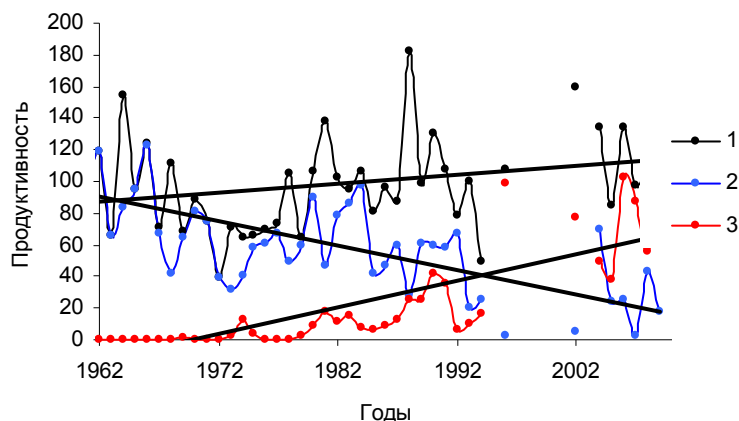


Рис. Динамика продуктивности травянистой растительности (г/м^2), произрастающей на солончаковом солонце: (1) общая, (2) черной полыни, (3) прутняка

Выявленные достоверные связи годичной продукции надземной фитомассы всего сообщества и отдельных видов (полыни черной и прутняка) с факторами погодных условий подтверждают ранее известные механизмы их функционирования и зависимость от температурного режима воздуха и увлажненности. В то же время, на солончаковых солонцах решающим природным фактором, включающим механизм смены доминантных видов, явилось изменение залегания уровня грунтовых вод [3]. Выявленная связь общей продуктивности растительности на солончаковом солонце с глубиной грунтовых вод достоверно отрицательна ($r = -0,34$, $P > 95\%$). Наблюдаемые смены доминирования и динамические изменения в ежегодно производимой надземной фитомассе растительных сообществ в Северном Прикаспии обусловлены потеплением климата. Тем не менее, эти экосистемы остаются в динамически равновесном состоянии, флуктуация их биомассы не выходит за рамки природной инвариантности, а происходящие сукцессии носят обратимый характер.

Литература

1. Сиземская М.Л., Сапанов М.К. (2010). Современное состояние экосистем и стратегия адаптивного природопользования в полупустыне Северного Прикаспия. *Аридные экосистемы*. 16(5): 5–24.
2. Оловянная И.Н. (2004). Динамика продуктивности растительного покрова в Заволжской глинистой полупустыне. *Ботанический журнал*. 89(7): 1122–1137.
3. Сапанов М.К., Сиземская М.Л. (2011). Climate-Dependent Changes in Herbaceous Vegetation on Solonchakous Solonchets of the Northern Caspian Lowland. *Biology Bulletin*. 38(10): 1031–1036.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MAIN TRENDS IN THE ADAPTATION OF GRASS ECOSYSTEMS TO CLIMATE WARMING IN SEMIDESERT AREA OF PRICASPIAN LOWLAND

Sizemskaya M.L., Sapanov M.K.

Institute of Forest Science RAS, Uspenskoe, Moscow region, Russia
e-mail: sizem@mail.ru

In the past 60 years, the global climate warming in the Caspian Lowland has been observed, occurring because of significant growth of: annual temperature (+1.3 °C) (with winter months warming for +2.2°C), summer precipitation (+60 mm). The level of ground water rises on 2.1 m. These changes have resulted in a general mesophytization of vegetation with certain changes in the species' composition and structure of virgin herbaceous phytocenoses (1).

Studying plant associations, growing on saline solonchaks and occupying more than 50% of the semi-desert solonchak complex, the formation of virgin grass and its adaptation to the peculiarities of climate change has been observed.

It has been revealed that over past 60 years there was an increase in overall productivity of grass and the emergence of more mesophilic groups in its composition. Thus, in place of saline solonchaks black wormwood - *Kochia* plant communities (2) begin to dominate mesophilic *Kochia* -black wormwood plant communities. Black wormwood (*Artemisia pauciflora*) completely loses its dominance (90%) in the structure of the community, accounting for only 25% of the total productivity (average, 9.7 ± 3.1 kg / ha). The productivity of *Kochia prostrata* increases in 3 times (Figure).

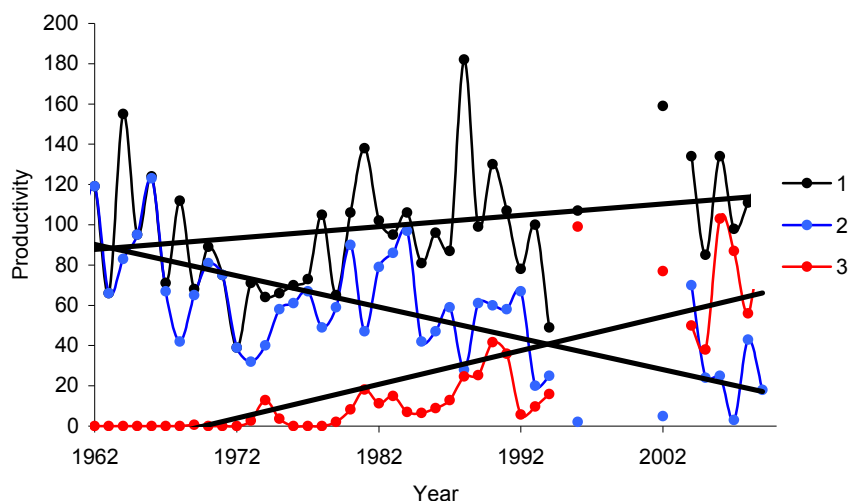


Fig. Productivity (g/m²) of herbaceous vegetation on solonchakous solonchaks: 1 – total; 2 – *Artemisia pauciflora*; 3 – *Kochia prostrata*

The reliable relationship between annual production of aboveground phytomass of the community, individual species (*Artemisia* black and *K. prostrata*) and weather conditions, confirm the previously known mechanisms of their functioning and the dependence on temperature and air humidity. At the same time, saline solonchaks' crucial natural factor, launching the mechanism of shift of dominant species, was the change of groundwater level (3). Identified relationship between overall productivity of the vegetation and depth of groundwater is strong ($r = -0.34$, $p > 95\%$). The observed shift of dominance and dynamic changes in the annually produced aboveground biomass of plant communities in the Northern Caspian lowland are caused by global warming. However, these ecosystems remain in dynamically equilibrium conditions, so, changes and wavy fluctuations of the plant productivity can be naturally reverted.

References

1. *Sizemskaya M.L., Sapanov M.K.* (2010). The Modern Condition of Ecosystems and Strategy of Adaptive Nature Management in Northern Pricaspian Semidesert. *Arid Ecosystems*. 16(5): 5–24.
2. *Olovyanikova I.N.* (2004). The dynamics of productivity of vegetation in the Trans-Volga clayey semidesert, *Botanich. Zh.* (Botanical J.). 89(7): 1122–1137.
3. *Sapanov M.K., Sizemskaya M.L.* (2011). Climate-Dependent Changes in Herbaceous Vegetation on Solonchakous Solonchaks of the Northern Caspian Lowland. *Biology Bulletin*. 38(10): 1031–1036.

ПРОБЛЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИМАТОАДАПТАЦИИ: МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ПОДХОДЫ

Трубина М.А.

Российский государственный гидрометеорологический университет, Россия
e-mail: trubina@rshu.ru

Актуальность. Не вызывает сомнения, что погода и климат оказывают многостороннее влияние на здоровье человека, а процессы адаптации к различным климатическим условиям зависят от медико-географических особенностей регионов проживания человека, состояния его здоровья и генетических факторов. Комплексные научные исследования адаптивности организма человека в различных географических районах являются очень актуальными, перспективными и определяют вектор прикладных исследований на принципах междисциплинарности. Важным шагом в объединении усилий мирового сообщества в области упреждающей адаптации к изменениям климата, научного обсуждения проблем адаптации к происходящим и ожидаемым изменениям климата, обмена международным опытом и планами в области адаптации, а также обсуждения возможностей стабилизации климатических параметров являются международные исследовательские программы. Всестороннее обсуждение и научное обоснование мер адаптации к происходящим и ожидаемым климатическим изменениям прошло на международном форуме ПАИК-2011 [1], девизом которого является: «Знание как ключевой фактор адаптации». На форуме прошел обмен международным опытом и планами в области адаптации, были рассмотрены различные разрабатываемые перспективные возможности влияния на составляющие радиационного баланса Земли, способствующие стабилизации глобального климата в условиях антропогенного воздействия с использованием геоинженерных и других новых технологий.

Постановка и решение задачи. В России адаптация к климатическим изменениям является ключевым элементом современной климатической политики, определяемой стратегией и приоритетами развития Национальной гидрометеорологической службы. В Стратегии развития Гидрометслужбы до 2030 года ставится задача широкой информатизации и реализации ряда актуальных научно-исследовательских программ, в т.ч. изучение адаптации населения к климатическим изменениям [2]. Планируется создать Национальный климатический центр, в который будут входить институты самого различного профиля.

К настоящему времени накоплено достаточное количество фактов, подтверждающих значение влияния гелиогеофизических и космопланетарных факторов как в процессе эволюции «живого вещества» на планете Земля, так и в развитии целого ряда синдромов и состояний, связанных с нарушениями здоровья не только отдельного индивида, но и популяции в целом. Не вызывает сомнения, что универсальность действия гелиогеофизических, климатических и погодных факторов на биологические объекты, и, прежде всего на человека, требует инновационных методов и технологий исследований на междисциплинарной основе [3].

В условиях изменяющегося климата требуется модернизация специальных методов оценки и прогнозирования комфортности среды и состояния здоровья населения с учетом современных критериев и возрастных групп, а также разработка превентивных мер. Для достижения этой достаточно масштабной цели необходимо создать методологию научного исследования, включающего обобщение и развитие известных методов на основе современных информационных технологий [4,5].

Впервые автором ставится инновационная задача формирования единой информационной среды, в рамках которой впервые выполнено и апробировано следующее:

- предложена концепция биометеорологической информационной системы и разработана рабочая схема и алгоритм;
- проведено ранжирование биометеорологических показателей и параметров и разработана методика экспертной оценки для выбора наиболее оптимальных комплексных показателей оценки комфортности погоды;
- разработан автоматизированный комплекс расчета, обработки и анализа биометеорологической информации;
- предложена методика и информационная технология экспресс-оценки индивидуальной гелиометеочувствительности человека с учетом адаптивных типов;
- показаны пути усовершенствования схемы организации биометеорологического мониторинга,
- проведена интегрированная оценка биоклимата отдельных городов Северо-западного региона с новых методических позиций.

Выполнение этой междисциплинарной задачи возможно на основе международного сотрудничества специалистов: климатологов, биометеорологов, геофизиков, биофизиков, медико-географов, биологов, гигиенистов, курортологов, экологов и др.

Литература

1. Международная научная конференция «Проблемы адаптации к изменению климата» (ПАИК-2011) [электронный ресурс] <http://www.pacc2011.ru/>
2. Стратегия деятельности в области гидрометеорологии и смежных с ней областях на период до 2030 г. (с учетом аспектов изменения климата) [Текст] / Проект. – М., 2009. – 77 с.
3. Ревич Б.А., Малеев В.В. Изменения климата и здоровье населения России: Анализ ситуации и прогнозные оценки. [Текст] – М.: ЛЕНАНД, 2011. – 208 с.
4. Трубина М.А., Хассо Л.А., Дячко Ж.К. Методы биоклиматической оценки Северо-Западного региона России. // Ученые записки Российского гидрометеорологического университета №13. Научно-теоретический журнал. [Текст] – СПб.: изд. РГГМУ, 2010. – С. 121-137
5. Трубина М.А. Влияние космической и земной погоды на здоровье человека: перспективы создания инфраструктуры системы управления знаниями [Текст] / М.А. Трубина // Мат. Междунар. сем. «Изменение климата и здоровье населения России в 21 веке», 5 – 6 апреля 2004 г. – М.: Изд. «АдамантЪ», 2004. – С.225 – 238.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

RESEARCH PROBLEMS OF ADAPTATION TO CLIMATE CHANGE: INTERDISCIPLINARY APPROACH

Trubina M.A.

The Russian State Hydrometeorological University, Russia
e-mail: trubina@rshu.ru

Introduction. There is certainly that the weather and climate have a complex impact on human health and the processes of adaptation to different climatic conditions depend on the medical-geographical features of regions of human habitation, the state of his health and genetic factors. Complex researches of human's adaptation in various geographic areas are very relevant, perspective and define the vector of applied research on the principles of interdisciplinary. An important step in collaboration the world community in the area of proactive adaptation to climate change, scientific discussion of the problems of adaptation to the ongoing and anticipated climate change, international exchange of experiences and plans for adaptation, as well as discussing the possibilities of stabilization of climate parameters are the international research programs. A comprehensive discussion and the scientific basis for adaptation to the ongoing and anticipated climate change took place in an international forum PACC-2011 [1], whose slogan is: «*Knowledge as a key asset of adaptation*». The forum was an exchange of international experience and plans for adaptation were considered different perspective developed the ability to influence the components of the radiation balance of the Earth, contributing to stabilizing the global climate in terms of human impact, using geo-engineering and other new technologies.

Formulation and solution of the problem. In Russia, adaptation to climate change is a key element of contemporary climate policy, strategy and priorities defined by the development of the National Hydrometeorological Service. Development Strategy - 2030 the Hydrometeorological Service seeks general information and a number of current research programs, including study of adaptation to climate change [2]. It is planned to create a National Climate Centre, which will include institutions of various profiles. Now, the accumulated enough evidence to support the value and impact heliogeophysical and comical factors in the evolution of "living matter" on planet Earth, and in the development of a number of syndromes and conditions associated with weather sensitive, not only the individual but also the population in a whole. There is no doubt that the universality of the heliogeophysical, climatic and weather factors on biological objects, and above all a man requires innovative methods and technologies for research on an interdisciplinary basis [3].

In condition climate change requires the upgrading of specific methods for assessing and predicting environmental comfort and health in accordance with modern criteria and age groups, as well as the development of preventive measures. Solutions to this pervasive problem to create a methodology of scientific research, including the synthesis and development of the known methods based on modern information technology [4,5].

At first time the author put the innovative task of forming a unified information environment in which first carried out and tested the following:

- Proposed the concept of biometeorological information system and developed a working scheme of the algorithm;
- Place ranking biometeorological and parameters and the method of peer review to select the most appropriate indicators to measure the comfort of complex weather patterns;
- Created automated complex calculation, processing and analysis biometeorological information;
- Created the technique and information technology rapid assessment of individual weather sensitive syndromes rights based adaptive types;
- Improvement of road-shows the schemes of biometeorological monitoring;
- Held integrated assessment of the bioclimate of some cities of the North-Western region of new teaching positions.

The implementation of this multi-disciplinary task possible on the basis of international cooperation experts: climatologists, biometeorologist, geophysicists, biophysicists, medical geographers, biologists, hygienists, health resort, environmentalists and others.

References

1. International Scientific Conference "Problems of adaptation to climate change" (PACC -2011) [electronic resource] <http://www.pacc2011.ru/>
2. Strategy of activities in the field of hydrometeorology and related areas for the period up to 2030 (taking into account aspects of climate change) [text] / Proekt.-M., 2009.-77 p.
3. Revich BA, VV Maleev Climate change and health in Russia: situation analysis and forecast evaluation. [Text] - M. LENAND, 2011. - 208 p.
4. Trubina M.A., Hasso L.A., Dyachko J.C. Methods for evaluation of bioclimatic North-West region of Russia. // Proceedings of the Russian Hydrometeorological University 13.Nauchno number-theoretical journal. [Text] - St.: Vol. RSHU, 2010. - S. 121-137
5. Trubina M.A. The influence of space and terrestrial weather on human health: perspectives of a knowledge management system infrastructure [Text] / MA Trubina // Mat. Internat. Sem. "Climate Change and Public Health of Russia in the 21st Century", 5 - April 6, 2004 G.-M. Univ. «Adamant», 2004.-C.225 - 238.

**АДАПТАЦИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ К УСЛОВИЯМ
ТЕХНОСФЕРЫ**

**ADAPTATION OF LIVING ORGANISMS
TO THE TECHNOSPHERE**



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВО ВРЕМЕНИ КАЧЕСТВА СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА *BROMOPSIS INERMIS*, СФОРМИРОВАВШЕГОСЯ В УСЛОВИЯХ РАДИОНУКЛИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВУРСа

Антонова Е.В., Позолотина В.Н., Каримуллина Э.М.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия
e-mail: selena@ipae.uran.ru

Изучена временная изменчивость жизнеспособности, радиочувствительности и мутабельности семенного потомства костреца безостого (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub) из ценопопуляций зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа) и фоновых выборок (Россия, Урал). Проведен годичный эксперимент с ежемесячной закладкой. Каждый из 12 этапов эксперимента длился 21 день. Всего было посеяно 5 220 семян. Опыты проведены в трех одновременных повторностях.

У семян костреца период покоя отсутствует (рис. 1 А). Минимальный диапазон изменчивости выживаемости характерен для фоновых выборок (72.9–90.0%, среднее=81.9%). Наименьшая выживаемость проростков выявлена во всех ценопопуляциях в октябре. В зоне ВУРСа обнаружены следующие особенности: 1) расширение диапазона изменчивости признака при снижении его среднегодового значения (8.0-60.0, 36.6 и 6.7-46.7, 28.7% для выборок импактная-1 и -3 соответственно, $p < 0.001$); 2) волновой характер изменчивости выживаемости у наиболее загрязненной выборки *Импактная-3*.

В осенне-зимние месяцы во всех изученных выборках костреца (рис. 1 Б) преобладали проростки с короткими корнями (1.6–33.9 мм). В весенне-летний период длина корней достигала 39-130 мм, при этом в ценопопуляциях ВУРСа она была значимо ниже фоновых значений ($p < 0.001$). Для потомков растений, длительное время произрастающих в условиях максимального загрязнения, характерно проявление сезонной асинхронности по данному признаку.

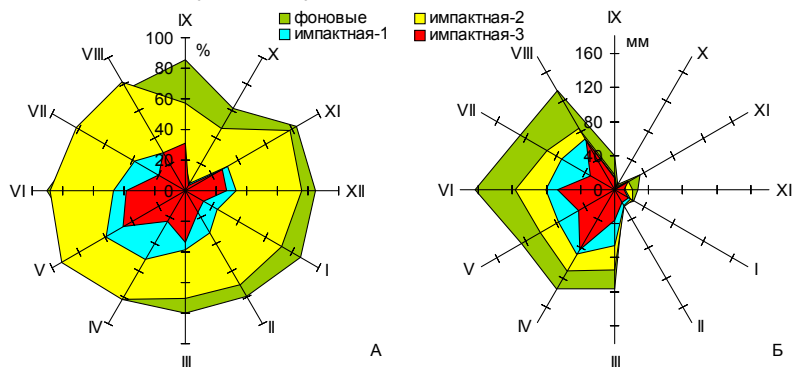


Рис. Временная динамика выживаемости (А) и длины корней (Б) проростков *B. inermis* из ценопопуляций ВУРСа.

Провокационное облучение расширило амплитуду изменчивости выживаемости проростков. У фоновых выборок в декабре наблюдали эффект подавления до 36.7% к собственному необлученному контролю, а в августе – стимуляции до 126.8%. Импактные выборки демонстрировали максимальную вариабельность выживаемости: от полной гибели проростков (*Импактная-1* и *-3*) до 300 % стимулирования. Подобная нестабильность в ответе на дополнительное облучение была обнаружена нами ранее и у других видов растений зоны ВУРСа (Pozolotina et al., 2005; 2010).

Ежемесячный анализ частоты встречаемости аномалий в развитии проростков вскрыл уникальные изменения у потомков облученных родителей. На примере некрозов coleoptile показано, что почти во все месяцы наблюдаются синхронные волнообразные проявления аномалии этого типа. Максимальная вариабельность характерна для осенне-зимних месяцев, а минимальная – для весенних. В летние месяцы некрозы coleoptile отсутствовали у всех выборок.

Таким образом, особенностями сезонной изменчивости качества семенного потомства *B. inermis* из хронически облучаемых выборок ВУРСа можно считать: 1) расширение диапазона изменчивости признаков (выживаемость, длина корней) при снижении их среднегодовых значений; 2) наличие асинхронных изменений признаков во времени; 3) нестабильность в ответе на провокационное облучение; 4) максимальное проявление морфозов у проростков в осенне-зимние месяцы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 11-04-01260) и Программы развития ведущих научных школ (НШ-5325.2012.4).

Литература

1. Pozolotina V.N., Molchanova I.V., Mikhaylovskaya L.N. & Ul'yanova E.V. (2005). Recent levels of radionuclide contamination in the Eastern Ural Radioactive Trace and biological effects in local populations of *Plantago major* L. *Russ J Ecol.* 36(5): 320–328.
2. Pozolotina V.N., Antonova E.V. & Karimullina E.M. (2010). Assessment of Radiation Impact on *Stellaria graminea* coenopopulations in the Zone of the Eastern Ural Radioactive Trace. *Russ J Ecol.* 41(6): 459–468.

TIMING VARIABILITY OF THE QUALITY OF *BROMOPSIS INERMIS* SEED PROGENY, FORMED UNDER CONDITIONS OF RADIOACTIVE CONTAMINATION (THE EAST-URAL RADIOACTIVE TRACE)

Antonova E.V., Pozolotina V.N., Karimullina E.M.

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg. Russia
e-mail: selena@ipae.uran.ru

We were studied the timing (seasonal) variability of viability, mutability and radioresistance of smooth brome seed progeny (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub) from the East-Ural Radioactive Trace (EURT) and background areas (Russia, the Urals). We carried out annual experiment with the monthly sowing. The duration of each of 12 experiment stages was 21 days. The general number of seeds is 5220. The experiment was conducted in three synchronous replicates.

The dormancy of *B. inermis* seed was absent (Fig. 1 A). The minimum range of survival variability is typical for background samples (72.9-90.0%, annual average (A.A.)=81.9%). The least survival rate of seedlings is typical for October. We were found next peculiarities in the EURT area: 1) Range extension of survival variability and reducing its annual average values (8.0-60.0, 36.6, and 6.7-46.7, 28.7% for impact-1 and -3 samples respectively; $p < 0.01$). 2) Wave character of survival variability in the most contaminated sample (impact-3).

In all the studied samples of brome seedlings with short roots (1.6-33.9 mm) were dominated in the autumn and winter months (Fig. 1 B). Root length reached 39-130 mm in the spring and summer months. This parameter was significantly lower in the EURT populations ($p < 0.01$). The descendants of plants grown for a long time under maximum radiation exposure were characterized by a manifestation of seasonal asynchrony on this feature.

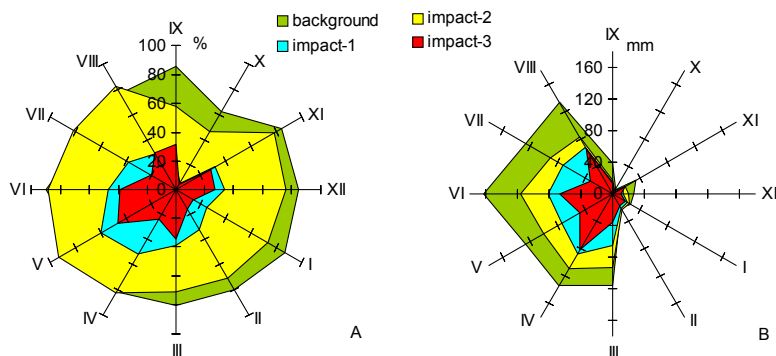


Fig. The dynamics of survival (A) and root length (B) of *B. inermis* seedlings from EURT coenopopulations.

Provocation irradiation increased the amplitude of the survival seedling. We found in December the depression effect in background sample up to 36.7 % to its own non-exposed control, and in August was stimulation effect up to 126.8%. Impact samples were shown the maximum variation: from death of seedlings (impact-1 and -3) to 300% stimulation of survival after irradiation. Such instability in response to the additional exposure was found earlier for other plant species from EURT area (Pozolotina et al., 2005, 2010).

The monthly analysis of frequency of seedlings anomalies revealed unique changes in the offspring of irradiated parents. The investigation of necrosis coleoptiles shown the frequency of seedlings anomalies displayed synchronous in all months. The maximum variability was characteristic for autumn and winter months, minimum one was for spring months. In summer months the necroses of coleoptiles were absent for all samples.

Thus, the peculiarities of the seasonal variability of the quality of *B. inermis* seed progeny from the EURT samples can be considered: 1) expanding the range of variability of characteristics (survival seedling and root length) and decreasing of their annual average values; 2) asynchronous changes of these characteristics over time; 3) instability of response to the provocative exposure; 4) the maximum manifestation of seedlings anomalies in autumn and winter months.

Acknowledgments: This work supported by RFBR (project 11-04-01260) and the Program of development of the leading science schools (SS-5325.2012.4).

References

1. Pozolotina V.N., Molchanova I.V., Mikhaylovskaya L.N. & Ul'yanova E.V. (2005). Recent levels of radionuclide contamination in the Eastern Ural Radioactive Trace and biological effects in local populations of *Plantago major* L. *Russ J Ecol.* 36(5): 320–328.
2. Pozolotina V.N., Antonova E.V. & Karimullina E.M. (2010). Assessment of Radiation Impact on *Stellaria graminea* coenopopulations in the Zone of the Eastern Ural Radioactive Trace. *Russ J Ecol.* 41(6): 459–468.

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА РОСТ И НЕКОТОРЫЕ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗЫ ИХ РАЗВИТИЯ

Батова Ю.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии
Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
e-mail: batova@krc.karelia.ru

Кадмий является одним из наиболее широко распространенных загрязнителей окружающей среды и одним из наиболее токсичных тяжелых металлов для всех живых организмов, включая растения (1). Поэтому его влияние на различные стороны жизнедеятельности растений широко изучается. Целью данной работы явилось исследование влияния кадмия на рост и ряд морфофизиологических показателей у растений ячменя, находящихся на разных фазах развития.

Растения ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85 выращивали в песке до достижения фазы всходов (II этап органогенеза) или фазы кушения (IV этап органогенеза), а затем переносили на питательный раствор Кнопа половинной концентрации. В опытном варианте к питательному раствору добавляли 100 мкМ кадмия в форме сульфата. Через 8 суток оценивали воздействие кадмия на длину побега, площадь листа, сформировавшегося за время экспозиции, и длину нижнего междоузлия стебля. О влиянии металла на развитие растений судили по изменению таких морфофизиологических параметров как длина конуса нарастания побега и этап органогенеза (2).

Проведенное исследование показало, что независимо от фазы развития растений кадмий вызывает сильное торможение их роста. В частности, у растений, находившихся и в фазе всходов, и в фазе кушения значительно снижались длина побега (на 63 и 77% по отношению к контролю, соответственно) и площадь листа (на 54 и 56%, соответственно). Помимо этого, в фазу кушения кадмий оказывал сильное ингибирующее воздействие на рост первого междоузлия стебля, длина которого в присутствии металла была почти в 3 раза меньше, чем в контроле. В отличие от ростовых показателей, морфофизиологические параметры растений изменялись под действием кадмия по-разному в зависимости от достигнутой фазы развития. У более молодых растений, находящихся на этапе формирования вегетативных органов, под влиянием металла существенно снижалась длина конуса нарастания побега (на 39% по отношению к контролю) и замедлялись темпы органогенеза. Так, если в контрольном варианте у 80% растений был отмечен III этап органогенеза, то в опытном варианте все растения оставались на II этапе. У более взрослых растений в период дифференцировки соцветия, кадмий не оказывал сколько-нибудь заметного влияния на изученные морфофизиологические параметры растений. Растения опытного и контрольного вариантов не различались между собой по высоте конуса нарастания побега и 50% из них находились на V этапе органогенеза.

Таким образом, кадмий оказывает сильное ингибирующее воздействие на рост ячменя независимо от фазы развития растений. В отличие от ростовых показателей, уменьшение длины и замедление развития конуса нарастания побега под влиянием кадмия отмечено только у растений в период формирования вегетативных органов (фаза всходов).

Литература

1. Wagner G. J. (1993) Accumulation of cadmium in crop plants and consequences to human health // *Advances in Agronomy*. 51: 173–212.
2. Куперман Ф.М. (1984) Морфофизиология растений. М.: Высш. шк., 240 с.

THE EFFECT OF CADMIUM ON GROWTH AND SOME MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF BARLEY PLANTS AT DIFFERENT PHASES OF DEVELOPMENT

Batova J.V., Kaznina N.M., Laidinen G.F., Titov A.F.

Institute of Biology of Karelian Research Center Russian Academy of Sciences,
Petrozavodsk, Russia
e-mail: batova@krc.karelia.ru

Cadmium is a widespread pollutant of environment and one of the most toxic heavy metals for all live organisms, including plants (1). Therefore its influence on the various aspects of plants vital activity is widely studied. The aim of this work was to investigate effect of cadmium on growth and morphophysiological parameters of barley plants being at different phases of development.

Plants of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) cv. Zazerskii 85 grew up in sand before its achieved seedlings (II stage of organogenesis) or tillering (IV stage of organogenesis) phase and then transferred on 0.5 strength Knop solution (control treatment). In experimental treatment 100 μ M cadmium sulfate was added to the nutrient solution. In 8 days of plant exposure to the cadmium solution the shoot length, the area of the leaf, emerged during an exposition, and the length of the stem basal internode was estimated. Impact of metal on plants development was judged on change of an apex length and a stage of organogenesis (2).

The carried out research showed that irrespective of plants developmental stage cadmium causes braking of their growth. In particular, at both seedlings and tillering phases considerably decreased the shoot length (for 63 and 77 % in relation to control, respectively) and the leaf area (for 54 and 56 %, respectively). In addition, at tillering phase cadmium caused strong inhibition of internode elongation, which length in the presence of metal was almost in 3 times less, than in control. Unlike growth, morphophysiological parameters of plants subjected to cadmium treatment changed differently depending on the reached phase of development. In younger plants, during formation of vegetative organs, cadmium essentially decreased length of the apex (for 39 % in relation to control) and rate of organogenesis. So, in control treatment, 80 % of plants passed to the III stage of organogenesis, whereas all plants treated with cadmium remained at the II stage. In more adult plants, during an inflorescence differentiation, cadmium didn't render a noticeable influence on the studied morphophysiological parameters of plants. Plants at tillering phase didn't differ from its other on the apex length and the rate of organogenesis – 50 % of plants were at the V stage.

Thus, cadmium has strong inhibitory effect on barley growth irrespective of a phase of development. On the contrary, reduction of size and delay of a shoot apical meristem development in the presence of cadmium was noted only in seedlings.

References

1. *Wagner G. J.* (1993) Accumulation of cadmium in crop plants and consequences to human health // *Advances in Agronomy*. 51: 173–212.
2. *Kuperman F.M.* (1984) *Morphophysiology of plants*. Moscow: Vysshaya Shkola, 240 p.

ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ И ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ, ОБИТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Башлыкова Л.А.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
e-mail: labashlykova@ib.komisc.ru

Исходя из современных представлений концепции популяционной динамики [5] техногенная пессимизация среды может в существенной мере модифицировать естественный ход изменения численности мелких млекопитающих. Зная естественные закономерности динамики численности тех или иных видов млекопитающих по наблюдаемым отклонениям от них можно судить о влиянии возмущающих факторов на популяцию вида. Циклические колебания численности характерны всем мелким грызунам умеренных и высоких широт, его нарушает лишь хозяйственная деятельность человека [1]. Значительные изменения динамики численности на импактной территории могут свидетельствовать о разбалансировке популяционных гомеостатических механизмов [2]. Надежность функционирования биологических систем во многом определяется избыточностью их элементов. Поэтому нестабильности окружающей среды экосистема противопоставляет избыточность [3], которая способствует сохранению вида в условиях антропогенного изменения среды обитания.

Объектом нашего исследования были полевки-экономки (*Microtus oeconomus* Pall.), длительное время (более 50 лет) обитающие в условиях повышенного фона естественной радиоактивности (Республика Коми). Мощность γ -излучения на радиовом участке превышает фоновые значения в 10-300 раз (0,5-12,5 мкГр/ч), на урано-радиовом участке содержание урана в почве в 80-100 выше кларка, мощность γ -излучения – в пределах 2-60 мкГр/ч.

Многолетние исследования показали, что хроническое воздействие ионизирующего излучения привело к изменению в демографической структуре популяции полевок в пользу самок, что является компенсацией отрицательного воздействия антропогенной нагрузки [4]. Обнаружены изменения в стратегии размножения – увеличена интенсивность размножения самок, их плодовитость, отмечено снятие барьера нескрещиваемости между родственными парами. Эти изменения направлены на компенсацию повышенной эмбриональной смертности в результате поражающего действия ионизирующего излучения. Известно, что динамика численности популяций зависит от рождаемости и смертности. У полевок радиового участка доимплантационная смертность изменялась в значительных пределах – от 3,4 до 11,1 %. Увеличение эмбриональной смертности отмечено в депрессию численности. В результате отрицательного отбора происходит снижение леталей, что приводит к уменьшению эмбриональной смертности и повышению плодовитости на следующей фазе численности (на подъеме). Более высокая потенциальная плодовитость в совокупности с пониженной эмбриональной смертностью способствуют тому, что численность полевок на радиовом участке становится выше, чем на контрольном. В силу этого наблюдаются длительные периоды высокой численности животных. На урано-радиовом участке, где кроме повышенного фона радиации присутствуют тяжелые металлы, повышенная в два раза эмбриональная смертность сводит на нет увеличение потенциальной плодовитости. Эта популяция не способна поддерживать закономерный ход популяционного цикла, и здесь отмечены длительные периоды депрессии численности.

Таким образом, долговременное обитание животных в условиях повышенного фона радиоактивного загрязнения привело к существенным изменениям в динамике численности. На радиовом участке изменение закономерного хода популяционного цикла обусловлено длительным периодом высокой численности полевок-экономок. На урано-радиовом участке, с более высоким уровнем радиоактивного и химического загрязнения, нарушение динамики проявляется в виде низкой численности животных в течение ряда лет. То есть, мы наблюдаем замедление хода "популяционных часов" [3]. Изменение в демографической структуре популяции направлено на компенсацию дестабилизирующего эффекта ионизирующего излучения, и осуществляется через увеличение доли самок, ответственных за поддержание численности популяции, повышение их плодовитости.

Работа поддержана программами Президиума Уральского отделения Российской академии наук (12-И-4-2006, 12-П-4-1021).

Литература

1. Башенина Н.В. Пути адаптации мышевидных грызунов. – М.: Наука, 1977. – 355 с.
2. Лукьянова Л.Е., Лукьянов О.А. Реакция сообществ и популяций мелких млекопитающих на техногенные воздействия. I. Сообщества // Успехи современной биологии. 1998а. Т. 118, вып. 5. С. 613-622.
3. Межжерин В.А., Емельянов И.Г., Михалевич О.А. // Комплексные подходы в изучении популяций мелких млекопитающих. Отв. ред. Большаков В.Н., АН УССР – Киев: Наукова думка, 1991. – 204 с.
4. Принципы зоологического контроля природной среды / О.А. Пястолова, Л.С. Некрасова, В.Л. Вершинин, Л.Е. Лукьянова, О.А. Лукьянов, Э.З. Гатиятуллина // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Т. XII, Л-д, Гидрометеиздат, 1989, С. 220-234.
5. Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. – М.: Наука, 1980. – 278 с.

THE CHANGES IN THE POPULATION DYNAMICS AND DEMOGRAPHIC STRUCTURE OF MOUSE-LIKE RODENTS UNDER THE IMPACT OF RADIOACTIVE POLLUTION

Bashlykova L.A.

Institute of Biology Komi SC UB RAS, Syktyvkar, Russia
e-mail: labashlykova@ib.komisc.ru

Reasoning from the modern conception in the population dynamics theory [5], the technogenically-impacted medium can largely modify the natural population rhythm of small mammals. Knowing the natural population dynamics mechanisms of any mammalian species, it is possible to judge about the power of impact of technogenic factors on the species population. Population number variation proceeds in a cycle which is characteristic of all small mammals in moderate and high latitudes; it is only hampered by man's agricultural activities [1]. Any great non-specific changes in the population dynamics on impact site may evidence the imbalance of population homeostatic mechanisms [2]. The stability of biological systems largely depends on the redundancy of their elements. So, the ecosystem opposes the redundancy of its elements to the non-stability of the environment [3]; this redundancy provides for species conservation in the anthropogenically-changed environment.

The study object is represented by tundra voles (*Microtus oeconomus* Pall.) which have lived in the excessive natural radiation background (Komi Republic) for a long time (for over 50 years). The γ -irradiation dose rate exceeds the background by 10-300 times (0.5-12.5 $\mu\text{Gy/h}$) at the radium-contaminated site. The content of uranium in soil is by 80-100 times higher than the Clarke number at the uranium-radium site (γ -irradiation dose rate is 2-60 $\mu\text{Gy/h}$).

By the perennial studies, chronic ionizing radiation changes the demographic structure of tundra voles by increasing the share of females that is compensation in response to anthropogenic load [4]. Some changes in reproduction strategy have been revealed such as excessive reproduction intensity and higher fertility, crossing between relatives. These changes aim at compensation of high embryologic mortality due to ionizing irradiation. The population dynamics is known to be dependent of birth- and death-rates. Pre-implantation mortality of tundra voles at the radium site varies within 3.4-11.1%. The embryonic death-rate increases at the period of population number depression. The negative selection result is reducing the lethal factors which, in turn, decrease the embryonic death-rate and increase the fertility at the next population development stage (when population increases in number). High potential fertility along with low embryonic death-rate ensure that the number of *Microtus oeconomus* Pall. at the radium site exceeds the background. The population number resists high for long periods of time. At the uranium-radium site impacted by excessive irradiation and additionally by heavy metals, the twice as more embryonic death-rate reduces to zero the potential fertility increase. This population cannot self-maintain its natural development cycle and is observed for long periods of population number depression.

Thus, long-time living of animals under conditions of radioactive contamination caused valuable changes in the population dynamics. At the radium site, the populations have been characterized by high number of tundra voles for a long time period. At the uranium-radium site impacted by both radioactive and chemical contamination, the populations have been observed for low number of the study animals for numerous years. In other words, we evidence the slowing down 'population clock' [3]. The changes in the demographic population structure aim at compensation of destabilizing effect of ionizing radiation and are realized through the increasing share of females and their high fertility.

This work was supported by the Programs of the Presidium of the Ural Branch of Russian Academy of Sciences (12-4-2006, 12-P-4-1021).

References

1. *Bashenina N.V.* Adaptation routes of mouse-like rodents. – M.: *Nauka*, 1977. – 355 p.
2. *Luk'yanova L.E., Luk'yanov O.A.* Reaction of communities and populations of small mammals to technogenic impacts. I. Communities // *Modern biology achievements*. 1998a. V. 118, Iss. 5. P. 613-622.
3. *Mezhzherin V.A., Emel'yanov I.G., Mikhalevich O.A.* // Complex study approaches to populations of small mammals. Editor-in-chief Bol'shakov V.N., AS USSR – Kiev: *Naukova dumka*, 1991. – 204 p.
4. Zoological control principles of the environment / O.A. Pyastolova, L.S. Nekrasova, V.L. Vershinin, L.E. Luk'yanova, O.A. Luk'yanov, E.Z. Gatiyatullina // *Problems of ecological monitoring and modeling of ecosystems*. V. XII, Leningrad, *Gidrometeoizdat*, 1989, P. 220-234.
5. *Shvarts S.S.* Evolution ecological regularities. – M.: *Nauka*, 1980. – 278 p.

АДАПТАЦИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ К ДЕЙСТВИЮ ТЕХНОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

¹Белозерская Т.А., ¹Гесслер Н.Н., ¹Егорова А.С., ²Асланиди К.Б., ³Иванова А.Е.

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

²Институт теоретической и экспериментальной биохимии РАН, Пущино, Московская область, Россия

³Факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e-mail: tab@inbi.ras.ru

Усиление антропогенного влияния на окружающую среду способствует формированию таких условий, с которыми многие микроорганизмы не соприкасались на протяжении своего развития. Отбору микроорганизмов, резистентных к нарастающему загрязнению окружающей среды способствуют такие свойства отдельных групп грибов-экстремофилов, как формирование защитных систем, морфологическая изменчивость и отсутствие полового процесса.

В последнее время показано, что действие разных неблагоприятных факторов, включая радиоактивное излучение, приводит к окислительному стрессу и повышению образования в грибной клетке активных форм кислорода (АФК). Задачей исследования было выявление механизмов адаптации микроскопических грибов к повышенной концентрации H_2O_2 в среде.

Эвритопный вид *Paecilomyces lilacinus*, обладающий гиалиновым мицелием и совершенно не изученный с точки зрения защиты от стресса, привлек наше внимание ввиду следующих особенностей: широкое распространение как в аэробных, так и в анаэробных условиях существования; способность паразитировать как на насекомых и рыбах, так и на людях; способность к существованию в зонах с высоким уровнем радиоактивного загрязнения (в последние годы он рассматривается как биоиндикатор высокой степени заражения почв чернобыльской зоны- $3,7 \times 10^6$ - $3,7 \times 10^8$ Бк/кг); способность адаптироваться к высокой концентрации меди в среде обитания (в 30 раз превышающей ПДК по валовым формам и в 150 – по подвижным); наличие большого количества пигментов не меланиновой природы. В связи с приведенными особенностями вида для работы нами выбрано 8 штаммов гриба из разных экотопов, включающих фоновый и повышенный уровни радиоактивности, повышенную концентрацию меди в почве.

Нами показано, что адаптация к экстремальным условиям существования связана с повышенной резистентностью к окислительному стрессу (Чернобыльские изоляты выносят 10^{-2} - 10^{-1} H_2O_2 по сравнению с грибами из зон с фоновым уровнем радиации – 10^{-3} H_2O_2); со способностью замедлять рост в первые 40 мин действия H_2O_2 ; сохранять способность к росту при широком диапазоне концентраций источника углерода в среде обитания (0,002-20%), однако иметь повышенную скорость роста при низкой концентрации глюкозы в среде (0,2% - штаммы Чернобыльской зоны и зон с повышенным содержанием меди в почве); способностью к агрегации гиф. Была обнаружена штаммоспецифичность реакций антиоксидантных ферментов: у некоторых штаммов на стресс реагировала СОД, у других — каталаза. У чернобыльских штаммов резистентность к стрессу была связана с наличием меланиновых пигментов. Их повышенное количество было выявлено нами впервые у чернобыльских штаммов с гиалиновым мицелием.

Таким образом, грибы-экстремофилы, обладающие резистентностью к радионуклидам, представляют интерес как подходящие организмы для биоремедиации. Они также являются перспективными моделями для понимания эволюции стрессоустойчивости и выявления тенденций формирования паразитических микроорганизмов с новыми свойствами.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF MICROSCOPIC FUNGI TO TECHNOGENIC FACTORS

¹Belozerskaya T.A., ¹Gessler N.N., ¹Egorova A.S., ²Aslanidi K.B., ³Ivanova A.E.

¹A.N.Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia

²Institute of Theoretical and Experimental Biochemistry, Puschino, Moscow Region, Russia

³Soil Science Faculty of Moscow State University, Moscow, Russia

e-mail: tab@inbi.ras.ru

The increase of anthropogenic influence on environment provides the development of environment conditions that microorganisms were not exposed to through evolution. Some properties of extremophytic fungi, such as formation of defense systems, morphological variability and lack of sexual development, contribute their selection.

Recently it was shown, that various environmental impacts including ionizing radiation, gave rise to oxidative stress and to an increase of reactive oxygen species (ROS) in fungal cell. The purpose of the investigation was to reveal adaptation mechanisms of microscopic fungi under increased H₂O₂ concentration.

Paecilomyces lilacinus is an eurytopic species with hyaline mycelium. Its defense mechanisms against stress are entirely unexplored. It attracted our attention because of the following features: wide distribution in both aerobic and anaerobic conditions, the ability to parasitize both on insects and fish, as well as on humans, the ability to exist in areas with high levels of radioactive pollution (in recent years, it has been considered an indicator of high degree of soil contamination in the Chernobyl zone of $3,7 \cdot 10^6$ - $3,7 \cdot 10^8$ Bq / kg), ability to adapt to excessive copper concentrations in environment (30 times higher the MPC for gross forms and 150 - for mobile), the large amount of non-melanine pigments. Due to the above named species peculiarities, we have studied eight *P.lilacinus* strains from different ecotopes including those with background radioactivity, radioactive contaminated soils and soils with excessive copper concentrations.

We have shown that adaptation of this species to extreme conditions is associated with increased resistance to oxidative stress (Chernobyl isolates tolerate 10^{-2} - 10^{-1} M H₂O₂ compared with fungi from areas of the background radiation - 10^{-3} M H₂O₂); growth rate slow-down during the first 40 minutes of H₂O₂ treatment; survival at wide range of carbon source concentrations in the medium (0,002-20%); an increase of growth rate at a low glucose concentration in the medium (0,2% - strains of the Chernobyl zone and areas with a high copper content in soil); the ability to hyphae aggregation. Strain specificity of enzyme antioxidants was shown: in some strains of Chernobyl fungi SOD reaction to stress was found, in other ones catalase activity varied as a result of stress. Stress resistance of Chernobyl strains was associated with melanins. Increased amount of these pigments in strains with hyaline mycelium from radioactive contaminated soils was revealed.

Thus, extremophytic fungi with increased resistance to radionuclides are of interest as suitable organisms for bioremediation. They are also a promising model for understanding the evolution of stress resistance and identification of trends in the formation of parasitic organisms with new properties.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ЗАТРАТЫ НА ВОСПРОИЗВОДСТВО У ПТИЦ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ

Бельский Е.А., Безель В.С.

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия
e-mail: bezel@ipae.uran.ru

Многие авторы отмечают устойчивость биосистем разного уровня к химическому загрязнению природной среды. Подобная адаптация к экстремальным факторам среды происходит на фоне снижения продуктивности и уменьшения экологической емкости местообитаний, упрощения структуры сообществ и локальных популяций. Эффекты загрязнения у птиц выражаются в значительных репродуктивных потерях (увеличение доли брошенных кладок, снижение размера кладки, увеличение эмбриональной и птенцово-й смертности), ограничивающих способность локальных группировок к самовоспроизводству (Бельский и др., 2005). Перевод репродуктивных затрат в энергетический эквивалент позволяет сравнивать потери на разных стадиях гнездования, затраты у разных пар и локальных популяций, обитающих в разнообразных условиях среды. Затраты энергии у птиц в природе рассчитывают на основании бюджетов времени, составленных по непосредственным наблюдениям, на основе энергетической стоимости элементарных форм активности (Дольник, 1995). Однако подобные оценки для отдельных пар не отражают в затрат локальной популяции на воспроизводство, так как не учитывают неуспешные попытки размножения.

Выполнены многолетние (1989-2008 гг.) наблюдения за размножением мухоловки-пеструшки *Ficedula hypoleuca* в окрестностях Среднеуральского медеплавильного завода (г. Ревда, Свердловская обл.) – мощного источника загрязнения среды полиметаллической пылью и диоксидом серы. Площадки с искусственными гнездовьями заложены в трех зонах воздействия: импактная (сильное загрязнение) буферная (умеренное загрязнение) и фоновая (загрязнение на уровне регионального фона).

Расчет энергетических затрат на размножение включал следующие этапы гнездового цикла: постройку гнезда, синтез яиц, инкубацию кладки, выкармливание птенцов (таблица). Распределение затрат продуктивной энергии по стадиям гнездового цикла характеризуется наибольшим ее расходом на выкармливание птенцов, что объясняется максимальной двигательной активностью взрослых птиц в этот период. В зоне сильного загрязнения уменьшается по сравнению с фоновой доля затрат на выкармливание птенцов, что связано с сокращением количества птенцов в гнезде, но увеличиваются относительные затраты на синтез яиц и постройку гнезд в результате возрастания доли брошенных кладок.

Популяционная энергетическая "стоимость" слетка мухоловки-пеструшки растет с увеличением загрязнения, что связано с возрастанием величины энергетических потерь вследствие гибели части потомства на разных стадиях гнездования. Если не учитывать гибель гнезд, яиц и птенцов, то затраты на одного слетка оказываются сходными на сравниваемых участках: 345-353 кДж/сезон. Межгодовая вариабельность популяционной энергетической "стоимости" слетка в зоне сильного загрязнения больше, чем на фоновой территории. Средние затраты энергии на слетка возрастают в годы с холодной погодой и при увеличении размера кладки.

Таблица. Затраты продуктивной энергии на одного слетка локальными группировками мухоловки-пеструшки *Ficedula hypoleuca* в разных зонах загрязнения в окрестностях Среднеуральского медеплавильного завода, распределение общих затрат по стадиям гнездового цикла (среднее $\pm$ SE)

Показатель, стадия гнездового цикла	Зона загрязнения (количество лет наблюдений)		
	Фоновая (20)	Фоновая (20)	Фоновая (20)
Затраты продуктивной энергии на 1 слетка, кДж/сезон			
Общие затраты	384.1 $\pm$ 5.5	395.8 $\pm$ 9.0	465.0 $\pm$ 21.3 **
Энергетические потери	28.5 $\pm$ 5.2	46.2 $\pm$ 8.7 *	116.7 $\pm$ 20.1 **
Распределение общих затрат по стадиям гнездового цикла, %			
Строительство гнезда	3.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.1	7.2 $\pm$ 1.0
Синтез яиц	3.8 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.5
Инкубация яиц	28.2 $\pm$ 0.3	29.8 $\pm$ 0.6	28.8 $\pm$ 0.9
Выкармливание птенцов	64.3 $\pm$ 0.5	63.3 $\pm$ 0.7	58.5 $\pm$ 0.9

Примечание: Отличия от фонового показателя значимы при * $p < 0.05$ и ** $p < 0.001$ (тест Манна-Уитни)

Благодарности: Исследование поддержано Грантами РФФИ № 10-04-00146, Президиума УрО РАН (12-М-23457-2041) и Программой развития ведущих научных школ (НШ-5325.2012.4).

Литература

- Дольник В.Р. (1995). Ресурсы времени и энергии у птиц в природе. СПб.: Наука. 360 с.
- Бельский Е.А., Лугаськова Н.В., Карфидова А.А. (2005). Репродуктивные показатели мухоловки-пеструшки *Ficedula hypoleuca* Pall. и морфофизиологические характеристики ее птенцов в условиях техногенного загрязнения местообитаний. *Экология*. 36(5): 362–369.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ENERGETIC REPRODUCTIVE COSTS IN BIRDS UNDER CONDITIONS OF INDUSTRIAL POLLUTION

Belskii E.A., Bezel V.S.

The Institute of Plant and Animal Ecology, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia.
e-mail: bezel@ipae.uran.ru

Many studies have revealed resistance of biological systems of different levels to chemical pollution of the environment. Such adaptation to extreme conditions is developing along with decrease in productivity and ecological capacity of habitats, structural simplification of communities and local populations. Pollution-related effects in birds include large reproductive losses (increasing proportion of abandoned nests, reducing clutch size and greater embryonic and nestling mortality) (Belskii et al., 2005). Converting of reproductive costs into energetic equivalent allow comparison of losses in different stages of the nesting cycle and expenditures of different pairs and local populations in different environmental conditions as well. Ornithologists calculate energetic expenditures in wild birds on time budgets based on direct observations using energetic cost of elementary forms of activity (Dolnik, 1995). However such estimates performed for single pairs do not reflect expenditures of local populations for reproduction since they do not take into account unsuccessful breeding attempts.

Long-term studies (1989-2008) of reproduction of the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca* were carried out in vicinities of the Middle-Urals copper smelter (Revda, Sverdlovsk oblast). The smelter is a strong source of environmental pollution with polymetallic dust and sulfur dioxide. Plots with nest-boxes were arranged in three zones of pollution: impact zone (high pollution), buffer (moderate pollution) and background zone (pollution on the level of the regional background).

Calculation of energetic costs for reproduction was performed for stages: nest-building, egg production, clutch incubation and feeding the nestlings (table). Analysis of the distribution of total costs by stages of nesting cycle shows greatest expenditures to feeding the nestlings due to maximal locomotor activity of adults in this period. In the impact zone relative expenditures to nestling feeding decrease compared to background zone due to brood reduction whereas relative expenditures to egg production and nest-building increase due to higher nest desertion.

Population energetic cost of one fledgling of pied flycatcher increases with higher pollution level due to increase of energy losses as a result of partial mortality of the offspring in different stages of nesting. Without taking into account losses of nests, eggs and nestlings expenditures per one fledgling are similar in all zones: 345-353 kJ/season. Yearly variability of population energetic cost of one fledgling in heavily polluted zone is greater than in the background one. Average energy expenditures per one fledgling increase in years with cold weather and in nests with larger clutches.

Table. Productive energy expenditures per one fledgling in local populations of the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca* in different pollution zones in vicinities of the Middle-Urals copper smelter and distribution of total expenditures by stages of the nesting cycle (mean $\pm$ SE)

Parameter, stage of nesting cycle	Pollution zone (observation period, years)		
	background (20)	buffer (18)	impact (19)
Productive energy expenditures per fledgling, kJ/season			
Total expenditures	384.1 $\pm$ 5.5	395.8 $\pm$ 9.0	465.0 $\pm$ 21.3 **
Energy losses	28.5 $\pm$ 5.2	46.2 $\pm$ 8.7 *	116.7 $\pm$ 20.1 **
Distribution of total expenditures by stages of nesting cycle, %			
Nest-building	3.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.1	7.2 $\pm$ 1.0
Egg production	3.8 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.5
Clutch incubation	28.2 $\pm$ 0.3	29.8 $\pm$ 0.6	28.8 $\pm$ 0.9
Feeding the nestlings	64.3 $\pm$ 0.5	63.3 $\pm$ 0.7	58.5 $\pm$ 0.9

Note: Differences from the background value are significant at * $p < 0.05$ or ** $p < 0.001$ (Mann-Whitney test).

Acknowledgements: Supported by RFBR (project no. 10-04-00146), Presidium of Urals Branch of RAS (project no. 12-M-23457-2041) and Program for support Scientific Schools (project no. NSH-5325.2012.4).

References

1. Dolnik, V.R. (1995) Time and Energy Resources of Birds in Nature. St. Petersburg: Nauka. 360 p.
2. Belskii E.A., Lugas'kova N.V., Karfidova A.A. (2005). Reproductive Parameters of Adult Birds and Morphophysiological Characteristics of Chicks in the Pied Flycatcher (*Ficedula hypoleuca* Pall.) in Technogenically Polluted Habitats. *Rus. J. of Ecology*. 36(5): 329-335.

ДИНАМИКА АДАПТАЦИИ ИСКУССТВЕННОГО ЛЕСНОГО БИОГЕОЦЕНОЗА ЗА 38 ЛЕТ ПОСЛЕ ПРЕКРАЩЕНИЯ ОРОШЕНИЯ

Беспалов В.П., Сериков В.М.

Институт лесоведения Российской академии наук, с. Успенское, Московская область, Россия
e-mail: bvp-40@mail.ru

В начале 50-х годов прошлого столетия в полупустыне Калмыкии на Приергенинской равнине Прикаспийской низменности впервые был заложен поливной участок лесного биогеоценоза площадью 200 га. На участке преобладают почвы солонцово-светло-каштанового комплекса. На всем орошаемом участке солонцы занимают до 75% площади (1).

В задачи опытов входило: разработка агротехники подготовки почвы для выращивания в условиях полупустыни устойчивых и продуктивных защитных лесонасаждений, а также способов создания защитных лесных полос вдоль каналов оросительной сети, по границам полей севооборота и по границам опытного участка. В дендрарии испытывали более 80 видов деревьев и кустарников (2).

С этой целью были проведены исследования по разработке поливного режима лесонасаждений, подбору ассортимента лесных пород и их размещения. Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), вяз приземистый (перисто-ветвистый, мелколистный) (*Ulmus pumila* L.), скумпия (*Cotinus coggygia* Mill.), ясень зеленый (пенсильванский) (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.), груша обыкновенная (*Pirus communis* L.) были посажены массивами площадью от 0,75 до 1,5 га.

Вода на опытный участок поступала самотеком по оросительному каналу из Аршань-Зельменского водохранилища и далее распределялась по поливным бороздам в междурядьях лесонасаждений.

До 1961 года проводились регулярные поливы древесных насаждений орошаемого участка. С 1968 по 1970 год поливы были однократные, что отрицательно повлияло на состояние лесонасаждений (3). С 1971 по 1972 год регулярные поливы были возобновлены. Однако, с 1973 года полив насаждений был прекращен из-за отсутствия воды в Аршань-Зельменском водохранилище и в дальнейшем уже не возобновлялся.

Уникальный опыт 60-летнего мониторинга динамики развития искусственных лесорастительных сообществ с поливом и после его вынужденного прекращения показал разную устойчивость и приспособительную реакцию древесных и кустарниковых видов к выживанию в изменившихся условиях увлажнения. Они были направлены на ксерофитизацию флоры.

После прекращения орошения распад опытных лесонасаждений продолжался более 10 лет. В первую очередь погибли все тополя вдоль картового оросителя и в дендрарии, за исключением тополя Болле камышинского. У него наблюдается высокая корнеотпрысковая способность, засухоустойчивость и солеустойчивость. Его корневые отпрыски в дендрарии образуют до сих пор целые куртины. (Рис.1). На территории дендрария из 80 видов сохранилось около 15. Наиболее устойчивой среди древесных видов оказалась груша обыкновенная. Она распространилась по всему опытному участку самосевом и от корневых отпрысков (Рис.2, 3, 4). Распространителями ее семян стали лисы, енотовидные собаки, с экскрементами которых распространялись семена груши. Дуб черешчатый сохранился куртинами (Рис.5) и единично. Он хорошо возобновляется самосевом. Адаптацией к недостатку влаги у него явилась редукция плодов и листьев (Рис.6. Слева – редуцированные плоды и листья, справа – в оптимальных условиях местообитания). Широко распространились птицами кустарники: жимолость татарская и смородина золотая.



Рис.1.



Рис.2.



Рис.3.



Рис.4.



Рис.5.



Рис.6.



Рис.7.

Вяз хорошо сохранился вдоль оросительного канала (Рис.7), где из-за фильтрации воды в дно и стенки канала произошло лучшее рассоление и рассолонцевание почвогрунта.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-01347-а.

Литература

1. Зайцев Н.М. (1972). Изменение солевого профиля почв солонцового комплекса под орошаемыми насаждениями. С. 25-89. *Защитное лесоразведение на комплексах светло-каштановых почв и солонцов Калмыкии. Москва. Наука:192 с.*
2. Еськин Б.И. (1981). Деревья и кустарники в насаждениях стационара. С. 33-64. *Повышение устойчивости защитных насаждений в полупустыне. Москва. Наука: 191 с*
3. Власов С.И., Еськин Б.И., Филимонова В.Д. Опыт защитного лесоразведения на орошаемых комплексах светло-каштановых почв и солонцов. С. 90-138. *Защитное лесоразведение на комплексах светло-каштановых почв и солонцов Калмыкии. Москва. Наука: 192 с.*

DYNAMICS OF ADAPTATION OF ARTIFICIAL FOREST ECOSYSTEM FOR 38 YEARS AFTER THE TERMINATION OF IRRIGATION

Bespalov V.P., Serikov V.M.

Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, p. Uspenskoe, Moscow Region, Russia
e-mail: bvp-40@mail.ru

The first irrigation area of the forest ecosystem area of 200 hectares was founded in the early 50s of last century in the semi-desert plains of Kalmykia on the Caspian lowlands Priergeninskaya. The dominating soil there is the alkali-ground light-brown complex. The salt licks occupy up to 75% of the irrigated area (1).

The objectives of the experiments included the development of agricultural techniques to prepare the ground for cultivation in a semi-stable and productive protective forests and also the ways to create a protective forest belts along the canals of the irrigation network along the boundaries of fields and crop rotation within the limits of the test area. More than 80 species of trees and shrubs were tested in the arboretum (2).

The investigations were made on this goal to develop the irrigated plantation regime, the selection of the range of forest species and their placement. English oak (*Quercus robur* L.), elm squat (pinnately branched, small-leaved) (*Ulmus pumila* L.), smoke tree (*Cotinus coggygia* Mill.), Green ash (Pennsylvania) (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.), Common pear (*Pirus communis* L.) were planted in the arrays ranging from 0.75 to 1.5 ha.

The water came to the experimental area by gravity from the irrigation canal of the Arshan-Zelmen water-reservoir and then distributed to the irrigation furrows between rows of planted forests.

Prior to 1961, the regular watering for the tree plantations irrigated land was made. From 1968 to 1970 irrigations were single, so it negatively affected the condition of forests (3). From 1971 to 1972 regular watering was resumed. However, since 1973, irrigation of plantations was stopped due to lack of water in the Arshan-Zelmen water-reservoir and wasn't resumed in the future.

The unique experience of 60 years of monitoring the dynamics of forest vegetation communities with artificial irrigation and without it due to involuntary termination shows a different stability and adaptive response of tree and shrub species to survive in a changing moisture conditions. They were aimed at the xerophytization of flora.

After the end of the irrigation planted forests experienced the collapse lasted for more than 10 years. First all the poplars along the Cartesian sprinkler and arboretum died, except for the poplar Bolle Kamyshin. It has a high ability to form root suckers, drought and salt tolerance. Its root suckers form the entire curtains at the arboretum. (Fig. 1). The 15 species from 80 remained at the arboretum area till now. The most stable among all the species is the pear tree. It spread throughout the area by self-seeding and the root suckers (Fig. 2, 3, 4). The seeds were spread by the foxes, raccoon dogs, which excrements helped to move the seeds of pears. English oak clumps survived in curtains (Fig. 5), and singly. It reproduces well by the self-seeding. It Adaptated to the lack of moisture by the reduction of fruits and leaves (Fig. 6. Left - reduced fruit and leaves, right - under optimal habitat conditions). The shrubs spread widely by the birds: Tatarian honeysuckle and golden currants.



Fig.1.



Fig.2.



Fig.3.



Fig.4.



Fig.5.

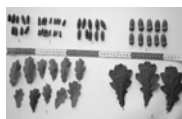


Fig.6.



Fig.7.

Elm is well preserved along the irrigation channel (Fig.7), where was the best desalination of soils due to the filtration of water in the bottom and walls of the channel.

This paper was made with the support of the RFFI grant 12-04-01347-a.

References

1. Zaytsev N.M. (1972). Change the saline soil profile solonetz complex under irrigated plantations. S. 25-89. *Protective afforestation on the complexes of light-chestnut soils and solonetz Kalmykia. Moscow. Science: 192.*
2. Eskin B.I. (1981). Trees and shrubs in the plantations of the hospital. S. 33-64. *Increasing the stability of protective plantations in semi-desert. Moscow. Science: 191*
3. Vlasov S.I., Eskin B.I., Filimonova V.D. Experience of protective afforestation irrigated complexes of light-chestnut soils and saline soils. S. 90-138. *Protective afforestation on the complexes of light-chestnut soils and solonetz Kalmykia. Moscow. Science: 192.*

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ У *Triticosecale* В УСЛОВИЯХ Cd-ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Гарифзянов А.Р.

Кафедра органической и биологической химии Тульского государственного педагогического университета
им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия
e-mail: Garifzyanov86@yandex.ru

В последнее время большое количество исследований посвящено изучению влияния тяжелых металлов на продукцию активных форм кислорода (АФК) и развитие окислительного стресса. Активная генерация АФК наблюдается при действии Cu, Fe, Zn, Ni, Al, Pb и др. Учитывая высокую токсичность ионов Cd^{2+} , а также связанное с хозяйственной деятельностью человека возрастание его количества в окружающей среде, необходимым является выявление комплекса изменений в редокс-гомеостазе растений, инициируемых данным металлом.

Объектами исследования являлись побеги и корни тритикале озимого (сорт «Дон»). Растения выращивали в аэрируемой водной культуре на полной питательной среде Кнопа с микроэлементами по Хогланду при 12-часовом световом периоде, температуре воздуха $23 \pm 1/15 \pm 1^\circ C$ (день/ночь), относительной влажности воздуха – 55/75% (день/ночь) и освещенности 35 Вт/м². При достижении проростками фазы кущения, их пересаживали на питательный раствор, содержащий 0,04 мМ $Cd(NO_3)_2$. В побегах и корнях после 12, 24, 48, 72 и 96 часов экспозиции на растворе $Cd(NO_3)_2$ определяли содержание H_2O_2 (3), проводили оценку степени перекисного окисления липидов (ПОЛ) (2) и определение активности антиоксидантных ферментов (гваяколовой пероксидазы и аскорбатпероксидазы) (1).

Проведенное исследование показало, что изменения в про/антиоксидантной системе тритикале озимого под действием 0,04 мМ Cd^{2+} носили органоспецифичный характер, что могло быть связано с преимущественной аккумуляцией кадмия в корнях. В побегах количество H_2O_2 достигало максимального значения (39 ± 3 мкмоль/г сырой массы) уже к концу 1-х суток экспозиции на Cd-содержащей среде, после чего несколько снижалось к 48 часам до 32 ± 3 мкмоль/г сырой массы, что было выше контрольного значения на 35%, и оставалось на данном уровне до конца эксперимента. В то же время количество H_2O_2 в корнях после 12-ти часового повышения его уровня оставалось неизменным до 24 часов, после чего повышалось на 20% к 48 часам. К 72 часам в корнях количество H_2O_2 снижалось, достигая минимального значения к 96 часам (15 ± 2 мкмоль/г сырой массы).

Как известно, одной из основных мишеней действия пероксида, как и других АФК, являются липиды. Проведенное исследование показало, что в побегах количество малонового диальдегида (МДА), являющегося основным продуктом ПОЛ, за первые сутки экспозиции на среде, содержащей 0,04 мМ Cd^{2+} , возрастало на 29%, после чего оставалось неизменным на уровне $0,240 \pm 0,010$ мкмоль/г сырой массы до конца эксперимента. В корнях уровень МДА снижался после 12 часов на 10%, достигая минимального значения к 24 часам ($0,174 \pm 0,012$ мкмоль/г сырой массы). К 48 часам количество МДА повышалось на 21% и оставалось на уровне $0,210 \pm 0,009$ мкмоль/г сырой массы до 72 часов, после чего снижалось к 96 часам в 1,5 раза.

Активность гуаяколовой пероксидазы в побегах в течение первых 3-х суток оставалась на одном уровне, после чего увеличивалась на 30%, достигая уровня в $3,22 \pm 0,27$ мкмоль/мин*г к 96 часам. В то же время, в корнях в течение первых 12 часов экспозиции на Cd-содержащей среде наблюдали 13-кратное увеличение активности фермента, которое сменялось постепенным снижением активности, достигающей к 96 часам величины $1,55 \pm 0,17$ мкмоль/мин*г. Увеличение активности гуаяколовой пероксидазы в первые 12 часов экспозиции могло являться начальным звеном стрессовой реакции тритикале, связанным с необходимостью ликвидации избыточно образующегося H_2O_2 , а также необходимостью укрепления клеточных стенок за счет их лигнификации (фермент катализирует реакцию образования перекрестных сшивок между фенольными компонентами, окисляя их H_2O_2).

Активность аскорбатпероксидазы в побегах тритикале в течение первых 12 часов экспозиции на Cd-содержащей среде снижалась в 2,3 раза, после чего повышалась до уровня в $0,266 \pm 0,035$ мкмоль/мин*г (что было на 30% ниже контрольного значения), на котором стабилизировалась до конца эксперимента. В корнях активность фермента снижалась после 24 часов на 50%, что могло быть связано с истощением конститутивного пула аскорбатпероксидазы из-за нарастающего количества H_2O_2 . Повышение активности фермента в 2,5 раза после 2-х суток экспозиции, достигающее уровня $0,411 \pm 0,064$ мкмоль/мин*г к 96 часам, могло быть связано с новообразованием молекул фермента или оттоком аскорбата из побега к корням (эти результаты согласуются со снижением активности аскорбатпероксидазы после 12 часов в побегах).

Литература

1. Гауриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. (1975). Большой практикум по физиологии растений: 280-310.
2. Heath R.L., Packer L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid Peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125(1): 189-198.
3. Kumar G.N., Knowles N.R. (1993). Changes in Lipid Peroxidation and Lipolytic and Free-Radical Scavenging Enzyme during Aging and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Seed-Tubers. Plant Physiol. 102: 115-124.

THE ACTION OF ANTIOXIDATIVE ENZYMATIC SYSTEM IN A *×Triticosecale* AT THE CONDITIONS OF Cd-INDUCED OXIDATIVE STRESS

Garifzyanov A.R.

chair of organic and biological chemistry of Tula state Lev Tolstoy pedagogical university, Tula, Russia
e-mail: Garifzyanov86@yandex.ru

Recently a considerable quantity of researches deals with the study of heavy metals influence on the formation of a reactive oxygen species (ROS) and development of oxidative stress. The active ROS generation takes place in the presence of Cu, Fe, Zn, Ni, Al, Pb, etc. Because of high toxicity and the increase of Cd^{2+} ions contain in environment it is necessary the study of plant red-ox-homeostasis in the presence of this metal.

Objects of this research were sprouts and roots of *×Triticosecale* (a variety "Don"). Plants grew up as aerated water culture on the Knop full nutrient medium with microelements on Hogland at the 12-h illumination period, air temperature was equal to $23 \pm 1/15 \pm 1^\circ\text{C}$ (day/night), the relative humidity of air – 55/75 % (day/night) and the illumination was equal to 35 W/m^2 . When sprouts reached tailoring stage, the plants were transfer on the nutritious solution containing $0,04 \text{ mmol/l Cd(NO}_3)_2$. In sprouts and roots after 12, 24, 48, 72 and 96 hours of an exposure on a salt solution the content of a hydrogen peroxide (3), a level of lipid peroxidation (LPO) (2) and antioxidative enzymatic activities (ascorbate peroxidases and guaiacol peroxidases) (1) were determined.

The research has shown that alterations in a red-ox-system of *×Triticosecale* at $0,04 \text{ mmol/l}$ of Cd^{2+} had a specific character. It was connected with preferential accumulation of cadmium in roots. In sprout the peroxide content reached the maximum value ($39 \pm 3 \text{ } \mu\text{mol/g}$ wet weigh) already by the end of first day of an exposure on the mixture with cadmium. After that the peroxide level has decreased to 48 h till $32 \pm 3 \text{ } \mu\text{mol/g}$ of wet weigh. It was above that the control value on 35 %, and the value remains the same till the end of experiment. The peroxide level in roots after 12 hours has increased and remained the same till 24 h. After that its level increased on 20 % till 48 h. By 72 h in roots the peroxide level has decreased, reaching the minimum value by 96 h ($15 \pm 2 \text{ } \mu\text{mol/g}$ of wet weigh).

One of the main targets for a peroxide reaction are lipids. The research has shown that in sprouts the malondialdehyde (MDA) level for the first day of experiment on the mixture containing $0,04 \text{ mmol/l}$ of Cd^{2+} has increased 29 % after that it remains at the level of $0,24 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{mol/g}$ of wet weigh till the end of experiment. In roots MDA level has decreased 10 % after 12 hours, reaching the minimum value to 24 hs ($0,174 \pm 0,012 \text{ } \mu\text{mol/g}$ of wet weigh). To 48 hs the MDA content has increased 21 % and remains at the level of $0,210 \pm 0,009 \text{ } \mu\text{mol/g}$ of wet weigh till 72 hs, after that has decreased to 96 hs in 1,5 times.

A guaiacol peroxidase activity in sprouts during first three days of experiment has remained at one level after that it has increased by 30 %, reaching the level of $3,22 \pm 0,27 \text{ } \mu\text{mol/min} \cdot \text{g}$ to 96 hs. In roots within the first 12 hours of an exposure the enzymatic activity was increased by 13 times, after that there was a step-by-step decrease of the activity till $1,55 \pm 0,17 \text{ } \mu\text{mol/min} \cdot \text{g}$ to 96 hs. The increase of a peroxidase activity during the first 12 hs of experiment may be an initial part of a plant's stressful response which could be connected with the necessity of a peroxide destroy, and also with the necessity of solidifying of cellular envelopes at the expense of their lignification (enzyme catalyzes the formation of cross-linking between phenolic components).

An ascorbate peroxidase activity in sprouts of *×Triticosecale* during the first 12 hours of experiment has decreased in 2,3 times, then it raised to level of $0,266 \pm 0,035 \text{ } \mu\text{mol/min} \cdot \text{g}$ (that was on 30 % below than control value) on which it was stabilized till the end of experiment. In roots of enzyme activity was decreased after 24 hours on 50 %, that could be connected with the exhaustion a constitutive pool of enzyme because of increase of a peroxide level. The increase of enzyme activity in 2,5 times after two days, which reached level $0,411 \pm 0,064 \text{ } \mu\text{mol/min} \cdot \text{g}$ to 96 hs, could be connected with the synthesis of new enzyme's molecules or outflow of an ascorbate from a sprout in roots (these results were according with the lowering of an ascorbate peroxidase activity after 12 hours in sprouts).

References

1. Gavrilenko V.F., Ladygina M.E., Khandobina L.M. (1975). The big practical work on plant's physiology: 280-310.
2. Heath R.L., Packer L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid Peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125(1): 189-198.
3. Kumar G.N., Knowles N.R. (1993). Changes in Lipid Peroxidation and Lipolytic and Free-Radical Scavenging Enzyme during Aging and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Seed-Tubers. *Plant Physiol.* 102: 115-124.

БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА К УСЛОВИЯМ ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЫ

Евстафьева Е.В.

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Украина
e-mail: e.evstafeva@mail.ru

В наибольшей степени антропогенная трансформация биосферы вызвана увеличением техногенных потоков различных загрязнителей, изменением биогеохимической организованности среды обитания. Последняя предполагает наличие определенного гомеостатического интервала, в пределах которого биогеоценоз сохраняет устойчивость, а организм человека, замыкающий большинство трофических цепей, - постоянство внутренней среды и адаптационные возможности. В конечном итоге речь идет о взаимодействии эндогенной и экзогенной среды, а основным критерием при его оценке должны являться степень изменения физиологического статуса организма и его адаптационных резервов вследствие изменения химического статуса организма, в особенности его микроэлементной и ксенобиотической составляющей. Решение данной проблемы возможно на базе комплексных региональных натурных (мониторинговых) исследований разного уровня. В настоящее время в крымском регионе разработана система комплексной оценки экологического риска для здоровья, отличительной особенностью которой от существующих является системный подход, ориентирующийся на ключевые звенья взаимодействия среды и человеческой популяции: оценку экологической ситуации с учетом биогеохимической организованности территории с одной стороны, и интегрированную оценку адаптации организма к условиям данной среды обитания и его элементного статуса - с другой. Система позволяет посредством последовательного решения медико-экологических задач: от качественной обобщенной оценки состояния здоровья населения и экологической ситуации на конкретной территории до когортных исследований обусловленности функционального состояния организма действием техногенных факторов, - оценить степень экологического риска для здоровья на конкретной территории.

Апробация этой системы позволила на основании анализа долговременных трендов оценить пространственную неоднородность состояния здоровья по заболеваемости на территории крымского полуострова, выявить территории с наиболее высоким уровнем относительного риска для здоровья. С помощью унифицированных европейских методик оценки экологической ситуации, разрабатываемых Конвенцией LRTAP, оценена нагрузка на территорию тяжелыми металлами. На территориях с повышенной степенью экологического риска исследовано состояние адаптации выборочных групп взрослого и детского населения, определена степень его обусловленности действием тяжелых металлов. Посредством предложенных интегральных критериев (коэффициент дисбаланса, коэффициент детерминации) оценено состояние элементного статуса организма, степень элементного дисбаланса и степень его влияния на функциональное состояние центральной нервной системы. Выполнена сравнительная оценка информативности данного подхода для территорий Украины с разной степенью техногенной нагрузки: городская среда в крымском регионе и промышленные города Донецкого бассейна, - которая показала, что степень обусловленности функционального состояния ЦНС у детей 12-16 лет элементным дисбалансом в этих регионах отличается в 3 раза, а элементный дисбаланс имеет качественные различия.



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOGEOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF HUMAN ADAPTATION TO A CONDITIONS OF TECHNOGENIC ENVIRONMENT

Evstafyeva E.V.

Crimean State Medical University named after Georgievsky, Simferopol, Ukraine
e-mail: e.evstafeva@mail.ru

Antropogenic transformation of biosphere is caused first of all due to the technogenic fluxes of many pollutants and changes in result of that of biogeochemical organization of external environment. Biogeochemical organization implies the definite homeostatic interval in the frames of which a biogeocenosis preserves stability, and human organism, as final consumer of majority of a biogeochemical trophic chains, maintains the stability of an internal environment. In turn it concerns investigation of endogenic and exogenic environment interaction. Main criteria of one should be a level of physiological state changes and adaptive reserves in related to changes of chemical status of humans, in particular it's a microelement and xenobiotic components.

Solving of this problem is possible due to the complex regional natural (monitoring) investigations on different levels. At present days in the Crimea region the complex ecological risk assessment system was developed. Its main characteristic is systemic approach, which takes into account the key chains of relationship between external environment and human population: assessment of ecological situation with consideration of biogeochemical organization of territory from one side, and an integrative assessment of human's adaptation to conditions of this environment and elemental status of organism – from other side. This system permits to estimate the level of ecological risk for human health on definite territory by consecutive solving of medical and ecological regional tasks: from general qualitative assessments of public health and ecological situation to investigation of a functional state determined by technogenic factors in some cohorts on definite territories.

Aprobation of this system on territory of Crimean peninsula allowed to estimate the heterogeneity of public health by a long-term trends of morbidity, to reveal the territories with highest level of relative risk for health. Using the unified European methods (Convention LRTAP) the loads of heavy metals on these territories were estimated. On territories with increased level of ecological risk the state of adaptation in the adult and child cohorts, a degree of heavy metals determined influence on it were investigated. By means proposed the integrative criteria (coefficient of disbalance, coefficient of determination) the elemental status, its disbalance and influence on functional state of central nervous system (CNS) were determined. Comparable assessment of informatively acceptability this approach was carried out for the Ukrainian territories with different levels of technogenic loads: urbanized areas in Crimea and industrial eastern regions of Ukraine. It has shown that level of CNS functional state determination by element disbalance in 12-16 aged children in these regions differs in 3 times (coefficients of determination are 0,15 in Crimean children and 0,45 in children from industrial towns of eastern Ukraine). The element disbalance has qualitative distinguishes: deficiency of essential elements in first and hyperementosis of toxic elements in second group. At present time this approach is extrapolated on other systems: immune, autonomic nervous and cardiovascular systems, - in depends on level of morbidity and nozological profile in region.

ВПЛИВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ НА ПРИРОДНІ ПОПУЛЯЦІЇ МИШОПОДІБНИХ ГРИЗУНІВ

Задира С.В., Лукашов Д.В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", Київ, Україна
e-mail: luminary_SV@ukr.net

Важкі метали характеризуються різною токсичною дією щодо живих організмів. Шкідливий вплив важких металів дедалі відчутніше ускладнює функціонування природних систем [1]. Важкі метали та їх сполуки здатні накопичуватися в тканинах та органах живих істот, викликаючи ряд захворювань. Проте, людина не є індикаторним об'єктом щодо негативного впливу важких металів. На сьогоднішній день важливо знайти більш чутливий тест-об'єкт серед живих організмів. Традиційним об'єктом лабораторних досліджень є мишоподібні гризуни. У представленій роботі викладено результати комплексних досліджень впливу забруднення ґрунту важкими металами на природні популяції гризунів. Було використано популяції фонових видів мишоподібних гризунів грабових дібров Середнього Придніпров'я – європейську руду норицю (*Myodes glareolus* Schreber, 1780) та жовтогорлу мишу (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834). Ґрунтова підстилка є середовищем мешкання цих масових видів дрібних лісових гризунів. Саме тому обрані природні популяції мишоподібних гризунів можуть виступати біомоніторами антропогенного забруднення ґрунту.

Для порівняльного аналізу було обрано три райони дослідження з різним ступенем антропогенного забруднення: Канівський природний заповідник (Черкаська обл.); Національний природний парк "Голосіївський" (м.Київ); район Трипільської ТЕС (теплова електростанція переважно працює на вугіллі).

На відстані 500 м на південний схід від Трипільської ТЕС виявлено підвищений вміст у ґрунтах рухомих форм Pb, Cd, Cr, Ni та Co, що значно (у 3-5 разів) перевищує рівні, характерні для території природного заповідника. У ґрунтах НПП "Голосіївський" відмічено підвищений вміст Pb. Проте, у жодному випадку перевищення рівнів ГДК для ґрунтів не встановлено. Таким чином, не можна однозначно стверджувати про наявність факту забруднення ґрунтів, проте спостерігається збільшення частки біологічно доступної фракції важких металів у ряді: Канівський природний заповідник > НПП "Голосіївський" > район Трипільської ТЕС. Підвищення вмісту важких металів у останніх двох районах, скоріше за все, зумовлено процесами атмосферного переносу та випадіння забруднювачів.

В районі впливу Трипільської ТЕС у печінці гризунів зафіксовано збільшення вмісту Zn та Mn (у жовтогорлої миші, окрім зазначених металів, спостерігається у печінці високий вміст Cu). За таких умов у тканинах печінки досліджених видів гризунів було виявлено ознаки інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів. На відміну від природно-заповідних територій, в районі Трипільської ТЕС зафіксовані найвищі показники вмісту продуктів окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів (у 5 разів у рудій нориці та 6 разів у жовтогорлої миші), малонового діальдегіду (у 8 та 4 разів відповідно) та шифових основ (в 2 та 1,5 разів). Високий вміст малонового діальдегіду у печінці рудій нориці у порівнянні з жовтогорлою мишею може відображати особливості живлення даних видів. Нориця є поліфагом на відміну від жовтогорлої миші, яка є стенофагом.

В умовах забруднення ґрунту поблизу ТЕС у нирках жовтогорлої миші було зафіксовано підвищений вміст Cu та Cr. Одночасно виявлено збільшення індексу нирок (з 1,4% у тварин природно-заповідних територій до 1,8% в умовах забруднення). Крім того зростають відносні розміри печінки (до 7,2%, порівняно із 5,8% на заповідній території), серця (із 0,7% до 0,9% відповідно) та легень (із 1% до 1,2%). Таким чином, у районі з надлишковим надходженням важких металів у тварин збільшується відносна маса нирок, що може свідчити про процеси інтенсифікації метаболізму. У свою чергу, зростання інтенсивності метаболічних процесів під впливом важких металів є наслідком активізації системи адаптивних пристосувань організму та підвищення ролі органів, які відповідають за виведення із організму токсичних речовин. Інтенсивність процесів виведення буде залежати від розмірів таких органів (нирки, печінки), а також об'єму і інтенсивності кровообігу (серця, легень) [2].

Отже, зареєстровані показники біохімічних та морфологічних параметрів організму мишоподібних гризунів в умовах забруднення довкілля важкими металами можуть свідчити про генералізовані зміни внаслідок процесів інтенсифікації метаболізму з ознаками виснаження.

Подяка: Автори висловлюють величезну вдячність науковому співробітнику, к.б.н. кафедри біохімії ННЦ "Інститут біології" Ковальовій Вікторії Анатоліївні за допомогу у проведенні біохімічних досліджень.

Література

1. Удод В.М. Екологічна оцінка забруднення довкілля важкими металами / Удод В.М., Василенко Л.О., Юй Ц.Х. // Екологія і ресурси. – 2005. – Вип. 12. – С. 95–99.
2. Григорьев С.Е. Фауна и экология мелких млекопитающих нижнего течения реки Яна и прилегающих территорий в условиях антропогенного воздействия: автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.08 „Зоология” / С.Е. Григорьев. – Якутск, 2007. – 20 с.

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC ENVIRONMENTAL POLLUTION BY HEAVY METALS ON NATURAL POPULATIONS OF FOREST RODENTS

Zadyra S.V., Lukashev D.V.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology",
Volodymyrska str., 64/13, Kyiv, Ukraine, 01601
e-mail: luminary_SV@ukr.net

Heavy metals are characterized by a different toxic action on living organisms. Harmful influence of heavy metals complicating functions of the natural systems is more observed [1]. Heavy metals and their connections are able to be accumulated in tissues and organs of living creatures, causing some diseases. However, a man is not an indicator object in relation to negative influence of heavy metals. Today it is important to find more sensible test-object among living organisms. The traditional objects of laboratory researches are rodents. The presented work gives the results of complex researches of influence of soil contamination by heavy metals on the natural populations of rodents. The populations of dominating kinds of forest rodents of hornbeam oakeries of Middle Prydniprov'ia – European bank vole (*Myodes glareolus* Schreber, 1780) and yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834) were used. The ground bedding is the habitat of these numerous kinds of small forest rodents. For this reason the natural populations of rodents selected can come forward as biomonitors of anthropogenic contamination of soil.

For a comparative analysis three districts for research were selected with the different degree of anthropogenic contamination: Kaniv Natural Reserve (Tcherkasy region); National Natural Park "Holosiivskii" (Kyiv); the district of Tripolska TES (thermal power-station mainly works on coal).

On distance of 500 m to the South-West from Tripolska TES the raised content in soils of mobile forms Pb, Cd, Cr, Ni and Co is revealed that is considerably (3-5 times) exceeds levels, which are likely for territory of natural reserve. Enhanceable maintenance of Pb is marked in soils of NNP "Holosiivskii". However, in any case exceeding of levels of maximum possible concentrations for soils is not revealed. Thus, it is impossible simply to assert the fact of contamination of soils. However there is an increase of part of biologically accessible fraction of heavy metals in a row: Kaniv Natural Reserve > NNP "Holosiivskii" > the district of Tripolska TES. Increase of content of heavy metals in the last two districts, probably, predefined by the processes of atmospheric transfer and fall of pollutants.

In the district of influence of Tripolska TES in the liver of rodents increase of content of Zn and Mn is fixed. Except *Apodemus flavicollis* the marked metals, there is high maintenance of Cu in a liver. Under conditions the symptoms of intensification of processes of lipid peroxidation were educed in tissues of liver of investigated tissues of rodents. Unlike the naturally-protected territories, in the district of Tripolska TES the greatest indexes of content of products of lipid peroxidation are fixed – dienic conjugates (in 5 times for *Myodes glareolus* and 6 times for *Apodemus flavicollis*), malondialdehyde (in 8 and 4 times accordingly) and Schiff bases (in 2 and 1,5 times). High content of malondialdehyde in the liver of *Myodes glareolus* in comparison with *Apodemus flavicollis* can represent the features of feed of these kinds. Bank vole is polyphage, yellow-necked mouse is stenophage.

Under conditions of contamination of soil nearby TES in the kidneys of *Apodemus flavicollis* enhanceable maintenance of Cu and Cr was fixed. The increase of index of kidneys (from 1,4% of animals on the naturally-protected territories to 1,8% under conditions of pollution) is educed at the same time. In addition the relative sizes of liver (to 7,2% in comparison with 5,8% on the protected territory), heart (from 0,7% to 0,9%) and lungs (from 1% to 1,2%). Thus, in a district with the surplus receipt of heavy metals relative mass of kidneys increases in animals that can testify the processes of intensification of metabolism. In turn, an increase of intensity of metabolic processes under action of the heavy metals is the consequence of activation of the system of adaptive adaptations of organism and increase roles of organs which are responsible for a taking out from the organism of toxic substances. Intensity of processes of taking out will depend on the sizes of such organs (kidney, liver), and also the volume and intensity of circulation (heart, lungs) [2].

Thus, under conditions of pollution by heavy metals the registered biochemical and morphological-physiological indexes testify about presence of generalized changes in an organism of the forest rodents as a result of processes of metabolism intensification with exhausting features.

Gratitude: Authors expound enormous gratitude to the research coworker, c.b.s. of the Subdepartment of biochemistry of Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" Kovalyova Viktoriya Anatoliivna for a help in realization of biochemical researches.

References

1. Удод В.М. Екологічна оцінка забруднення довкілля важкими металами / Удод В.М., Василенко Л.О., Юй Ц.Х. // Екологія і ресурси. – 2005. – Вип. 12. – С. 95–99.
2. Григорьев С.Е. Фауна и экология мелких млекопитающих нижнего течения реки Яна и прилегающих территорий в условиях антропогенного воздействия: автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.08 „Зоология” / С.Е. Григорьев. – Якутск, 2007. – 20 с.

ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА И СОДЕРЖАНИЕ БИОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

Залата О.А., Евстафьева Е.В., Трибрат А.Г.

Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, Симферополь, Украина
e-mail: olga_zalata@mail.ru

Учитывая общее снижение состояния здоровья детского населения Украины, неуклонный рост психосоматических заболеваний, распространенность элементного дисбаланса, провоцирующего изменения химического гомеостаза мозга, изучение состояния психического здоровья у детей, проживающих в условиях материнской депривации, является актуальным [1]. В проведенных ранее нами исследованиях [2] указывалось, что ряд химических элементов при их содержании в организме в условиях городской среды определенным образом влияет на состояние биоэлектрической активности мозга здоровых детей и детей с дисфункцией автономной нервной системы. Можно ожидать, что некоторые особенности электрической активности мозга, обусловленные состоянием элементного баланса организма, могут быть и у детей с нарушением психического развития. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование связи между содержанием 7 химических элементов и текущей биоэлектрической активностью у 30 детей ($12,8 \pm 0,3$) лет, проживающих в условиях интерната.

Регистрировали и анализировали ЭЭГ в 16 локусах. Содержание элементов (Ca, Fe, Mn, Mo, Ni, Sr, Pb) в волосах определяли рентгено-флуоресцентным методом. Связь содержания элементов в организме детей с состоянием биоэлектрической активности мозга анализировали посредством непараметрического корреляционного анализа по Спирмену. Результаты исследования образцов волос детей показали, что в границах нормы были уровни Mo, Sr и Pb, концентрации токсичного Ni и основного Ca превышали норму, содержание Fe было дефицитным у 21%, а Mn - избыточным у 55% детей. Сравнительная оценка нейтротропности элементов по числу выявленных достоверных корреляционных связей показала следующее их распределение: $Pb(67) > Ni(38) > Mn(17) > Mo(9) > Ca(4) > Sr(1)$. Плотность корреляционных связей колебалась от 0,37 до 0,71, ($0,05 < p < 0,0001$), чаще всего связи обнаруживались при регистрации ЭЭГ с закрытыми глазами – 43, реже – при решении арифметической задачи (25). Установлена некоторая специфичность физиологических эффектов разных элементов для ритмов ЭЭГ (рис.). Чаще всего на уровень элементов в организме реагировали дельта- и альфа- ЭЭГ-диапазоны, – 43 и 34 корреляции соответственно. Как следует из приведенных результатов изменения в элементном балансе Ca, Fe, Mn, Mo, Ni, Sr, Pb в организме детей с нарушением психического развития могут сказываться на базовых электрофизиологических характеристиках нервных процессов мозга.

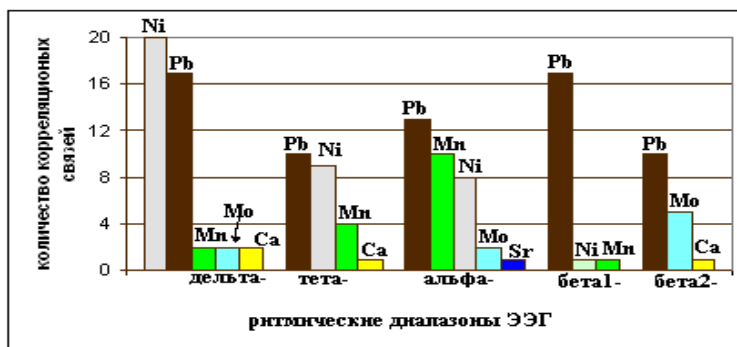


Рис. Количество корреляционных связей между спектральной мощностью ритмов ЭЭГ-активности и содержанием химических элементов в волосах детей с нарушением психического развития.

Литературы

1. Закон України «Про загальнодержавну програму «Національний план дій щодо реалізації Конвенції ООН про права дитини» на період до 2016 року» від 05.03.09 № 1065-VI. — Офіц. вид. — К., 2009.
2. Корреляционные взаимоотношения характеристик ЭЭГ и содержания ряда микро- и макроэлементов (свинец, стронций, кальций) в организме детей 12–13 лет, проживающих в экоризисных регионах Украины / Залата О.А., Евстафьева Е.В., Трибрат А.Г. и др. // Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2010. – 42, № 5. – С. 442-450.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

FEATURES OF BRAIN BIOELECTRICAL ACTIVITY AND CONTENT OF BIOELEMENTS IN CHILDREN WITH MENTAL RETARDATION

Zalata O.A., Evstafyeva E.V., Tribat A.G.

Crimean State Medical University named after Georgievsky, Simferopol, Ukraine
e-mail: olga_zalata@mail.ru

Taking into consideration the general decline in health state of Ukrainian children, steady growth of psychosomatic diseases, prevalence of element disbalance, provoking the changes of brain chemical homeostasis, a study of psychological health state in children, who live in the conditions of maternal deprivation, is actual nowadays [1]. In our early researches was showed [2], that the content of some chemical elements in our organism at the conditions of urban environment definitely influence on the state of brain bioelectric activity in healthy children and children with dysfunction of the autonomic nervous system. It is possible to expect that some features of brain electrical activity, associated with the state of element balance of an organism, can be found in children with mental retardation. The aim of our research was to investigate the connection between the content of 7 chemical elements and a current bioelectrical activity in 30-ty 12,8±0,3 years old children with mental retardation, resident boarding-school.

EEG in 16 points was registered and analyzed. The content of elements (Ca, Fe, Mn, Mo, Ni, Sr, Pb) in the hairs was determined by a method of X-ray fluorescent spectroscopy. The relationship between the content of bioelements in children organisms and state of brain bioelectrical activity was analyzed by non-parametric analysis by Spearman. Excess of Ca and toxic Ni, normal value of Mo, Sr and Pb were established in children hairs. The excess of Mn in 55% of children, and deficiency of Fe in 21% of children was shown. According the comparative estimation of neurotropic action of elements based on the number of valid correlations their distribution are following: Pb(67) > Ni(38) > Mn(17) > Mo(9) > Ca(4) > Sr(1). Density of correlations was fluctuated from 0,37 to 0,71, (0,05 < p < 0,0001), more frequent correlations were revealed during EEG registration with the closed eyes – 43, rare – at the decision of arithmetic task (25). Some specificity of physiological effects of different elements on EEG rhythms was revealed (fig.). Delta- and alfa- EEG-rhythms are most reactive to elements presence in organism – 43 and 34 correlations respectively. As follows from the results of investigation changes of element balance (Ca, Fe, Mn, Mo, Ni, Sr, Pb) in the organism of children with mental retardation can affect on base electro-physiological characteristics of brain nervous processes.

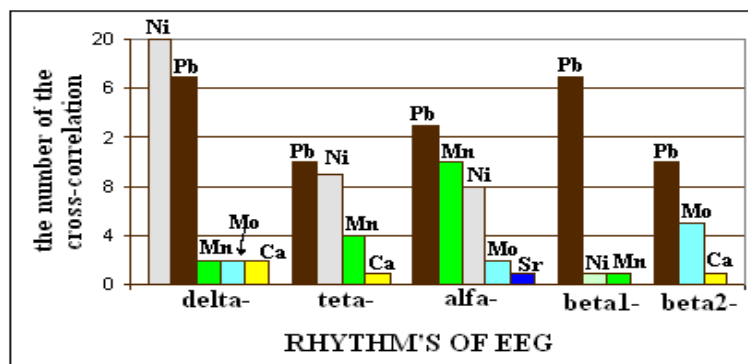


Fig. Number of correlations between spectral power of EEG activity rhythms and content of chemical elements in the hairs of children with mental retardation.

References

1. Закон України «Про загальнодержавну програму «Національний план дій щодо реалізації Конвенції ООН про права дитини» на період до 2016 року» від 05.03.09 № 1065-VI. — Офіц. вид. — К., 2009.
2. Корреляционные взаимоотношения характеристик ЭЭГ и содержания ряда микро- и макроэлементов (свинец, стронций, кальций) в организме детей 12–13 лет, проживающих в экокризисных регионах Украины / Залата О.А., Евстафьева Е.В., Трибрат А.Г. и др. // Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2010. – 42, № 5. – С. 442-450.

АДАПТАЦИЯ БИОИНДИКАЦИОННЫХ РАСТЕНИЙ-ГИДРОФИТОВ К ДЕЙСТВИЮ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Ильяшенко Н.В., Ильяшенко В.Д., Оленева Ю.Г.

ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», Тверь, Россия
e-mail: nadya_bioecology@mail.ru

Высшие водные растения обладают высокой аккумулятивной способностью и используются для определения антропогенных химических нагрузок на водоём в системе биомониторинга состояния окружающей среды. Поскольку под действием антропогенного загрязнения окружающей среды в растениях-биоиндикаторах могут происходить изменения на химическом и анатомическом уровнях, то эффективными методами изучения этих изменений являются Фурье-ИК спектроскопия, растровая электронная микроскопия (РЭМ) и рентгеновский микроанализ (РМА) (1, 2, 3).

Ceratophyllum demersum L. (Роголистник темно-зелёный) встречается в Тверском регионе в стоячих, медленно текущих водах и способен произрастать как в чистых, так и загрязнённых местах обитания (1). Сбор растений и забор воды на химический анализ производился в водоёмах на территории Тверской обл., которые делили по фактору близости к источнику загрязнения на две группы – фоновый (I - р. Межа, Центрально-лесной государственный природный биосферный заповедник) и загрязнённый (II - озеро-охладитель Удомля Калининской АЭС, III - сточный канал ОАО «Редкинский опытный завод»).

Для записи ИК спектров исследуемых образцов использовалась методика с KBr (2). Спектры регистрировали на Фурье-ИК спектрометре «Equinox 55» (Bruker) в диапазоне 400–4000 см⁻¹. Образцы высушенных растений (30–40°C), зафиксированных на углеродном скотче исследовали при увеличении в 500 и 1000 раз в режиме высокого вакуума на растровом электронном микроскопе JEOL 6610LV, РМА проводился с помощью системы микроанализа INCA Energy SEM (OXFORD INSTRUMENTS) (3). Для последующей интерпретации результатов элементного состава и ИК спектров образцов растений параллельно был проведён химический анализ воды исследуемых водоёмов произрастания *C. demersum* с помощью спектрофлуориметра «Флюорат-02-панорама» и системы капиллярного электрофореза «Капель-105» (Льюэкс).

Результаты химического анализа воды из водоёмов произрастания *C. demersum* показали наличие в пробах II, III поллютантов (Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, фенолы, АПАВ, нефтепродукты) значительно превышавших фоновые значения (I). При сравнении ИК спектров образцов *C. demersum* из фонового и загрязнённых водоёмов отмечено значительное изменение химического состава растений. Причём наиболее существенные изменения в интенсивности полос поглощения обнаружены в образцах, собранных в зоне промышленного загрязнения. Спектры образцов растений из загрязнённых местообитаний демонстрируют существенные изменения на частотах: ~2514 см⁻¹ (III), обусловленные валентными колебаниями S-H групп; ~1794 см⁻¹ – валентными колебаниями C=O групп (III); ~876 см⁻¹ – валентными колебаниями S-O-C группы (III) и ~712 см⁻¹ – валентными колебаниями C-S-C групп (III) (2).

В образцах растений *C. demersum*, собранных в загрязнённой зоне, наблюдается деформация и разрушение клеток эпидермиса (образцы II, III), вследствие чего эпидермальный клеточный слой частично теряет свою целостность (3). В образцах II (оз. Удомля) и III (п. Редкино) обращает на себя внимание высокая плотность расположенных на эпидермальном слое исследуемого растения-гидрофита диатомовых водорослей (*Diatomea* sp.). Такое обрастание листьев роголистника водорослями, по-видимому, обусловлено благоприятными для их жизнедеятельности условиями, связанными с повышенным тепловым режимом оз. Удомля АЭС (1). На эпидермисе образца III (п. Редкино) обнаружены, возможно, поверхностные конкреции солей бария и марганца, что согласуется с данными РМА.

Методом РМА определён элементный состав и проведён количественный химический анализ в образцах растений *C. demersum*. Данные РМА отражают общий химический состав *C. demersum* (1). Однако в образцах II и III содержание марганца, железа, серы, хлора выше, чем в фоновом образце, что согласуется с результатами химического анализа воды изучаемых водоёмов. В образце III обнаружена высокая концентрация железа, марганца и бария, не свойственных химическому составу растений (1), что вероятно связано с промышленной деятельностью редкинского опытного завода. В образцах II и III отмечено высокое содержание кремния. Очевидно, источником кремния служит содержащий кремнезём «панцирь» обнаруженных на листьях роголистника диатомовых водорослей.

Все вышеперечисленные реакции в условиях загрязнения окружающей среды следует рассматривать как защитно-приспособительные механизмы клеток. Данный факт свидетельствует о высокой аккумулятивной и адаптационной способности водных растений.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, ГК № 14.740.11.1281 и при поддержке гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «Участник Молодёжного Научно-инновационного Конкурса» («У.М.Н.И.К.»).

Литература

1. Садчиков А.П., Кудряшов М.А. Гидробиотика: Прибрежно-водная растительность: учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Академия, 2005.
2. Infrared Characteristic Group Frequencies. Tables and Charts / Ed. by G. Socrates. London: John Wiley & Sons., 1994.
3. Pathan A.K., Bond J., Gaskin R.E. Sample preparation for SEM of plants surfaces // Materials today, Electron microscopy special issue. 2009. Vol. 12. P. 32–43.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF BIOINDICATOR PLANTS-HYDROPHYTES TO ANTHROPOGENIC FACTORS

Ilyashenko N.V., Ilyashenko V.D., Oleneva Yu.G.

Tver State University, Tver, Russia
e-mail: nadya_bioecology@mail.ru

Higher hydrophytes plants possess high accumulative properties and find their use in the determination of anthropogenic chemical loads on the water body in the system of environment state biomonitoring. As far as bioindicator plants are subject to change at chemical and anatomic levels due to the action of anthropogenic environment pollution, these transformations may be effectively monitored with the aid of FTIR spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) (1, 2, 3).

Ceratophyllum demersum L. occurs in Tver region in stagnant reservoirs with slowly flowing water, ponds, peaceful river backwater, cutoff meanders, and is able to grow both in clear and contaminated inhabitants (1). Collection of the plants and water intake for chemical analysis were performed in water bodies of the city of Tver and Tver region classified by the factor of proximity to the sources of contamination in two groups – control (I - Mezha river, Central-Forest National Natural Biosphere Park) and polluted (II - Coolant lake Udomlya of Kalinin nuclear energy station, III - Cunette of Public corporation «Redkino pilot plant»).

The IR spectra of the samples under study were recorded in the range of 400–4000 cm^{-1} by a standard method with potassium bromide making use of the Fourier transform spectrometer «Equinox 55» (Bruker) (2). Scanning electron microscope studies were made in high vacuum regime with JEOL 6610LV SEM (Japan), EDX was performed with the INCA Energy system (OXFORD INSTRUMENTS, UK). The morphology of the epidermal surfaces was examined at the magnifications of $\times 500$ and $\times 1000$. Samples of the plants for SEM and EDX studies were dried at 30–40 $^{\circ}\text{C}$ and fixed by a graphite adhesive tape (3). In parallel the chemical analysis of the water from the sites of *C. demersum* growth was made to ensure the proper interpretation of the element composition and IR spectra of the aquatic plants from industrial regions with the aid of a spectrofluorimeter "Fluorat-02-Panorama" and capillar electrophoresis system «Kapel-105» (Lumex).

Results of the water analysis of the contaminated sites of *C. demersum* growth confirmed the existence of pollutants (Cl^{-} , NO_2^{-} , NO_3^{-} , SO_4^{2-} , phenols, anionic surfactants, petroleum products) in samples II, III are much higher as compared with the control (I).

Comparison of the IR spectra of *C. demersum* samples taken from control and contaminated reservoirs demonstrates considerable changes in the chemical composition of the plants. It is important that most significant changes of the absorption bands intensity correspond to the samples collected in the regions of industrial contamination. Spectra of plant samples from contaminated sites demonstrate essential changes at the following frequencies: $\sim 2514 \text{ cm}^{-1}$ (III), due to stretching vibration of S-H groups; $\sim 1794 \text{ cm}^{-1}$ because of stretching vibration of C=O groups (III); $\sim 876 \text{ cm}^{-1}$ owing to stretching symmetrical vibration of the S-O-C groups (III); and $\sim 712 \text{ cm}^{-1}$ by virtue of stretching vibration of C-S-C groups (III) (2).

In samples II and III collected in polluted sites there are deformation and destruction of epidermis resulting in violation of the epidermal cell layer integrity (3). In samples II (Udomlya lake) and III (Redkino) the attention is attracted by the high density of diatoms (*Diatomea* sp.) at the epidermal layer of the hydrophytic plant under study. Such kind of hornwort leaves encrustation by diatoms (fouling) is to all appearance stipulated by the favourable conditions for their vital activity due to heightened thermal regime of the Udomlya lake of the Kalinin nuclear plant (1). At the epidermal layer of the sample III (n Redkino) were found superficial concretions of salts of barium and manganese, it is also consistent with the data of X-ray analysis.

The elemental composition and quantitative chemical analysis of *C. demersum* plants. was performed with the aid of EDX. The EDX data reflect the overall chemical composition of *C. demersum* (1). However in samples II and III the manganese, iron, sulphur and chlorine content is higher than in the control sample, which is in accordance with the corresponding chemical analysis data of the water (1). In sample III were detected high concentrations of iron, manganese and barium, is not typical to the chemical composition of plants, it fact is probably associated with industrial activity of Public corporation «Redkino pilot plant».

In addition, high content of silicon in samples II (Udomlya lake) and III (Redkino) should be mentioned. Apparently the silica-containing frustules of diatoms observed on the hornwort foliage serve as a source of silicon.

The above-listed reactions observed under the condition of polluted environment should be regarded as protective-adaptive mechanisms of the cells. This fact is indicative of high accumulative and adaptive properties of aquatic plants.

Acknowledgements. This work was performed within the Federal Target Program "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of Innovation Russia for 2009–2013", contract № 14.740.11.1281 and supported by the grant of Foundation for Development of Small Enterprises in Scientific –Technical Sphere under the Program "Participant of the Youth Scientific–Innovation Competition".

References

1. A.P. Sadchikov, M.A. Kudryashov, Hydrobotany: Coastal Vegetation, Moscow, 2005 (in Russian).
2. G. Socrates (Editor), Infrared Characteristic Group Frequencies. Tables and Charts. London, John Wiley & Sons, 1994.
3. A.K. Pathan, J. Bond, R.E. Gaskin, Sample preparation for SEM of plants surfaces, Materials Today, Vol. 12 (2009) 32–43.

АДАПТАЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К ЗАГРЯЗНЯЮЩИМ ВЕЩЕСТВАМ КАК РЕЗУЛЬТАТ ПРЕСЕЛЕКТИВНЫХ МУТАЦИЙ

Ипатова В.И., Прохоцкая В.Ю., Дмитриева А.Г.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия
e-mail: viipatova@hotmail.com, plera@mail.ru

Современное загрязнение водной среды тяжелыми металлами, пестицидами, лекарственными препаратами, веществами военного применения и др. является сложной проблемой для выживания микроводорослей, поскольку рост многих видов ограничен даже в микромолярных концентрациях этих ксенобиотиков. При добавлении таких токсикантов в относительно плотную культуру микроводорослей численность клеток уменьшается в результате гибели чувствительных клеток. Однако в дальнейшем численность может увеличиваться благодаря размножению клеток, которые являются устойчивыми к ним. Резистентные клетки появляются случайно путем редких спонтанных мутаций, возникающих во время репликации до контакта с загрязнителем и сохраняются в отсутствии него как результат баланса между новыми резистентными клетками, появляющимися в результате спонтанных мутаций и резистентными клетками, элиминированными естественным отбором, что дает микроводорослям возможность выживать при загрязнении окружающей среды. В определенных пределах загрязнения среды организмы выживают в результате физиологической адаптации. Однако генетическая вариабельность в естественной популяции является самой важной гарантией выживания при изменениях окружающей среды. Скорость спонтанных мутаций сильно варьирует в зависимости от вида и от гена к гену внутри тех же самых видов.

Мы применили Лурия-Дельбрюк флуктуационный анализ (1), как комбинированный экспериментальный и статистический метод, чтобы различить клетки, в которых произошли спонтанные мутации, и измерить скорость таких мутаций. Этот метод широко используется, чтобы отличить спонтанные пре-селективные мутации, физиологическую адаптацию и пост-селективные мутации и оценить мутационную скорость у одноклеточных организмов, начиная от бактерий до культуры клеток человека. В настоящей работе проанализирована встречаемость клеток, резистентных к тяжелому металлу хрому и антибиотику стрептомицину, в чувствительных к ним культурах клеток (дикого типа) пресноводной зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. и морской диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle. Флуктуационный анализ показал, что резистентные к стрептомицину и хрому клетки появлялись путем редких спонтанных преселективных мутаций со скоростью $\sim 10^{-7}$ и $\sim 10^{-6}$ мутаций на клеточное деление, соответственно, а не через прямую или специфически приобретенную адаптацию в ответ на присутствие токсических веществ. Повышенная по сравнению с бактериями скорость спонтанных мутаций у микроводорослей, по-видимому, является достаточной, чтобы обеспечивать им возможность выживания в загрязненных условиях, когда размер популяции достаточно большой.

Табл. 1. Флуктуационный анализ резистентных вариантов в культуре *Scenedesmus quadricauda* (2)

	Set 1	Set 2
Число повторностей	52	30
Число культур, содержащих следующее число резистентных кл/мл:		
0	45	0
$0-2 \times 10^4$	2	0
$2 \times 10^4-10^5$	5	30
$>10^5$	0	0
Варианса/среднее (из числа резистентных клеток на повторность)	61.5	3.2
μ (число мутаций на клеточное деление)	5.2×10^{-6}	

Табл. 2. Флуктуационный анализ резистентных вариантов в культуре *Thalassiosira weissflogii* (2)

	Set 1	Set 2
Число повторностей	49	30
Число культур, содержащих следующее число резистентных кл/мл:		
0	36	0
1-1300	4	0
1300-5000	9	30
>5000	0	0
Варианса/среднее (из числа резистентных клеток на повторность)	16.8	0.95
μ (число мутаций на клеточное деление)	3.1×10^{-6}	

Литература

1. Luria S.E. and Delbrück M. (1943). Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*. 28: 491-511.
2. Ipatova V.I., Prokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G. (2007). Structural changes and adaptation of algal population under different regimens of toxic exposure. <http://necsi.org/events/iccs7/viewpaper.php?id=32>

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF MICROALGAE TO POLLUTION AS A RESULT OF PRE-SELECTIVE MUTATIONS

Ipatova V.I., Pokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G.

Moscow State University M.V. Lomonosov, Moscow, Russia
e-mail: viipatova@hotmail.com, plera@mail.ru

Modern chemical residues from water pollution (such as heavy metals, pesticides, antibiotics, chemical substances of military use, etc.) are a challenge to survival of microalgal populations. Growth of many species was restricted even by micromolar concentrations of such xenobiotics. When pollutants are added to a dense microalgal culture, the cell density will be reduced after a few days due to the death of sensitive cells. However, after further incubations, the culture will sometimes increase in density again due to the growth of cell variant, which is resistant to the contaminants. The resistant cells arise randomly by rare spontaneous mutation during replication of cells prior to the addition of the contaminant. Resistant mutants are maintained in the absence of contaminants as the result of balance between new resistant cells arising from spontaneous mutation and resistant cells eliminated by natural selection. It gives the possibility microalgae to survive in contaminated environment. Within limits microalgal species should survive in polluted environments as a result of physiological adaptation, but genetic variability in natural populations is the most important guarantee of surviving most environmental changes. The rate of spontaneous mutations is highly variable depending on the species and from gene to gene within the same species.

We have applied the Luria-Delbrück fluctuation analysis (1) as a combined experimental and statistical method to distinguish between cells in which spontaneous mutations have occurred, and estimate the rate of occurrence of resistant cells. This method is widely used to distinguish between spontaneous pre-selective mutations, physiological adaptation and post-selective mutations and to assess the mutation rate in unicellular organisms ranging from bacteria to human cell cultures. In the present study we have analysed the spontaneous occurrence of chromium-resistant cells in cultures of chromium-sensitive (wild-type) cells of *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. and *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hastle and streptomycin-resistant cells in culture streptomycin-sensitive (wild-type) cells of *Scenedesmus quadricauda*. Fluctuation analysis showed that streptomycin-resistant cells and chromium-resistant cells appeared by rare spontaneous pre-selective mutations at a rate $\sim 10^{-7}$ and $\sim 10^{-6}$ mutants per cell division (respectively) rather than through a direct or specific adaptation in response to the presence of toxic substances. The increased rate of spontaneous mutations in microalgae compared with the bacteria seems to be sufficient to enable them to survive in polluted conditions when the population size is large enough.

Table. 1. Fluctuation analysis of chromium resistant variants in *Scenedesmus quadricauda* (2)

	Set 1	Set 2
No. of replicate cultures	52	30
No. of cultures containing the following no. of resistant cells/mL:		
0	45	0
0-2x10 ⁴	2	0
2x10 ⁴ -10 ⁵	5	30
>10 ⁵	0	0
Variance/mean (of the no. of resistant cells per replicate)	61.5	3.2
μ (mutants per cell division)		5.2×10^{-6}

Table. 2. Fluctuation analysis of chromium resistant variants in *Thalassiosira weissflogii* (2)

	Set 1	Set 2
No. of replicate cultures	49	30
No. of cultures containing the following no. of resistant cells/mL:		
0	36	0
1-1300	4	0
1300-5000	9	30
>5000	0	0
Variance/mean (of the no. of resistant cells per replicate)	16.8	0.95
μ (mutants per cell division)		3.1×10^{-6}

References

1. Luria S.E. and Delbrück M. (1943). Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*. 28: 491-511.
2. Ipatova V.I., Pokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G. (2007). Structural changes and adaptation of algal population under different regimens of toxic exposure. <http://necsi.org/events/iccs7/viewpaper.php?id=32>

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕУГЛЕВОДОРОДОВ НА КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ У ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ УРОВНЕЙ ТРОФИЧЕСКОЙ ЦЕПИ

Канцерова Н.П., Лысенко Л.А., Немова Н.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии
Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия
e-mail: nkantserova@yandex.ru

Кальций-зависимые цистеиновые протеиназы кальпаины, наряду с их эндогенным ингибитором кальпастатином функционируют в клетках всех эукариот как единая кальций-зависимая протеолитическая система. Назначение этой системы – селективная деградация белков в цитозоле клетки, необходимая для регуляции различных клеточных процессов – передачи сигнала, клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки клеток, транскрипции и репликации нуклеиновых кислот, реализации различных путей клеточной гибели и других. За счет реакции ограниченного протеолиза биологически активных макромолекул кальпаины также участвуют в развитии биохимических адаптаций живых организмов к воздействию различных факторов окружающей среды. Показатели эффективности работы кальпаиновой системы и отдельных ее компонентов могут рассцениваться как один из биомаркеров, отражающих, с одной стороны, целостность тканевых и клеточных структур, а, с другой, непосредственное взаимодействие поллютантов и макромолекул клетки. Негативное антропогенное воздействие на окружающую среду ведет к увеличению качественного разнообразия и количеств поллютантов, в том числе нефти и ее продуктов; этот тип загрязнения особенно актуален для прибрежных экосистем. Одними из наиболее удобных объектов для изучения влияния ксенобиотиков признаны морские двусторчатые моллюски. Моллюски, с одной стороны, имеют крупные размеры, высокую численность, ведут неподвижный образ жизни, легкодоступны для сбора, а, с другой, вследствие фильтрующего типа питания, способны аккумулировать различные ксенобиотики в больших количествах и в неизменном состоянии. Располагаясь на начальных звеньях пищевой цепи, двусторчатые моллюски испытывают нагрузку углеводородов и других компонентов нефти от первичных продуцентов и консументов, и, в свою очередь, передают накопленный груз последующим звеньям, например, хищным птицам, в тканях которых обнаруживаются максимальные уровни поллютантов.

В связи с вышеизложенным, была поставлена цель сравнительного изучения активности кальпаиновой системы как одного из биомаркерных показателей у животных разного трофического уровня, подвергающихся действию нефтепродуктов. Эксперименты проводились на обитающих в районе Белого моря хищном виде птиц гаге обыкновенной, *Somateria mollissima* L., и ее пищевом объекте (более 70% рациона) мидии обыкновенной, *Mytilus edulis* L. Помимо обсуждаемых ниже биохимических параметров, в тканях исследуемых объектов был оценен уровень накопления различных компонентов нефти. Исследовали показатели у сублиторальных мидий, обитающих при фоновом загрязнении акватории Белого моря, составляющем 0,04 мг/л. Кроме того, мидий подвергали действию нефтепродуктов в аквариальных условиях, для чего их содержали в аквариумах, в которые вносили дизельное топливо различных концентраций. Было показано, что активность кальпаинов в мягком теле мидии изменялась в зависимости от концентрации действующих нефтепродуктов. Обнаруженная у ряда опытных групп (концентрация нефти 8,4 и 17,4 мг/л) активация mM-формы кальпаина, активируемого нефизиологично высокой миллимолярной концентрацией кальция, может рассматриваться как показатель развивающихся патологических перестроек в тканях, вызванных нарушением гомеостаза кальция. У мидий, подвергавшихся воздействию наиболее высокой концентрации нефтепродуктов (38,8 мг/л), общая кальций-зависимая активность снижена, что может указывать на проявление негативных изменений в тканях организмов, испытывающих критическую нагрузку токсического агента, которая превышает их естественные адаптивные возможности. Сравнительное изучение показателей в органах гаг, обитающих в различных по степени загрязнения нефтепродуктами зонах Белого моря, в районе Двинского залива (высокий уровень нефтепродуктов и ПХБ), и в условно чистом районе Кандалакшского залива, показали различия показателей кальпаиновой системы во всех органах для птиц из разных групп. В печени птиц из загрязненной зоны уровень активности кальпаинов выше, чем у птиц контрольной группы, тогда как для мышц и почек характерна обратная зависимость – уровень Ca^{2+} -зависимого протеолиза у птиц из опытной группы снижен. Значительная активация фермента в печени позволяет предположить наличие функциональных нарушений в работе органа, поскольку активация Ca^{2+} -зависимых протеиназ отражает нарушение баланса внутриклеточного кальция, очевидно, вследствие повреждения мембранных структур.

Таким образом, углеводороды нефти оказывают влияние на внутриклеточные процессы и компоненты клетки, при этом ответные реакции на их воздействие могут иметь неспецифический компенсаторный характер в области низких концентраций действующих веществ или вести к развитию тканевой патологии при превышении порога естественной резистентности клетки.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК № 14.740.11.1034), программы Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-3731.2010.4, НШ-1642.2012.4), грантов РФФИ №№ 11-04-00167-а, 12-04-01597-а.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECT OF OIL HYDROCARBONS ON CALCIUM-DEPENDENT PROTEINASES IN ANIMALS OF DIFFERENT LEVELS OF FOOD CHAIN

Kantserova N.P., Lysenko L.A., Nemova N.N.

Institute of Biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia
e-mail: nkantserova@yandex.ru

Calcium-dependent cysteine proteases and their endogenous specific inhibitor, calpastatin, work in any eukaryotic cell as a calcium-dependent proteolytic system. The role of calcium-dependent proteolytic system is selective protein degradation in the cytosolic compartment, required for the regulation of various cellular processes such as signal transduction, cell cycle, proliferation and differentiation of cells, transcription and replication of nucleic acids, different types of cell death, etc. Through the reactions of limited proteolysis of biologically active macromolecules calpains participate in the development of biochemical adaptation to environmental impact in living organisms. The parameters of calpain system are regarded as biomarkers responsible on the one hand with structure integrity of the tissues and cells and from the other hand with direct interaction of pollutants and cell macromolecules. Anthropogenic impact on the environment led to increased variability and quantity of pollutants such as oil and oil products: this type of contamination is of most concern to coastal environments. Marine bivalves are considered as the most useful objects to study response reactions at contamination. Bivalves are characterized on firstly by big size, abundance, sedentary life style, and availability throughout the year and secondly the accumulation of various xenobiotics up to high levels and in untransformed state due to filtration type of feeding. Being at initial levels of sea food chain bivalves are exposed to oil hydrocarbons and other oil components from primary producers and consumers and on their own turn pass through the accumulated cargo to further chain levels such as predator birds, it appears that the former retain maximal levels of pollutants in their body.

Thus, the objective of the present work was the comparative study of calpain system activity as one of the biomarkers in animals of different levels of food chain under oil pollution. White sea species of animals (predator bird eider duck *Somateria mollissima* L. and its food object (more than 70% of diet) blue mussel *Mytilus edulis* L.) were used for experiments. Determination of the oil products were carried out in tissues of studied animals, along with biochemical parameters. Calpain activity level was estimated in tissues of sublittoral mussels from White sea area with typical concentration of oil products (0,04 mg/l). More over, the effect of diesel oil at different concentrations on calpain of mussels has been investigated in aquaria experiments. It was shown that the exposure with diesel oil affect calpain activity in blue mussels in dose-dependent manner. Calpain activation (particularly mM-calpain-like enzyme activation) has been shown at diesel oil concentration of 8,4 and 17,4 mg/l. Calcium homeostasis was supposed to be disturbed and resulted in m-calpain-like protease activation with subsequent tissue pathology development. The effect of maximal studied diesel oil concentration (38.8 mg/l) led to a decrease in total calcium-dependent proteolytic activity indicating the formation of negative biochemical changes in tissues. The comparative study of calpain activity also was performed on organs of eider duck *Somateria mollissima* L. from two areas of White Sea coast with known pollution gradients. The birds were collected from Dvina bay with high level of pollutants (oil products and PCB) and from Kandalaksha bay (reference zone). Calpain activity was found to be higher in liver and lower in muscle and kidneys of eider duck in polluted area compared with reference zone. Significant calpain activation in liver could be considered as indicator of calcium homeostasis disturbing and tissue pathology development.

Thereby, oil products influence on intracellular processes and cell components, low concentrations of oil products can lead to developing of non-specific response compensatory reaction, while high oil product concentrations result in tissue pathology development.

This work was supported by the federal program of Education & Science Ministry of Russian Federation (contract 14.740.11.1034), program of President RF «Leader Scientific Schools» (No 3731.2010.4, 1642.2012.4), RFBR grants 11-04-00167-a, 12-04-01597-a.

РАЗВИТИЕ КРОН И АДАПТАЦИЯ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА (*Q. ROBUR* L.) В МОСКОВСКОМ РЕГИОНЕ

Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н.

Институт лесоведения Российской академии наук, с. Успенское, Московская область, Россия
e-mail: kaplina@inbox.ru, lenelse@yandex.ru

Исследования адаптаций лесов, в т.ч. экологических изменений роста и состояния деревьев, приобретают безотлагательный характер (Состояние лесов мира. ФАО, 2009). Большое внимание уделяется исследованию деградации и усыхания дуба черешчатого и близких видов как наиболее долговечных видов-эдификаторов лесных экосистем Европы.

В настоящее время в лесоводстве наиболее часто применяются близкие шкалы категорий лесопатологического (Санитарные правила ..., 2006) и жизненного состояния (Алексеев, 1984) и повреждений поллютантами (Sonesson, 1999; Redfern, Boswell, 2004; Manual ... effects of air pollution on forests, 2006; Drobyshev et al, 2007). Гораздо более редко используются классические лесоводственные показатели роста и развития деревьев (Roloff, 1991; Innes, 1998; Лохматов, 1999; Бебия, 2000; Авдеева, Кузьмичев, 2007; Вайс, 2007). Н.А. Лохматов [1] подчеркивает, что морфоструктура, развитость, динамика кроны во времени предопределяют жизнеспособность дерева, устойчивость и долговечность.

Ранее, на основе результатов 25-летнего мониторинга дубрав южной лесостепи (Воронежская обл.) [2], была предложена классификация деревьев дуба по росту и развитию кроны. Было выделено три типа кроны дуба, представляющие разные стадии адаптации кроны, идентифицируемые по форме, размерам, доле водяных побегов и их расположению: 1) раскидистая, 2) зонтиковидная, 3) протяженная (вторичная). Показано, что выделенные типы кроны устойчиво различаются в многолетней динамике по средним размерам, лесопатологическому состоянию, участию в пологе древостоя, выживаемости деревьев.

Полученный опыт применен при изучении состояния лесопарковых дубрав Москвы и Подмосковья [3].

Общая и наиболее существенная черта воздействия неблагоприятных факторов (как природных, так и антропогенных) на растение - ухудшение качества продукционного процесса. Это позволяет классифицировать деревья безотносительно к неблагоприятному фактору, по внешним неспецифическим признакам. Кратковременное воздействие факторов отражается на снижении облиствления кроны, более длительное приводит к усыханию отдельных ветвей, т.е. к ухудшению категории состояния. Следующий этап деградации кроны и адаптации - изменение типа развития кроны. Т.е. категория лесопатологического состояния - более динамичный показатель и хорош в качестве экспресс-индикатора, а тип развития кроны весьма консервативен, что позволяет делать долговременные прогнозы.

В парках распространен ещё один тип кроны дуба - комбинированный. Он сходен с зонтиковидным по размеру кроны, но дополнительно имеет вторичную крону (обычно в виде «юбки» ниже первичной кроны 2-го и 3-го типов). В сомкнутых древостоях этот тип отсутствует из-за сильной конкуренции за свет.

Несмотря на хорошую освещенность, в половине изученных парковых насаждений кроны раскидистого типа встречались реже, чем в сомкнутых лесостепных древостоях (где доля «раскидистых» деревьев составляет около 50%). Это свидетельствует о худшем жизненном состоянии дуба и снижении его адаптивных возможностей в городских объектах. При этом, категория их лесопатологического состояния может не отражать снижения жизненности насаждений: 1-ая категория состояния преобладает даже в придорожном насаждении, где три года назад усохло и удалено около трети деревьев.

Однако, встречаются, наоборот, городские дубравы плохого лесопатологического состояния и, при этом, с большой долей раскидистых деревьев (часто усохших). Это случаи чрезмерно высокой интенсивности неблагоприятного фактора, когда растения не успевают адаптироваться (катастрофическое усыхание). Наиболее яркий пример последних лет - усыхание заповедной дубравы ГБС РАН из-за объедания листьев насекомыми в течение нескольких лет.

Таким образом, классификация по развитию кроны деревьев наиболее информативна в случаях эффективной работы механизмов адаптации, т.к. характеризует особенности адаптации на разных стадиях деградации кроны. Представленность в насаждении деревьев различных типов кроны и их выживаемость отражают длительность и интенсивность неблагоприятных факторов. В благоприятных для дуба природных условиях Московского региона, применение классификации по развитию кроны особенно желательно, наряду с классификацией по лесопатологическому состоянию дубрав, т.к. последняя здесь мало чувствительна к снижению жизненности деревьев дуба 1-3 категории.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: Динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».

Литература

1. Лохматов Н.А. (1999). Развитие и возобновление степных лесных насаждений. Балаклея. Сит. 496 с.
2. Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н. (2009). Морфология кроны и состояние дуба черешчатого в средневозрастных насаждениях лесостепи. Лесоведение. 3: 32 - 42.
3. Селочник Н.Н., Каплина Н.Ф. (2011). Оценка состояния дубрав с учетом развития кроны деревьев в неблагоприятных условиях: антропогенных (Московский регион) и климатических (лесостепь). Вестник Московского государственного университета леса - Лесной вестник. 4(80): 103-108.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

CROWN DEVELOPMENT AND ADAPTATION OF OAK TREE (*Q. ROBUR* L.) IN THE MOSCOW REGION

Kaplina N.F., Selochnik N.N.

Institute of Forest Science, Russian Academy of Sciences, v. Uspenskoe, Moscow region, Russia
e-mail: kaplina@inbox.ru, lenelse@yandex.ru

Research of forests adaptations, including ecological changes in tree growth and condition, is of urgent character (State of the World's Forests. FAO, 2009). Much attention is given to studies of *Q. robur* L. and sibling species degradation and dieback as the most long-lived species-edificators of European forest ecosystems.

Now in forest science, rather similar scales of forest pathology (Sanitary rules ..., 2006) and vital state (Alekseev, 1984) damages by pollution (Sonesson, 1999; Redfern, Boswell, 2004; Manual ... effects of air pollution on forests, 2006; Drobyshev et al, 2007) are most often applied. Much less often classical forestry indicators of tree growth and development (Roloff, 1991; Innes, 1998; Lohmatov, 1999; Bebija, 2000; Avdeeva, Kuz'michev, 2007; Vajs, 2007) are used. N.A. Lohmatov [1] underlines, that a crown morphostructure, development and dynamics predetermine a tree viability, stability and longevity.

Earlier, on the basis of results of 25-year monitoring of oak stands of the southern forest-steppe (Voronezh region) [2], a classification of trees by growth and development of crown was developed. It distinguished three types of oak crowns, identified by the form, size, a share of epicormic branches and their arrangement: 1) spreading, 2) umbrella-like, 3) extended (secondary). It was shown, that these different crown types constantly differed in long-term dynamics of their average sizes, forest pathology condition, participation in forest stand cover, and survival rate of trees.

The acquired experience was then applied in studies of the condition of some forest park oak stands of Moscow region [3]. The common and most essential feature of unfavourable factor influence (both natural, and anthropogenic) on the plants state was found to be deterioration of production process. It enabled classification of trees regardless of the unfavourable factor, by external nonspecific characteristics. Short-term influence of these factors was reflected in crown foliage decrease, and the long one led to dieback of single branches, i.e. to state category deterioration. The following stage of crown degradation and adaptation was a change in the crown development type. The forest pathology state being a more dynamic indicator was also good as an express indicator, and the crone development as a more conservative characteristic, allowed to make long-term forecasts.

Despite good light exposure, in half of the studied park stands the spreading crown type was seen less often, than in close forest-steppe stands (where the share of "sprawling" trees was about 50 %). It testified to the worst oak vital state in the parks surveyed and a decrease in its adaptive ability in city objects. Another oak crown type - combined - was rather common. It was similar to the umbrella-like in the crown size, differed in secondary origin (usually in the form of "skirt" below a primary crown). In close forest stands this type was absent because of the strong competition for light.

Thus, the category of their forest pathology condition did not reflect a decrease in the vitality of plantings: The first category of state prevailed even in roadside plantings where about one third of the trees has dried out and was removed three years before. Thus, the forest pathology state category of oak stands did not reflect a decrease in their vitality:

However, there were, on the contrary, city oak stands in a bad forest pathology state and, thus, the big share of spreading trees (with rather common dried out trees, including spreading type). These were associated with excessively high intensity of the unfavourable factor where the plants did not have enough time to adapt (catastrophic dieback). The most vivid example of last years is a dieback of the reserved oak stand in the Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences because of the foliage destruction by insects lasting for several years.

Thus, classification by tree crown development is most informative in cases where effective adaptation mechanisms do work, since it characterizes adaptation features at different stages of crown degradation. Shares of various crown types trees and their survival rate in park stands reflects the duration and intensity of unfavourable factors. Since the environment of the Moscow region is favourable for the oak, the application of classification by crown development is especially desirable, along with classification by trees forest pathology condition since last here is a poorly sensitive to decrease in vitality of oak trees of I-III forest pathology category.

Acknowledgements: Supported by The Programs of Fundamental Research of Biological Branch of Russian Academy of Sciences «Biological resources of Russia: Dynamics in the conditions of global climatic and anthropogenous influences».

References

1. Lohmatov N.A. (1999). Development and renewal of steppe forest stands. Balakleja. Cim. 496 p.
2. Kaplina N.F., Selochnik N.N. (2009). Morphology of crowns and *Quercus robur* state in middle-aged forest-steppe plantations. Lesovedenie. 3: 32 – 42.
3. Selochnik N.N., Kaplina N.F. (2011). Assessment of oak stands with regard to tree crown development in unfavourable conditions both anthropogenic (Moscow region) and climatic (forest-steppe). Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta lesa - Lesnoj vestnik. 4 (80): 103-108.

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ТУРБЕЛЛЯРИЙ ПРИБРЕЖНЫХ ВОДОЕМОВ ОЗ. БАЙКАЛ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Ключевская А.А.

Научно-исследовательский институт биологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Иркутский государственный университет", Иркутск, Россия
e-mail: kluchevskaya@mail.ru

Экспериментальное исследование поведения турбеллярий (*Phagocata sibirica* (Zabussov, 1903)), обитающих в водоёмах впадающих в оз. Байкал, при влиянии света, токсикантов и комбинированном действии этих факторов позволило выявить особенности поведения гидробионтов при воздействиях, выходящих за рамки условий гомеостаза. Длительное воздействие и увеличение концентрации токсиканта $CdCl_2$ приводят к ускоренной гибели планарий, однако если продолжительность экспозиции и концентрация токсиканта невелики, то объекты способны адаптироваться к его воздействию, а система настраивается на более устойчивое состояние функционирования. Установлено, что под влиянием света нарастающей интенсивности биологическая система демонстрирует колебательное поведение типа турбулентности с эффектами синхронизации и десинхронизации. Анализ экспериментальных результатов в рамках теории нелинейных динамических систем показал, что при воздействии света на исследуемые объекты отсутствуют внешние периодические сигналы, наблюдаемые эффекты синхронизации в поведении турбеллярий при реакции фототаксиса могут формироваться только за счет взаимной нелинейной связи между особями. Это, а также особенности динамики планарий, позволяет предложить для описания поведения турбеллярий модель большого числа связанных бистабильных передемпфированных осцилляторов, синхронизация которых формируется внутренним шумом системы (1).

При совместном воздействии двух факторов (свет и токсикант) поведение организмов формируется под доминирующим влиянием более агрессивного агента, что дает возможность уверенного его выявления при сравнении исследуемого и контрольного тестов. Полученные результаты указывают, что как продолжительность воздействия, так и концентрация токсиканта находят статистически значимое отражение в подавлении реакции фототаксиса. Следовательно, подавление реакции фототаксиса под воздействием токсикантов может быть использовано для экспресс-оценки токсичности среды обитания, в том числе контроля состояния экосистемы оз. Байкал (2).

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ (проект МК-1558.2011.4).

Литература

1. Анищенко В.С., Вадивасова Т.Е., Астахов В.В. (1999). Нелинейная динамика хаотических и стохастических систем. Саратов: Изд-во Саратовского ун-та. 368 с.
2. Стом Д.И., Ключевская А.А., Стом А.Д., Балаян А.Э. (2009). Сравнительный анализ окси- и криофильности некоторых эндемичных байкальских и общесибирских видов гидробионтов в эксперименте. *Сибирский Экологический журнал*. (1): 71-76.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

SPECIFIC FEATURES IN BEHAVIOR OF TURBELLARIA IN COASTAL WATER BODIES OF LAKE BAIKAL UPON EFFECT OF ABIOTIC FACTORS

Klyuchevskaya A.A.

Research institute of Biology of Federal State Budgetary Educational Institution
of Higher Professional Education "Irkutsk State University", Irkutsk, Russia
e-mail: kluchevskaya@mail.ru

An experimental research of behavior demonstrated by Turbellaria living in water bodies flowing into Lake Baikal given the effect of light, toxicants or a combined effect of these factors allows to determine specific features in behavior of these aquatic organisms whenever the effect of the above factor is beyond homeostasis. Prolonged exposure or increasing concentrations of toxicants cause accelerated demise of planarians, however, is the duration of exposure and concentration of toxicant are moderate, objects are capable of adapting to their effect, and the system is tuned to a more sustainable condition of existence. It has been discovered, that under the effect of increasing light intensity, the biological system demonstrates an oscillating behavior of turbulent type with effects of synchronization and desynchronization. Analysis of experimental results conducted with the framework of non-linear dynamic systems theory has indicated that external periodical signals are absent during the effect of light onto the objects of research, therefore the observed effects of synchronization in behavior of Turbellaria during phototaxis reaction may only be formed due to mutual non-linear connection between the organisms. This fact, and especially specific features of planarian's dynamics allows us to approach the description of Turbellaria behavior with a model composed of a large number of linked bistable overdamped oscillators, whose synchronization is formed by internal system's noise (1).

Under the combined effect of the two factors (light and toxicant) behavior of organisms is formed by the dominating effect of the more aggressive agent, which enables its reliable identification when comparing the test sample against the reference sample. The results obtained indicate the duration of exposure, as well as concentration of the toxicant produce a statistically valuable reflection in suppression of phototaxis reaction. Accordingly, suppression of phototaxis reaction under the impact of toxicants may be used for express evaluation of environment toxicity, including for monitoring of Lake Baikal's ecosystem condition (2).

The research has been performed with partial financial support of Presidential Grant of the RF (Project MK-1558.2011.4).

References

1. *Anischenko V.S., Vadivasova T.E., Astakhov V.V.* (1999). Non-Linear Dynamics of Chaotic and Stochastic Systems. Saratov: Saratov University Publishing House. 368 p.
2. *D. I. Stom, A. A. Kluchevskay, A. D. Stom, A. E. Balayan.* (2009). Comparative Analysis of Oxyphilicity and Cold-Preferability of Some Endemic Baikal and Siberian Kinds of Hydrobionts in Experiment. *Siberian Journal of Ecology*. 1: 71-76.

ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ АГРОЦЕНОЗІВ ЗАБРУДНЕНИХ Pb, Cd та Zn

Мариненко Т.В., Демидов С.В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: T_Marinenko@ukr.net

Активна діяльність людини призводить до постійного збільшення в навколишньому середовищі кількості та розширення спектру забруднювачів, в тому числі таких, що характеризуються мутагенними та канцерогенними властивостями. Одними з найбільш поширених та небезпечних забруднювачів навколишнього середовища є важкі метали. Завдяки високій токсичності і здатності акумулюватися в рослинах, що сприяє їхній міграції у трофічних ланках біосистем, важкі метали (ВМ) можуть впливати як на конкретні організми, так і екосистеми у цілому. Слід відмітити, що для Pb та Cd продемонстровано здатність до синергетичної взаємодії з іншими хімічними та фізичними факторами, що унеможливорює прогнозування наслідків забруднення за мутагенністю лише важких металів. Найбільш важливим є проведення еколого-генетичного моніторингу забруднення важкими металами агроценозів, які внаслідок інтенсифікації сільськогосподарського виробництва та наближенню до індустріальних центрів, можуть бути забруднені великою кількістю політантів різної природи, таких як пестициди, гербіциди та інше. Крім того, рослини, які вирощені на полях є першою ланкою трофічного ланцюгу для людини та великої кількості тварин.

Класичним та загальноприйнятим тест - об'єктом для проведення дослідів по оцінці мутагенності та проведення моніторингових досліджень є *Drosophila melanogaster*. Використання даного тест-об'єкту дозволяє проаналізувати рівень генотоксичного забруднення конкретних компонентів екосистеми, але й прослідкувати перерозподіл мутагенних ефектів на різних ланках трофічного ланцюгу (природні води, ґрунт, рослинна). Важливим є той факт, що дрозофіла не лише володіє необхідними якостями тестерного об'єкту, а й сама є компонентом даних біоценозів і може бути ланкою трофічного ланцюгу.

В роботі проаналізовано водні витяжки ґрунтів з різним рівнем забруднення Pb, Cd та Zn і сільськогосподарська продукція, яка була вирощена в умовах забруднення. Водні витяжки та гомогенат рослин вносили до поживного середовища.

Вміст рухомих форм важких металів визначали методом атомної абсорбції. Мутагенність та рекомбіногенність зразків визначали за допомогою тесту на частоту зчеплених зі статтю летальних мутацій та методу обліку рекомбінаційних подій на ділянці між генами *white* та *cut* в статевій хромосомі *Drosophila melanogaster*.

Проаналізовано 6 варіантів зразків ґрунту з модельним забрудненням нітратом Pb в концентрації від 5 до 200 мг/кг ґрунту, 2 варіанти з модельним забрудненням сумішшю нітратів Pb, Cd та Zn в концентрації яка в 10 та 100 разів перевищувала природний рівень (Pb - 10, Cd - 0,2 та Zn - 5 мг/кг ґрунту), шість варіантів ґрунтів з ділянок сільськогосподарського призначення Києво-Святошинського району Київської області: три ділянки на території дослідного господарства (переліг, біологічне землеробство, агроценоз з стандартними нормами застосування добрив) та три присадибні ділянки селища Чабани. Ґрунт досліджуваних екотопів - сірий лісовий легкосуглинковий. Крім того, на вміст важких металів та генотоксичність було проаналізовано зерно пшениці, ячменю, сої та вегетативна маса люцерни, які вирощені на ґрунтах з модельним забрудненням Pb, Cd та Zn і буряк, картопля та морква вирощені на присадибних ділянках.

Встановлено, що водні витяжки сірих лісових ґрунтів при модельному забрудненні зростаючими концентраціями нітрату плюмбуму (перевищення природного фону на 5, 20, 50, 100 та 200 мг/кг ґрунту) та сумішшю нітратів плюмбуму, кадмію і цинку (перевищення фонового рівня в 10 та 100 разів) підвищують частоту зчеплених зі статтю летальних мутацій приблизно пропорційно до концентрації.

Водні витяжки модельних ґрунтів лише з максимальним рівнем забруднення нітратом Pb (перевищення природного фону в 20 разів) та сумішшю нітратів Pb, Cd та Zn (перевищення природного фону в 100 разів) призводили до зниження частоти кросинговеру.

Не виявлено мутагенної та рекомбіногенної активності водних витяжок ґрунтів присадибних ділянок селища Чабани та розташованого поряд дослідного господарства

Продемонстровано, що, хоча вміст Pb, Cd, Zn в сільськогосподарських ґрунтах Києво-Святошинського району Київської області не перевищує встановлені гранично допустимі концентрації (ГДК), вміст важких металів в сільськогосподарській продукції, вирощеної на цих ґрунтах, значно перевищував ГДК. При цьому мутагенної активності цієї продукції не виявлено.

За результатами аналізу рослинного матеріалу, встановлено, що гомогенат надземної вегетативної маси люцерни, вирощеної на ґрунтах, забруднених нітратами Pb, Cd, Zn підвищує частоту зчеплених зі статтю летальних мутацій у *Drosophila melanogaster*. Не виявлено мутагенної активності гомогенату зерна.

Зростаючі концентрації важких металів у ґрунтах викликають підвищення частоти рекомбінації під дією гомогенатів вирощених на цих ґрунтах люцерни. Для зерна сої та ячменю цей ефект спостерігається тільки при максимальних досліджених концентраціях важких металів.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ECOLOGICAL AND GENETIC MONITORING OF THE Pb, Cd AND Zn POLLUTED AGROCENOSSES

Marynenko T.V., Demydov S.V.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
e-mail: T_Marynenko@ukr.net

Human activity leads to a continuous increase of the number and range of pollutants in the environment, including those possessing mutagenic and carcinogenic properties. One of the most common and dangerous type of pollutants are heavy metals. Due to the high toxicity and ability to accumulate in plants, which promotes their migration between trophic levels of ecosystems, heavy metals (HM) can influence both particular organisms and ecosystems in general. It has been shown that Pb and Cd are capable of synergetic interaction with other chemical and physical factors, making it impossible to predict the consequences of pollution based solely on the mutagenicity of heavy metals. Environmental and genetic monitoring is particularly important for heavy metal-contaminated agrocenoses which, due to intensified agriculture and proximity to industrialized areas, may be additionally polluted with a plethora of chemicals of various nature, such as pesticides, herbicides, etc. Moreover, crops are the first link in trophic chains for humans and many animals.

Drosophila melanogaster is a classic and commonly used test organism for assessing mutagenicity and monitoring. This test organism is handy for not only estimating the levels of genotoxic pollution in particular components of ecosystems, but also allows tracing the redistribution of mutagenic effects along trophic chains, like natural waters, soil, plants, etc. Importantly, *Drosophila* not only has the necessary qualities as a test organism, but itself is a component of the biocenoses in question and can be a link in the trophic chain.

We analyzed water extracts from soils with various contents of Pb, Cd and Zn and used them for growing agricultural plants. Water extracts and plant homogenates were added to the nutrient medium.

The content of mobile forms of heavy metals was determined by atomic absorption. The mutagenic and recombinogenic effects of the samples were assessed by the frequency of sex-linked lethal mutations and the frequency of recombination events within the range between the genes *white* and *cut* in sex chromosomes of *Drosophila melanogaster*.

We analyzed 6 variants of soil samples with model pollution of Pb with the concentrations ranging from 5 to 200 mg / kg soil, two variants of soils with model contamination by a mixture of Pb, Cd and Zn nitrate with concentrations 10 and 100 times higher than the natural levels (Pb - 10, Cd - 0.2 and Zn - 5 mg / kg soil), six variants of soil from agricultural plots in Svyatoshin-Kyiv district of Kyiv region: three areas at an experimental farm (fallow, biological agriculture, agrocenosis with standard rules of application of fertilizers) and three household farms in the Chabany town. The soil in the studied ecotopes is gray forest light loam. In addition, we measured heavy metal contents and genotoxicity of wheat, barley, soybeans and alfalfa vegetative mass grown on model soils contaminated with Pb, Cd and Zn and beets, potatoes and carrots grown on household plots.

Aqueous extracts of gray forest soils under model pollution with increasing concentrations of Pb nitrate (exceed the natural background by 5, 20, 50, 100 and 200 mg / kg soil) and a mixture of nitrates of Pb, Cd and Zn (exceeding background levels 10 and 100 times) were found to elevate the frequency of sex-linked lethal mutations approximately proportionally to the concentration.

Aqueous extracts of model soil where found to decrease the crossing over frequencies only at the maximal concentrations of Pb (20 times the natural background) and a mixture of nitrates of Pb, Cd, and Zn (100 times the natural background).

The aqueous extracts of soil from farmlands and villages located near Chabany and the nearby experimental facility revealed no mutagenic and recombinogenic effects.

Although the contents of Pb, Cd, Zn in agricultural soils of Kyiv-Svyatoshin district of Kyiv region did not exceed the maximum warrantable concentration (MWC), the concentration of heavy metals in crops grown on these soils was much higher than the MWC norms. Mutagenic effects of these products were not detected.

The homogenate of the above-ground vegetative mass of alfalfa grown on soils polluted with Pb, Cd, and Zn nitrates was found to increase the frequency of sex-linked lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. Mutagenic activity of the homogenated grain was not detected.

Increasing concentrations of heavy metals in soils cause a rise in the frequency of recombination under the action of alfalfa homogenates grown on these soils. For soybean and barley, this effect was observed only at the maximum heavy metal concentration studied.

АДАПТАЦИЯ УРБОЭКОСИСТЕМЫ К ИЗМЕНЕНИЯМ КЛИМАТА

Мовчан В.А., Илюк Н.А.

Открытый международный университет развития человека «Украина», Киев, Украина
e-mail: greendragoness@yandex.ru

Изменения климата становятся все более явными. Особенно четко эти изменения проявляются в городах: летний зной в окружении раскаленного асфальта и бетонных стен; морозы, сменяющиеся оттепелями и гололедом; холодная затяжная весна с иссушающими ветрами и т.п. – все это переносится значительно тяжелее, чем за пределами города и служит мощным источником депрессивных состояний. В сочетании с традиционными для города неблагоприятными факторами, такими как лишение контакта с природой, загрязнение и скученность, это приводит к неуклонному росту наркомании, преступности и суицидов. Поэтому адаптация урбоэкосистемы к изменениям климата – весьма актуальная задача современности.

И решение большинства проблем городской среды нам предлагает сама природа. В процессе синурбации флора и фауна городов обогащаются все новыми видами, находящими себе здесь благоприятные условия существования благодаря бесконечному разнообразию биотопов, их мозаичному распределению и эффекту экотона. Это дает возможность решить проблему, связанную с потребностью человека в постоянном общении с природой, особенно – с неодомашенными животными. Для тех, кого мы особенно часто хотели бы видеть, необходимо обеспечить «кров и дом», причем круглогодично. В первую очередь это мелкие певчие птицы, бабочки, божьи коровки, белки и пр. – именно они создают эффект зоотерапии для большинства горожан.

Искусственные гнездовья, кормушки, поилки, летние и зимние убежища необходимо располагать в непосредственной близости друг от друга и постоянно ухаживать за ними. Кормушка и зимнее убежище для птиц вообще должны составлять единое целое, т.к. в мороз и сильный ветер перелет даже на несколько метров может стоить им жизни. Безусловно, все эти «малые архитектурные формы», предназначенные для радующей глаз живой мелюзги, должны органично вписываться в дизайн современного города, создаваться и эксплуатироваться соответственно научно обоснованным нормам, для чего наиболее рациональным представляется создание специального подразделения в составе городских служб, занимающихся благоустройством городской среды.

Практически все проблемы, связанные с летней жарой в городе – и для людей, и для животных – можно решить при помощи озеленения, учитывая, что растения, пока они живы, не разогреваются выше 27 градусов. Полностью закрыв всю поверхность грунта в городе плотным растительным покровом, мы защитим его от перегрева, высушивания, выветривания, размыва и т.д. Для этого целесообразно использовать рудеральные растения, не требующие особого ухода (например, свинорой пальчатый, горец птичий), или неприхотливые культурные (церастиум Биберштейна, спирея карликовая, барбарис, боярышник).

В связи с заметным и быстрым улучшением кондиций городской среды растительностью, на Западе ширится движение «партизанского озеленения», когда жители засаживают каждый клочок земли, даже в запрещенных для этого местах. К сожалению, у нас происходит противоположный процесс – замена городской растительности МАФами.

Отдельно стоит сказать о вертикальном и крышном озеленении, которое позволяет обойтись без кондиционеров летом. Удручающе голые стены наших домов, раскаляясь, излучают тепло как внутрь зданий, так и наружу, к тому же они дополнительно разогревают окружающее пространство за счет отражения солнечных лучей. Растительный покров из винограда триостренного, который пылегазо- и засухоустойчив, способен оплести без дополнительной опоры стены и крыши, предупредит перегрев.

Повсеместное заполнение городской среды растительностью решит еще одну проблему современного города – нарушение законов видеозоологии, когда зрительный анализатор вынужден функционировать в условиях, весьма далеких от тех, в которых он сформировался в процессе эволюции. Обширные монотонные поверхности, где взгляду не за что зацепиться, бесконечные ряды окон, вертикальные ребра фасадов, обилие грязно-серого цвета – все это может вызывать нарушения зрения, депрессии, головокружения, головные боли и т.д. Растительность создает визуальную среду, практически идентичную естественной.

Вышеперечисленные меры позволяют улучшить условия в городе, как для людей, так и для животных, создав для них среду обитания. Однако для наиболее уязвимых групп населения – детей, людей преклонного возраста или страдающих различными заболеваниями – в условиях изменений климата необходимо создание фиторекреационных зон, в частности многоуровневых, которые позволят им комфортно чувствовать себя в условиях города. Фиторекреационная зона – это плотное насаждение деревьев или кустарников, смыкающихся кронами и создающих специфическую фитосреду, благоприятную для людей с ослабленным здоровьем. Свойства фитосреды изменяются в зависимости от высоты над грунтом: чем выше, тем меньше содержание углекислого газа и водяных паров, выше освещенность, содержание кислорода, фитонцидов и т.д. Места отдыха, расположенные в пределах такой зоны на различной высоте, позволят каждому выбрать комфортный для себя уровень.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF URBOECOSYSTEM TO CLIMATE CHANGES

Movchan V.A., Iluk N.A.

Open International University of Human Development "Ukraine", Kyiv, Ukraine
e-mail: greendragoness@yandex.ru

Climate changes are becoming more and more evident. Specifically distinct are these changes in cities: summer heat on scorching asphalt and among concrete walls; frosts interchanging with thaws and sleet; cold and protracted spring with withering winds, etc. – all of these are endured with much more difficulty than outside of city and often lead to depressions. Together with other city traditional unfavorable conditions (e.g. no contact with nature, pollution, congestion) they lead to increasing number of drug addicts, criminals and suicides. That is why adaptation of urboecosystem to climate changes is quite a pressing issue nowadays.

The nature itself offers us a solution for majority of urban environment problems. In the process of sinurbanization both flora and fauna of cities enrich themselves with new species, which find there favorable living conditions due to infinite diversity of biotopes, their fine mosaic pattern and ecotone effect. This helps to solve a problem of people's need to constantly communicate with nature, with non-domestic animals in particular. At the same time we need to provide year-round shelters for those we wish to see quite often. This includes small songbirds, butterflies, lady-birds, squirrels, etc. in the first place – they are the ones to create a zootherapeutic effect for most citizens.

Artificial nesting, birdfeeders, drinking bowls, summer and winter shelters must be located in the immediate proximity from one another and constantly looked after. Birdfeeders should actually be integrated into the winter shelters, as in sharp frost and strong wind even a few meters flight may turn out deadly. Of course, all these minor architectural forms (MAFs) designed for our eye-pleasing little ones should blend well with modern city design, should be built and used according to scientifically developed standards. Thus it seems reasonable to create a special division as a part of municipal services that deal with urban environment improvement.

Almost all problems connected with summer heat in the city – both for people and animals – could be solved through greening, because plants while being alive do not grow warmer than 27°C. By completely covering soil in the city with thick vegetation mantle we can protect it from overheating, drying out, weathering, erosion, etc. For this purpose it seems reasonable to use ruderal plants, which do not need any special care (e.g. *Cynodon dactylon*, *Polygonum aviculare*), or unpretentious cultivated plants (e.g. *Cerastium biebersteinii*, *Spiraea x pumilionum*, *Berberis*, *Crataegus*).

In the context of rapid and visible urban environment improvement through vegetation, western countries are consumed with "partisan greening" movement – people planting every available patch of land, even where it is forbidden. Unfortunately in our country we can witness quite the opposite – vegetation being replaced with MAFs.

Wall and roof gardening is also worth mentioning as it can help us spare air-conditioners in summer. Depressingly bare walls of our buildings get hot and radiate heat both inside and outside, additionally warming up the environment by reflecting sun rays. Such overheating can be prevented by vine (*Parthenocissus tricuspidata*), which is dust-, gas- and drought-resistant and does not need any extra support to twine the walls.

Overall greening will solve another problem of a modern city – violation of videoecology laws, when visual analyser is forced to function in conditions that strongly differ from those it evolved in. Vast monotone surfaces, where nothing catches the eye, infinite lines of windows, vertical facade edges, plenty of dirty-grey colour – all of these may cause vision disorders, depression, dizziness, headaches, etc. Vegetation will provide visual environment almost identical to the natural one.

The above-listed measures will favour city conditions improvement both for people and animals by creating a proper habitat. However, under climate fluctuation conditions it is necessary to create Phytorecreational zones (multilevel ones in particular) for the most vulnerable population groups – children, elderly people or those suffering from various diseases – as it would help them feel comfortable in a city. Phytorecreational zone is a dense green plantation of trees with crown closure that creates a special phytogenic medium, favourable to people with health problems. Phytogenic medium properties vary depending on height above the ground – the higher the lesser carbon dioxide and water vapour content, the higher illumination, oxygen and phytoncides content. Recreation zones situated in such a medium at various heights will allow anyone to choose a level comfortable specifically for them.

РАННИЕ ЭТАПЫ ГИСТОГЕНЕЗА ОСЕВОЙ МУСКУЛАТУРЫ МОЛОДИ РУССКОГО ОСЕТРА (*A. GUELDESTAEDTI*) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ИНДУСТРИАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Никифоров А.И.

Московский государственный институт международных отношений (Университет) МИД России, Москва, Россия
e-mail: hosanianig@gmail.com

Неуклонное сокращение природных популяций осетровых приводит к необходимости их искусственного разведения и выращивания. Но индустриальные условия выращивания далеки от естественных, поэтому представляется актуальным изучение особенностей онтогенеза осетровых в условиях промышленной аквакультуры. Настоящая работа посвящена изучению гистогенеза осевой мускулатуры молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti*), выращенной в условиях полносистемного тепловодного садкового рыбководного хозяйства при Государственной Районной Электростанции № 3 им. Классона (г.Электростанция Московской области).

Образцы мышечных тканей фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем заливали в желатину (по методике Полковой Г.А., 1974г). Срезы для гистологического исследования получали на замораживающем микротоме «Техном-МЗП-1003». Изготовленные срезы окрашивали суданом В (черным) по методике Кононовой А.И. (1976г). Фотографии гистологических препаратов сделаны с помощью компьютерной системы анализа изображений Optimas с автоматической видеокамерой Leica DC при увеличении окуляра 10х и объективов х5,10,20,40.

В первые дни постэмбрионального развития у осетров начинается становление дефинитивного типа мускулатуры. Мышечные волокна формируются путём слияния одноядерных миобластов с образованием миотуб и последующим образованием из миотуб мышечных волокон. На этой стадии развития вполне сформированные мышечные волокна хорошо различимы в латеральных отделах туловищных миомеров. Горизонтальная миосепта, разделяющая глубокую боковую мышцу на вентральную и дорсальную порции, становится у осетровых чётко заметной на стадии личинки. При дальнейшем развитии миомеры изгибаются как в кранио-каудальном, так и в дорсо-вентральном направлениях. По мере формирования осевой мускулатуры происходит её дифференцировка на поверхностную (*musculus lateralis superficialis*) и глубокую (*musculus lateralis profundus*) боковые мышцы. При этом гистологическая дифференцировка поверхностной боковой мышцы завершается раньше, чем у глубокой боковой мышцы.

Обособление поверхностной боковой мышцы у русского осетра начинается на стадии личинки. В это время данная мышца, образованная типичными красными (окислительными) волокнами, обособляется в латеральной части тела тонким (в несколько рядов мышечных волокон) слоем. В месячном возрасте эта мышца уже практически сформирована и представляет из себя совокупность компактно расположенных волокон окислительного типа. В ходе проведённого исследования было установлено, что в поверхностной боковой мышце молоди русского осетра наибольшую долю (56 %) составляют волокна с диаметром 20-30 мкм, следующая по распространённости группа – волокна диаметром от 10 до 20 мкм, затем в порядке убывания идут группы диаметром 30-40 мкм, 0-10 мкм и 40-50 мкм.

Дифференцировка волокон глубокой боковой мышцы к этому возрасту ещё далека от завершения. Активно идущие процессы морфогенеза реализуются как в виде гипертрофии отдельных волокон, так и путём гиперплазии волокон. Волокна данной мышцы округлые, гликолитического типа, с низким содержанием липидов. Вентральная и дорсальная порции глубокой боковой мышцы разделены горизонтальной соединительнотканной миосептой, границы миомеров хорошо прослеживаются. Установлено, что размах вариации диаметров волокон в глубокой боковой мышце гораздо шире, чем в поверхностной боковой мышце. Некоторые волокна достигают диаметра 80 мкм, но наибольшее количество волокон имеет диаметр 10-20 мкм (таковых 44%), затем следуют в порядке убывания группы диаметром 20-30, 30-40, 40-50 мкм. Группы волокон диаметром от 0 до 10 мкм, а также свыше 50 мкм гораздо более малочисленны.

В настоящем исследовании также изучались особенности гистоструктуры мышц молоди русского осетра в зависимости от локализации конкретного участка мускулатуры в организме рыбы. Так, были изучены фрагменты поверхностной и глубокой боковых мышц из трёх участков тела рыбы: передняя часть (сразу за головой), средняя часть (в месте наибольшей высоты тела) и задняя часть (область середины хвостового стебля). При сравнении диаметра однотипных мышечных волокон из различных участков тела рыбы было установлено, что в переднем и среднем отделах гликолитические волокна имели больший диаметр (25,3 мкм и 23,8 мкм), чем окислительные (21,8 мкм и 22,5 мкм соответственно). В задней части тела (хвостовой стебель) наоборот, гликолитические волокна имеют в среднем меньший диаметр по сравнению с волокнами окислительного типа (17,5 мкм и 21,0 мкм соответственно). При этом, следует отметить, что гликолитические волокна сеголетков русского осетра во всех отделах тела обладают большей вариативностью, чем волокна окислительного типа.

EARLY STAGES OF AXIAL MUSCLES HISTOGENESIS IN JUVENILE RUSSIAN STURGEON (*A. GUeldenstaedti*) WHEN GROWN UNDER INDUSTRIAL CONDITIONS

Nikiforov A.I.

Moscow State Institute of International Relations (University) of MFA of Russia, Moscow, Russia
e-mail: hosanianig@gmail.com

The steady decline of natural sturgeon populations leads to the need of artificial breeding and rearing. But industrial growth conditions are far from natural, therefore, it is relevant to study the peculiarities of ontogenesis of sturgeon in industrial aquaculture. This paper studies the histogenesis of axial muscles of juvenile Russian sturgeon (*Asipenser gueldenstaedti*), grown in a warm-Full-cage fish farm in the State District Power Plant № 3 name Klasson (g. Elektrogorsk Moscow region).

Samples of muscle tissue were fixed in 10% neutral formalin, then embedded in gelatin (according to the method Popkova GA, 1974). Sections were prepared for histological examination on a freezing microtome "Technom-MZP-1003". Fabricated sections were stained with Sudan B (black) by the method of AI Kononskii (1976). Photographs of histological preparations were made using computer image analysis system Optimas with automatic camera Leica DC 10x eyepiece with an increase in lens and x5, 10, 20, 40.

In the early days of post-embryonic development the definitive type of muscle of sturgeon starts to form. Muscle fibers are formed by fusion of mononuclear myoblasts with myotubes and the subsequent formation of muscle fibers of the myotube. At this stage it is formed by well-differentiated muscle fibers in the lateral parts of the trunk myomeres. Horizontal miosepta that separate the deep lateral muscle on the ventral and dorsal portions is clearly visible in sturgeon in the larval stage. With further development myomeres bend in the cranio-caudal and dorsal-ventral directions. During the formation of the axial musculature of differentiation (*musculus lateralis superficialis*) and deep (*musculus lateralis profundus*) lateral muscles occurs on the surface. At the same time histological differentiation of the lateral muscles of the superficial ends earlier than in the deep lateral muscle.

The separation of the lateral surface muscle in the Russian sturgeon begins at the larval stage. At this time, this muscle is formed by the typical red (oxidative) fibers, segregated in the lateral part of the body with a thin (several rows of muscle fibers) layer. At the age of one month, this muscle is almost formed and consists of a set of closely packed fibers of oxidative type. During the study it was found that in the surface side of the muscle of Russian sturgeon fry the largest share (56%) are fibers with a diameter of 20-30 microns, the next most common group - the fiber diameter from 10 to 20 microns, and then in descending order are of a diameter 30-40 mm, 0-10 mm and 40-50 mm.

The differentiation of muscle fibers of the deep side of this age is far from complete. The dynamic process of morphogenesis is realized in the form of hypertrophy of individual fibers and by fiber hyperplasia. The fibers of the muscles are round and of a glycolytic type, with low lipid content. Ventral and dorsal portions of the deep lateral muscles are separated by a horizontal connective miosepta. The boundary of myomeres are well marked. Found that the extent of variation of diameters of fibers in the deep lateral muscle is much broader than in the superficial lateral muscle. Some of the fibers reach a diameter of 80 microns, but most of fibers has a diameter of 10-20 microns (such 44%), followed in descending order of diameter of 20-30, 30-40, 40-50 microns. Groups of fibers with a diameter of 0 to 10 microns, and more than 50 microns and much more numerous.

The study also examines particular histostructure muscle of Russian sturgeon fingerlings, depending on the location of site-specific muscles in the body of fish. Thus, the fragments were studied by surface and deep lateral muscles of the three areas of the body: the front part (just behind the head), the middle part (in place of the greatest height of the body) and back (the middle region of the caudal peduncle). Comparison of the diameter of the same type of muscle fibers from different parts of the body helped to find out that the anterior and middle parts of the glycolytic fibers have a larger diameter (25.3 microns and 23.8 microns) than the oxidative fibers (21.8 microns and 22.5 microns, respectively). At the rear of the body (caudal peduncle), on the contrary, glycolytic fibers have an average diameter smaller than the type of oxidative fibers (17.5 microns and 21.0 microns respectively). In this case, it should be noted that glycolytic fibers of Russian sturgeon fingerlings in all parts of the body have greater variability than the oxidative fibers type.

АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ К АНТРОПОГЕННЫМ ТРАНСФОРМАЦИЯМ В УСЛОВИЯХ АРИДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Овчаренко А.А.

Балашовский институт Саратовского государственного университета
им. Н.Г. Чернышевского, Балашов, Россия
e-mail: alevtina-ovcharenko@yandex.ru

Леса в степной зоне встречаются в основном в виде локальных интразональных экосистем, но имеют исключительное экологическое значение, относятся к лесам I группы и категориям защитности, где запрещено проведение рубок главного пользования, выполняют важные средообразующие функции. Цель нашей работы – анализ структуры и состояния пойменных дубрав Среднего Прихоперья, выбор наиболее информативных показателей для оценки степени трансформации лесных экосистем, выделение основных адаптационных стратегий древесных насаждений к антропогенным нагрузкам в условиях аридных территорий. В основу работы положены материалы обследования 22 стандартных пробных площадей по 0,25 га пойменных дубрав западной части Саратовской области. Типовыми лесотаксационными и геоботаническими методами описаны все ярусы леса; учитывалась интенсивность антропогенного воздействия (расположение и площадь кострищ, густота сети тропинок, захламливание, наличие древесных адвентов и выпаса скота).

При проведении комплексного многолетнего мониторинга в качестве основных адаптационных стратегий древесных насаждений к антропогенным нагрузкам выявлена тенденция к уменьшению доли участия дуба в составе древостоев Прихоперья и постепенной замены его породами-спутниками, а также подлесочными культурами (в основном *Acer tataricum* L.), в связи с антропогенной и лесопатологической трансформацией. Установлено принципиально новое направление смены дуба древесными интродуцентами *Acer negundo* L. и *Fraxinus pennsylvanica* March. Эти процессы позволяют сохранить лесную среду под пологом древостоя, но значительно снижают качество лесных насаждений и их экологические функции в условиях аридных территорий.

Показатели экологического мониторинга при диагностике деградации пойменных дубрав Прихоперья

Адаптационные показатели	Уровни антропогенной трансформации			
	I	II	III	IV
Состав древостоя	Преобладает <i>Quercus robur</i> L. (более 7 единиц)	Количество пород-спутников дуба до 5 единиц	Главный эдификатор представлен менее 4 в формуле древостоя	Преобладают вторичные древесные породы, встречаются в I ярусе древесные интродуценты
Полнота	0,7-0,8	0,6-0,5	0,4-0,5	Ниже 0,4
Коэффициент сохранности дуба	60% и более	40-50%	30-40%	20-30%
Распределение стволов по диаметру	Близко к нормальному	Имеется асимметрия и 2-3 вершины	Фрагментировано, может быть без вершин	Неполное или прерывающееся
Подлесок	Редкий, высотой 1,5-2 м, доминируют <i>Acer tataricum</i> L., <i>Frangula alnus</i> Mill., <i>Rhamnus cathartica</i> L. и др. виды	до 30% территории занимает <i>Acer tataricum</i> L. высотой 4-5 м прегенеративной и генеративной группы	до 60% территории занимает <i>Acer tataricum</i> L. высотой 4-5 м генеративной и сенильной группы	Оконно-луговые сообщества с фрагментами подлеска из <i>Acer tataricum</i> L. генеративной группы
Древесные интродуценты	Отсутствуют или встречаются изредка в виде иматурных особей	Иматурные, виргинильные и молодые генеративные особи обычны в нижних ярусах	Виргинильные и молодые генеративные обычны в нижних ярусах, в составе II яруса 1-2 единицы	Встречаются во всех ярусах, представлен полный онтогенетический спектр
Ценоморфный состав травяного яруса	Преобладают сиванты (лесные виды)	Значительную часть спектра занимают сорно-лесные виды	Часто встречаются рудеранты (сорные виды)	Значительное количество протантов (луговых видов)

Выделенные адаптационные особенности рекомендуются для определения уровней трансформации пойменных дубрав по следующей градации: I уровень – мало нарушенные дубравы с нормально развитым подлеском; II уровень – средняя антропогенная трансформация, дуб повреждён, заменяется древесными спутниками, лесная среда сохраняется; III уровень – сильная антропогенная трансформация, дигрессия эдификатора носит групповой характер, преобладают подлесочные сообщества; IV уровень – очень сильная антропогенная трансформация, дубовый древостой в значительной мере утрачен, фрагментарные подлесочные сообщества, древесные интродуценты.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (МК-1316.2011.4)

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION STRATEGIES OF FOREST ECOSYSTEMS TO HUMAN-INDUCED TRANSFORMATIONS IN THE CONDITIONS OF ARID TERRITORIES

Ovcharenko A.A.

Balashov institute of Saratov State University named after N.G.Chernyshevsky, Balashov, Russia
e-mail: alevtina-ovcharenko@yandex.ru

Forests in the steppe zone are found mainly in the form of local intrazonal ecosystems, but are of exceptional ecological value, refer to the forests of group I and protection categories where principal felling is banned, perform important environment-forming functions. The goal of our work is to analyze the structure and status of the floodplain oak forests of the Middle Khopyor region, to select the most informative indicators for assessing the degree of transformation of forest ecosystems, to single out the basic adaptation strategies of tree plantations to anthropogenic loads in the conditions of arid territories. The work is based on the materials of the survey of 22 standard test plots of 0.25 ha of floodplain oak forests of the Western part of Saratov region. All the levels of the forest are described using the model forest valuation and geobotanical methods. The intensity of anthropogenic impact (the location and area of bonfire sites, the density of the network of paths, littering, the presence of wood advents and grazing) were taken into the account.

While conducting the comprehensive long-term monitoring as the key adaptation strategies of tree plantations to anthropogenic loads there revealed a tendency for a decrease of share participation of the oak in the composition of the tree strata in the Middle Khopyor region and its gradual replacement by satellite species well as under forest crops (mainly *Acer tataricum* L.) in connection with anthropogenic and forest pathological transformation. A principally new direction of the change of the oak by wood introducents *Acer negundo* L. and *Fraxinus pennsylvanica* March was established. These processes allow to save the forest environment under the canopy of trees stratum, but significantly reduce the quality of tree plantations and their ecological functions in the conditions of arid territories.

The indicators of ecological monitoring in the diagnosis of degradation of the floodplain oak forests in the Middle Khopyor region

Adaptation indicators	Levels of anthropogenic transformation			
	I	II	III	IV
The composition of the tree stratum	Dominated by <i>Quercus robur</i> L. (more than 7 units)	The number of satellite species of the oak is up to 5 units	The main edificator is represented less than 4 in the formula of the tree stratum	Dominated by secondary tree species found in the first tier of wood introducents
Density	0,7-0,8	0,6-0,5	0,4-0,5	Lower than 0,4
The coefficient of survival of the oak	60% and more	40-50%	30-40%	20-30%
The distribution of trunks diametrically	Close to normal	There is an asymmetry and 2-3 tops	Fragmented, can be without tops	Incomplete or interrupted
Underwood	Rare, height of 1.5-2 m, dominated by the <i>Acer tataricum</i> L., <i>Frangula alnus</i> Mill., <i>Rhamnus cathartica</i> L. and other species	up to 30% of the territory is occupied by the <i>Acer tataricum</i> L. with a height of 4-5 m of a pregenerative and generative group	up to 60% of the territory is occupied by the <i>Acer tataricum</i> L. with a height of 4-5 m of a generative and senile group	Window-meadow communities with fragments of the underwood from <i>Acer tataricum</i> L. pregenerative group
Wood introducents	Absent or found occasionally in the form of immature individuals	Immature, virgin and young generative individuals are common in the lower tiers	Virgin and young generative are common in the lower tiers, as part of the second tier of 1-2 units	Found in all the layers, provides a complete ontogenetic spectrum
The cenomorph composition of the herbal tier	forest species prevail	A significant part of the spectrum is occupied by weed-forest species	weed species are often found	A significant number of meadow species

The singled out adaptation features are recommended to determine the levels of transformation of floodplain forests according to the following gradation: **I level** - a little broken oak groves with a normally developed underwood; **II level** - an average anthropogenic transformation, the oak is corrupted, replaced by wood satellites, the forest environment is kept; **III level** - a strong anthropogenic transformation, a digression of the edificator is of a group character, dominated by underwood communities; **IV level** - a very strong anthropogenic transformation, the oak tree stratum is lost to a large extent, fragmentary underwood communities, wood introducents.

The research was carried out with the financial support of the Council on grants of the President of the Russian Federation (MK-1316.2011.4)

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА НЕФТЕШЛАМА С НИЗКИМ ЗНАЧЕНИЕМ pH

Плешакова Е.В.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия
e-mail: plekat@rambler.ru

Из состава экстремального микробного сообщества нефтешлама (содержание нефтяных углеводородов 360,5 г/кг) с крайне низким значением pH (pH 1,15) выделено 13 микробных штаммов. Десять из них были идентифицированы как *Corynebacterium* spp., два штамма – как *Dietzia maris* и один – как *Bacillus* sp. Установлено, что все выделенные микроорганизмы в разной степени устойчивы к повышенной кислотности среды, они росли в МПБ в диапазоне pH 1-7. Бактерии были охарактеризованы как умеренные ацидофилы. Выявленный широкий диапазон роста данных штаммов мог свидетельствовать об их приспособленности к изменяющимся условиям природной среды.

При изучении деструктивного потенциала микроорганизмов сообщества нефтешлама было показано, что все выделенные штаммы обладали способностью к росту на агаризованной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии спектр углеводородных субстратов: сырую нефть, керосин, вазелиновое масло, дизельное топливо, ряд индивидуальных углеводородов: *n*-алканы и ароматические соединения. По данным ИК-спектроскопии деструкция нефти в жидкой среде при pH 3,5 изучаемыми штаммами составила от 29 до 47% за 14 сут. культивирования. У большинства штаммов деструкция углеводородов нефти в кислой среде происходила более эффективно, чем в нейтральной, например, у штаммов: *Bacillus* sp. 2/5, *D. maris* 1/3 и *Corynebacterium* sp. 4/1, которая составила 46,4, 44,0 и 29,6% соответственно. Штамм *D. maris* AM3 свою максимальную деструктивную активность (до 70%) проявлял при нейтральных значениях pH, степень деструкции нефтяных углеводородов при культивировании этого штамма в среде с pH 3,5 составляла 47%. По данным газохроматографического анализа степень деструкции гептадекана (25 г/л) штаммом *D. maris* AM3 в жидкой среде за 7 сут. культивирования составляла 53,6% при pH 7,0 и 51,5% при pH 4,6.

При плазмидном скрининге у десяти ацидотолерантных углеводородокисляющих штаммов *Corynebacterium* spp. были обнаружены плазмидные ДНК, сходные по размеру (около 45-50 т.п.н.), у двух штаммов *D. maris* AM3 и *D. maris* 1/3 обнаружены близко расположенные две плазмидные ДНК размером около 54 т.п.н. У штамма *Bacillus* sp. 2/5 плазмидные молекулы не визуализировались. Тот факт, что практически все исследованные штаммы микробного сообщества нефтешлама оказались плазмидосодержащими, согласуется с известными данными о преимущественном распространении плазмид в загрязнённых местообитаниях. Результаты, показавшие наличие сходной плазмидной молекулы у десяти штаммов р. *Corynebacterium*, выделенных из одного источника, могли свидетельствовать о существовании горизонтального переноса плазмиды в микробном сообществе нефтешлама. Установлено, что под действием ингибирующего агента профлавина свойство деструкции нефтяных углеводородов элиминировало с частотой от 1,3 до 5,0%, а свойство ацидотолерантности – с одинаковой частотой 12,5% у десяти кислотоустойчивых штаммов *Corynebacterium* spp., содержащих 45-50 т.п.н.-плазмидные ДНК. Плазмидный скрининг в 65 отобранных элиминантных клонах показал наличие корреляции между утратой плазмидной молекулы из штаммов и потерей свойства ацидотолерантности. В связи с чем было высказано предположение о контроле функции ацидотолерантности у штаммов *Corynebacterium* spp. плазмидными генами. Установлено, что под действием ДНК-тропного агента (налидиксовой кислоты) с частотой 14% возникали клоны *D. maris* AM3 с редуцированной способностью к утилизации нефтяных углеводородов. Последующий скрининг плазмидных ДНК в отобранных элиминантных клонах показал отсутствие экстрахромосомных элементов в четырёх из них. Оценка деструктивной активности данных элиминантов показала снижение способности к деструкции сырой нефти (в 2-5 раз), толуола (в 3-7 раз) и декалина (в 2-3 раза) по сравнению с исходным штаммом. На основании полученных данных высказано предположение об участии плазмидных генов *D. maris* AM3 в процессе биodeградации нефтяных углеводородов. Обнаружено, что признак деструкции толуола с высокой частотой (10^{-3} - 10^{-5}) передавался от донорного штамма *D. maris* AM3 реципиентным бесплазмидным штаммам *Rhodococcus* sp. 261 и *R. terrae* A73 одновременно с переносом 54 т.п.н.-плазмиды. Показана принципиальная возможность передачи данной плазмиды с помощью трансформации в бесплазмидные клетки *D. maris* AM3.

Таким образом, полученные новые сведения о генетической регуляции свойств деградации нефтяных углеводородов и ацидотолерантности у микроорганизмов – членов сообщества нефтешлама раскрывают механизмы, лежащие в основе устойчивого функционирования данного сообщества. Вероятно, под селективным давлением загрязнителя и факторов окружающей среды у микроорганизмов экспрессируются плазмидные гены, обеспечивающие преимущества штаммов при существовании в экстремальных условиях (такие как использование широкого круга субстратов и возможность расти в кислой среде). Наличие у штамма *D. maris* AM3 трансмиссивной кatabолической плазмиды увеличивает метаболический потенциал аборигенного микробного сообщества и позволяет рассматривать данный штамм как источник распространения генетических элементов, ответственных за процессы разрушения углеводородов.

BIOLOGICAL AND EKOLOGO-FUNCTIONAL PROPERTIES OF MICROBIAL COMMUNITY FROM OIL-SLIME WITH LOW VALUE pH

Pleshakova E.V.

Chernyshevsky Saratov State University, Saratov, Russia
e-mail: plekat@rambler.ru

13 microbial strains were isolated from extreme microbial community of oil-slime (content of petroleum hydrocarbons is 360.5 g/kg) with extremely low pH (pH 1.15). Ten of them were identified as *Corynebacterium* spp., two strains – as *Dietzia maris* and one – as *Bacillus* sp. It is established that all isolated microorganisms in different degree are resistant to the acidity of medium, they grew in meat infusion broth in a range of pH 1-7. Bacteria were characterized as moderate acidophils. The revealed wide range of growth of these strains could testify their adaptability to changing conditions of an environment.

In the study of destructive potential of microorganisms of community from oil-slime it was shown that all isolated strains had the ability to grow on agar medium containing a spectrum of hydrocarbon substrates: crude oil, kerosene, vaseline oil, diesel fuel, a number of individual hydrocarbons: *n*-alkanes and aromatic compounds – as a single source of carbon and energy. According to IR-spectroscopy data, destruction of oil in liquid medium at pH 3.5 by studied strains was from 29 to 47% after 14 days of cultivation. Most strains destructed oil hydrocarbons in the acid medium more effectively than in neutral medium, for example: *Bacillus* sp. 2/5, *D. maris* 1/3 and *Corynebacterium* sp. 4/1 showing 46.4, 44.0 and 29.6 %. Strain *D. maris* AM3 showed the maximum of destructive activity (up to 70 %) at neutral values pH, the destruction degree of oil hydrocarbons during the cultivation of this strain in the medium with pH 3.5 was 47 %. According to the gas-chromatographic analysis the destruction degree of heptadecane (25 g/l) by strain *D. maris* AM3 in the liquid medium after 7 days of cultivation was 53.6 % at pH 7.0 and 51.5 % at pH 4.6.

Using plasmid screening ten acidtolerant hydrocarbon-oxidizing strains *Corynebacterium* spp. were detected with plasmid DNA similar in size (approximately 45-50 kilobases), closely spaced plasmid DNA with size about 54 kilobases were detected in two strains: *D. maris* AM3 and *D. maris* 1/3. In the strain *Bacillus* sp. 2/5 plasmid molecules were not visualized. The fact, that nearly all investigated strains of microbial community from oil-slime have appeared to be plasmid-containing, consists with known data about primary distribution of plasmid in the polluted ecotopes. The results, which have shown the presence of similar plasmid molecule in ten strains of genus *Corynebacterium* isolated from the same source, could testify the existence of horizontal transfer of plasmid in microbial community from oil-slime. It was established that under the effect of the inhibitory agent proflavine the property of destruction of petroleum hydrocarbons eliminated with frequency from 1.3 to 5.0 %, and property of acidtolerance eliminated with identical frequency of 12.5 % in ten acidtolerant strains *Corynebacterium* spp. containing 45-50 kilobase-plasmid DNA. The plasmid screening in 65 selected eliminant clones showed a correlation between the loss of plasmid molecule in strains and the loss of acidtolerance. In this connection the supposition has been delivered that the control of acidtolerance function in strains *Corynebacterium* spp. is performed by plasmid genes. It was established that under the effect of DNA-inhibitory agent (nalidixic acid) the clones of *D. maris* AM3 with the reduced ability of petroleum hydrocarbons utilization increased with 14 % frequency. The subsequent screening of plasmid DNA in selected eliminant clones showed the absence of extrachromosomal elements in four of them. The estimation of destructive activity of these eliminants showed the decrease of ability to destruct the crude oil (in 2-5 times), toluene (in 3-7 times) and decalin (in 2-3 times) in comparison with initial strain. On the basis of the received data the assumption about participation of plasmid genes of *D. maris* AM3 in the process of petroleum hydrocarbons biodegradation was obtained. It was detected that the character of toluene destruction was with high frequency (10^{-3} - 10^{-5}) transferred from donor strain *D. maris* AM3 to recipient uniplasmid strains: *Rhodococcus* sp. 261 and *R. terrae* A73 simultaneously with transferring 54 kilobase-plasmid. The principal possibility to transfer this plasmid, using transformation, in uniplasmid cells *D. maris* AM3 was shown.

Thus, the obtained new data about genetic regulation of petroleum hydrocarbons degradation properties and acidtolerance of microorganisms – members of community from oil-slime – reveal the mechanisms underlying the sustainability of the community. Possibly, under the selective pressure of pollutant and factors of environment the plasmid genes that provide advantages for strains to exist in extreme conditions (such as use of a wide range of substrates and the possibility of growth in acid medium) express in microorganisms. The presence of a transmissible catabolic plasmid in the strain *D. maris* AM3 increases metabolic potential of aborigine microbial community and allows to consider this strain as a source of distribution of the genetic elements responsible for processes of hydrocarbons destruction.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ *ATRIPLEX PATULA* К ДЕЙСТВИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Прокопьев И.А., Шеин А.А., Филиппова Г.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем
криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия
e-mail: bg98saa@yandex.ru

Пылевое загрязнение оказывает двойное действие на живые организмы – это механические воздействия и действие химических веществ, содержащихся в пыли. Хроническое техногенное загрязнение приводит к накоплению значительного количества тяжелых металлов в системе почва–растение [1]. При этом длительное воздействие техногенных загрязнителей способно вызвать в клетках растений не только токсические эффекты, но и активировать адаптивные физиологические, цитологические и биохимические реакции [1 - 3]. Одним из важнейших направлений исследования экосистем Центральной Якутии является изучение влияния техногенного загрязнения на растительные организмы, которые произрастают в условиях засушливого резко-континентального климата и многолетней мерзлоты [1, 4].

Показано, что действие техногенного загрязнения пылью, содержащей повышенные концентрации катионов свинца, кобальта, меди, цинка и стронция, на материнские растения *Atriplex patula*, вызвало ряд ответных реакции, которые закрепились у их семенного потомства. Так, техногенное загрязнение привело к снижению в 1.8 раз лабораторной всхожести, задержке роста на начальных этапах формирования корневой системы проростков, а также повышению в 1.3 раза количества патологических ана-телофаз митоза. Вместе с тем, у семенного потомства наблюдались адаптивные биохимические реакции, которые заключались, во-первых, в одновременном повышении в 1,4 раза интенсивности процессов перекисного окисления липидов в тканях проростков, в 1,8 раз активности пероксидазы и содержания низкомолекулярных антиоксидантов, в 4,4 раза – активности супероксиддисмутазы, что является следствием предшествующей адаптации материнских растений к действию техногенного загрязнения пылью, содержащей тяжелые металлы. Во-вторых, в активации в 2.6 раз систем репликации и репарации ДНК на фоне относительно небольшого усиления (на 12%) митотической активности клеток, а также в 2.9 раз скорости синтеза белка относительно контроля. В-третьих, в увеличении в 1.6 - 1.7 раз суммарного содержания хлорофиллов *a* и *b*, при сохранении их соотношения и доли в светособирающем комплексе, что свидетельствует о сохранении относительной стабильности функционирования пигментного аппарата исследованных проростков при действии данного стресс-фактора.

Литература

1. Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. (2007) Analysis of adaptive capacities of plants in the zone of technogenic impact. Russian Journal of Ecology. 38: 85–89.
2. Michalak A. (2006) Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. Polish J. of Environ. Stud. 15: 523–530.
3. Abbasi A. R., Hajirezaei M., Hofius D., Sonnewald U., Voll L. (2007) Specific Roles of α - and γ -tocopherol in Abiotic Stress Responses of Transgenic Tobacco. Plant Physiol. 143: 1720-1738.
4. Prokop'ev I.A., Zhuravskaya A.N., Filippova G.V. (2011) Variability of Biochemical Parameters and Radiation Resistance of Seed Progeny of *Descurainia sophia* and *Lepidium apetalum* under Exposure to Various Factors. Russian J. Ecology. 42: 277–282.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ADAPTATION OF *ATRIPLEX PATULA* AT ACTION OF CHRONIC TECHNOGENIC POLLUTION

Prokopiev I.A., Shein A.A., Filippova G.V.

Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia
e-mail: bg98saa@yandex.ru

Dust pollution exerts double action on living organisms: mechanical action and that of chemical compounds present in dust. Chronic anthropogenic pollution leads to accumulation of great amounts of heavy metal in the system soil–plant [1]. An elevated heavy metal concentration in the cells enhances ROS generation, which, in its turn, can lead to oxidative stress development and subsequent death of plant cells [2]. Long-term action of anthropogenic pollutants can be not only toxic to plants but also induce adaptive physiological, cytological, and biochemical responses. It was shown that accumulation of phenolic compounds and tocopherols and also activation of antioxidant enzymes could substantially improve plant tolerance to heavy metal toxicity [1–3]. One of the most important directions of investigations of ecosystems in Central Yakutia is the study of the influence of anthropogenic pollution on plant organisms that grow under conditions of arid extremely continental climate and permafrost. At the same time, in plants grown under these conditions, specific adaptive physiological, cytological, and biochemical responses can form [1, 4].

It was shown that action of anthropogenic pollution with dust containing elevated concentrations of Pb, Co, Cu, Zn, and Sr cations on the *Atriplex patula* parent plants induced some responses preserved in their seed progeny. Anthropogenic pollution resulted in the reduced laboratory seed germinability in 1.8 times, growth retardation during the early stages of root system development in seedlings, and also an increase in 1.3 times the number of pathological anaphase of mitoses. However, the seed progeny were observed adaptive biochemical reactions, which consisted: (1) in simultaneous increase of 1.4 times the intensity of lipid peroxidation in the tissues of the seedlings in 1.8 times the activity of peroxidase and the content of low molecular weight antioxidants, activity of superoxide dismutase in 4.4 times, which is a consequence of the previous adaptation of parents plant to the action of technogenic pollution by dust containing heavy metals; (2) activation in 2.6 times of DNA and in 2.9 times protein synthesis on the background of a relatively small increase (12%) of the mitotic activity of cells; and (3) an increase in 1.6 - 1.7 times of contents of Chl a and Chl b at the retained unchanged their ratio and proportion in light-harvesting complex. That indicating about pigment apparatus relative stability preservation of the studied seedlings under the influence of the stress factor.

References

1. Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. (2007) Analysis of adaptive capacities of plants in the zone of technogenic impact. Russian Journal of Ecology. 38: 85–89.
2. Michalak A. (2006) Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. Polish J. of Environ. Stud. 15: 523–530.
3. Abbasi A. R., Hajirezaei M., Hofius D., Sonnewald U., Voll L. (2007) Specific Roles of α - and γ -tocopherol in Abiotic Stress Responses of Transgenic Tobacco. Plant Physiol. 143: 1720–1738.
4. Prokop'ev I.A., Zhuravskaya A.N., Filippova G.V. (2011) Variability of Biochemical Parameters and Radiation Resistance of Seed Progeny of *Descurainia sophia* and *Lepidium apetalum* under Exposure to Various Factors. Russian J. Ecology. 42: 277–282.

ФАКТОРЫ НАКОПЛЕНИЯ РТУТИ РЫБАМИ БРАТСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

¹Сергеева А. С., ²Пастухов М.В.

¹ Иркутский Государственный Университет, Иркутск, Россия

² Институт Геохимии СО РАН, Иркутск, Россия
e-mail: dark-arhell@yandex.ru

Одной из наиболее острых экологических проблем Иркутской области является техногенное загрязнение ртутью, особенно негативно влияющее на экосистемы водоёмов. На невысоком природном фоне содержания ртути (Байкал, Иркутское водохранилище) резко выделяются своей загрязненностью районы Братского водохранилища, подверженные воздействию химических комбинатов. По оценкам специалистов Института геохимии СО РАН, суммарное поступление техногенной ртути за время работы комбинатов в окружающую среду превысило 3450 т.

Целью нашей работы являлось выявление факторов, влияющих на биоаккумуляцию ртути в организмах рыб различного трофического статуса, населяющих Братское водохранилище.

В условиях Братского водохранилища *Rutilus rutilus* (L.) (плотва сибирская) – самый многочисленный вид рыб. Активно питается в течение всего года. Основные группы пищевых организмов – хирономиды и растительные обрастания, ребе – планктонные ракообразные.

Речной окунь (*Perca fluviatilis* (L.)) населяет все участки водохранилища. Представлен быстро- и медленно растущими особями. Медленнорастущие потребляют в пищу в основном бентосные организмы и зоопланктон, быстрорастущие преимущественно имеют хищный тип питания.

Выявлена динамика содержания ртути в организмах рыб, отличающихся по пищевой специализации: мирных планктобентофагов (плотва) и хищников - бентофагов (окунь). Предельно допустимая концентрация (ПДК) ртути в России для мирных рыб составляет 0,3 мг /кг, для хищных – 0,6 мг/кг.

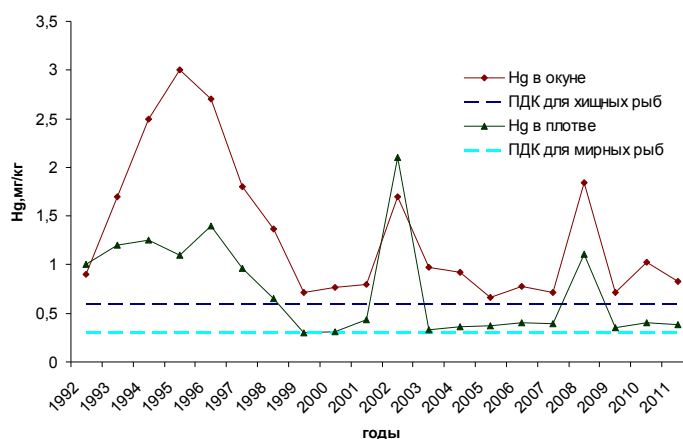


Рис. Изменения содержания ртути в мышечной ткани окуня и плотвы Братского водохранилища в 1992-2011 гг.

Количество ртути, поглощаемой и накапливаемой рыбами Братского водохранилища, зависит от следующих факторов:

1. Донные осадки: за период работы цехов ртутного электролиза в верхней части Братского водохранилища накоплено ≈76 тонн ртути. Позднее, в период снижения техногенной эмиссии ртути, в Братском водохранилище, начиная с 1998 г., одним из наиболее важных факторов ее поступления в водоем становятся вторичное загрязнение из донных осадков.

2. Уровень воды: при повышении уровня водохранилища происходит уменьшение концентрации ртути, вследствие разбавления загрязненной воды приносимыми чистыми водами. Резкое снижение уровня воды приводит к размыву донных осадков и высвобождению загрязненных ртутью слоев.

3. Размыв береговой линии: берега водохранилища подвергаются серьезному размыву. Обрушение берегов приводит как к попаданию в водохранилище отложенной ртути, содержащейся в гумусном слое почвы, так и к захоронению под слоями глины (более глубокие слои почвы) ранее отложенной в поверхностных донных осадках.

4. Сбросы действующих промпредприятий: сильное влияние на поступление ртути в организмы, населяющие Братское водохранилище, продолжает оказывать расположенный в верхней части водоёма химический комбинат г. Усолья - Сибирского. Ежегодное поступление ртути составляет 115 кг/год. Частичный вывод из производства цехов ртутного электролиза привёл к снижению объемов выбросов. Однако загрязнение продолжается за счет поступлений со шламоотвалов, шламонакопителей, выпусков сточных вод, поверхностного стока.

Верхнюю часть Братского водохранилища необходимо отнести к категории районов с крайне неблагоприятной экологической обстановкой. Для постоянного контроля ртутного загрязнения водохранилища, необходимы ежегодные комплексные мониторинговые исследования.

FACTORS DETERMINATING THE BIOACCUMULATION OF MERCURY IN FISH FROM BRATSK RESERVOIR

¹Sergeeva A.S., ²Pastukhov M.V.

¹ The Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

² Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia

e-mail: dark-arhell@yandex.ru

One of the most important ecological problems of Irkutsk region is anthropogenic pollution by mercury accumulating especially has negative influence on ecosystem of water reservoirs. Compared with other natural and artificial waterbodies in region (lake Baikal and Irkutsk reservoir) Bratsk reservoir has much higher level of mercury pollution, especially near large chemical enterprises. According to the data from specialists of Institute of Geochemistry SB RAS, 3450 t. of mercury was entered in environment.

Main objective of our work was revelation of factors influenced the bioaccumulation of mercury in organisms of fish from different trophic levels.

Roach *Rutilus rutilus* (L.) is the most widely distributed species in ichthyofauna of Bratsk reservoir. It has active feeding habits on the course of year. The main groups of food organisms are chironomids and higher plants fragments and smaller part – the planctonic crustacea.

Perch *Perca fluviatilis* (L.) inhabits all sections of reservoir. This species has two developmental forms – slow- and quick-growing. First of them is bentivorous and planktivorous, second following from predatory way.

The dynamics of content of mercury in organisms of fish with different food specialization: peaceful planktobenthophagous roach and piscivorous - benthophagous perch is revealed. Limit permissible concentration of mercury (LPC) in Russia for peaceful species of fish is 0,3 mg/kg, for predatory – 0,6 mg/kg.

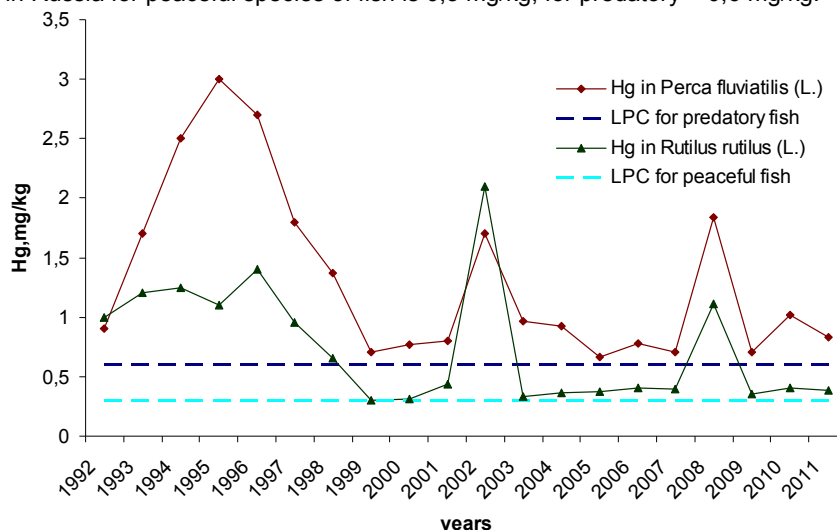


Fig. Changes of concentration of mercury in muscular tissue of perch and roach in Bratsk reservoir from 1992 to 2011.

The amount of mercury absorbing and accumulating in organisms of fish in Bratsk reservoir, depends of following factors:

1. Bottom sediments: over a period, when shops of mercurial electrolysis are working, in upper part of Bratsk reservoir was accumulated ≈ 76 t. of mercury. Later, in the period of lower of anthropogenic emission of mercury, in Bratsk reservoir as from 1998, one of the most important factor of enter of mercury in waterbody is a secondary pollution from the bottom sediments.

2. Water level: when water level increases concentration of mercury is decrease, as a result of dilution of polluted water from derived pure waters. While water level sharply decrease, bottom sediments are washing out and layers which has pollutions of mercury are freeing.

3. Washing out of shoreline: shores of reservoir is under grand washing out. Slope of shores causes invasion of mercury situated in humus stratum of soil. Also mercury, which delayed early, was burial under layers of clay.

4. Discharge of sewage from operating enterprises: intensive influence on enter of mercury in organisms inhabiting Bratsk reservoir, continue to exert conversion enterprises, which are situated to upper part of Bratsk reservoir in Usolye - Sibirskoe. Every year enter of mercury in reservoir is 115 kg/year. Partial stopping of technological cycles which uses mercury causes to decrease amounts of emission. But pollution is continuing at the cost of sludge remover and sludge pit, discharge of waste waters and surface flows.

Upper part of Bratsk reservoir, necessary labeled as regions with extremely ecological situation. For constant control of mercury pollution in Bratsk reservoir, necessary conducted annual complex monitoring researches.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КАК СТРАТЕГИЧЕСКИЙ РЕСУРС АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЫ

¹Слюсаренко А.Е., ¹Московчук О.Б., ²Московчук К.М.,
³Демченко В.Ф., ¹Евстафьева Е.В., ¹Овсянникова Н.М.

¹ Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь, Украина

² ЦРКБ Симферопольского района, Крым, Украина

³ Институт медицины труда, Киев, Украина
e-mail: e.evstafeva@mail.ru

Иммунная система является индикатором для определения допустимого воздействия техногенных факторов при экологическом нормировании и изучения степени экологического риска для здоровья на конкретных территориях. Кафедрой нормальной физиологии КГМУ проводятся исследования иммунного статуса (ИС) организма различных когорт крымского населения (родильницы и их новорожденные дети, школьники различного возраста, проживающие в городской среде; дети и взрослые, проживающие на промышленно загрязненных территориях); влияния на него приоритетных для территории проживания химических факторов среды тяжелые металлы (ТМ), пестициды. Кроме этого, выполняется интегральная оценка состояния адаптированности населения, основанная на анализе звеньев неспецифического и специфического клеточного и гуморального иммунитета (1).

В результате обследования 190 человек обнаружено, что характерной особенностью ИС детей явился часто встречающийся дефицит специфического клеточного звена, который для отдельных показателей носил тотальный характер. Определение характера адаптационных реакций показало, что большинство из них свидетельствовало о различных нарушениях адаптированности тестируемых к условиям среды проживания. Это проявлялось в наличии у большинства обследуемых реакций компенсаторного напряжения, декомпенсации, иммунодефицита, которые по данным определения специфического клеточного иммунитета достигали 100% случаев, особенно у детей 7-15 лет. У взрослых наблюдалось более удовлетворительное состояние адаптации, по крайней мере, на сельскохозяйственных территориях.

Для определения факторов среды, которые могут вносить вклад в обусловливание такого неудовлетворительного состояния адаптированности исследовали взаимосвязь ИС и уровни содержания в организме приоритетных факторов химического загрязнения городской и промышленной среды, к которым на городских и промышленных территориях крымского полуострова следует отнести ТМ, а также пестициды, которые традиционно в высоких дозах использовались в Крыму, в особенности в виноградарстве.

Исследование элементного статуса организма посредством определения 20 химических элементов в волосах всех тестируемых категорий методом рентгено-флуоресцентного анализа, 11 ТМ и 3-х пестицидов (ДДТ, ГХЦГ, ГХБ) и их изомеров и метаболитов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии в различных биосубстратах (венозная и пуповинная кровь, грудное молоко, плацента, волосы) показало, что концентрации ТМ (свинца, кадмия, никеля и др.) превышали допустимые величины в отдельных случаях, в целом оставаясь в пределах нормы для исследуемой группы в целом. Более закономерной и характерной для детской части населения особенностью элементного статуса явился частичный или даже тотальный дефицит основных элементов (цинк, медь, железо и др.). Иными словами, выявлен элементный дисбаланс в сторону гипозлементозов. Содержание пестицидов в биосубстратах родильниц и их новорожденных детей характеризовалось высокой вариабельностью, достигая высоких значений концентраций в сравнении с данными других региональных исследований (2): 0,001 – 4,47 мкг/л для ГХБ, 0,19– 26,22 мкг/л для суммарного ГХЦГ (Σ ГХЦГ) и 0,28 – 18,88 мкг/л для Σ ДДТ в венозной крови родильниц; 0,027 – 1,28 мкг/л для ГХБ, 0,158– 5,66 мкг/л для Σ ГХЦГ и 1,01 – 11,96 мкг/л для Σ ДДТ в пуповинной крови; 0,03 – 13,16 нг/л для ГХБ, 2,13– 38,49 нг/л для Σ ГХЦГ и 5,06 – 56,39 нг/л для Σ ДДТ в волосах родильниц; 0,04 – 14,10 мкг/л для ГХБ, Σ ГХЦГ - 0,06– 104 мкг/л и Σ ДДТ - 5,06 – 56,39 мкг/л в грудном молоке; 0,09 – 4,87 мкг/кг для ГХБ, 0,08– 5,4 мкг/кг для Σ ГХЦГ и 2,29 – 26,06 мкг/кг для Σ ДДТ в плаценте. Выявляемость хлорорганических пестицидов колебалась от 63 до 100% соответственно.

Для оценки степени возможного влияния рассматриваемых поллютантов на функциональное состояние ИС при их эндогенном содержании в выявленных концентрациях выполнен корреляционный и множественный регрессионный анализ. Он показал, что и при содержании ТМ в организме в пределах условной нормы или при незначительном ее превышении наблюдается определенное влияние на состояние ИС, особенно в случае рассмотрения их суммарного эффекта. Направленность корреляционных связей дает основание говорить об иммуносупрессивном действии ТМ, особенно выраженном со стороны ртуты даже при ее концентрациях, приближающихся к нижней границе нормы. Еще более выраженное влияние на состояние ИС оказывали пестициды.

Литература

1. Крушевський В.Д., Базовкін П.С., Луговський С.П., Беднарник О.М., Ковальчук Т.А., Білецький В.С., Білик Л.І., Гураль О.І., Грін С.В., Данильчук О.В., Бондарчук О.М., Полякова А.В., Кривошея Л.О., Комаров М.А. Спосіб кількісного визначення ступеню порушень імунного статусу у робітників промислових підприємств з несприятливою санітарно-промисловою та екологічною ситуацією / Опис до деклараційного патенту на винахід. - Бюл. №4. 2001 р.
2. Herrero-Mercado M, Waliszewski SM, Caba M, Martínez-Valenzuela C, Gómez Arroyo S, Villalobos Pietrini R, Cantú Martínez PC, Hernández-Chalate F. Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. Bull. Envir. Contam. Toxicol. 2011, 86 (3), 289-93.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

STATE OF IMMUNE SYSTEM AS A STRATEGIC RESOURCE OF ORGANISM ADAPTABILITY IN THE CONDITIONS OF TECHNOGENIC ENVIRONMENT

¹Slusarenko A., ¹Moskovchuk O., ²Moskovchuk K.,
¹Demchenko V., ¹Evstafyeva H., ¹Ovsyanyikova N.

¹ State institution "Georgievsky Crimea State Medical University", Simferopol, Ukraine

² Central Regional Clinical Hospital, Simferopol, Ukraine

³ Institute of Occupational medicine, Kiev, Ukraine

e-mail: e.evstafeva@mail.ru

The immune system is a strategic resource of organism's adaptability. Its state determines adaptive possibilities of organism and can be an indicator for determination of acceptable influence of anthropogenic factors at the ecological standardization and study of degree of ecological risks for human health on definite territories. Researchers of normal physiology department of the Crimea state medical university makes analyses of different cohorts of the Crimean population immune status (puerperants and their new-born children, schoolchildren of different age, residents of rural territory; children and adults, residents of industrially polluted territories); influence of priority chemical factors of environment for territory of residence (heavy metals, pesticides). Besides the integral estimation of the state of population adaptation, based on the analysis of nonspecific and specific cell-mediated and humoral immunity (1) is done.

This study presents the results of examination of 190 persons. It was found out, that the main feature of children immune status was abundant deficiency of specific cell-mediated immunity, for some parameters of which total deficiency observed. Determination of adaptive responses types showed that the majority of them had testified disorders of adaptation to the environment. In most cases results showed increased compensatory response tension, decompensation, immunodeficit, that according to the specific cell-mediated immunity data increased up to 100% of the cases, especially for children of 7-15 years old. Adults had more satisfactory state of adaptation, at least, on rural territories.

A research of correlation between immune status and content of pollutants in the organism was done in order to determine factors of environment which make adaptive responses insufficient. Pollutants of urbanized and industrial environment are both heavy metals, and also pesticides that traditionally in high doses were used in Crimea, in particular, in viticulture.

Content of 20 chemical elements in the hair by the method of X-ray fluorescent spectroscopy, and 11 heavy metals and pesticides (DDT, HCH, HCB) and their isomers and metabolites by method of atomic absorption spectrometry in different biosubstrates (venous and umbilical cord blood, breast milk, placenta, hair) were determined. This study shows that the concentrations of heavy metals (lead, cadmium, nickel of and other) had exceeded a normal range in some cases, remaining within the normal limits for the whole group investigated. Element status of child's part of population was characterized by partial or even by total deficiency of trace elements (zinc, copper, iron and other). In other words, an element disbalance expressed by lack of elements (hypoelementosis). The content of pesticides in biosubstrates of puerperants and their new-born children was characterized by high variability and high concentrations, in comparison with data of other regional researches (2): 0,001 - 4,47 mg/l for HCB, 0,19- 26,22 mg/l for total HCH (Σ HCH) and 0,28 - 18,88 mg/l for Σ DDT in venous blood of puerperants; 0,027 - 1,28 mg/l for HCB, 0,158- 5,66 mg/l for Σ HCH and 1,01 - 11,96 mg/l for DDT in umbilical cord blood; 0,03 - 13,16 ng/l for HCB, 2,13- 38,49 ng/l for Σ HCH and 5,06 - 56,39 ng/l for Σ DDT in the hair of puerperants; 0,04 - 14,10 mg/kg for HCB, Σ HCH - 0,06- 104 mg/kg and Σ DDT - 5,06 - 56,39 mg/kg in breast milk; 0,09 - 4,87 mg/kg for HCB, 0,08- 5,4 mg/kg for Σ HCH and 2,29 - 26,06 mg/kg for Σ DDT in a placenta. Availability of pesticides fluctuates from 63 to 100% respectively.

In order to estimate a role of endogenous content of pollutants revealed a correlation and multiple regression analysis was done. It shows that both normal range of heavy metals content in an organism and its insignificant elevation may influence on the functional state of immune system, especially if these effects are combined. Detected correlations indicate immunosuppressive action of toxic metals, especially for mercury even if its concentration drops to the lower norm limit. Pesticides had more manifested action on the immune system.

References

1. Крушевський В. Д., Базовкін П. С., Луговський С. П., Беднарик О. М., Ковальчук Т. Анд., Білецький В. С., Білик І. І., Гураль О. І., Гірін С. В., Данильчук О. В., Бондарчук О. М., Полякова А. В., Кривошей Л. О., Комаров М. А. Спосіб до кількісного визначення ступеню порушень імунного статусу у робітників промислових підприємств з несприятливою санітарно-промисловою та екологічною ситуацією / Опис до деклараційного патенту на винахід. - Бюл. №4. 2001
2. Herrero-Mercado M, Waliszewski SM, Caba M, Martínez-Valenzuela C, Gómez Arroyo S, Villalobos Pietrini R, Cantú Martínez PC, Hernández-Chalate F. Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. Bull. Envir. Contam. Toxicol. 2011, 86 (3), 289-93

МИКРОБНЫЙ КОМПОНЕНТ ПОЧВ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Стольников Е.В., Ананьева Н.Д.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия
e-mail: stolnikat@rambler.ru

Микробная биомасса почвы (МБ) – самое большое по массе и энергии звено её биоты, обладающее высокой чувствительностью и адаптационной устойчивостью к изменениям окружающей среды. Наша работа была нацелена на проверку гипотезы об изменении МБ (размер, дыхательная активность и структура) разных типов почв при “прямом” и “обратном” преобразовании наземных экосистем. “Прямое” преобразование – переход естественных экосистем (лес, луг) в пахотные под влиянием антропогенной деятельности, “обратное” – трансформация пахотных угодий вследствие их зарастания в залежные и лесные (постагрогенные биогеоценозы). Объекты исследования, их основные химические и микробиологические свойства представлены в таблице. Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД), основанный на окислении и соокислении глюкозы почвенными микроорганизмами, оценивает содержание углерода МБ ($C_{\text{мик}}$) *in situ*, а применение селективных ингибиторов СИД (фунгицид / бактерицид) – её структуру (грибы / бактерии) [1, 2]. Определено микробное дыхание (базальное, БД) почвы и рассчитан микробный метаболический коэффициент (БД / $C_{\text{мик}}$ = $q\text{CO}_2$), который характеризует экофизиологический статус микробного сообщества.

Показано, что при распашке почвы происходит снижение содержания $C_{\text{мик}}$ в 2.1, 3.9 и 2.5, скорости БД в 1.6, 2.2 и 2.1 и $C_{\text{мик}}$ -грибы в 1.5, 5.6 и 4.4 раза в дерново-подзолистой, серой лесной и черноземе выщелоченном соответственно (табл.). Пахотные почвы отличаются повышенным коэффициентом $q\text{CO}_2$ (в 1.3 - 2.0 раза) по сравнению с естественными аналогами, что свидетельствует о стрессовых условиях и неблагоприятных последствиях антропогенного воздействия на микробное сообщество.

В постагрогенных ценозах дерново-подзолистой почвы происходит накопление (запасание) $C_{\text{орг}}$ от 0.69 (пашня) до 1.34% (лес, 90), увеличение почти в 2 раза. Содержание $C_{\text{мик}}$ почвы в этом ряду повышается в 5, а БД - 6 раз. Этот факт можно связать и с увеличением доли микроскопических грибов в МБ. Между параметрами $C_{\text{мик}}$ и БД выявлена тесная положительная корреляционная взаимосвязь ($r = 0.99$, $n = 5$), а достоверных различий между величинами $q\text{CO}_2$ - не отмечено.

Табл. Химические (рН и $C_{\text{орг}}$) и микробиологические [углерод микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$), базальное дыхание (БД), микробный метаболический коэффициент ($q\text{CO}_2$) и содержание грибного компонента ($C_{\text{мик}}$ -грибы)] в почвах естественных и пахотных экосистем

Почва ^a / область / слой, см	Экосистема, возраст (лет)	рН _{H2O}	$C_{\text{орг}}$, %	$C_{\text{мик}}$, мкг г ⁻¹	БД, мкг CO ₂ -C г ⁻¹ ч ⁻¹	$q\text{CO}_2$, мкг CO ₂ -C мкг ⁻¹ ч ⁻¹	$C_{\text{мик}}$ -грибы, мкг г ⁻¹
Прямое преобразование							
ДП / Тверская / 0-5	Лес (100)	4.50	2.21	934 b	1.68 b	1.80 a	588
	Пашня (60)	6.10	1.39	445 a	1.03 a	2.37 b	387
СЛ / Московская / 0-5	Лес (80)	5.95	2.42	1824 b	1.04 b	0.57 a	1532
	Пашня (40)	5.85	0.96	465 a	0.47 a	1.01 b	274
ЧВ / Воронежская / 0-10	Лесополоса (80)	6.90	6.90	965 b	0.51 b	1.05 a	917
	Пашня (50)	7.95	7.95	225 a	0.24 a	2.10 b	207
Обратное преобразование							
ДП / Костромская / 0-10	Пашня (40)	4.76	0.69	149 d	0.40 d	2.72 a	94
	Залежь (7)	4.95	0.87	187 cd	0.55 d	2.96 a	133
	Лес (20)	4.69	1.25	245 c	0.76 c	3.14 a	154
	Лес (45)	4.53	2.45	502 b	1.67 b	3.29 a	301
	Лес (90)	4.34	1.34	759 a	2.52 a	3.40 a	546

^a ДП, дерново-подзолистая, СЛ, серая лесная, ЧВ, чернозем выщелоченный; разные буквы означают достоверно значимые различия величин по критерию Дункана, $p \leq 0.05$, ANOVA, для каждой почвы и параметра отдельно

Таким образом, совокупность микробиологических показателей почвы позволяет считать, что эффект «пашни» ведет к снижению содержания и активности микроорганизмов и, как следствие, ухудшению ее «качества». При зарастании пашни микробное сообщество почвы восстанавливается (увеличение $C_{\text{мик}}$, БД и $C_{\text{мик}}$ -грибы) и функционирует сбалансировано.

Благодарности: работа поддержана грантами НШ-6620.2012.4, РФФИ 12-04-00097; программой Президиума РАН «Биоразнообразие...»

Литература

- Ананьева Н.Д., Сусьян Е.А., Гавриленко Е.Г. (2011). Особенности определения углерода микробной биомассы методом субстрат-индуцированного дыхания. *Почвоведение*. 11: 1327 – 1333.
- Сусьян Е.А., Ананьева Н.Д., Благодатская Е.В. (2005). Разделение грибного и бактериального субстрат-индуцированного дыхания с использованием антибиотиков в почвах разных экосистем. *Микробиология*. 74 (3): 394-400.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

MICROBIAL COMPONENT OF DIFFERENT SOIL TYPES UNDER HUMAN IMPACT

Stolnikova E.V., Ananyeva N.D.

Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pushchino, Russia
e-mail: stolnikat@rambler.ru

Soil microbial biomass (MB) is the largest mass and energy link of soil biota, having high sensitivity and adaptable sustainability to the environmental changes. Our work was aimed to checking hypothesis about the MB changes (content, respiration activity and structure) of different soil types at "direct" and "reverse" transformations of terrestrial ecosystems. "Direct" transformation is the conversion of natural ecosystems (forest, meadow) into arable ones under human impact, "reverse" one is the conversion of arable soils due to their overgrowth to forest and fallow (postagrogenic biogeocenoses). The research objects, their main chemical and microbiological properties are presented in the Table. The substrate-induced respiration method (SIR) based on the oxidation and co-oxidation of glucose by soil microorganisms. This method allow us to estimate the carbon microbial biomass content (C_{mic}) *in situ*, and using selective antibiotics (fungicide / bactericide) for SIR inhibition allows us to determine the portion of fungi and bacteria of MB (structure) [1, 2]. Microbial respiration (basal, BR) was assessed and the soil microbial metabolic quotient was calculated ($qCO_2 = BR / C_{mic}$). The quotient characterizes eco-physiological status of the microbial community of different soils.

It was shown that soil tillage leads to the C_{mic} content decrease at 2.1, 3.9, 2.5, BR at 1.6, 2.2, 2.1 and C_{mic} -fungi at 1.5, 5.6, 4.4 times in Umbric Albeluvisols (Soddy-podzolic), Albic Luvisols (Gray forest) and Umbric Albeluvisols (Chernozem leached), respectively (Table). The arable soils have the higher qCO_2 (at 1.3 - 2.0 times) compared with natural ecosystem ones, that might be testified stressful conditions and human impact on the soil microbial community.

The C_{org} content increased from 0.69 (arable) up to 1.34% (forest, 90) in Umbric Albeluvisols (Soddy-podzolic) of postagrogenic cenoses. The soil C_{mic} content and BR rate of this row were increased at 5 and 6 times, respectively. This fact might be linked with an increase of the portion of soil fungi in the total MB. The content of C_{mic} and BR were closely correlated ($r = 0.99$, $n = 5$), and significant difference between the qCO_2 values of the soil row was not observed.

Table. Chemical (pH, C_{org}) and microbiological [soil microbial biomass carbon (C_{mic}), basal respiration (BR), soil microbial metabolic quotient (qCO_2) and fungal (C_{mic} -fungi)] in soil of natural and arable ecosystems

Region / layer, cm	Soil type ^a (WRB / CDS)	Ecosystem (age, yrs.)	pH _{H2O}	C _{org} , %	C _{mic} , μg g ⁻¹	BR, μg CO ₂ -C g ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ , μg CO ₂ -C mg ⁻¹ C _{mic} h ⁻¹	C _{mic} - fungi, μg g ⁻¹
"Direct" transformation								
Tver / 0-5	Umbric Albeluvisols / Soddy-podzolic	Forest (100)	4.50	2.21	934 <i>b</i>	1.68 <i>b</i>	1.80 <i>a</i>	588
		Arable (60)	6.10	1.39	445 <i>a</i>	1.03 <i>a</i>	2.37 <i>b</i>	387
Moscow / 0-5	Albic Luvisols / Gray forest	Forest (80)	5.95	2.42	1824 <i>b</i>	1.04 <i>b</i>	0.57 <i>a</i>	1532
		Arable (40)	5.85	0.96	465 <i>a</i>	0.47 <i>a</i>	1.01 <i>b</i>	274
Voronezh / 0-10	Luvic Chernozems / Chernozem leached	Shelter-belt (80)	6.90	6.90	965 <i>b</i>	0.51 <i>b</i>	1.05 <i>a</i>	917
		Arable (50)	7.95	7.95	225 <i>a</i>	0.24 <i>a</i>	2.10 <i>b</i>	207
"Reverse" transformation								
Kostroma / 0-10	Umbric Albeluvisols / Soddy-podzolic	Arable (40)	4.76	0.69	149 <i>d</i>	0.40 <i>d</i>	2.72 <i>a</i>	94
		Fallow (7)	4.95	0.87	187 <i>cd</i>	0.55 <i>d</i>	2.96 <i>a</i>	133
		Forest (20)	4.69	1.25	245 <i>c</i>	0.76 <i>c</i>	3.14 <i>a</i>	154
		Forest (45)	4.53	2.45	502 <i>b</i>	1.67 <i>b</i>	3.29 <i>a</i>	301
		Forest (90)	4.34	1.34	759 <i>a</i>	2.52 <i>a</i>	3.40 <i>a</i>	546

^a WRB, World Reference Base for Soil Resources, 1998; CDS, Classification and diagnostics of the USSR soils, 1977; different letters indicate significant differences (ANOVA, $p \leq 0.05$) within each soil and parameter

Thus, the soil microbiological parameters allow us to consider that the effect of "arable land" leads to decrease the activity and content of soil microorganisms, and as a result, the deterioration of its "quality". The overgrowing of the arable soil leads to the "restoration" of soil microbial community parameters (C_{mic} , BR, C_{mic} -fungi increase) and its function is balanced.

Acknowledgements: this work was supported by the Scientific School Program # 6620.2012.4, the Russian Foundation Basic Research grants # 12-04-00097; Russian Academy of Science Presidium program «Biodiversity».

References

1. Ananyeva N.D., Susyan E.A., Gavrilenko E.G. (2011). Determination of the soil microbial biomass carbon using the method of substrate-induced respiration. *Eurasian Soil Science*. 44 (11): 1215–1221.
2. Susyan E.A., Ananyeva N.D., Blagodatskaya E.V. (2005). The antibiotic-aided distinguishing of fungal and bacterial substrate-induced respiration in various soil ecosystems. *Microbiology*. 74 (3): 336–342.

АДАПТАЦИЯ РЫБ К МИНЕРАЛЬНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ НА УРОВНЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОН-ГЛУТАТИОН-ТРАНСФЕРАЗА

Суховская И.В., Борвинская Е.В., Смирнов Л.П., Немова Н.Н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Россия
e-mail: sukhovskaya@inbox.ru

Известно, что восстановленный глутатион (GSH) является одним из важнейших низкомолекулярными тиолсодержащих соединений, обнаруженных в клетках животных и растений (Бойцова, 1998; Gonzalez, 1995; Meister, 1994). GSH участвует в формировании резистентности организма к самым различным химическим и физическим воздействиям (Gonzalez, 1995; Meister, 1994), участвует в антиоксидантной защите тканей живых организмов, проявляет противовирусную активность, принимает участие в регуляции воспалительных реакций, формировании устойчивости организма к самым различным химическим и физическим воздействиям (Бойцова, 1998).

В задачу настоящего исследования входило определение концентрации восстановленного глутатиона (GSH) и определение активности глутатион-S-трансферазы (GST) в печени, почках, жабрах и мышцах щуки из водоема, который используется горно-обогатительным комбинатом для захоронения отработанной горной породы и как отстойник воды из технологического цикла и сравнить эти показатели с данными, полученными у рыб из «контрольного» водоема, который расположен на территории государственного заповедника и считается эталонным водоемом таежной зоны.

При исследовании нами печени рыб из хвостохранилища, которая является главным органом синтеза GSH, не отмечено статистически значимых изменений уровня восстановленного глутатиона по сравнению с «контролем» (рис. 1 А). Можно предположить, что GSH, синтезированный в печени, попадает в кровь, аккумулируется тем или иным органом и поддерживается в нем на достаточно высоком уровне. Вероятно, именно по этой причине концентрация GSH в печени не меняется при хроническом воздействии ксенобиотиков.

Во всех остальных исследованных органах отмечено увеличение концентрации GSH. Исходя из этого, можно предположить, что более высокий по сравнению с контролем уровень GSH у щуки, выловленной в промышленном водоеме, указывает на активный адаптивный процесс, направленный на снижение эффекта избыточной минерализации, что позволяет им в настоящее время достаточно успешно противостоять техногенному давлению.

При исследовании активности глутатион-S-трансферазы (GST) в тканях щуки (рис. 1 Б), выявлены изменения, коррелирующие с уровнем GSH. В жабрах и, в меньшей степени, в мышцах щук было обнаружено повышение активности глутатион S-трансфераз, тогда как в печени заметных различий не было выявлено.

В целом, в тканях щук, богатых глутатионом, активность GST выше, по сравнению с тканями с более низким содержанием глутатиона. По ее величине и концентрации GSH органы щуки располагаются в следующем порядке: печень>жабры>почки>мышцы.

Полученные результаты свидетельствуют об участии глутатионовой системы в развитии ответной реакции организма щук на изменение среды обитания, вызванное техногенной трансформацией водоема. Установлено, что ответная реакция носит тканеспецифический характер.

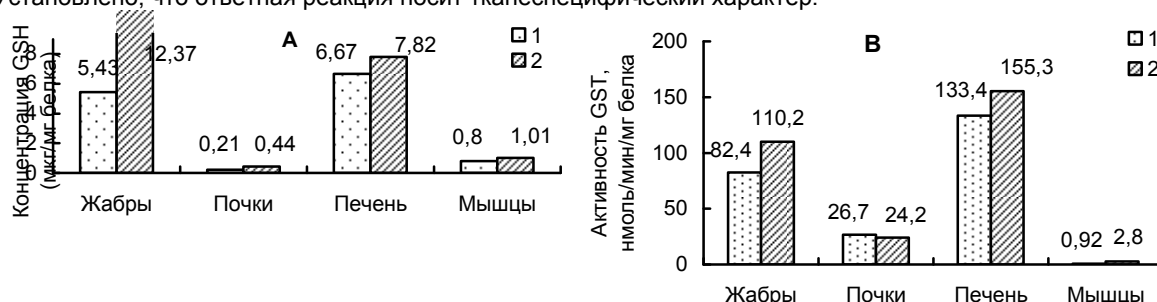


Рис. 1. Сравнительный анализ концентрации GSH (А) и активности (GST) в тканях щуки из контрольного (1) и загрязненного (2) водоемов

Работа выполнена при поддержке программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4, НШ-1642.2012.4; грант РФФИ No 11-04-00167-а; проект Программы Президиума РАН «Биологические ресурсы».

Литература

1. Бойцова Л.В. Защитная роль глутатионовой системы в органах крыс при введении эмбихина // Укр. биохим. журн. - 1998. - Т. 70. - №1. - С.113-117.
2. Gonzalez F.J. Role of xenobiotic-metabolizing enzymes in cancer susceptibility: Keystone Symp. Mol. and Cell Biol. "Mol. Toxicol.", Copper Mountain, Colo, Jan. 9-15, 1995 // J. Cell. Biochem. 1995. Suppl. 19A. P. 187.
3. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals // J. Biol. Chem. 1994. 269. P. 9397-9400.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTATION OF FISHES TO MINERAL POLLUTION AT THE LEVEL OF GLUTATHION-GLUTATHION-TRANSFERASE SYSTEM

Sukhovskaya I.V., Borvinskaya E.V., Smirnov L.P., Nemova N.N.

Institute of Biology of Karelian Research Centre of Russian Academy of Science, Russia
e-mail: sukhovskaya@inbox.ru

It is known that reduced glutathione (GSH) is one of the major low-molecular thiol-containing compound found in cells of animals and plants (Boitcova, 1998; Gonzalez, 1995; Lind et al., 1989; Meister, Anderson, 1983; Meister, 1994). GSH participates in resistant reactions of the organism to the various chemical and physical impacts (Gonzalez, 1995; Meister, Anderson, 1983; Meister, 1994) through antioxidant protection of the tissues, antiviral activity, regulation of inflammatory reactions, increasing of the stability of the organism (Lind et al., 1989; Boitcova, 1998).

The main aim of this research includes the estimation of the level of reduced glutathione (GSH) and the activity of glutathione-S-transferase (GST) in a liver, kidneys, gills and muscles of pike (*Esox lucius*) inhabit water reservoir used as a water settler for industrial waters from mining and processing integrated works for burial of the fulfilled rock. Data obtained were compared with the same parameters in fish from a "control" reservoir, nature water body located on the territory of the national park that is considered a reference reservoir of a taiga zone.

In the liver there were no statistically significant changes in the level of reduced GSH in comparison with "control" fish parameters although the liver is the main organ of GSH synthesis (fig. 1 A). It is possible to assume that excess GSH synthesis in liver results in rapid transfer of the compound to blood and further accumulation in the organs and is maintained on the rather high level. Possibly, for this reason concentration of GSH in a liver doesn't change at chronic influence of xenobiotics.

In all other studied organs the increase in concentration of GSH was noted. It is possible to assume that higher GSH level in a pike caught in an industrial reservoir in comparison with control individuals indicates the active adaptive processes directed on decrease in effect of a excessive mineralization that allows successful resistance of fish to technogenic pressure.

The activity of glutathione-S-transferase in pike tissue (fig. 1 B) changes in correlation with GSH level. There were detected an increases in GST activity in gills and in a lesser extent in muscles of pikes whereas there were no significant differences.

Summarizing our observation we may conclude that GST activity is higher in glutathione-enriched tissues of pike. By the GST activity and GSH concentration pike organs may be ranged in the following order: liver > gills > kidneys > muscles.

The obtained results indicate the participation of glutathione system in pike in the development of response reaction on the changed habitat parameters caused by technogenic transformation of a reservoir. It was shown that the response develops in a tissue-specific manner.

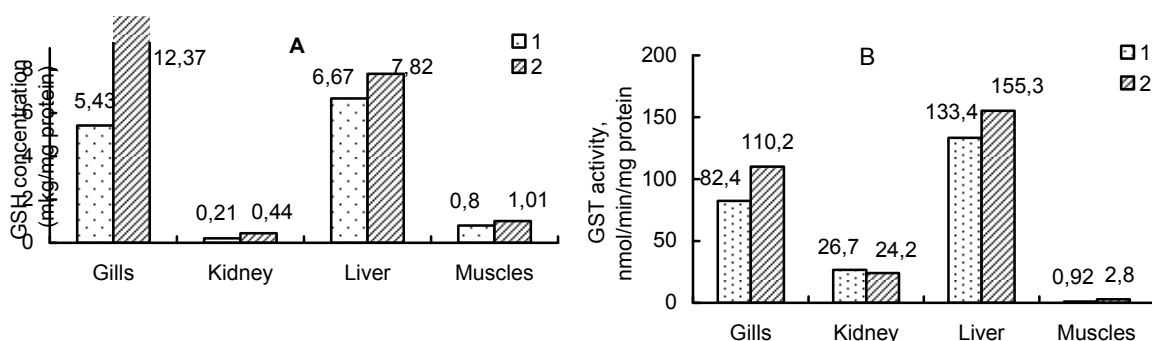


Fig. 1. GSH concentration and GST activity in pike tissues from control (1) and polluted (2) reservoirs.

This work was supported by the program of President RF «Leader Scientific Schools» No 3731.2010.4, 1642.2012.4, RFBR grant No 11-04-00167-a; Project of RAS Presidium «Biological resources».

References

1. Бойцова Л.В. Защитная роль глутатионовой системы в органах крыс при введении эмбихина // Укр. биохим. журн. - 1998. - Т. 70. - №1. - С.113-117.
2. Gonzalez F.J. Role of xenobiotic-metabolizing enzymes in cancer susceptibility: Keystone Symp. Mol. and Cell Biol. "Mol. Toxicol.", Copper Mountain, Colo, Jan. 9-15, 1995 // J. Cell. Biochem. 1995. Suppl. 19A. P. 187.
3. Lind M.J., McGrown A.T., Hadfield J.A. et al. The effect of ifosfamide and its metabolites on intracellular glutathione levels in vitro and in vivo // Biochem. Pharmacol. 1989. 38. № 11. P. 1835-1840.
4. Meister A, Anderson M.E. Glutathione // Annu. Rev. Biochem. 1983. 52. P. 711-760.
5. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals // J. Biol. Chem. 1994. 269. P. 9397-9400.

ДИНАМИКА ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ РЫБНОГО НАСЕЛЕНИЯ ОЗЕР ПРИ ПОСТОЯННО НАРАСТАЮЩЕМ ЭВТРОФИРОВАНИИ, ТОКСИЧЕСКОМ И ТЕПЛОВИМ ЗАГРЯЗНЕНИИ

Терещенко В.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанова РАН, Борок, Россия
e-mail: tervlad@ibiw.yaroslavl.ru

Рост загрязнения водоемов ставит задачу оценки состояния сообществ гидробионтов и прогнозирования возможных изменений в них. Для этого важно знать их реакцию на стандартные воздействия, в частности на постоянно нарастающую антропогенную нагрузку. Вместе с тем, в литературе мало сведений о многолетних непрерывных наблюдениях за рыбным населением в условиях нарастающего антропогенного воздействия. В этом отношении интересны озера Сямозеро, Имандра и Лихенское, на которых на протяжении длительного времени нарастало соответственно эвтрофирование, токсическое и тепловое загрязнение (2-5, 7). Цель данной работы – обобщение результатов анализа влияния нарастающей антропогенной нагрузки на структуру рыбного населения озер.

Известно, что в структурных перестройках сообществ заключен интегральный ответ на весь комплекс воздействий среды (1), и детальный их анализ может дать полную информацию о последствиях любого нарушающего воздействия. Важно, что в стрессовых ситуациях сообщество, прежде всего, изменяет свою структуру, обеспечивая сохранение внешних функций (6). Метод динамического фазового портрета структуры сообщества, примененный для анализа реакции рыбного населения, описан ранее (8).

Сямозеро - эвтрофируемое озеро (3) на водосборе которого в 1945-85 гг. плотность населения и площади, занятые под сельским хозяйством, увеличились на порядок. Это вызвало рост потока биогенов и изменения во всех звеньях экосистемы озера. В 1945–1960 гг. рыбное население находилось в равновесном состоянии с разнообразием уловов рыб 2.6 бит (5). С начала 1960-х годов увеличилась амплитуда колебаний разнообразия, а траектория системы на динамическом фазовом портрете стала раскручивающейся спиралью, что свидетельствует о дестабилизации рыбного населения. В 1975 г. на фазовом портрете раскручивающаяся спираль перешла в вогнутую дугу. Это означает, что в функционировании рыбного населения была критическая точка - точка начала перехода системы из одного устойчивого равновесного состояния в другое, с разнообразием уловов 2.0 бит.

В период 1950-89 гг. загрязнение оз. Имандра тяжелыми металлами, сульфатами и фосфатами постоянно росло (2), а в 1990-е гг. техногенная нагрузка существенно снизилась. В 1945-56 гг. рыбное население функционировало в равновесном состоянии с разнообразием уловов 2.1 бит. Траектория системы на динамическом фазовом портрете была раскручивающейся спиралью, что свидетельствует об усилении воздействия на водоем (4). В 1964 г. на фазовом портрете отмечен переход раскручивающейся спирали в вогнутую дугу, т.е. критическая точка в функционировании рыбного населения. К концу 1960-х годов более, чем в два раза возросла скорость структурной перестройки и к середине 1970-х годов рыбное население перешло от состояния, соответствующему разнообразию уловов 1.3 бит, в котором находилось до 1999 г.. Необходимо отметить, что, несмотря на существенное уменьшение токсической нагрузки на водоем в 90-х годах, рыбное население не возвратилось в исходное равновесное состояние (4).

Сходную реакцию рыбного населения на возрастающее нарушающее воздействие получено и при тепловом загрязнении оз. Лихенское (Конинская система озер, Польша). В результате оно перешло на другой уровень функционирования с меньшим разнообразием уловов (7).

Таким образом, при эвтрофировании, тепловом и токсическом загрязнении озер рыбное население переходит в состояние с меньшим уровнем разнообразия уловов рыб. При этом, ответ рыбного населения на возрастание нарушающего воздействия состоит из двух фаз. При слабых нагрузках увеличивается амплитуда колебаний разнообразия уловов рыб, а при их усилении выше некоторого предела рыбное население переходит в состояние с иными структурными и функциональными характеристиками.

Литература

1. Алимов А.Ф. (1989) Введение в продукционную гидробиологию. - Л.: Гидрометеиздат, 152.
2. Моисеенко Т.И., Дауэльтер В.А., Лукин А.А. и др. (2002) Антропогенные модификации экосистемы озера Имандра. М.: Наука. 403.
3. Решетников Ю.С., Попова О.А., Стерлигова О.П. и др. (1982) Изменение структуры рыбного населения эвтрофируемого водоема. М.: Наука. 248.
4. Решетников Ю.С., Терещенко В.Г., Лукин А.А. (2011) Динамика рыбной части сообщества в изменяющихся условиях среды обитания (на примере озера Имандра) // Рыбное хозяйство. 6: 48-52.
5. Терещенко В.Г., Стерлигова О.П., Павлов В.Т., Ильмаст Н.В. (2002) Многолетняя динамика структурных и системных характеристик рыбного населения эвтрофируемого Сямозера // Биология внутренних вод. 3: 93 - 102.
6. Odum E. P. (1985) Trends expected in stressed ecosystems // Bio - Science, 35(7): 419 - 422.
7. Tereshchenko V.G., Kapusta A., Wilkonska H., Strelnikova A.P. (2007) Long-term changes in 0+ fish assemblages in the littoral zone of heated lakes. 1. Using phase diagrams to evaluate changes in ichthyofauna // Archives of Polish Fisheries. 15(4). 2007: 415 - 430.
8. Verbitsky V.B. & V.G. Tereshchenko. (1996). Structural phase diagrams of animal communities in assessment freshwater ecosystem conditions. Hydrobiologia. 322: 277-282.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

DYNAMICS OF FISH LAKE ASSEMBLAGE STRUCTURE AT CONSTANTLY INCREASING OF EUTROPHICATION, TOXICAL AND THERMAL POLLUTION

Tereshchenko V.G.

I.D. Papanin Institute for biology of inland waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Russia
e-mail: tervlad@ibiw.yaroslavl.ru

Growth of water body pollution puts a problem of an assessment of a state of assemblages of aquatic organisms and forecasting of possible modifications in them. For this purpose it is important to know their response on standard actions, in particular, on constant growth of an anthropogenic load. At the same time, in the literature there are not enough information about long-term continuous observation over the fish assemblage, being in conditions of growing disturbances. Lakes Sjamozero, Imandra and Lihensky on which throughout long time accrued accordingly eutrophication, toxic and thermal pollution (2-5, 7) are in this respect interesting. The purpose of the given work - generalisation of information of influence of an growing anthropogenic load on species structure of the fish assemblage of lakes.

It is known, that in structural transformations of assemblages the integral answer to all complex of actions of environment (1) is concluded, and their detailed analysis can give the full information on consequences of any disturbances. The assemblage is important, that in stressful situations, first of all, changes the structure, ensuring conservation of external functions (6). The method of a dynamic phase portrait of structure, applied to analysis of a response of the fish assemblage, is described earlier (8).

Eutrophication of Sjamozero Lake it is bound by that on its (3) drainage areas in 1945-85y the population density and the squares occupied under agriculture, have increased 10 times (3). It has invoked growth of biogenes stream and a modification in all parts of an ecosystem. In 1945-1960 the fish assemblage was in a stable state with a fisheries diversity of 2.6 bits (5). From the 1960 y the altitude of diversity oscillations has increased, and the system trajectory on a dynamic phase portrait became an unwinding spiral that testifies to destabilization of the fish assemblage. In 1975 on a phase portrait the unwinding spiral has passed in a concave arc. It means, that in functioning of the fish assemblage there was a critical point - a point of the beginning of passage of system from one stable balance of equilibrium in another, with a diversity 2.0 bits (5).

In 1950-89 y pollution of the lake Imandra heavy metals, Zinc sulfates and phosphates constantly grew (2), and in 1990th the technogenic load has essential decreased. In 1945-56 yy the fish assemblage functioned in a stable state with a fishing diversity 2.1 bits (4). A system trajectory on a dynamic phase portrait was an unwinding spiral that testifies to grow disturbances on a water body. In 1964 on a phase portrait passage of an unwinding spiral in a concave arc, i.e. a critical point in functioning of the fish assemblage is noted. To the end of 1960th years more, than has twice increased a velocity of structural transformation and to the middle of 1970th years the fish assemblage has passed from a state, to the conforming diversity 1.3 bits in which was to 1999 y. It is necessary to notice, that, despite essential reduction of a toxic load by a lake in the nineties, the fish assemblage has not variated a state of the equilibrium functioning (4).

Similar response of the fish assemblage on increasing disturbances it is received and at thermal pollution Lihensky lake (Koninsky system of lakes, Poland). As a result it has passed to other level of functioning with a smaller diversity (7).

Analysis of influence eutrophication, toxic and thermal pollution of lakes on species structure of fish assemblage is carried out. It is established, that its answer at constant increase of disturbances consists of two phases. At weak disturbance there is an augmentation of altitude of oscillations of a diversity index. At magnification of action above some limit the fish assemblage passes in a state with other structural and functional performances.

References

1. Alimov, A. F. (1989) Introduction to productional hydrobiology. Leningrad: Gidrometeoizdat: 152. In Russian.
2. Moiseenko T.I., Dauvalter V. A., Lukin A.A., et al. (2002) Anthropogenic modifications of an ecosystem of lake Imandra. M: Science: 2002. In Russian.
3. Reshetnikov J.S., Popova O. A., Sterligova O. P., et al. (1982) Modification of structure of the fish assemblage in eutrophication water body. M: Science: 248. In Russian.
4. Reshetnikov J.S., Tereshchenko V. G., Lukin A.A. (2011) Dynamics of a fish part of assemblage in varying habitat factors (on a lake Imandra example). // Fish economy. 6: 48-52. In Russian.
5. Tereshchenko V.G., Sterligova O.P., Pavlov V.N., Ilmast N.V. (2004) Long-term dynamics of structural and system's characteristics of fish community in the lake Syamozero // Biology of Inland Waters. 3: 93 - 102. In Russian.
6. Odum E. P. (1985) Trends expected in stressed ecosystems // Bio - Science, 35(7): 419 - 422.
7. Tereshchenko V.G., Kapusta A., Wilkonska H., Strelnikova A. P. (2007) Long-term changes in 0+ fish assemblages in the littoral zone of heated lakes. 1. Using phase diagrams to evaluate changes in ichthyofauna // Archives of Polish Fisheries. 15(4): 415 - 430.
8. Verbitsky V.B. & V.G. Tereshchenko (1996). Structural phase diagrams of animal communities in assessment freshwater ecosystem conditions. Hydrobiologia. 322: 277-282.

АДАПТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ ИНТРОДУЦЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО РЕГИОНА

Терлыга Н.С.

Криворожский ботанический сад НАН Украины, Кривой Рог, Украина
e-mail: terlyga-natalja@rambler.ru

Проблема адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды занимает центральное место в эволюционной теории. В адаптационной стратегии в ходе индивидуального развития растений предлагается различать механизмы, обеспечивающие целостность онтогенеза и надежность системы, при этом, общие и частные приспособительные изменения отражают интегрированную реакцию генотипа на воздействие экстремальных факторов. Адаптивные изменения на действия неблагоприятных условий среды, затрагивающие разные уровни организации растений, в конечном итоге проявляются в широко распространенных изменениях морфологических признаков, в особенности, их вегетативных органов. Несмотря на наследственный консерватизм в морфологической конструкции вида в жестких экологических условиях они могут адаптироваться, и при этом возможны даже изменения жизненной формы (1).

Адаптация древесных растений к различным техногенным экотопам достигается за счет модификационной и генотипической изменчивости. Индивидуальные адаптивные реакции, хотя и имеют определенную автономность и реагированность, однако характерной их особенностью является интегрированность, которая обеспечивается функциональным взаимодействием всего генома (2). Адаптивные реакции растений контролируются сложно организованными, многочисленными, регуляторными механизмами, первостепенное значение среди которых принадлежит генетическим и физиолого-биохимическим системам (3). Изучение этих механизмов обеспечит управление и повышение адаптивного потенциала интродуцентов. В условиях техногенеза остро стоит вопрос о повышении адаптивного потенциала интродуцентов, что возможно осуществить за счет генетической гетерогенности насаждений с использованием для этого гетерозигот, у которых более эффективны по сравнению с гомозиготами механизмы физиолого-биохимической компенсации на воздействие экстремальных факторов внешней среды.

Для интродуцированных видов древесных растений характерна различная амплитуда морфогенетических реакций на изменения условий среды. Техногенное загрязнение среды приводит к модификационным фенотипическим изменениям, которые проявляются в ходе онтогенеза растений и генетически детерминированы. Интродуценты наиболее чувствительны к экстремальным факторам среды на ювенильной стадии развития, которую можно рассматривать как критический этап их онтогенеза. Для вегетативных органов растений свойственны различия в пластичности и способности к модификационным изменениям под влиянием экологических факторов. В антропогенно трансформированных условиях произрастания древесные растения часто не проходят в ходе индивидуального развития всех возрастных этапов и отмирают в том возрастном состоянии, которого они достигли, что является проявлением не заверщенного онтогенеза. В других случаях наблюдается прерывание нормального хода онтогенеза с выпадением отдельных возрастных состояний и даже с переходом к сублетальному сенильному состоянию (4). У интродуцированных видов даже при невысоких вариациях факторов внешней среды наблюдается большая изменчивость полигенных количественных признаков, отражающих фенотипическое проявление их генотипа. Сопряженность адаптивных реакций в онтогенезе со всей очевидностью проявляется в морфоструктурных изменениях вегетативных органов растений (5).

В связи с чем большой интерес представляют исследования изменения сопряженности связей между признаками в связи с действием техногенно загрязненной среды, а также степени интегрированности и автономности реакций растений в оптимальных и стрессовых условиях существования. Результаты наших исследований в насаждениях хвойных растений произрастающих на антропогенно трансформированных территориях показали, что взаимосвязь генотипической и фенотипической изменчивости обеспечивается, как правило, коадаптированным комплексом генов и эта связь не всегда сопряжена с изменением уровня гетерозиготности аллозимных локусов (6). Следует отметить, что результативность таких исследований зависит от четкого выбора морфологических признаков и анализируемых аллозимных локусов. Отсутствие корреляционных связей между индивидуальной гетерозиготностью и изменчивостью морфологических признаков в насаждениях интродуцентов могут быть связаны с изменениями в регуляторных генах. Эти изменения могут сопровождаться значительными морфологическими эффектами, повышая уровень варьирования фенотипических признаков.

Литература

1. Северцов А.С. Основы теории эволюции. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. – 319с.
2. Коршиков И.И., Терлыга Н.С., Бычков С.А. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции. – Донецк: ООО «Лебедь». – 20002. – 328с.
3. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. (Адаптация, рекомбиногенез, агробіоценоз). Кишинев: Штиинца, 1988. – 767с.
4. Смирнова О.В., Чистякова А.А., Истомина И.И. Квасисенильность как одно из проявлений фитоценотической толерантности растений // Журн. общ. биологии. – 1984. – 1984. – Т.45, №2. – С.216-225.
5. Шишкин М.А. Фенотипические реакции и эволюционный процесс. (еще раз об эволюционной роли модификаций) // Экология и эволюц. теория. – М.: Наука, 1984. – С.196-216.
6. Коршиков И.И., Мазур А.Е., Терлыга Н.С. Генетические особенности деревьев сосны крымской с существенными отличиями в семенной продуктивности в насаждениях Криворожья // Интродукція рослин. – Киев, 2011.- С.70-75.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ADAPTIVE STRATEGIES OF INTRODUCENTOV IN THE CONDITIONS OF PROMYSHLENOGO OF REGION

Terlyga N.S.

Krivorozhskiy botanical garden of NAN of Ukraine, Crooked Horn, Ukraine
e-mail: terlyga-natalja@rambler.ru

The problem of adaptation of living organisms to the changing terms of environment occupies a central place in an evolutionary theory. In adaptation strategy during individual development of plants it is suggested to distinguish mechanisms, providing integrity of ontogenesis and failsafety, here, general and private приспособительные changes reflect the computer-integrated reaction of genotype on influence of extreme factors. Adaptive changes on the actions of unfavorable terms environments, affecting the different levels of organization of plants, in the end show up in the widely widespread changes of morphological signs, in particular case, their vegetative organs. In spite of the inherited conservatism in the morphological construction of kind in hard ecological terms they can adapt oneself, and the changes of life-form are here possible even (1).

Adaptation of arboreal plants to the different technogenic ecotopes is arrived at due to modification and genotypic changeability. Individual adaptive reactions, though have a certain noninteraction, however their characteristic feature is integrating which is provided functional co-operation of all of genome (2). The adaptive reactions of plants are controlled the mechanisms difficultly organized, numerous, regulator, a primary value among which belongs to the genetic, physiological and biochemical systems (3). The study of these mechanisms will be provided by a management and increase of adaptive potential of the introduced species. In the conditions of technogenesis sharply a question costs about the increase of adaptations potential of , that it is possible to carry out due to genetic heterogeneity of planting with the uthe introduced se for this purpose of heterozygotes at which the mechanisms of physiological and biochemical are more effective as compared to homozygotes on influence of extreme environmental factors.

For the introduced species of arboreal plants different amplitude of morphogenic reactions is characteristic on the varying of terms of environment. Technogenic contamination of environment results in modification phenotypical changes which show up during ontogenesis of plants and genetically enshrined in the genotype. Introductenty is most sensible to the factors of environment on the juvenile stage of development, which can be examined as the critical stage of their ontogenesis. For the vegetative organs of plants distinctions are peculiar in plasticity and capacity for modification changes under influence of ecological factors. In the anthropogenic transformed terms of sprouting arboreal plants often do not pass during individual development of all of the age-dependent stages and die off in the that age-dependent state which they attained, that is the display of the not completed ontogenesis. In other cases there is breaking in of normal motion of ontogenesis with the fall of the separate age-dependent states and even with passing to the sublethal senile state (4). For the the introduced species kinds even at low variations of factors of external environment have large changeability of polygenic quantitative signs, reflecting the phenotypical display of their genotype. The attended of adaptive reactions in ontogenesis with all of evidence shows up in the morphostructural changes of vegetative organs of plants (5).

In this connection large interest is represented by researches of change attended of connections between signs in connection with the action of technogenic muddy environment, and also degrees of integrating and noninteraction of reactions of plants in the optimum and stress terms of existence. Results of our researches in planting of coniferous plants sprouting on the anthropogenic transformed territories rotined that intercommunication of genotypic and phenotypical changeability was provided, as a rule, by the co-adapted complex of genes and this connection not always is attended with the change of level the heterozygosity of allozyme loci (6). It should be noted that effectiveness of such researches depends on the clear choice of morphological signs and analysable of allozyme loci. Absence of cross-correlation connections between an individual heterozygosity and changeability of morphological signs in planting of the introduced species can be related to the changes in regulator genes. These changes can be accompanied considerable morphological effects, promoting the levael of varying of phenotypical signs.

References

1. Severcov A.S. Bases of evolutionism. - M.: Izd-vo of Mosk.Moscow Univ., 1987. - 319c.
2. Korshikov I.I., Terlyga N.S., Bychkov S.A. Population-genetic problems dendrotehnogennoy introductions. - Donetsk: OOO "Swan". - 20002. - 328 s.
3. Zhuchenko A.A. Ecological genetics of cultural plants. (Adaptation, rekombinogenez, agrobiotsenoz). -Kishinev: Shtiinca, 1988. - 767s.
4. Smirnova O.V., Chistyakova A.A., Istomina I.I. Kvazisenil'nost' as one of displays of phytocenotic tolerance of plants of //Zhurn. obsch. biologi. - 1984. -T.45, №2. - S.216-225.
5. Shishkin M.A. The phenotypical reactions and evolutional process. (once again about the evolutional role of modifications) // Ecology and evolutionary theory. - M.: Science, 1984. - S.196-216.
6. Korshikov I.I., Mazur A.E., Terlyga N.S., Krasnoshtan O.V. The Genetic features of trees of pine-tree *Pinus pallasiana* D.Don. with substantial differences in seminal produktivnosti in planting of Krivorozh'ya //Introduktion plants. - ev, 2011.- S.70-75.

АДАПТАЦИЯ ОРГАНИЗМОВ К РАДИОАКТИВНОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

Тестов Б.В., Баранова Л.Н.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
e-mail: testov@psu.ru

Известно, что на Земле имеются локальные территории с повышенным содержанием радиоактивных элементов. Растения и животные, обитающие на этих территориях, по численности видовому составу не отличаются от представителей, живущих на смежных участках с нормальным радиационным фоном. Это было трудно объяснить из представлений о сильном мутагенном действии ионизирующей радиации. Ученые долгое время считали, что причиной генетических нарушений является возникновение ионов или свободных радикалов в облученных клетках. Однако простые расчеты показывают, что даже при смертельной дозе облучения повреждается только 1 атом из 10 миллионов. Такая частота повреждений не может существенным образом сказаться на состоянии организма.

Мы считаем более вероятным другой механизм действия радиации на клетки организма. Он основан на том, что все биохимические реакции в клетках организма проходят с выделением тепла. Это тепло обеспечивается гидролизом молекул АТФ, который необходим для осуществления биохимических реакций. Очень наглядно это проявляется при загорании белого человека под весенним солнцем. Длительное нахождение белой кожи под солнцем весной приводит к солнечному ожогу. При этом повышение температуры кожи обеспечивается не тепловым, а ультрафиолетовым излучением Солнца. Кожа загорелого человека в летний период выдерживает без ущерба значительно более высокий тепловой нагрев. Следовательно, причиной гибели клеток кожи при интенсивном весеннем загаре является нагрев клеток кожи за счет гидролиза большого количества молекул АТФ. Кожа загорелого человека под действием Солнца не сгорает. Итак, причиной гибели клеток при облучении может быть большой поток ультрафиолета. Но откуда он может взяться в организме?

Ультрафиолетовое излучение возникает при взаимодействии рентгеновского и гамма и излучения с атомами организма. При прохождении излучения через вещество фотон расходует часть энергии на возбуждение электронов. При потере энергии он превращается в фотон с большей длиной волны. Так рассеянное рентгеновское излучение превращается в фотоны ультрафиолета, а фотоны гамма-излучения превращаются сначала в рентгеновское излучение, а затем в ультрафиолет. Фотоны ультрафиолетового излучения с длиной волны 200 нм обладают энергией примерно равной 6 эВ. Фотоны гамма-излучения, проникающие в организм, обладают энергией от 6 до 600 кэВ. Следовательно, они могут формировать в организме поток фотонов ультрафиолета, который в десятки и сотни тысяч раз больше чем поток гамма-излучения. Эти фотоны ультрафиолета, образованные в организме способны существенно повышать температуру клеток. То же самое происходит при внутреннем облучении радионуклидов, поступивших в организм. Испускаемые радионуклидами альфа- и бета – частицы возбуждают электроны атомов, которые способны испускать ультрафиолетовое излучение. Ученые Томского университета, при затравке собак радоном, наблюдали повышение температуры внутренних органов собак (печени, почек, селезенки) на 3-5 °С [1]. А.И. Ильенко на диких грызунах показал, что у животных, обитающих на участках радиоактивным загрязнением, наблюдается повышение ректальной температуры и снижение потребления кислорода [2]. Наши экспериментальные исследования на лабораторных крысах, содержащихся на участке с высоким радиационным загрязнением, выявили повышение ректальной температуры у животных в первые 2 суток после начала опыта. Затем температура нормализовалась. Нормализация температуры произошла, по-видимому, за счет снижения интенсивности метаболизма. При перемещении этих крыс, после окончания опыта, на территорию с меньшим уровнем радиации мы наблюдали временное снижение ректальной температуры у животных. Такие колебания ректальной температуры мы объясняем усилением и снижением теплопродукции под действием ионизирующего излучения на территории с различным загрязнением. Теплопродукция изменяется путем изменения интенсивности метаболизма, за счет изменения потребления кислорода. Известно, что в летнее время люди едят менее калорийную пищу и потребляют меньше кислорода по сравнению с холодным зимним периодом. Такая физиологическая адаптация к радиационному облучению формируется у животных в течение нескольких суток и позволяет легко адаптироваться к радиационному загрязнению среды. Высокое радиоактивное загрязнение среды после аварии в Чернобыле вынудило животных мигрировать в менее загрязненные районы из-за того, что им было слишком жарко. Поэтому на территории сильного радиационного загрязнения осенью 1986 года мы не смогли отловить ни одной полевки. Весной следующего года животные появились, адаптировались к радиационному загрязнению, и численность животных на участке наибольшего загрязнения была больше чем на контрольных участках на протяжении 5 лет наблюдения.

Литература

1. Пегель В.А., Докшина Г.А. Влияние радона на температуру внутренних органов животных // *Медицинская радиология*. – 1961. – Т. 6, № 11. – С. 54-58
2. Ильенко А.И., Крапивко Т.П. Экология животных в радиационном биогеоценозе. М. Наука, 1989. – С. 124-131.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

LIVING ORGANISM ADAPTATION TO RADIATION

Testov B.V., Baranova L.N.

Perm State Research University, Perm, Russia
e-mail: testov@psu.ru

It is a well-known fact that there are local areas on our planet with a higher level of radiation. Plants and animals living in those areas do not differ in number of specimens and species composition from those living in neighboring areas with a normal level of radiation. It was quite difficult to explain in terms of a classical conception of a strong mutagenic effect of ionizing rays (radiation). Scientists have long believed that the cause of genetic disorders is the generation of ions or free radicals in irradiated cells. However, simple computations show that even with a lethal dose of radiation only one atom out of 10 million gets really damaged. Such a rate of damage cannot significantly affect the condition of a living organism.

We consider the mechanism of radiation effect on cells to be quite different. This mechanism is based on the fact that all biochemical reactions in cells release heat. This heat is released due to hydrolysis of ATP molecules, which is necessary for biochemical reactions to proceed. This can be very clearly seen when a white person is getting tanned under the spring sun. Long exposure of his or her white skin to the sun in spring leads to painful sunburn. In this case, the skin temperature increases due to ultraviolet radiation of the Sun but *not* its heat radiation. A skin of a tanned person endures much higher Sun heat exposure without any detriment to the person's health. Consequently, dying of skin cells under intensive sunbathing is caused by skin cells heating due to hydrolysis of a large number of ATP molecules. The skin of a tanned person does not get burnt under the sun. Thus, the cause of cell death after irradiation may be an intense flow of ultraviolet radiation. But how it can occur in the human body?

Ultraviolet radiation occurs due to the interaction of X-rays and gamma rays with atoms of the body. When radiation passes through the matter, a photon spends a part of its energy to excite electrons. Losing this energy it turns into a photon with a longer wavelength. This is the way the scattered X-ray radiation is converted into photons of ultraviolet and gamma-ray photons are converted first into X-rays, and then into ultraviolet. Photons of ultraviolet rays with a wavelength of 200 nm have the energy approximately equal to 6 eV. The photons of gamma radiation penetrating into the living organism have the energy of 6 to 600 keV. Consequently, in the organism they can generate an ultraviolet photon flux which is ten and hundreds of thousands times greater than the flux of gamma rays. These ultraviolet photons generated in the body can significantly raise the temperature of the cells. The same thing happens under the internal radionuclide irradiation received by the organism. Alpha- and beta-particles emitted by those radionuclides excite electrons of the atoms, which are capable of emitting ultraviolet radiation. Scientists of the Tomsk State University exposing laboratory dogs to radon observed the temperature increase of the dogs' internal organs (liver, kidney, spleen) by 3-5 °C [1]. Using wild rodents A.I. Ilyenko showed that the animals living in contaminated areas have an elevated rectal temperature and decreased oxygen consumption [2]. Our experimental investigations of laboratory rats in an area with high radioactive contamination showed the increase of their rectal temperature within the first 2 days after the beginning of the experiment. Then their temperature returned to normal. Apparently, the temperature became normal due to the metabolic rate decrease.

After the experiment was over, we moved the rats to the area with a lower level of radiation to observe a temporary decrease in their rectal temperature. Such fluctuations in rectal temperature can be explained by the increase and decrease of heat production under the effect of ionizing radiation in the area with a variable contamination. The heat release rate can be altered by the metabolism rate varying due to changes of oxygen consumption. It is a well-known fact that in summer people prefer food which is not so rich in calories and consume less oxygen than in the cold period of the year. Animals physiologically adapt to radiation exposure within a few days, this feature makes them easily adapt to the radioactive contamination of their environment. High levels of environmental contamination after the well-known accident in Chernobyl made animals migrate to less contaminated areas, because they felt too hot. That is why we did not manage to catch any voles in the most contaminated area of the site in autumn of 1986. Next spring the animals appeared to adapt to radiation contamination, and the number of specimens in the most contaminated area was bigger than that in control areas during 5 years of observation.

References

1. Пегель В.А., Докшина Г.А. Влияние радона на температуру внутренних органов животных // *Медицинская радиология*. – 1961. – Т. 6, № 11. – С. 54-58.
2. Ильенко А.И., Крапивко Т.П. Экология животных в радиационном биогеоценозе. М. Наука, 1989. –С. 124-131.

ОЦІНКА ПРИСТОСОВАНОСТІ ЛЮДСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ В УКРАЇНІ ДО УМОВ ІСНУВАННЯ

*Тимченко О.І., Линчак О.В., Омельченко Е.М., Брезицька Н.В.,
Поканевич Т.М., Процюк О.В.*

ДУ «Інститут гігієни та медичної екології О.М. Марзєєва НАМН України», Київ, Україна
e-mail: lynchak@yandex.ru

Деградація довкілля, яка спостерігається в багатьох регіонах України [Національний План дій з гігієни довкілля, 2000], демографічні кризи ХХ століття, поставили населення в суттєво інші у порівнянні з попередніми поколіннями умови проживання, які цілком здатні відбитися на базових біологічних характеристиках людських популяцій – стані їх генофонду, можливостях адаптації тощо. Вважають, що генетична адаптація забезпечується внутрішньовидовою мінливістю геномів. З часом відбувається накопичення в популяції осіб з генетично обумовленими відхиленнями від норми. При викривленні генетичної інформації у незначній частині особин з популяції ця частина сприймається як зовнішня подраза і нормальні члени природних видів зберігають здатність компенсувати збурення, якщо воно не перевищує певну порогову величину. Якщо поріг перевищується, угруповання втрачає здатність до відтворення. Припускають, що більшість популяцій вже досягли максимуму адаптації на попередніх етапах своєї еволюції, вони знаходяться в стані певної генетичної рівноваги і пристосовані до умов існування, але при різкій зміні оточуючих умов здатні переходити з одного стаціонарного стану до іншого. Відомо також, що в популяції закріплюються будь-які генотипи, власники яких мають найбільшу кількість нащадків, які виживуть до репродуктивного віку в існуючих умовах. Концепція пристосованості в широкому сенсі нині розглядає генотип як цілісну систему, містить в собі епігенетичні ефекти та розглядає пристосованість не як константу, а як ймовірнісну величину [Fisher R., 1930, Животовский Л.А., 1984; В.В. Горшков та ін., 1998, 1999; Ю.П.Алтухов, 2003; В.С. Артамонова, А.А.Махров , 2006, Глотов Н.В., Животовский Л.А., 2011].

Оцінювали сучасний рівень пристосованості населення України (в цілому та на окремих територіях) за наслідками шлюбних міграцій, величиною природного добору, масо-ростовими показниками новонароджених і частотою вроджених вад серед них, чисельністю населення та його репродуктивним потенціалом.

Виявлено, що порушення оптимуму гетерозиготності популяцій внаслідок шлюбних міграцій проявляється у підвищенні рівнів мультифакторної захворюваності, спонтанних викиднів і безплідності. Продемонстровано вплив природного добору (за показниками частоти і ризику виникнення самовільних викиднів, мертвородження, абортів за медичними показаннями, ранньої неонатальної смерті та рівнем непліддя при відтворенні населення в міській та сільській місцевості), який виявився суттєво зменшеним у порівнянні з оцінкою, даною L. Penrose у 50-х роках минулого століття для європейського населення. Визначена частота вродженої патології серед народжених живими, мертвими та серед абортів за медичними показаннями. Відмічено підвищення ризику народження дітей з вродженими вадами розвитку на фоні зниження ризику репродуктивних втрат та, навпаки, – зниження ризику народження дітей з вродженими вадами розвитку при підвищенні ризику репродуктивних втрат. Показано зміни антропометричних ознак покоління, народженого у ХХІ столітті, в порівнянні з попереднім (за зменшенням маси тіла та зниженням масо-ростових показників при народженні), що може означати зростання частоти мутаційних і рекомбінаційних подій, які порушують нормальний розвиток. Зміни більшою мірою стосувалися хлопчиків, ніж дівчаток. Виявлено підвищення ризику народження дітей з низькою масою тіла в містах порівняно з селами. За даними Держкомстату з 1992 р. (52,056 млн) по 2010 р. (45, 778 млн) Україна втратила більше 12 % населення. На всіх територіях України, в т.ч. в місті та селі, виділена частка осіб репродуктивно сприятливого віку, яка скорочується. Зменшилась і частка дітей 0–14 років, які є поповненням когорти осіб репродуктивно сприятливого віку.

Висновок. Нині населення України дезадаптовано до умов існування. Але, враховуючи тезу, що пристосованість є величиною завжди відносною, можна сподіватися на те, що при покращенні якості умов оточення можна очікувати і на позитивні зміни в потенціалі адаптації населення.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EVALUATION OF HUMAN POPULATIONS ADAPTABILITY TO LIFE CONDITIONS IN UKRAINE

*Tymchenko O.I., Lynchak O.V., Omelchenko E.M., Brezytska N.V.,
Pokanevych T.M., Procuk O.V.*

State Institution "Institute of Hygiene and Medical Ecology O.M. Marzeev of NAMS", Kyiv, Ukraine
e-mail: lynchak@yandex.ru

Environmental degradation in lots of Ukrainian Regions (The National Environmental Hygiene Strategy Plan, 2000) and demographical XX century crises have severely changed life conditions. Such changes may influence the basic biological characteristics of human populations, such as gene pool, adaptability, etc. It is known, that genetic adaptation is carried out by interspecific genome mutability. As a result people with genetic-caused deviations accumulate in the population and correspond the external irritator. If people with genetic-caused deviations are not more than certain threshold, normal individuals are able to compensate the disturbance. If threshold is exceeded, reproduction in the group is not possible. It is supposed that most populations have already achieved the adaptation peak, their genetic material is balanced and they are adapted to life conditions. At the same time if life conditions suddenly are changed populations may move from one fixed condition to another. It also known that different gene pools can be fixed in the population on conditions that their owners have maximal number of reproductive aged descendants. Nowadays gene pool is considered as integral system with epigenetic effects and adaptability is discussed not as constant but as probability unit [Fisher R., 1930, Zhivotovskiy L.A., 1984; V.V.Gorshkov, etc., 1998, 1999; Y.P.Altuchov, 2003; V.S.Artamonova, A.A.Mahrov, 2006, Glotov N.V., Zhivotovskiy L.A., 2011].

Modern Ukrainian population adaptability level was estimated by analyzing of marriage migration consequences, natural selection value, the newborns weight and height, the newborns congenital anomalies frequency, the population number and reproductive potential.

It was found out, that disorder of heterozygosis population optimum because of marriage migration results in growth of multy-factor morbidity level, spontaneous abortions and infertility levels. The natural selection influence was demonstrated (by analyzing the effects of spontaneous abortions frequency and risks, stillborns level, infertility level on population reproduction in towns and countries); this influence appeared much less than L. Penrose had predicted for Europeans in the middle of XX century. Congenital pathology frequency was estimated among born alive, stillborns and abortive fetuses (abortions were carried out because of medical indications). The risk of birth children with congenital malformations was increased against a background of decreasing reproductive losses risk; and on the contrary, the risk of birth children with congenital malformations was decreased against a background of increasing reproductive losses risk. There were shown the changes of anthropometrical characteristics of generation born in XXI century in comparison with previous generation (that were decrease of weight and weight-height indices among newborns); such changes may indicate increase of mutative and recombinational processes which break the normal growth. These changes mainly applied to boys than to girls. It was found out that the risk of birth children with low weight is higher in towns than in countries. According to the State Statistics Committee data Ukraine has lost more than 12 % of the population during 1992-2010 (52,056 mln and 45, 778 mln, consequently). The part of reproductive favorable aged population which is being reduced was underlined in towns and countries. The part of children 0-14 years old has already reduced (this part replaces the reproductive age cohort).

Conclusions. Nowadays the population of Ukraine is maladapted to life conditions. But it is known that adaptability is relative characteristic, so we hope that life conditions improving will influence the population adaptive potential positively.

АДАПТАЦИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ К ХРОНИЧЕСКОМУ ИОНИЗИРУЮЩЕМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

Тугай Т.И., Тугай А.В., Лиждвой М.В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев, Украина
e-mail: tatyana.tugay2@gmail.com

Ранее нами было установлено, что адаптация микроскопических грибов к действию высоких доз ионизирующего излучения в равной мере проявляется у многих видов микроскопических грибов, как темно- так и светлопигментированных и проявлялась [1]. Устойчивость к облучению в высоких дозах и радиоадаптивные свойства выявлены у штаммов, которые долгое время находились под влиянием облучения в низких дозах в зоне отчуждения ЧАЭС, то есть у них сформировалась адаптивный ответ к облучению. Формирование радиоадаптивного ответа может быть связано с разными механизмами как генетической так и фенотипической (эпигенетической) природы, в частности, благодаря особенностям функционирования их антиоксидантной системы. Одним из компонентов неферментативной антиоксидантной системы у грибов являются меланины. Данные о возможной роли меланиновых пигментов в формировании адаптационного потенциала микроскопических грибов в условиях хронического облучения в литературе практически отсутствуют, а такие данные будут иметь несомненное значение для оценки отдалённых последствий действия хронического облучения как на отдельные виды грибов, так и, до определенной меры, на микобиоту в целом.

Нами было исследовано влияние облучения низкой интенсивности в модельной системе на синтез меланиновых пигментов у четырёх видов микроскопических грибов из коллекции культур Института микробиологии и вирусологии. Эти грибы часто встречались при мониторинге микобиоты зоны отчуждения и проявляли выраженные радиоадаптивные свойства. Исследования проводили в сравнении с контрольными штаммами этих видов, выделенными с территорий с фоновым уровнем радиоактивности.

Для проведения исследований была создана модельная установка, в которой источником ионизирующего излучения была почва 5 – км зоны отчуждения. Такой подход позволил смоделировать условия хронического облучения, которое получали микромицеты в течение длительного времени нахождения в зоне отчуждения. Меланиновые пигменты выделяли методом щелочного гидролиза и идентифицировали по известному комплексу физико-химических свойств (2).

Влияние ионизирующего излучения на синтез меланиновых пигментов микроскопических грибов

Штамы	Наличие радиоадаптивных свойств	Пигмент (% по отношению к массе сухой биомассы) у штаммов	
		облученных	необлученных
<i>Cladosporium cladosporioides</i> 396	отсутствуют	5,9 ± 0,27	7,8 ± 0,35
<i>Cladosporium cladosporioides</i> 4	присутствуют	5,1 ± 0,23	6,8 ± 0,29
<i>Hormoconis resinae</i> 801	отсутствуют	3,1 ± 0,14	3,7 ± 0,17
<i>Hormoconis. resinae</i> 61	присутствуют	5,1 ± 0,23	8,7 ± 0,38
<i>Aspergillus versicolor</i> 432	отсутствуют	9,8 ± 0,46	14,7 ± 0,66
<i>Aspergillus versicolor</i> 55	присутствуют	8,3 ± 0,37	8,5 ± 0,38
<i>Paecilomyces lilacinus</i> 101	отсутствуют	4,5 ± 0,46	5,9 ± 0,66
<i>Paecilomyces lilacinus</i> 1941	присутствуют	7,1 ± 0,36	6,9 ± 0,35

У *H. resinae* ионизирующее облучение служило индуктором синтеза меланина. У штамма, проявляющего радиоадаптивные свойства она была значительно выше, чем у контрольного. У *C. cladosporioides* при действии облучения наблюдали одинаковый уровень активации синтеза меланина у штамма с радиоадаптивными свойствами и контрольного. У штаммов светлопигментированных видов *A. versicolor* та *P. lilacinus* под влиянием ионизирующего облучения, в отличие от темнопигментированных, обнаружена активация синтеза меланиновых пигментов только у контрольных штаммов, не проявляющих радиоадаптивных свойств, что, возможно, является одним из механизмов их защитной реакции по отношению к действию облучения.

Таким образом, выявлены отличия в характере влияния ионизирующего излучения на синтез меланиновых пигментов у штаммов темно- и светлопигментированных видов, проявляющих радиоадаптивные свойства. Это может свидетельствовать о разных механизмах, которые сформировались у них под действием хронического облучения и задействованы в реализации их адаптации. При этом показано, что у всех исследованных контрольных штаммов облучение служит индуктором синтеза меланинов.

Выявленные изменения метаболических процессов при действии ионизирующего излучения, в частности, синтеза меланиновых пигментов у штаммов с радиоадаптивными свойствами, могут свидетельствовать о формировании у них эпигенетической адаптации к этому хроническому техногенному фактору.

Література

1. Tugay T., Zhdanova N., Zheltonozhsky V., Sadovnikov L., Dighton J. The influence of ionizing radiation on spore germination and emergent hyphal growth response reactions of microfungi // Mycologia. – 2006. – 98, N4. – P. 521 – 527.
2. San-Blas G., Guanipa O., Moreno B., Pekerar S., San-Blas F. *Cladosporium carrionii* and *Hormoconis resinae* (C.resinae): cell wall and melanin studies // Curr. Microbiol. – 1996. – 32. – N 1. – P. 11 – 16.

ADAPTATION OF MICRO FUNGI TO CHRONIC IONIZING RADIATION

Tugay T.I., Tugay A.V., Lizhdvoy M.V.

Zabolotny Institute of Microbiology and virology National Academy of Science of Ukraine, Kiev, Ukraine
e-mail: tatyanaugay2@gmail.com

In previous researches it was shown by us, that adaptation of micro fungi to the action of high doses of ionizing radiation equally took place at many types of micro fungi, both dark pigmented and light pigmented [1]. Radiotolerance at high doses and radioadaptive properties were formed at strains, which long time were under exposure of irradiation in low doses in zone alienations of CHAES that for them formed adaptive response to ionizing irradiation. Forming of radioadaptive response may be related to the different mechanisms both genetic and phenotypic (epigenetic) nature, particularly, according to peculiarities of their antioxidant system. One of components of the non enzyme antioxidant system of fungi is melanin. Researches of the role of melanin pigments in forming of adaptation potential of micro fungi in the conditions of chronic irradiation are few in literature. Although such information will be have of fundamental importance for the estimation of delayed radiation effect of chronic irradiation both on the separate species of micro fungi and, to the to some degree, on microbiota in general.

Influence of irradiation of low intensity was investigational by us in model system on the synthesis of melanin pigments at four species of micro fungi which were taken from the cultures collection of Zabolotny Institute. These fungi were frequency at monitoring of micobiota in the area of alienation and showed the expressed radio adaptive properties. Investigations were carry out by comparison to control strains of these species which were isolated from area with background level of radioactivity. For these researches the model construction in which the source of ionizing irradiation was soil of 5 – km area of alienation was created. Such method approach allowed to create the artificial model of chronic irradiation which was got by micro fungi in the long-time be in the area of alienation. Melanin pigments was extracted by method of alkaline hydrolysis, and identified with the use of known complex of physical and chemical properties (2).

Influence of ionizing radiation on synthesis of melanin pigments of micro fungi

Strains	Presents of radioadaptive properties	Pigment (% to mass of dry biomass) strain's	
		Irradiated	Non Irradiated
<i>Cladosporium cladosporioides</i> 396	present	5,9 ± 0,27	7,8 ± 0,35
<i>Cladosporium cladosporioides</i> 4	absent	5,1 ± 0,23	6,8 ± 0,29
<i>Hormoconis resinae</i> 801	present	3,1 ± 0,14	3,7 ± 0,17
<i>Hormoconis. resinae</i> 61	absent	5,1 ± 0,23	8,7 ± 0,38
<i>Aspergillus versicolor</i> 432	present	9,8 ± 0,46	14,7 ± 0,66
<i>Aspergillus versicolor</i> 55	absent	8,3 ± 0,37	8,5 ± 0,38
<i>Paecilomyces lilacinus</i> 101	present	4,5 ± 0,46	5,9 ± 0,66
<i>Paecilomyces lilacinus</i> 1941	absent	7,1 ± 0,36	6,9 ± 0,35

At *H. resinae* an ionizing irradiation served as the inductor of synthesis of melanin. At strain, which showed radioadaptive properties it level was considerably higher, than at control strain. At *C. cladosporioides* under exposure of irradiation was established the same level activation of melanin synthesis at strain with radioadaptive properties and control. At strains light pigmented species *A. versicolor* and *P. lilacinus* under exposure of ionizing irradiation, in a difference from dark pigmented found out activating of synthesis of melanin pigments only at control strains, which did not have radioadaptive properties. Possibly, that is their protective reaction in relation to irradiation.

Thus, the differences in character of influence ionizing radiation on synthesis melanin pigments at strains dark and light pigmented species showing radioadaptive properties are revealed. It can testify to different mechanisms, which were generated at them under action of a chronic irradiation and are involved in realization of their adaptation. Thus is shown, that at all investigated control strains the irradiation serves inductor of melanin synthesis. The revealed changes metabolic processes under exposure of radiation, in particular, synthesis of melanin pigments at strains with radioadaptive properties, can testify to formation at them epigenetic adaptation to this chronic anthropogenic factor.

References

1. Tugay T., Zhdanova N., Zheltonozhsky V., Sadovnikov L., Dighton J. The influence of ionizing radiation on spore germination and emergent hyphal growth response reactions of microfungi // Mycologia. - 2006. - 98, N4. - P. 521 - 527.
2. San-Blas G., Guanipa O., Moreno B., Pekerar S., San-Blas F. *Cladosporium carrionii* and *Hormoconis resinae* (C.resinae): cell wall and melanin studies // Curr. Microbiol. - 1996. - 32. - N 1. - P. 11 - 16.

ЕВОЛЮЦІЙНА КОНСЕРВАТИВНІСТЬ ВІРУСІВ РОСЛИН У АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Шевченко О.В., Іутинська О.А., Бисов А.С., Петренко С.М.,
Будзанівська І.Г., Поліщук В.П.

Кафедра вірусології, ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
e-mail: alexshevchenko@ukr.net

Питання хронічної взаємодії абіотичних факторів довкілля з вищими багатоклітинними організмами та мікроорганізмами, включаючи віруси, є малодослідженим. З прикладів вірусів, бактерій та рослин відомо, що інтенсивна нетривала дія радіоактивного випромінювання, УФ-випромінювання, різних хімічних агентів, температури може спричинювати генетичні зміни названих організмів. Однак, питання хронічної тривалої дії абіотичних факторів довкілля на віруси та рослини є практично недослідженим. Між тим, в еволюційному плані саме хронічний вплив абіотичних факторів має найбільше значення, оскільки є потужним фактором мінливості організмів [Dmitriev et al., 2009].

Раніше авторами була продемонстрована позитивна залежність між вмістом важких металів у ґрунті та концентрацією вірусу у рослинах, які зростають у даному ґрунті [Shevchenko et al., 2006]. Була висунута гіпотеза, згідно якої хронічний вплив абіотичних стресових чинників довкілля, який призводить до інтенсифікації розвитку вірусних хвороб рослин на рівні окремої рослини, також може бути здатний індукувати генетичні зміни РНК-вмісних вірусів рослин з наступними змінами їх біологічних властивостей, що в свою чергу буде відображено на популяційному рівні у вигляді більш значного поширення вірусних інфекцій в екосистемах.

Інокуляцію рослин тютюну (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) у віці чотирьох справжніх листків вірусом тютюнової мозаїки проводили механічно [Hill, 1984]. Для інокуляції дослідних рослин наступних поколінь використовувалася гомогенат, отриманий з попереднього покоління рослин відповідної групи. Дана процедура повторювалася після вирощування кожного покоління дослідних рослин перед інокуляцією наступного. У рамках експерименту було таким чином проведено 3 пасажі вірусу (використано 4 покоління рослин тютюну), а загальна тривалість пасажування становила 16 місяців.

Надалі проводився аналіз молекулярних еволюційних змін генотипу вірусів та підтримання стабільності їх генетичної інформації для вивчення проблеми еволюційної адаптації організмів до змінених умов довкілля та питання коеволюції паразиту та господаря на прикладі системи "вірус-рослина" під впливом антропогенних стресових факторів. З рослин кожної експериментальної групи були отримані препарати тотальної РНК, після чого за допомогою специфічних праймерів була ампліфікована кДНК, яка відповідала частині гену капсидного білку ВТМ. Отримані препарати кДНК були секвензовані та аналізовані з використанням біоінформаційних програмних пакетів для вивчення їх взаємної гомології та виявлення вірогідних відмінностей у нуклеотидах гену капсидного білку ВТМ, індукованих хронічним впливом важких металів на рослини-хазяї.

Результати досліджень показали практично повну (99.9%) ідентичність кДНК частини гену капсидного білку ВТМ, який тривалий пасажувався за стресового впливу важких металів. Виходячи з отриманих результатів, важкі метали (принаймні у випробуваних концентраціях у ґрунті та за визначений проміжок часу) не спричиняють генетичних змін вірусів рослин та не становлять небезпеки у контексті раптової появи нових (вірогідно, більш небезпечних) штамів вірусів рослин.

Отже, продемонстровано відсутність достовірних змін у нуклеотидній послідовності частини гену капсидного білку ВТМ під тривалим хронічним впливом важких металів і не підтверджено мутагенну дію важких металів відносно ВТМ. На прикладі ВТМ показано високу стабільність генотипу РНК-вмісних вірусів за хронічної дії абіотичних стресових факторів довкілля та їх еволюційну консервативність.

Подяки: Фінансова підтримка виконання даної роботи була забезпечена грантом Президента України № GP/F32/081 на ім'я Шевченка О.В.

Література

1. Dmitriev A., Shevchenko O., Polischuk V., and Guscha N. (2009) Effects of low dose chronic radiation and heavy metals on plants and their fungal and virus infection. *Data Science Journal*. 8(24): 49–57.
2. Shevchenko O., Kamzel O., Budzanivska I., Shevchenko T., Spaar D. and Polischuk V. (2006) Heavy metal soil contamination delays the appearance of virus-induced symptoms on potato but favours virus accumulation. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 40(6): 406–413.
3. Hill S.A. *Methods in plant virology*. –Oxford: Alden Press, 1984. – 167 p.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EVOLUTIONARY CONSERVATISM OF PLANT VIRUSES IN ANTHROPOGENICALLY TRANSFORMED ENVIRONMENT

**Shevchenko O.V., Iutinska O.A., Bysov A.S., Petrenko S.M.,
Budzanivska I.G., Polischuk V.P.**

Virology Dpt., ESC "Institute of Biology", Taras Shevchenko' Kyiv National University, Kyiv, Ukraine
e-mail: alexshevchenko@ukr.net

Chronic interplay among abiotic environmental factors and higher multicellular organisms and microorganisms including viruses is insufficiently explored. Following the examples of viruses, bacteria and plants it is known that intense short-lived effects of radioactive irradiation, UV irradiation, various chemical substances, temperature, etc. may induce genetic changes of mentioned organisms. However, the outcomes of prolonged chronic influence of abiotic environmental factors on plants and viruses are virtually unknown. In the meantime, the chronic type of interactions is much more important as it poses the powerful way of organisms' variability [Dmitriev et al., 2009].

Earlier the authors have demonstrated the positive correlation between the content of heavy metals in soil and virus concentration in systemically infected plants grown in such soil [Shevchenko et al., 2006]. According to the proposed hypothesis, chronic effect of abiotic environmental stress factors leading to intensification of plant virus infection development may also contribute to genetic changes of RNA viruses of plants invoking further alterations of their biologic characteristics. This, in turn, may be reflected at the populational level in the form of more wide spread of virus infections in the ecosystems.

Tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) plants inoculation was done mechanically at the stage of four true leaves [Hill, 1984]. Following generations of experimental plants were inoculated using homogenate obtained from previous generations of plants of the respective group. Such procedure was repeated every time when inoculating plants. In such a way we have passed the virus three time (four generations of plants were used in total), and the duration of the experiment has totaled to 16 months.

Further, we have analyzed possible molecular and evolutionary changes in virus genotype and the preservation of its genetic information to study the adaptation of the organisms to changing environmental conditions, as well as co-evolution of the parasite and its host using the 'plant-virus' model system under effect of anthropogenic stress factors. Each group of plants was used for total RNA extraction, samples of which were further used for the amplification of cDNA (using specific primers) corresponding to a part of coat protein gene of *Tobacco mosaic virus*. Obtained cDNA preps have been sequenced and analyzed with bioinformatics packages to see their mutual homology and reveal tentative differences in the sequence of CP gene of TMV induced by chronic influence of the heavy metals exerted on tobacco plants.

The outcomes showed virtually complete (99.9%) identity of the cDNA corresponding to the part of CP gene of TMV, which has been long-term exposed to the stress effect of heavy metals, with the cDNA of 'control' (i.e., not subjected to stress influence) TMV. Insofar, heavy metals (at least, in experimental concentrations and during the experimental period of time) do not induce genetic changes of plant viruses and do not pose an additional risk in the context of appearance of novel (more virulent) plant virus strains.

Here we demonstrated the absence of statistically significant changes in the nucleotide sequence of CP gene of TMV under long-term chronic influence of heavy metals. We were unable to confirm the mutagenic effect of heavy metals in relation to systemic TMV infection. On TMV example it's shown that RNA viruses possess highly stable genotype characterized with evolutionary conservatism.

Acknowledgements: O. Shevchenko has been supported by the Grant of the President of Ukraine (No.GP/F32/081).

References

1. Dmitriev A., Shevchenko O., Polischuk V., and Guscha N. (2009) Effects of low dose chronic radiation and heavy metals on plants and their fungal and virus infection. *Data Science Journal*. 8(24): 49–57.
2. Shevchenko O., Kamzel O., Budzanivska I., Shevchenko T., Spaar D. and Polischuk V. (2006) Heavy metal soil contamination delays the appearance of virus-induced symptoms on potato but favours virus accumulation. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 40(6): 406–413.
3. Hill S.A. Methods in plant virology. –Oxford: Alden Press, 1984. – 167 p.

МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЗАВОДСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ КЕТЫ (*ONCORHYNCHUS KETA* WALBAUM) САХАЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Шитова М.В., Рубцова Г.А., Малинина Т.В., Афанасьев К.И., Животовский Л.А.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия
e-mail: shitova-m@rambler.ru

В работе была исследована изменчивость 10 микросателлитных локусов (*Ssa20.19*, *Ssa197*, *One103*, *One109*, *Oki1-1*, *Oki1-2*, *Oke3*, *Oke11*, *Ogo2*, *Ots3*) в двадцати четырех популяциях кеты. Сахалинские популяции представлены рыбой с 6-и лососевых рыбозаводных заводов (ЛРЗ) (Адо-Тымовский, Калининский, Сокольниковский, Таранайский, Охотский, Соколовский) и из устья р. Найбы (в бассейне реки располагаются два завода Соколовский и Березняковский). Курильские популяции представлены кетой двух ЛРЗ (Курильский и Рейдовый).

Выборки кеты Юго-Западного Сахалина характеризуются наименьшим средним числом аллелей на локус (4,6) и наименьшей средней гетерозиготностью (0,55). Обнаруженное нами низкое разнообразие этой группы популяций подтверждает мнение ряда исследователей о действии «эффекта основателя» в период формирования базового стада – Калининского ЛРЗ, но не исключает и естественного генетического своеобразие кеты юго-западного Сахалина. Выборки остальных популяций сходны по этим показателям.

Расположение исследованных выборок в пространстве главных компонент отражает характер их дифференциации (рис.1). В наибольшей степени обособлены Курильские популяции, популяции Северного и Юго-Западного Сахалина. Большой кластер представляет Южный и Юго-Восточный район Сахалина. Дифференциация популяций, посчитанная с помощью показателя θ_{st} , при совместном анализе составила 5,09%.

Исследование десяти микросателлитных локусов в двадцати четырех выборках кеты ЛРЗ Сахалина показало высокий уровень её изменчивости по исследованным локусам. Наименьшим разнообразием характеризуются популяции юго-западного Сахалина. Искусственно воспроизводимые популяции сахалинских рек имеют хорошо выраженную дифференциацию, согласующуюся с географическим расположением заводов. Кета выделенных районов (северный, восточный, южный и юго-восточный, юго-западный Сахалин) обособлена от кеты соседствующих районов и достоверно отличаются друг от друга по частотам аллелей исследованных локусов. Такая картина указывает на генетическое своеобразие каждой группы популяций и относительную репродуктивную изоляцию этих групп друг от друга. Интересно отметить, что в отличие от значимой дифференциации между районами Сахалина, различия между популяциями кеты в пределах выделенных районов незначительны, что может быть связано с большей интенсивностью перевозок между ЛРЗ внутри районов по сравнению с перевозками между районами, а также возможно большим стрейнгом между географически близкими нерестовыми группировками кеты.

Таким образом по результатам проведенного анализа можно сделать заключение о том, что внутрирайонные перевозки (в пределах выделенных комплексов) довольно эффективны, и в пределах южного и юго-восточного Сахалина, по-видимому, именно за счет перевозок наблюдается слабая гетерогенность выборок с различных ЛРЗ. Что касается межрайонных перевозок (между выделенными комплексами), то здесь картина неоднозначна. Если учесть все данные о межрайонных перевозках за период существования заводов, можно сделать заключение, что все производимые межрайонные перевозки не привели к исчезновению обособленных популяционных комплексов.

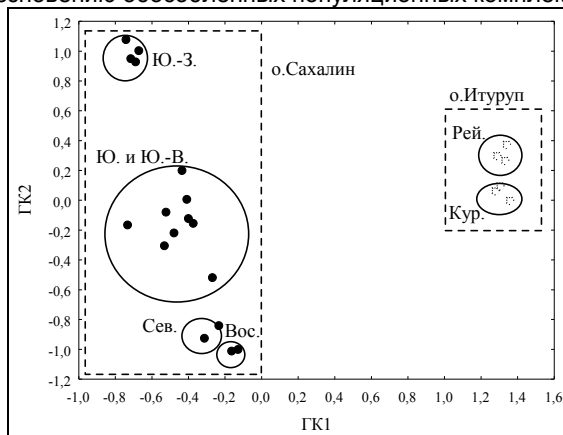


Рис.1. Расположение выборок в пространстве главных координат (**Ю.-З.** – юго-западная подгруппа выборок, **Ю. и Ю.-В.** – южная и юго-восточная подгруппа выборок, **Сев.** – северная подгруппа выборок, **Вос.** – восточная подгруппа выборок, **Рей.** – выборки с Рейдового ЛРЗ, **Кур.** – выборки с Курильского ЛРЗ).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации №16.120.11.5285-МК и гранта программы Президиума РАН «Живая природа».

MICROSATELLITE VARIATION OF HATCHERY POPULATIONS OF CHUM SALMON (*ONCORHYNCHUS KETA* WALBAUM) IN SAKHALIN REGION

Shitova M.V., Rubtsova G.A., Malinina T.V., Afanasyev K.I., Zhivotovsky L.A.

Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: shitova-m@rambler.ru

We investigated variability at 10 microsatellite loci (*Ssa20.19*, *Ssa197*, *One103*, *One109*, *Oki1-1*, *Oki1-2*, *Oke3*, *Oke11*, *Ogo2*, *Ots3*) in twenty four populations of chum salmon. Sakhalin populations are presented from six salmon hatcheries (Ado-Tymovsky, Kalinino, Sokolnikovskiy, Taranayskiy, Okhotskiy, Sokolovskiy). Kuril Islands chum populations are from two salmon hatcheries (Kurilskiy and Reidoviy).

The samples of chum salmon from southwestern Sakhalin are characterized by the lowest average number of alleles *per locus* (4.6) and the lowest average heterozygosity (0.55). The low diversity in this group of populations confirms the earlier hypothesis of a founder effect during the formation of the stock - Kalinino hatchery, but did not rule out the natural genetic peculiarity of chum from southwestern Sakhalin. The remaining populations are similar in the diversity indexes.

Location of the investigated samples in the space of principal components reflects the nature of their differentiation (Fig. 1). The Kuril population, population of northern and southwestern Sakhalin are most isolated populations. Differentiation of populations (θ_{ST}) for joint analysis of all populations was 5.09%.

The study of ten microsatellite loci in the twenty four samples of Sakhalin chum salmon showed a high level of variability of the investigated loci. The lowest diversity was observed in populations of the southwestern Sakhalin. Artificially reproduced Sakhalin populations of chum salmon have well defined differentiation consistent with the geographic location of the hatcheries. Chum salmon designated areas (northern, eastern, southern and southeastern, and southwestern Sakhalin) was significantly different from each other in allele frequencies. This indicates the genetic peculiarity of each group and reproductive isolation of group from each other. It is interesting to note that unlike the significant differentiation between regions of Sakhalin, the differences between the populations of chum salmon within the designated areas are small, which may be associated with a greater intensity of transplantations between hatcheries within areas as compared to transplantations between areas, as well as with possibly greater straying between geographically close groups of chum salmon.

Thus we can conclude that the intra-regional transplantations (within the selected complexes) are quite effective. Within the southern and southeastern Sakhalin, apparently, weak heterogeneity is due to transplantations between different hatcheries. As concerns inter-regional transplantations (between the selected complexes), the picture is more indefinite. It can be concluded that inter-regional transplantations have not led to disappearance of isolation between the population complexes.

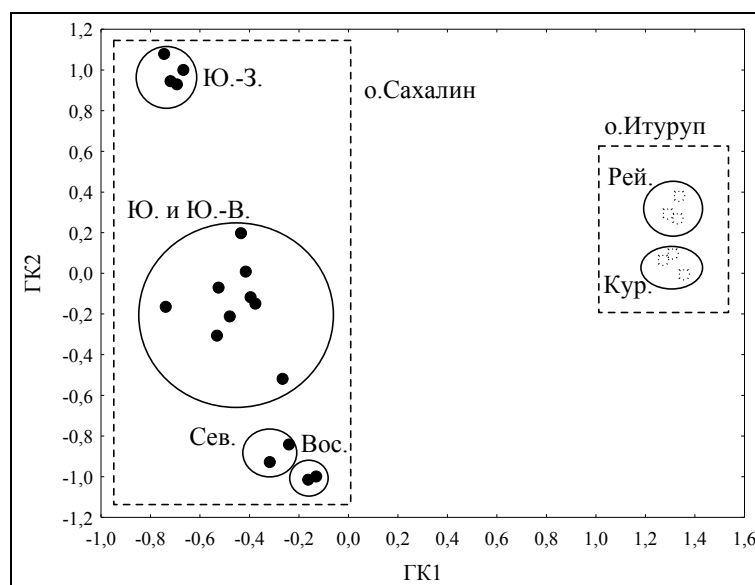


Fig. 1. Location of samples in the space of principal coordinates (**Ю.-З.** - southwestern samples, **Ю. и Ю.-В.** - southern and southeastern samples, **Сев.** - Northern subgroup of samples, **Вос.** - Eastern samples, **Рей.** - samples from Reidoviy hatchery, **Кур.** - samples from Kurilskiy hatchery).

This work was supported by the grant of the President of the Russian Federation № 16.120.11.5285-MK and grant programs of the Presidium of RAS "Wildlife".

ГРАДИЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ СУКЦЕССИЙ СТЕПНЫХ СООБЩЕСТВ ЗАУРАЛЬЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

¹Ямалов С.М., ¹Хасанова Г.Р., ¹Баянов А.В., ²Муллагулов Р.Т.

¹ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия, e-mail: geobotanika@mail.ru

²Филиал ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского» в г. Мелеуз, Мелеуз, Россия, e-mail: mullagulov1985@mail.ru

В процессе восстановительных сукцессий в посевах многолетних трав происходит интенсивное внедрение местных степных видов в эти искусственные сообщества. Восстановительным сукцессиям в посевах многолетних трав посвящена немалая литература [1,2,3]. В большинстве случаев этот процесс изучался лишь в условиях локальных экспериментов.

Цель исследования - выявить закономерности восстановительных сукцессий в травосмесях на градиенте «север-юг» в Зауралье Республики Башкортостан. В основу положены 296 полных геоботанических описаний в посевах трав с возрастом от 1 до 30 лет. Агротехника и состав культур (*Bromopsis inermis*, *Medicago sativa* и др.) во всех районах примерно сходные. При синтаксономическом анализе использовался дедуктивный метод Копечки-Гейни. Обзор синтаксонов показан в таблице.

Таблица - Обзорная таблица синтаксонов посевов многолетних трав

Порядковый номер	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Число описаний	13	11	17	24	14	12	12	14	9	16	11	8
Район	У	У	Б	Б	Б	Х	Х	Х	Х	Б	У	У
Стадии сукцессии	IV	III	IV	III	II	III	IV	II	I	I	II	I
Д.в. сообщества <i>Filipendula vulgaris</i>												
<i>Filipendula vulgaris</i>	V		I	r		+						
Д.в. базального сообщества <i>Oberna behen</i> [<i>Galietaia veri</i> / <i>Onopordetalia</i>]												
<i>Oberna behen</i>		V	I	+			I	+			III	II
Д.в. сообщества <i>Festuca valesiaca</i>												
<i>Festuca valesiaca</i>	II		V	III	III	V	III					
Д.в. базального сообщества <i>Festuca pseudovina</i> [<i>Festuco-Brometalia</i> / <i>Onopordetalia</i>]												
<i>Festuca pseudovina</i>	V	III	V	V	V	V	III	I				
Д.в. базального сообщества <i>Artemisia sericea</i> [<i>Onopordetalia</i> / <i>Festuco-Brometalia</i>]												
<i>Artemisia sericea</i>	I			I	IV		II	+				
Д.в. сообщества <i>Stipa lessingiana</i>												
<i>Stipa lessingiana</i>			I		+	III	IV					
Д.в. варианта <i>Artemisia dracunculus</i>												
<i>Artemisia dracunculus</i>			+	+	II	V		III				
Д.в. базального сообщества <i>Salsola collina</i> [<i>Chenopodietea</i> / <i>Artemisietea vulgaris</i>]												
<i>Salsola collina</i>				I	III		II	IV	V	IV		
Д.в. варианта <i>Bassia sedoides</i>												
<i>Bassia sedoides</i>				r			III	IV	III			
Д.в. варианта <i>Ceratocarpus arenarius</i>												
<i>Ceratocarpus arenarius</i>						+	II	V				
Д.в. варианта <i>Setaria viridis</i>												
<i>Setaria viridis</i>				I				II	III	V	+	
Д.в. базального сообщества <i>Galeopsis bifida</i> [<i>Chenopodietea</i> / <i>Artemisietea vulgaris</i>]												
<i>Galeopsis bifida</i>	+	III									V	V
Д.в. варианта <i>Crepis tectorum</i>												
<i>Thlaspi arvense</i>	II	III		I			+	II	II		II	V

Примечание. Д.в. – диагностические виды.

Стадии сукцессии: I – 1-3 года, II – 4-10 лет, III – 11-15 лет, IV – более 15 лет.

Районы: У – Учалинский, Б – Баймакский, Х – Хайбуллинский.

оптимума. В Хайбуллинском районе условия для развития степей менее благоприятны - поток семян видов более южных вариантов степей ограничен в силу высокой освоенности территории в пашню и пастбища. В итоге смена видами степной растительности протекает медленнее, чем в центральной части градиента.

Таким образом, выполненное исследование показало, что процесс восстановления степной растительности более интенсивно происходит в центральной части градиента (Баймакский район), где на смену ксерофитам-рудералам сразу приходят более конкурентно-способные степные виды.

Литература

1. Миркин Б.М., Хасанова Г.Р., Абрамова Л.М., Суюндуков Я.Т. Сукцессии в посевах многолетних трав: закономерности, вклад в биоразнообразие и устойчивость агроэкосистем // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2002. Т. 107. Вып. 4. С. 39-45.
2. Хасанова Г.Р., Абрамова Л.М. Возможности восстановления биоразнообразия степной растительности: посевы многолетних трав // Экология. 2000. № 6. С. 473-475.
3. Ямалов С.М., Хасанова Г.Р. Синтаксономия сообществ посевов многолетних трав // Синантропная растительность Зауралья и горно-лесной зоны Республики Башкортостан: фиторекультивационный эффект, синтаксономия, динамика. – Уфа: Гилем, 2008. С. 166-185.

Анализ выявил различия сукцессий в разных районах. В Учалинском районе условия благоприятны для рудералов - мезофитов класса *Chenopodietea*. Однолетники сохраняются в составе сукцессий и без стадии доминирования видов порядка *Artemisietalia vulgaris* и сменяются видами порядка *Galietaia veri*.

В Баймакском районе сукцессия протекает наиболее интенсивно. Наряду с засушливыми условиями на рудералов - однолетников влияет и фактор конкуренции степных видов с культурными доминантами. По этой причине на смену видам порядка *Onopordetalia acanthii* сразу приходят более конкурентные виды порядка *Festucetalia valesiaca*, для которых здесь складываются условия фитоценотического

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

GRADIENT ANALYSIS OF PROGRESSIVE SUCCESSIONS IN STEPPE COMMUNITIES OF TRANS-URALS

¹Yamalov S.M., ¹Khasanova G.R., ¹Bayanov A.V., ²Mullagulov R.T.

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education

"Bashkir State University," Ufa, Russia, e-mail: geobotanika@mail.ru

²Branch of Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management" in Meleuz, Russia, e-mail: mullagulov1985@mail.ru

In the process of progressive successions in perennial grasses planting there is an intensive introduction of local steppe species into these artificial communities. Progressive successions of perennial grasses planting have been widely described in the scientific literature [1,2,3]. In most cases, this process has been studied only in terms of local experiments.

The present research is carried out to identify patterns of progressive successions in grass mixtures on the gradient of "north-south" in the Urals, Bashkortostan. The research is based on 296 complete geo-botanical descriptions of grass plantings aging from 1 to 30 years. Agrotechnics and composition of the cultures (*Bromopsis inermis*, *Medicago sativa*, etc.) in all areas are approximately similar. In order to carry out syntaxonomic analysis there was used the deductive method of Kopechky - Hejny. Review of syntaxa is shown in the table.

Table - Overview table sowing syntaxa of perennial grasses

Number of column	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Number of relevés	13	11	17	24	14	12	12	14	9	16	11	8
Area	U	U	B	B	B	Kh	Kh	Kh	Kh	B	U	U
Successional stage	IV	III	IV	III	II	III	IV	II	I	I	II	I
D.t. community <i>Filipendula vulgaris</i>												
<i>Filipendula vulgaris</i>	V		I	r	+							
D.t. basal community <i>Oberna behen</i> [<i>Galiatelia veri</i>]												
<i>Oberna behen</i>		V	I	+			I	+			III	II
D.t. community <i>Festuca valesiaca</i>												
<i>Festuca valesiaca</i>	II		V	III	III	V	III					
D.t. basal community <i>Festuca pseudovina</i> [<i>Festuco Brometea</i> / <i>Onopordetalia</i>]												
<i>Festuca pseudovina</i>	V	III	V	V	V	V	III	I				
D.t. basal community <i>Artemisia sericea</i> [<i>Onopordetalia</i> / <i>Festuco Brometea</i>]												
<i>Artemisia sericea</i>	I			I	IV		II	+				
D.t. community <i>Festuca valesiaca</i>												
<i>Stipa lessingiana</i>			I	+	III	IV						
D.t. variant <i>Artemisia dracuncul</i>												
<i>Artemisia dracuncul</i>			+	+	II	V		III				
D.t. basal community <i>Salsola collina</i> [<i>Chenopodietea</i> / <i>Artemisietea vulgaris</i>]												
<i>Salsola collina</i>				I	III	II	IV	V	IV			
D.t. variant <i>Bassia sedoides</i>												
<i>Bassia sedoides</i>				r			III	IV	III			
D.t. variant <i>Ceratocarpus arenarius</i>												
<i>Ceratocarpus arenarius</i>						+	II	V				
D.t. variant <i>Setaria viridis</i>												
<i>Setaria viridis</i>				I			II	III	V	+		
D.t. basal community <i>Galeopsis bifida</i> [<i>Chenopodietea</i> / <i>Artemisietea vulgaris</i>]												
<i>Galeopsis bifida</i>	+	III								V	V	
D.t. variant <i>Crepis tectorum</i>												
<i>Thlaspi arvense</i>	II	III		I			+	II	II		II	V

Notice: D.t. stands for "Diagnostic taxa". Succession stages: I - 1-3 years old, II - 4-10 years old, III - 11-15 years old, IV - more than 15 years old.

Geographic areas: U - Uchalinsky, B - Baimaksky, Kh - Khaibullinsky.

The analysis made revealed differences in the succession of different areas. In Uchalinsky area the conditions are favorable for ruderal species - mesophytic *Chenopodietea* plant group. Annuals are reserved in the succession structure and omitting the stage of order *Artemisietalia vulgaris* species, annuals are replaced by order *Galiatelia veri* species.

In Baimak area the succession is more intensive. The annual ruderals are affected by dry conditions and competition between steppe species and cultivated plants. For this reason, *Onopordetalia acanthii* species are immediately replaced by more competitive plants - *Festucetalia valesiaca* species, and here for order *Festucetalia valesiaca* the conditions of phytocoenotic optimum occur. In Khaibullinsky area the conditions for the steppes development are less favourable as the seed flow of

plants characteristic for southern steppe areas is restricted by the fact that the greater part of Khaibullinsky region is used for high tillage and pasture. As a result, the process of steppe vegetation species replacing is much slower than that of the central part of the gradient.

Thus, the present research showed that the recovery of steppe vegetation occurs more intensely in the central part of the gradient (Baimak area), where xerophytes-ruderals are quickly replaced by more competitive steppe species.

References

1. B.M. Mirkin, G.R. Khasanova, L.M. Abramova, Y.T. Suyundukov Succession in perennial grasses: patterns, their contribution to biodiversity and the sustainability of agro-ecosystems // Bull. Moscow Society of Naturalists. Biol. Dep. 2002. Vol. 107. Issue 4. P. 39-45.
2. G.R. Khasanova, L.M. Abramova Restoration features of biodiversity of steppe vegetation: perennial grasses // Ecology. 2000. Issue 6. P. 473-475.
3. S.M. Yamalov, G.R. Khasanov Syntaxonomy of perennial grasses planting community // synanthropic flora and the Trans-Ural mountain-forest zone of the Republic of Bashkortostan: phyto-recultivating effect, syntaxonomy, dynamics. - Ufa: Guillem, 2008. P. 166-185.

UNICELLULAR AND MULTICELLULAR SHAPES OF MICROORGANISMS IN ENVIRONMENTAL AND GEOENGINEERING SYSTEMS AS PHYLOGENETIC AND ECOLOGICAL ADAPTATIONS

¹Ivanov V., ^{1,2}Jian C.

¹ School of Civil and Environmental Engineering, Nanyang Technological University, Singapore
e-mail: cvivanov@ntu.edu.sg

² Department of Civil, Construction & Environmental Engineering, Iowa State University

The shape of prokaryotic cell is an important classification feature and could be considered as a phylogenetic adaptation to environment as described below (1): 1) spherical cell (coccus) is an adaptation to homogenous environment, without gradients of nutrients; 2) elongated rod-shaped cell (bacterium) is an adaptation to heterogenous non-viscous environment with gradients of nutrients; 3) elongated shape increases efficiency of chemotaxis or phototaxis; 4) curved (vibrio) or spiral shape (spirillum) of prokaryotic cell is adaptation to viscous environment. This shape ensures spiral rotating movement of cell through viscous environment thus decreasing resistance of directional movement of cell towards the source of nutrients; 5) filamentous cell is an adaptation to heterogenous environment with the particles, where the nutrients are concentrated on the surface of these particles. So, the spread of filamentous cells onto surface of the particles is optimal way to obtain these nutrients. Examples of this environment are soil particles, dead organic matter particles, and suspended in water particles.

This explains domination of cocci (spherical cells of prokaryotes) in oligotrophic (not polluted) fresh water and seawater, domination of rod-shaped cells in eutrophic (polluted) water, vibrio-like forms (curved cells) and spirilla (spiral cells) in bottom sediments and mucous surface of tissues, as well as domination of filamentous cells on surface of the soil and suspended in water particles. All these cell shapes exist in three lines of Gram-negative, Gram-positive bacteria, and Archaea as parallel sublines. Therefore, additional theoretical selection of microorganism for bioengineering process can be made on cell shape depending on viscosity and physical structure of the medium. For example, filamentous microorganisms will be most suitable for the bioremediation of soil polluted with substances adhered to the surface of soil particles. Cocci could be most active in bioremoval of soluble pollutants from wastewater. Vibrions or spirilla are most suitable for the biotreatment of sediments.

A multicellular aggregate is formed and separated from its surrounding environment due to (1-4): 1) aggregation by hydrophobic force, electrostatic interactions, or salt bridges; 2) loose polysaccharide or inorganic matrix combining the cells altogether; 3) formation of mycelia, which is a net of branched cell filaments; 4) polysaccharide matrix with a filamentous frame; 5) coverage by a common sheath of organic (polysaccharides, proteins) or inorganic origin (iron hydroxide, silica, calcium carbonate); 6) common sheath can be made also from dead cells of aggregate ("skin" of microbial aggregate). A microbial aggregate can be considered as a multicellular organism because its parts have some extent of coordination and synchronization of physiological functions. Three major types of microbial aggregates used in environmental engineering are floc (loosely suspended aggregate of irregular shape), biofilm (attached to surface microbial aggregate), and granule (dense suspended aggregate of regular shape). The selection pressures for these aggregates are as follows: (1) settling of aggregate for 20-30 min and retain or recycle of this settling aggregate in bioreactor is used for the selection of flocs; (2) intensive aeration for the mechanical compaction of aggregate by air bubbles, settling of aggregate for 2 min, and retain of this settling aggregate in bioreactor is used for the selection of granules; (3) attachment and retain of microbial aggregate at surface is used for the selection of biofilm. The interactions of microorganisms in aggregates are usually positive because of close physical proximity of cells. Physiological cooperation in aggregates is supplemented and supported by its spatial structure, i.e. formation of microhabitats for individual populations.

References

1. Ivanov V. Environmental Microbiology for Engineers. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010. Boca Raton. 402 p.
2. Ivanov V. (2010) Microbiology of environmental engineering systems. In: *Handbook of Environmental Engineering. Vol.10. Environmental Biotechnology* (L.K. Wang, V. Ivanov, J.H. Tay, Y.T. Hung, eds.), Humana Press, Inc. Totowa, NJ, USA, pp. 19 – 80.
3. Ivanov V. and Chu J. (2008) Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil *in situ*. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7: 139 -153.
4. Ivanov V. (2006) Structure of aerobically grown microbial granules. In: *Biogranulation Technologies for Wastewater Treatment* (Joo-Hwa Tay, Stephen Tiong-Lee Tay, Yu Liu, Show Kuan Yeow, Volodymyr Ivanov, eds). Elsevier, Amsterdam, pp. 115-134.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

BIOREMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH HYDROCARBONS USING BACTERIA ADAPTED TO SEMI-DESERT CONDITIONS

¹Vera-Mendoza C., ¹De la Garza-Gonzalez S.I., ¹Aguilera-Gonzalez E.N., ¹ Sanchez-Lara J. C.,
²Cano-Cabrera J.C., ²Gaona-Lozano G., ²Ilyina A.

¹Corporacion Mexicana de Investigacion en Materiales S.A. de C.V. (COMIMSA); Calle Ciencia y tecnología 790, Fracc. Saltillo-400, C.P. 25290, Saltillo, Coah., Mexico. e-mail: cvera@comimsa.com

²Coahuila Autonomous University, Chemistry Faculty, Biotechnology Department; Blvd. V. Carranza e Ing. J. Cardenas V., C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, Mexico. e-mail: anna_ilina@hotmail.com

According to reports of PEMEX (mexican company responsible for oil extraction), numerous hectares of soil in the northern Mexico are contaminated with hydrocarbons. This part of Mexico is characterized by semi-desert climate. Semi-arid climates tend to support short or scrubby vegetation, with poor soil, high temperatures and low humidity. The bioremediation under these environmental conditions is confronted with the problem of living systems alteration. Microorganisms play an important role in the removal of contaminant compounds from the environment. The effectiveness of biodegradation is determined by viability of microorganisms and their adaptation to environmental conditions. Evolution of biodegradation pathways led to development of different strategies that microorganisms have evolved to transform important molecular structures.

The goals of the present work are to evaluate the quantity of bacterial strains isolated from native mexican soils contaminated with hydrocarbon for different time, assess their potential for bioremediation under simulation of semi-desert conditions, and compare the effectiveness of developed bio-product and commercial available product for bioremediation under semi-desert condition.

To achieve these goals, the following methodology was applied. The soil samples were extracted from 3 different sites, which was contaminated with hydrocarbons for 1, 2 and 5 years. The isolation protocol was described in our previous study (1). It is based on using of selective media, which contain different type of hydrocarbon as carbon source. Different morphology of bacterial colonies and the time of their appearance were used as criteria for strains differentiation.

To simulate semi-desert condition, the soil from semi-desert, temperature at 35°C and humidity approximately at 20%, were applied. The assay was carried out using petri dishes. Soil was contaminated with petroleum by means of its atomization reaching 3% w/w concentration. After 15 days total petroleum hydrocarbons (TPH) were measured by NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 method (2) and compared with untreated contaminated soil samples.

The bioremediation test was performed at field under environmental condition (3). To obtained inoculum, the reactor of 30 L was designed and constructed. For microorganisms proliferation the modified mineral medium was applied. Two samples of soil obtained in contaminated field were treated on a high density polyethylene liner to avoid leaching with commercially available product and isolated bacteria. Total petroleum hydrocarbons (TPH) were measured (2) after 4 and 8 weeks of treatments. The results were compared with ones obtained by means of treatment with commercially available microbiological product.

The obtained results demonstrated (Table 1) that soil sample which showed higher contamination age (5 years) yielded more number of isolated colonies, while the samples that differed in contamination age for 1 year contained the similar number of isolatable colonies. This data indicate that the explosion to contamination for more time led to adaptation of more number of microorganisms to the contaminant compounds presence. This conclusion is consistent with the previous reports (1, 4) and reveals the time as important factor to microorganisms' adaptation. The adaptation in this case may be related with mutation and induction of enzymatic systems able to degrade and metabolize hydrocarbons.

Table 1. Amount of bacterial strains isolated from mexican semi-desert soil contaminated with hydrocarbon for different times and highest detected hydrocarbon removal activity corresponding to best strain.

Time of samples soil contamination	Number of isolated strains	Highest hydrocarbon removal activity, Δ TPH (ppm)/day
1 year	21	511.73
2 years	20	426.57
5 years	32	408.64

The strains were evaluated for their potential to degrade the hydrocarbons of petroleum in soil, artificially contaminated under laboratory conditions simulating semi-desert environment. Highest removal activity was detected in the case of strain isolated from site contaminated for 1 year. This may be related with higher activity of metabolic system of the isolated microorganism as a response to adaptation process. In general, activities detected under simulation of semi-desert conditions were similar to reported for commercially available products under optimum conditions (1).

The scheme of bioprocess designed for proliferation of isolated microorganisms at major scale is presented in the Fig. 1. The resistance of isolated bacteria to temperature higher than ambient was used to avoid microbiological contamination of the bio-product. The production capacity of this process is 30 kg of bio-product per day. To facilitate the process of drying and stabilize the bacteria, a natural carrier is applied. Figure 2 presents

designed bio-product ready to transportation and the demonstration of activities realized for soil bioremediation at field. Results of bioremediation assay are demonstrated in the Table 2.

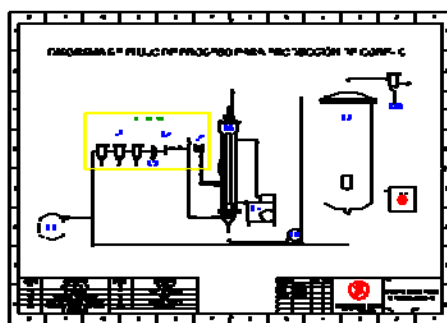


Fig. 1. Scheme of bioprocess designed for the fabrication of bio-product of bacteria isolated from semi-desert soils.



Fig. 2. Bioremediation assay realized with hydrocarbon contaminated soil at filed condition: left,- bio-product obtained with bacteria isolated from semi-desert soil; middle,- soil preparation and treatment application; right,- the same place after bioremediation.

Table 2. Results obtained in the field test. (As 100% the initial value of TPH was considered).

Applied treatment	% TPH of remaining in tested soil after 4 weeks	% TPH of remaining in tested soil after 8 weeks
Bio-product with isolated bacteria	30.3	9.8
Commercially available product	38.2	38.3

The higher removal of hydrocarbon was demonstrated after 8 weeks of treatments in the case of soil treated with designed bio-product than with commercially available product. These data clearly demonstrate that the ability of microorganisms to adapt to the environmental conditions is an important factor that must be considered in the design of the technological processes of environmental applications.

Thus, it was demonstrated that by using of bacteria adapted to survive under conditions of semi-desert and able to metabolize hydrocarbons, it was possible to transform the site completely inappropriate for life and vegetation in green and livable place (Fig. 2).

As a result of contemporary environmental problems, the investigation must be focusing on developing a greater understanding of native nature to describe the environment as a case of complex systems analysis and define a series of general principles important to design of bioprocesses. These 'eco-principles' may be very useful as guidelines for the eco-restructuring of technology as well as the reorientation of human activities towards a sustainable lifestyle which includes the economy, society, and management of industry. The actual goal of technosphere is a society which will be in harmony with the laws of nature. It is that we try to demonstrate with the present study.

Acknowledgements: Supported by PEMEX Grants for 2007-2012.

References

1. Ilyina A., Villarreal Sánchez J.A., Castillo Sánchez M.I., Ramírez Esquivel G. & Candelas Ramírez J. (2003) Isolation of soil bacterias applicable for bioremediation of hydrocarbon Contamination. *Moscow Univer Chem Bul. (Vestnik Moskovskogo Universiteta. Khimiya)*. 44 (1): 88-91.
2. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. (2003). Norma Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003.
3. PROFEPA. (1999) Restauracion de suelos contaminados. Memorias del grupo de Trabajo sobre Restauracion de Suelos Contaminados. P. 1.
4. Kalyuzhnyi S.V. (2000) Environmental biotechnology: the tandem of biocatalytical and engineering developments. *Vestnik Moskovskogo Universitets. Khimiya*. 41 (6, Supp.): 15-21.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

EFFECTS OF SOWING DENSITY ON YIELD AND QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF SOYBEAN

Shamsi K., Kobraee S.

¹ Department of crop production and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
e-mail: keyvan@iauaksh.ir.ac; shams2_k@yahoo.com

In order to investigate the effects of different densities on yield and yield components in soybean, an experiment was conducted in a factorial based on randomized complete block design with three replications at research farm, Islamic Azad University of Kermanshah at 2007-2008. Cultivars factor were placed in the blocks at 3 levels including M7, M9, and Gorgan3 and density factors at 3 levels including plant were placed on 3,5,7cm intra rows spacing(53,32 and 23 plant.m⁻²) in the blocks. The end of growth stage and harvesting time, the grain yield and yield components were determined. The results showed that density of 23 and 53 plant.m⁻² had highest and lowest numbers of branches per plant ,respectively.The highest number of node per plant and 100 grain weight per (main stem,branches and plant) related to M7 cultivar and highest number of pod per(branches and plant) related to Gorgan3 cultivar.also M7 and Gorgan3 had highest number of grain per plant and number of grain per branches ,respectively. A significant correlation coefficient were found between grain yield with plant height($r = 0.71^{**}$),number of grain per plant($r = 0.73^{**}$),100 grain weight($r = 0.43^{**}$),biological yield($r = 0.85^{**}$) and harvest index($r = 0.34^{**}$). Gorgan3 had highest yield than two cultivars, M7 and M9. The highest yield related to density of 23 of plants.m⁻².

A serene sunset scene over a calm body of water. The sun is a bright, glowing orb in the upper left, casting a shimmering path of light across the water's surface. In the distance, a sailboat is visible on the right, and a range of mountains or hills stretches across the horizon. The foreground shows a dark, pebbly beach. The overall atmosphere is peaceful and contemplative.

ВОПРОСЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ

BIOSAFETY



Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

ВЛАСТИВОСТІ ВІРУСІВ СОНЯШНИКУ В УМОВАХ УКРАЇНИ: БІОЛОГІЯ, ФІЗИЧНА СТРУКТУРА, ДІАГНОСТИКА ТА ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ

Бойко А.Л., Орловська Г.М., Кондратюк О.А.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

В роботі подаються результати багаторічних досліджень вірусів соняшнику. Приводяться матеріали по вивченню тонкої структури вірусів: ВПЗТ (вірусу плямистого зів'янення томатів, родини *Bunyaviridae*), УВК (У-вірусу картоплі, родини *Potyviridae*), ВОМ (вірусу огіркової мозаїки, родини *Bromoviridae*), ВТМ (вірусу тютюнової мозаїки, роду *Tobamovirus*), кулевидного вірусу (*Rhabdoviridae*). Вперше відмічена адаптація цих вірусів до товарних сортів та генофонду соняшника. Досліджена локалізація вірусних патогенів в клітинній системі різних сортів, гібридів і ліній культури соняшнику. При цьому дана оцінка стійкості елітних і перспективних сортів соняшнику до ВПЗТ, який має мінус-геномну РНК, ліпіди та може уражувати рослини з мікроскопічними грибами, бактеріями.

В поданих матеріалах пропонуються профілактичні заходи боротьби з вірусною інфекцією цієї важливої стратегічної культури. Наводиться карта ураження соняшнику вірусами в різних агроценозах України, тестованих методом непрямого імуноферментного аналізу. Проведено математичний аналіз можливої міграції вірусів та їх шкодочинності при монокультурі соняшнику.

Література

1. Бойко А. Л. Экология вирусов растений: учебное пособие. К.: Вища шк., 1990. – 166 с.
2. Бойко А.Л., Поліщук В.П., Шевченко Т.П. і інш. Контамінація вірусами сортів соняшнику./Вісник аграрної науки.- 2003, №3, с. 20-22
3. Загородній Ю., Бойко А.(2001).Математичне моделі в дослідженні вірусів рослин.Київ.ЕксОб» С.153
4. Орловська Г.М., Бойко А.Л. Вплив препаратів "БОА" та "ГЗ" на насіння соняшнику (*Helianthus annuus L.*) ураженого вірусом плямистого зів'янення томатів. // Агроекологічний журнал. - 2008. - С. 193-195.
5. Orlovskaya G.M., Orlovsky O.V., Petrenko S.M., Shevchenko O.V., Boyko A.L. Search efficient methods for improvement of sunflower plants. Second congress of virology (Days of virology in Bulgaria) with International Participation, Sofia, 2008. p. 319-323.
6. Орловская. Г.М., Петренко С.М., Шевченко Т.П.та інш. Вирусные болезни подсолнечника в агроценозах Украины: Распространение и диагностика. Защита растений. – 2006.– Вып. 30,ч. II. – С. 130-137.

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

PROPERTIES OF VIRUSES IN THE SUNFLOWER UKRAINE: BIOLOGY, PHYSICAL STRUCTURE, DIAGNOSIS AND PROBLEMS BIOSAFETY

Boyko A.L., Orlovska G.M., Kondratyuk O.A.

Taras Shevchenko' Kyiv National University, Kyiv, Ukraine

The paper presented the results of years of research viruses sunflower. Presents the materialsto study the fine structure of viruses: TSWV (Tomato spotted wilt virus, family Bunyaviridae), YVK (Y-virus potato, family Potyviridae), CMV (cucumber mosaic virus, family Bromoviridae), TMV (tobacco mosaic virus, genus Tobamovirus), spherical virus (Rhabdoviridae). First seen adaptation of these viruses in commercial varieties and gene poolof sunflower. Investigated localization of viral pathogens in a cellular system different varieties, hybrids and lines of sunflower crops. It assessed the stability of elite and promising varieties of sunflower to VPZT having negative genomic RNA, lipids and can urazhuvaty plants of microscopic fungi, bacteria. In the given materials available preventive measures against viral infection of this important strategic culture. We present map of sunflower damage by viruses in different agrocnoses Ukraine, tested by indirect ELISA. A mathematical analysis of the possible migration of viruses and their harmfulness in monoculture sunflower.

References

1. *Бойко А. Л.* Экология вирусов растений: учебное пособие. К.: Выща шк., 1990. – 166 с.
2. *Бойко А.Л., Поліщук В.П., Шевченко Т.П. і інш.* Контамінація вірусами сортів соняшнику./Вісник аграрноїнауки.- 2003, №3 , с .20-22
3. *Загородній Ю., Бойко А.*(2001).Математичнеі моделі в дослідженні вірусів рослин.Київ.ЕксОб» С.153
4. *Орловська Г.М., Бойко А.Л.* Вплив препаратів "БОА" та "ГЗ" на насіння соняшнику (*Helianthus annus L.*) ураженого вірусом плямистого зів"янення томатів. // Агроєкологічний журнал. - 2008. - С. 193-195.
5. *Orlovskaya G.M., Orlovskyy O.V., Petrenko S.M., Shevchenko O.V., Boyko A.L.* Search efficient methods for improvement of sunflower plants. Second congress of virology (Days of virology in Bulgaria) with International Participation, Sofia, 2008. p. 319-323.
6. *Орловская. Г.М., Петренко С.М., Шевченко Т.П.та інш.* Вирусные болезни подсолнечника в агроценозах Украины: Распространение и диагностика. Защита растений. – 2006.– Вып. 30,ч. II. – С. 130-137.

СПИСОК АВТОРОВ

- Абдулахад К.Ф. Абдулахад 217
Абдуллаев А.С. 349
Абушинова Н.Н. 350
Азаров В.С. 225
Азизов И.В. 349
Акимов А.Г. 37
Албулов А.И. 143
Алексеева С. И. 323
Алексеева Т.А. 5.23,85
Алёшин А.В. 109
Алиев Т.К. 177
Алиева З.К. 165
Алифанов В.М. 431
Ананьева Н.Д. 493
Андреев И.М. 363
Андреева Л.А. 315
Андреева Л.И. 279
Андрейченко С.В. 179
Андрійчук Т.Р. 211
Антонова Е.В. 447
Аньшакова В.В. 209
Асланиди К.Б. 493
Астахова Л.А. 7
Афанасьев К.И. 509
Афанасьева С.В. 213
Бабаева А.Г. 133
Бабийчук В.Г. 73
Бабийчук Г.А. 65,73
Бадмаева К.Е. 350
Баишникова И.В. 13
Бакаева З.В. 215
Бакирова Г.Г. 361
Балнокин Ю.В. 75,123,363
Баранова К.А. 9
Баранова Л.Н. 501
Баранова М.М. 259
Басырова А.М. 45
Батова Ю.В. 265,449
Баулин С.И. 213
Башлыкова Л.А. 451
Башун Н.З. 135
Баянов А.В. 511
Безель В.С. 369, 455
Безруков В.Ф. 175,273
Бекирова Э.Э. 301
Белава В.Н. 305
Беленикин М.С. 389
Белозерская Т.А. 453
Белоусов Л.В. 11
Белоусова С.В. 111
Белочкина И.В. 141
Беляев Д.В. 123, 363
Бельский Е.А. 455
Береговая Т.В. 217
Березовская М.А. 232, 237
Бернык О.О. 217
Беспалов В.П. 459
Бессараб Г.И. 33
Бибикина О.А. 139
Бивалькевич Н.В. 47
Бикетов С.Ф. 177
Бирюкова Е.А. 219
Бисов А.С. 507
Білець М.В. 137
Білюк А.А. 151
Блажчук И.С. 195
Бобик В. 163
Богатина Н.И. 221
Богатирьова О.О. 141
Богатырёв В.А. 139,247
Богданова О.В. 155,239
Богун Л.И. 191
Бойко А.Л. 519
Большева Н.Л. 389
Бондаренко Л.Б. 195
Борвинская Е.В. 495
Борисенко И.Г. 141
Борисов А. 277, 319
Борисова А.Г. 13
Борисова Т. 15,49,277,319
Брезицька Н.В. 503
Брик О. 319
Будзанівська І.Г. 507
Буланцева Е.А. 223
Булык Р. Е. 17
Булякова Н.В. 225
Бун М.М. 428
Бурлова-Васильева Н.К. 149
Варбанець О.І. 206
Варенцова А.А. 19
Варламов В.П. 143
Василенко Д. А. 17,21
Венцовская Е.А. 65,365
Веселова Ж.В. 145
Венгжен Г.С. 101,275
Виджак О. 201
Вишневский В.В. 427
Вишневська А.Г. 147
Владимирова И.Г. 23
Власова Н.Н. 19,365
Вовк Т.Б. 149
Войтенко В.В. 151
Войціцький В.М. 77
Войчук С.И. 235
Володин В.В. 279
Володина С.О. 279
Воробйова Г.М. 204
Воронов И.В. 227
Воронов И.В. 229
Газыев А.Г. 349
Галаніна І.О. 377
Галицкая А.А. 231
Галкін М.О. 147
Галяметдинова И.В. 293
Гальченко С.С. 133,141,313
Гамма Т.В. 153
Гарина Д.В. 25
Гарифзянов А.Р. 459
Гарманчук Л. В. 157,299
Гесслер Н.Н. 232,453
Гиличинский Д.А. 421
Говардовский В.И. 7
Говоруха Т.П. 71
Гончар О.О. 27
Гончарова М.В. 29,31
Гончарова Н.Г. 33
Гостева Ю.В. 171
Гранич В. 201
Гривенникова В.Г. 109
Григорьева О.О. 237
Гроза Н.В. 233
Громозова Е.Н. 235
Гроховская Т.Ч. 135
Гугалинская Л.А. 431
Гуринович В.А. 135
Давидовська Т.Л. 289,311
Данілова О.І. 245
Даценко А.И. 237
Дворщенко О.С. 197
Дегтяренко Т.В. 155, 239
Дейчман А.М. 35
Демидов С.В. 477
Демченко В.Ф. 491
Деніс С.О. 157
Джелдубаева Э.Р. 339
Джеонг М.-Х. 377
Джиоев Ю.П. 145,375, 395
Дзержинський М.Е. 91
Дмитренко О.В. 311
Дмитриев А.П. 241
Дмитриева А.Г. 243,469
Дмитрієв О.П. 251
Дмитруха Н.М. 159,329
Довгаль З.М. 251
Долгих Д.А. 109,397
Доля В.М. 307
Домашевич Е.В. 297
Донченко Е.В. 161
Дородникова Е.А. 233
Дрэйк Г. 381
Дудченко Н. 319
Дуніч А.А. 245
Дыкман Л.А. 139,247
Дюбко Т.С. 141
Дяченко А.И. 241
Евстафьева Е.В. 461,465,491
Егоренкова И.В. 367
Егорова А.С. 453
Егорова М.А. 37,399
Еланская И.В. 109
Епишкин И.В. 153
Ерохина И.А. 41
Єлісєєва О.П. 39
Ємець І.М. 204
Жданова С.Н. 383
Желтухина Г.А. 249
Животовский Л.А. 509
Жигульская З.А. 433
Жовнір В.А. 204
Жуйкова Т.В. 369
Жук В.В. 253
Жук І.В. 251
Жук О.І. 255
Жук О.Н. 295,297
Журавская А.Н. 229
Загоскина Н.В. 69
Задира С.В. 463
Зайнуллин В.Г. 127,343
Залата О.А. 465

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

- Зареї-Даркі Б. 377
Захожий И.Г. 75
Заячникова Т.В. 219,339
Звонкова М.Б. 257
Зеленая Л.Б. 235
Зеленин А.В. 389
Зеленская Н.Н. 435
Зима И.Г. 111
Зиновьева С.В. 371
Зобов В.В. 293
Зотин А.А. 43
Зубкова Ю.Н. 315
Зуева И.В. 293
Зуза В.А. 87
Зуза С.Г. 87
Зыков С.В. 373
Ибрагимов Р.И. 45,121
Иванова А.Е. 453
Иванова Е.И. 375
Игнатов В.В. 367
Иголкина Ю.В. 259
Изварина Н.Л. 261
Илюк Н.А. 479
Илюха В.А. 13
Ильина Т.Н. 13
Ильяшенко В.Д. 467
Ильяшенко Н.В. 467
Ипатова В.И. 243, 469
Искра Р.Я. 263
Іутинська О.А. 507
Казакова А.С. 19,365
Казнина Н.М. 265,449
Калачова Т.А. 59
Калінін І.В. 335
Калініченко О.В. 305
Канунникова Н.П. 135
Канцерова Н.П. 471
Каплина Н.Ф. 473
Капустян Л.М. 61,163,201,204
Караман Ю.К. 47
Каримуллина Э.М. 447
Карлин Л.Н. 437
Касаткіна Л. 15,49,319
Катковская И.Н. 135
Катюшина О.В. 153
Кацан В.А. 309
Кершенгольц Б.М. 51,53,353
Кершенгольц Е.Б. 53,353
Ким Д.А. 231
Кирик Е.Ф. 43
Кириллова А.В. 165
Кишлян Н.В. 389
Ключевская А.А. 475
Коваленко В.Н. 195
Коваленко И.Ф. 285
Коваленчик И.Л. 307
Коваль А.А. 197
Ковальова В.А. 147
Ковальчук Н.Л. 275
Козлова Л.С. 145
Колегаєв О.В. 151
Кольтовер В.К. 267
Компанец І.В. 151
Конарева И.Н. 55
Кондратюк О.А. 519
Кондратюк С.Я. 377
Кондратюк Т.О. 379
Конон А.Д. 269,271
Коренюк И.И. 153,199
Коритко З.И. 57
Коркушко О.В. 183
Королев Ю.Н. 29,31
Королева С.Ю. 29,31
Короленко Т.К. 329
Косик О. 321
Костюк А.С. 327
Косцова О.Д. 307
Косян А. 321
Коцюрба А.В. 337
Кравец А.П. 101,273
Кравец В.С. 59
Кравец О.П. 275
Кривушин К.В. 381
Крижановская Т.В. 111
Криницина А.М. 389
Крисанова Н. 15,277,319
Крупнова М.Ю. 67
Крупська І.В. 61,163
Кудогоцева О.В. 167
Кудрявцев К.В. 125
Кудрявцева А.В. 389
Кудяшева А.Г. 279
Кузикова И.Л. 281
Курганова И.Н. 439
Кутлахмедов Ю.О. 267
Кушнір С. 201
Кяйвярряйнен Е.И. 67
Лагутіна О.С. 159
Лазаренко Л.М. 263
Лайдинен Г.Ф. 265,449
Лакунина В.А. 389
Лац А.А. 383
Ле Туан Дык 223
Ленцман М.В. 361
Линчак О.В. 503
Литвинов Ю.Н. 385
Ліждвой М.В. 505
Лісова Г.М. 251
Ломакин И.И. 167
Ломако В.В. 63,285
Лопес де Гереню В.О. 439
Лукашев Е.П. 109,397
Лукашов Д.В. 463
Лукиенко Е.П. 135
Луценко Д.Г. 65,71, 167
Лысенко Л.А. 67,471
Ляшук Н.І. 345
Макай Ш. 347
Макарчук М.Ю. 117,187
Максимович І.Я. 263
Малинина Т.В. 509
Малиновский Д.С. 257
Мамалыга М.Л. 169
Маньковська І.М. 27
Маракаев О.А. 69
Мардас Д.К. 295
Мариненко Т.В. 477
Маркова Е.А. 423
Мартынюк В.С. 171,179,287,323, 333
Марченко В.С. 65, 71,73,167
Марченко Л.Н. 71,73
Масс А.М. 387
Маталин Д.А. 75
Матвиенко А.В. 195
Матвієнко М.Г. 91
Медведева Н.Г. 281
Мезенцева М.В. 215
Меленевська Н.В. 289
Мельникова Н.В. 389
Мельничук А.П. 21
Мельничук С.Д. 77
Мехтиев А.А. 25
Мещерякова Е.С. 121
Минина Е.Н. 291
Мирошник Б.Ю. 171
Мирошник О.В. 371
Мирчинк Е.П. 249
Михеев А.Н. 79
Михейцева И.Н. 173
Міхайленко В.М. 347
Міхеєва К. 201
Міщенкш Д.Т. 245
Мовчан В.А. 479
Моисеева Т.А. 391
Мойсеёнок А.Г. 135,307
Моргаєнко О.О. 181
Мороз М.М. 171
Морозова В.С. 77
Московчук К.М. 491
Московчук О.Б. 491
Муллагулов Р.Т. 511
Муравенко О.В. 389
Мурик С.Э. 81
Муровец В.О. 261
Муронец Е.М. 109
Мусієнко М.М. 253
Мясоедов Н.А. 123,363
Назаров Н.Г. 293
Наумова Т.С. 99
Нгуен Тьен Тханг 2223
Небольсин В.Е. 249
Некрасов А.Н. 109
Немова Н.Н. 67,471,495
Непийвода Х.Д. 299
Непорада К.С. 83,217
Нечаева М.В. 85
Никандров В.Н. 295,297
Никифоров А.И. 481
Ніколаєнко Т.В. 157
Нікуліна В.В. 299
Новгородцева Т.П. 47
Новотоцкая-Власова К.А. 397
Нурищенко Н.Е. 171,179
Овсянникова Н.М. 491
Овчаренко А.А. 483
Огарков О. Б. 383
Огородник Л.Е. 393
Окороченков С.А. 249
Оленева Ю.Г. 467
Омельченко Е.М. 503
Омельченко Ю.О. 335
Омельяничук С.Н. 135
Орлова Ю.В. 123,363
Орловська Г.М. 519

Адаптационные стратегии живых систем

11-16 июня 2012, Новый Свет, АР Крым
Украина

- Остапченко Л.И. 217
Остапченко Л.И. 181,183,185,347
Отурин И.П. 301
Павлова С.И. 215
Павлович С.А. 175,189
Пайкова Л.Н. 175,189
Паланиця М.П. 303
Панасенко Т.О. 83
Панина А.А. 177
Панова С.А. 165
Панюта О.О. 305
Парамонов А.И. 395
Парфенюк С.А. 269
Пастухов М.В. 489
Пелюх Л.И. 179
Перковская Г.Ю. 241
Петренко С.М. 507
Петрова П.Г. 51
Петровская Л.Е. 397
Петрук Н.А. 335
Пеховская Т.А. 307
Пилипенко С.В. 217
Пирог Т.П. 269,271
Пишак В.П. 17
Плеханова А.С. 399
Плешакова Е.В. 485
Побігало Л.С. 311
Погромская Я.А. 87,315
Подгорский В.С. 235
Подпалова О.М. 179
Позднякова Л.П. 177
Позолотина В.Н. 447
Поканевич Т.М. 503
Поліщук В.П. 507
Поляк Э.А. 355,357
Полякова А.В. 231
Полякова В.В. 335
Пономарев К.А. 249
Попкова С.М. 145,375
Попова Л.Г. 75
Поскачина Е.Р. 227,229
Потопальський А.І. 309
Преображенська Т.Д. 183,347
Прилепский А.Ю. 139
Прилуцкий Ю.И. 289,311
Прокопьев И.А. 341,487
Пронина О.В. 89
Прохоцкая В.Ю. 243,469
Проценко М.А. 223
Процюк О.В. 503
Пустовалов А.С. 91
Пучкова А.З. 337
Пятчанина Т.В. 197
Раваева М.Ю. 337
Рагульская М.В. 427
Радченко А. 201
Радченко Н.В. 311
Расцька Я.Б. 181
Ракша Н.Г. 211
Рачинская О.А. 389
Резник В.С. 393
Репкина Н.С. 325
Рзаева И.А. 349
Рибальченко В.К. 39,157
Ривкина Е.М. 397,421
Рогачева С.М. 213
Рогоза Л.А. 313
Рожко О. 163
Романенко М.С. 183
Росаловський В.П. 317
Ротач Ю.В. 87
Рочева Л.К. 343
Рубцова Г.А. 509
Руденчик Е. А. 427
Румянцева Н.И. 95
Рушковский С.Р. 89
Рыктор И.А. 315
Савельев А.А. 293
Савохин А.А. 261
Сагач В.Ф. 311
Салига Н.О. 263
Салига Ю.Т. 217
Салменкова Е.А. 401
Самойлюк Е.В. 7
Самонина Г.Е. 215
Сангаджиева А.Д. 215
Сандомирський Б.П. 133,141,313
Сапанов М.К. 441
Сафонов С.С. 29,31
Сварчевська О.З. 263
Свешников П.Г. 177
Светлова Н.Б. 107
Селиванов Н.Ю. 231
Селиванова О.Г. 231
Селочник Н.Н. 473
Сенчило Н.В. 299
Серга О.І. 107
Сергеева А.С. 489
Сергина С.Н. 13
Серигов В.М. 457
Сибгатуллин Т.А. 93
Сибгатуллина Г.В. 95
Сиволоб А.В. 97
Сидорик Л.Л. 61,163,201,204
Сидоров А.В. 69
Сиземская М.Л. 441
Сичук А.М. 303
Сівко Р. 15,277,319
Сіренко Ю. 201
Слета І.В. 133
Слободяник Н.М. 83
Слынько Е.Е. 403
Слынько Ю.В. 403,405
Слюсаренко А.Е. 491
Смалюк Ю. 201
Смирнов Л.П. 495
Смірнов О. 321
Собко В.М. 323
Соколов О.И. 99,231
Соколова Д.А. 101,275
Соколова Л.В. 193
Соколова М.К. 99
Соколянская М.П. 103,105
Соломонов Н.Г. 51
Софилканич А.П. 269,271
Сперанская А.С. 389
Спирина Е.В. 397
Староверов С.А. 139,247
Старцева О.А. 343
Степаненко Л.Г. 311
Степанець І.О. 151
Степанова Л.І. 77
Стешенко М.М. 27
Стольников Е.В. 493
Стороженко В.О. 107
Строцька Є.А. 183
Супин А.Я. 407
Суров А.В. 417
Суслев В.В. 409,411,413
Сухарев Ю.С. 415
Суховская И.В. 495
Сухомлінова І.Є. 33
Таланова Є.В. 325
Таран Н.Ю. 305
Таран О.П. 345
Темурьянц Н.А. 327
Терещенко В.Г. 497
Терлыга Н.С. 499
Тестов Б.В. 501
Тимофеев К.Н. 109
Тимофей О.В. 17
Тимченко О.І. 503
Титов А.Ф. 265,325,449
Ткаченко Я.В. 204
Толмачева Ю.П. 428
Томачинська Л.І. 299
Топорова В.А. 109,177
Топчиева Л.В. 265,325
Торгало Є.О. 185
Тороп В.В. 345
Трахтенберг І.М. 329
Трегубова К.В. 367
Тренин А.С. 249
Трибрат А.Г. 465
Трибрат Н.С. 337,339
Трошева Т.Д. 281
Трубина М.А. 437,443
Трушина В.А. 113,117,187
Тугай А.В. 505
Тугай Т.І. 505
Туманянц К.Н. 327
Удалова Ж.В. 371
Узенбаева Л.Б. 13
Улинець В.З. 107
Ушакова М.В. 417
Федоренко Т.В. 289
Федорчук С.В. 117,187
Феофанов А.В. 249
Филимонова Н.Б. 111,113,189
Филиппова Г.В. 341,487
Филюк И.В. 271
Фирсов М.Л. 7
Фомаїді С.В. 305
Фоминых М.А. 373
Французова С.Б. 27
Хаертдинова Л.Р. 95
Халилова Л.А. 123,363
Хангер С. 381
Хархун Е.В. 231
Харченко О.І. 191
Хасанова Г.Р. 511
Хацаева Р.М. 115
Хижняк С.В. 77
Хілько Т.Д. 447
Хо Дж.-С. 377

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

Холмогоров С.В. 69
Хотченков В.П. 223
Храновська Н.М. 299
Хусаинов Д.Р. 153,199
Цветков В.О. 45,121
Цейслер Ю.В. 179,333
Цепко Н.Л. 263
Цимбалюк О.В. 287,289
Цирюк Е.И. 217
Цудзевич Б.О. 335
Черенкова Л.В. 193
Черетаев И.В. 153
Чехун В.Ф. 347
Чиж М.О. 133,313
Чиков В.И. 119,361
Чікіна Л.В. 117,187
Чуднова Т.А. 29,31
Чуніхін О. 319
Чупахин В.И. 125
Чуян Е.Н. 219,337,339

Шамилов Э.Н. 349
Шаповал Л.М. 311
Шатилович А.В. 419,421
Шашурин М.М. 341
Шаяхметова А.М. 195
Шевалье А.А. 135
Шевченко А.Є. 147
Шевченко О.В. 507
Шевчук Т.А. 269,271
Шейкина Н.В. 221
Шеин А.А. 227,341,487
Шелест Д.В. 147
Шелюк О.В. 333
Шемчукова О.Б. 177
Шепеленко И.В. 197
Шилина В.В. 153,199
Шило А.В. 63,65,167,285
Шитова М.В. 509
Шмакова Л.А. 421
Шпирная И.А. 45,121

Шувалов А.В. 123,363
Шульга Д.А. 125
Щёголев С.Ю. 247
Эдеева С.Е. 350
Эльбикова А.А. 350
Юркевич Л.Н. 309
Юркевич О.Ю. 389
Юшкова Е.А. 127,343
Яковенко Л.Ф. 201, 204
Яковенко О.М. 59
Яковченко Л.С. 377
Якубцова І.В. 347
Ялковская Л.Э. 423
Ямалов С.М. 511
Янішевська Г.С. 345
Янцев А.В. 165
Янчук П.І. 117
Янькова В.И. 47

LIST OF AUTHORS

- Abdulahad K.F. Abdulahad 218
Afanaseva S. 214
Afanasyev K.I. 510
Aguilera-Gonzalez E.N. 514
Akimov A.G. 38
Albulov A.I. 144
Alekseeva T.A. 6
Aleshin A.V. 110
Alexeeva S.N. 384
Alexeeva T.A. 24,86
Aliev T.K. 178
Alifanov V.M. 432
Aliyeva Z.K. 166
Ananyeva N.D. 494
Andreev I.M. 364
Andreeva L.A. 216
Andreeva L.I. 280
Andreychenko S.V. 180
Andriichuk T.R. 212
Anshakova V.V. 220
Antonova E.V. 448
Aslanidi K.B. 454
Astakhova L.A. 8
Azarova V.S. 226
Babaieva G.G. 138
Babiychuk G.A. 74
Babiychuk G.O. 66
Babiychuk V.G. 74
Baishnikova I.V. 14
Bakaeva Z.V. 216
Bakirova G.G. 362
Balnokin Yu.V. 76,124,364
Baranova K.A. 10
Baranova L.N. 502
Baranova M.M. 260
Bashlykova L.A. 452
Bashun N.Z. 136
Basyrova A.M. 46
Batova J.V. 266,450
Baulin S. 214
Bayanov A.V. 512
Bekirova E.E. 302
Belava V.N. 306
Belenikin M.S. 390
Belochkina I.V. 142
Belousova S.V. 112
Beloussov L.V. 12
Belozerskaya T.A. 454
Belskii E.A. 456
Belyaev D.V. 124,364
Beregova T.V. 218
Berezovskaya M.A. 234,238
Beryk O.O. 218
Bespalov V.P. 458
Bessarab G.I. 34
Bezel V.S. 370,456
Bezrukov V.F. 176,284
Bibikova O.A. 140
Bidaux G. 129
Biketov S.F. 178
Bilets M.V. 138
Biluk A.A. 152
Birjukova E.A. 220
Bivalkevich N.V. 48
Blazchuk I.S. 196
Bobyk V. 164
Bogatina N.I. 222
Bogatyrev V.A. 140,248
Bogatryyova O.O. 142
Bogdanova A.V. 156,240
Bogun L.I. 195
Bolsheva N.L. 390
Bondarenko L.B. 196
Borisenko I.G. 142
Borisov A. 278,320
Borisova A.G. 14
Borisova T. 16,50,278,320
Borvinskaya E.V. 496
Boyko A.L. 520
Brezytska N.V. 504
Brik O. 320
Budzanivska I.G. 508
Bulantseva E. A. 224
Bulyakova N.V. 226
Bulyk R.E. 18
Burlova-Vasilieva N.K. 150
Bysov A.S. 508
Cano-Cabrera J.C. 514
Cherenkova L.V. 198
Chekhun V.F. 348
Cheretaev I.V. 154
Chikina L.V. 118,188
Chikov V.I. 120,362
Chizh M.O. 134
Chizh N.O. 314
Chudnova T.A. 30,32
Chujan E.N. 220
Chunihin O. 320
Chupakhin V.I. 126
Chuyan E.N. 338, 340
Cygan Magdalena 426
Danilova O.I. 246
Davydovska T.L. 290,312
Dacenko O.I. 238
De la Garza-Gonzalez S.I. 514
Degtyarenko T.V. 156,420
Deichman A.M. 36
Demchenko V. 492
Demydov S.V. 478
Denis E.O. 158
Dmitrenko O.V. 312
Dmitriev A.P. 242,252
Dmitrieva A.G. 244,470
Dmytrukha N.N. 160,330
Dolgikh D.A. 110,398
Dolgopolov O.V. 205
Dolya V.M. 308
Domashevich E.V. 298
Donchenko E.V. 162
Dorodnikova E.A. 234
Dovgal Z.M. 252
Drake H.L. 382
Dudchenko N. 320
Dunich A.A. 248
Dvorshchenko O.S. 198
Dyachenko A.I. 242
Dykman L.A. 140,248
Dyubko T.S. 142
Dzerzhinsky M.E. 92
Dzheldubaeva E.R. 340
Dzhioev Yu.P. 146,376,396
Egorova A.S. 454
Egorova M.A. 38,400
Elanskaya I.V. 110
Epishkin I.V. 154
Evstafyeva E.V. 462,466
Evstafyeva H. 492
Fedorchuk S.V. 118,188
Fedorenko T.V. 290
Feofanov A.V. 250
Fernández J.A. 129
Filimonova N.B. 112,114,190
Filippova G.V. 342,488
Filyuk I.V. 272
Firsov M.L. 8
Fomaidi S.V. 306
Fominykh M.A. 374
Frantsuzova S.B. 28
Galanina I.A. 378
Galchenko S.Ye. 134, 142,314
Galitskaya A.A. 232
Galkin M. 148
Galyametdinova I.V. 294
Gamma T.V. 154
Gaona-Lozano G. 514
Garifzyanov A.R. 460
Garina D.V. 26
Garmanchuk L.V. 158,300
Gessler N.N. 234,454
Gilichinsky D.A. 422
Gonchar O.O. 28
Goncharova M. V. 30,32
Goncharova N.G. 34
Gosteva Yu.V. 172
Govardovskii V.I. 8
Govorukha T.P. 72
Granich V. 202
Green L.B. 236
Grigorieva O.O. 238
Grivennikova V.G. 110
Grokhovskaya T.Ch. 136
Gromozova E.N. 236
Groza N.V. 234
Gugalinskaya L.A. 432
Gurinovich V.A. 136
Hunger S. 382
Hur J.-S. 378
Husainov D.R. 200
Iakovenko O.M. 60
Ibragimov R.I. 46,122
Ignatov V.V. 368
Igolkina J.V. 260
Iluk N.A. 480
Ilyashenko N.V. 468
Ilyashenko V.D. 468
Ilyina A. 514
Ilyina T.N. 14
Ilyukha V.A. 14
Ipatova V.I. 244,470

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

- Iskra R.Ya. 264
Iutinska O.A. 508
Ivanov V. 513
Ivanova E.I. 376
Ivanova A.E. 454
Izvarina N.L. 262
Jeong M.-H. 378
Jian C. 513
Joachimiak Andrzej 426
Joanna Zalewska-Gałosz 130,425
Kaivarainen E.I. 68
Kalachova T.A. 60
Kalinichenko O.V. 306
Kalinin I. 336
Kantserova N.P. 68,472
Kanunnikova N.P. 136
Kaplina N.F. 474
Kapustian L. 164
Kapustian L.N. 62,202
Karaman Yu.K. 48
Karimullina E.M. 448
Karlin L.N. 438
Kasatkina L. 16,50,320
Katkovskaya I.N. 136
Katsan V.A. 310
Katyushina O.V. 154
Kazakova A.S. 20,366
Kaznina N.M. 266,450
Kershengolts B. M. 52,54,354
Kershengolts E.B. 54,354
Khaertdinova L.R. 96
Khalilova L.A. 124,364
Kharchenko O.I. 192
Kharkhun E.V. 232
Khasanova G.R. 512
Khatsaeva R.M. 116
Khilko T.D. 348
Kholmogorov S.V. 70
Khoma O.M. 205
Khotchenkov V.P. 224
Khranovska N.M. 300
Khusainov D.R. 154
Khyzhnyak S.V. 78
Kim D.A. 232
Kirik E.F. 44
Kirillova A.V. 166
Kishlyan N.V. 390
Klyuchevskaya A.A. 476
Kobraee S. 516
Kolegaev O.V. 152
Koltover V.K. 268
Kompanets I.V. 152
Konareva I.N. 56
Kondratyuk O.A. 520
Kondratyuk S.Ya. 378
Kondratyuk T.O. 380
Konon A.D. 270,272
Korenyuk I.I. 154,200
Korkushko O.V. 184
Korolenko T.K. 330
Korolev Yu.N. 30,32
Koroleva S. Yu. 30,32
Kostsova O.D. 308
Kostyuk A.S. 328
Kosyan A. 322
Kosyk O. 322
Kotsuruba A.V. 338
Koval A.A. 198
Koval'chuk N.L. 276
Kovalenchik I.L. 308
Kovalenko I.F. 286
Kovalenko V.M. 196
Kovaleva V. 148
Kozlova L.S. 146
Kravchenko V. 58
Kravets A.P. 102, 274,276
Kravets V.S. 60
Krinitcina A.M. 390
Krisanova N. 16,278,320
Krivushin K. 382
Krizhanovskaja T.V. 112
Kroupskaya I.V. 62,164
Krupnova M.Ju. 68
Kudokotseva O.V. 68
Kudryavtsev K.V. 126
Kudryavtseva A.V. 390
Kudyasheva A.G. 280
Kurganova I.N. 440
Kurkova E.B. 364
Kushnir S. 202
Kutlakhmedov Y.A. 268
Kuzikova I.L. 282
Kwolek Dagmara 426
Lagutina O.S. 160
Laidinen G.F. 266,450
Lakunina V.A. 390
Lats A. A. 384
Lazarenko L.M. 284
Le Tuan Dyk 224
Lentsman M.V. 262
Lisova G.M. 252
Litvinov Yu.N. 386
Lizhdvoy M.V. 506
Lomakin I.I. 168
Lomako V.V. 64,286
Lopes de Gerenyu V.O. 440
Lukashev D.V. 464
Lukashev E.P. 110,398
Lukienko Ye.P. 136
Lutsenko D.G. 66,168
Lyashuk N.I. 346
Lynchak O.V. 504
Lysenko L.A. 68,72,172
Magdalena Jopek 130,425
Magleby K.L. 129
Makarchuk M. 58,118,188
Makay S. 348
Maksimovich I.Ya. 268
Maksimovich K. 58
Malinina T.V. 510
Malinowski D.S. 258
Mamalyga M.L. 170
Mankovska I.M. 28
Marakaev O.A. 70
Marchenko L.N. 72,74
Marchenko V.S. 66,72,74,168
Mardas D.K. 296
Markova E.A. 424
Martynyuk V.S. 172,180,188,324, 343
Marynenko T.V. 478
Mass A.M. 388
Matalin D.A. 76
Matvienko A.V. 196
Matvienko M.G. 92
McGeown J.G. 129
Medvedeva N.G. 282
Mekhtiev A.A. 26
Mel'nichouk A.P. 22
Melenevskaya N.V. 290
Melnikova N.V. 390
Melnytchuk S.D. 78
Meshcheryakova E.S. 122
Mezentseva M.V. 216
Miheeva K. 202
Mikhailenko V.M. 348
Mikheyseva I.N. 174
Mikhyeyev A.N. 80
Minina E.N. 292
Mirchink E.P. 250
Miroshnichenko M.S. 205
Miroshnik B.Yu. 172
Mischenlo L.T. 246
Mizia Patryk 426
Moiseenok A.G. 136,308
Moiseeva T.A. 392
Morgaienko O.O. 182
Moroz M.M. 172
Morozova V.S. 78
Moskovchuk K. 492
Moskovchuk O. 492
Movchan V.A. 480
Mullagulov R.T. 512
Muravenko O.V. 390
Murik S.E. 82
Muronets E.M. 110
Murovets V.O. 262
Musienko M.M. 254
Myasoedov N.A. 124,364
Myroshnyk O.V. 380
Naumova T.S. 100
Nazarov N.G. 294
Nebolsin V.E. 250
Nechaeva M.V. 86
Nekrasov A.N. 110
Nemova N.N. 68, 472,496
Neporada K.S. 84,218
Nepiyivoda Kh.D. 300
Nguen Tien Thang 224
Nikandrov V.N. 296,298
Nikiforov A.I. 482
Nikolaenko T.V. 158
Nikulina V.V. 300
Novgorodtseva T.P. 48
Novototskaya-Vlasova K.A. 398
Nozdrenko D. M. 205
Nurischenko N.E. 172,180
Ogarkov O.B. 384
Ogorodnyk L.E. 394
Okorochenkov S.A. 250
Oleneva Yu.G. 468
Omelchenko E.M. 504
Omelchenko J. 336
Omelyanchik S.N. 136
Orlova Y.V. 124,364

Адаптационные стратегии живых систем

11-16 июня 2012, Новый Свет, АР Крым
Украина

- Orlovska G.M. 520
Ostapchenko L.I. 182,184,186,218, 248
Ostrovskaya L. 203
Oturina I.P. 302
Ovcharenko A.A. 484
Ovsyanyikova N. 492
Paikova L.N. 176,190
Palanytsya M.P. 304
Panashenko T.O. 84
Panina A.A. 178
Panova S.A. 166
Panyuta O.A. 306
Paramonov A.I. 396
Parfenyuk S.A. 270
Pastukhov M.V. 490
Pavlova S.I. 216
Pavlovich S.A. 176,190
Pekhovskaya T.A. 308
Pelyukh L.I. 180
Perkovskaya G.Y. 242
Petrenko S.M. 508
Petrova P.G. 52
Petrovskaya L.E. 398
Petruk N. 336
Piatchanina T.V. 198
Pirog T.P. 270,272
Pishak V.P. 18
Pleckanova A.S. 400
Pleshakova E.V. 486
Pobigailo L.S. 313
Podhorskyy V.S. 236
Podpalova O.M. 180
Pogromskaya I.A. 88
Pogromskaya Y.A. 316
Pokanevych T.M. 504
Pokhotskaya V.Yu. 244,470
Poliakova V. 336
Polischuk V.P. 508
Polyak E.A. 356,358
Polyakova A.V. 232
Ponomarev K.A. 250
Popkova S.M. 146,376
Popova L.G. 76
Poskachina E.R. 228,230
Potopalsky A.I. 310
Pozdnyakova L.P. 178
Pozolotina V.N. 448
Preobrazhenskaya T.D. 184,348
Prevarskaya N. 129
Prilepskiy A.Yu. 140
Procuk O.V. 504
Prokopyev I.A. 342,488
Pronina O.V. 90
Protsenko M.A. 226
Prylutskiy Yu.I. 290,312
Puchkova A.Z. 338
Pustovalov A.S. 92
Pylypenko S.V. 218
Rachinskaya O.A. 390
Radchenko A. 202
Radchenko N.V. 312
Raetska Ya.B. 182
Raksha N.G. 212
Ravaeva M.Y. 338
Repkina N.S. 326
Reznik V.S. 294
Rivkina E.M. 398,422
Rocheva L.K. 344
Rogachova S. 214
Rogoza L.A. 314
Romanenko M.S. 184
Rosalovsky V.P. 318
Rotach Ya.V. 88
Rozhko O. 164
Rubtsova G.A. 510
Rumyantseva N.I. 96
Rushkovsky S.R. 90
Rybalchenko V.K. 40,158
Ryktor I.A. 316
Safonov S.S. 30,32
Sagach V.F. 312
Salmenkova T.A. 402
Salyha N.O. 264
Salyha Y.T. 318
Samoiljuk E.V. 8
Samonina G.E. 216
Sanchez-Lara J. C. 514
Sandomirsky B.P. 134,142,314
Sangadzhieva A.D. 216
Sapanov M.K. 442
Saveliev A.A. 294
Savochin A.A. 262
Scholfield C.N. 129
Selivanov N.Yu. 232
Selivanova O.G. 232
Selochnik N.N. 474
Senchylo N.V. 300
Serga O.I. 108
Sergeeva A.S. 490
Sergina S.N. 14
Serikov V.M. 458
Shamsi K. 516
Shapoval L.M. 312
Shashurin M.M. 342
Shatilovich A.V. 420,422
Shayakhmetova G.M. 196
Shchyogolev S.Yu. 248
Shein A.A. 342,488
Shelest D. 148
Shelyuk O.V. 334
Shemchukova O.B. 178
Shepelenko I.V. 198
Shevalye A.A. 136
Shevchenko A. 148
Shevchenko O.V. 508
Shevchuk T.A. 270,272
Sheyin A.A. 228
Sheykina N.V. 222
Shilina V.V. 200
Shitova M.V. 510
Shmakova L.A. 422
Shpirnaya I.A. 46,122
Shulga D.A. 126
Shuvalov A.V. 124,364
Shylyna V.V. 154
Shylo O.V. 64,66,168,286
Sibgatullin T.A. 94
Sibgatullina G.V. 96
Sidorik L. 62,164,202
Sidorov A.V. 70
Sirenko Yu. 202
Sivko R. 16,278,320
Sivolob A.V. 98
Sizemskaya M.L. 442
Skryma R. 129
Sleta I.V. 134
Slobodyanik N.M. 84
Slusarenko A. 492
Slynko E.E. 404
Slynko Yu.V. 404,406
Smalyuk Yu. 202
Smirnov L.P. 496
Smirnov O. 322
Sobko V.M. 324
Sofilkanych A.P. 270,272
Sokolov O.I. 100,234
Sokolova D.A. 102,276
Sokolova L.V. 194
Sokolova M.K. 100
Sokolyanskaya M.P. 104,106
Solomonov N.G. 52
Speranskaya A.S. 390
Spirina E.V. 398
Staroverov S.A. 140,248
Starzeva O.A. 344
Stepanenko L.G. 312
Stepanets I.A. 152
Stepanova L.I. 78
Steshenko M.M. 28
Stolnikova E.V. 494
Storozhenko V.O. 108
Strotska E.A. 184
Suchomlinova I.E. 34
Sukharev Yu.S. 416
Sukhovskaya I.V. 496
Supin A.Ya. 408
Surov A.V. 418
Suslov V.V. 410,412,414
Svarchevskaya O.Z. 264
Sveshnikov P.G. 178
Svietlova N.B. 108
Sychuk A.M. 308
Talanova V.V. 326
Taran N.Yu. 306
Taran O.P. 346
Temuryants N.A. 238
Tereshchenko V.G. 498
Terlyga N.S. 500
Testov B.V. 502
Timofeev K.N. 110
Timofei O. V. 18
Titov A.F. 266, 326,450
Tomachynska L.I. 300
Topchieva L.V. 266,326
Toporova V.A. 110,178
Torgalo E.O. 186
Torop V.V. 346
Trachtenberg I.M. 330
Tregubova K.V. 368
Trenin A.S. 250
Tribat A.G. 466
Tribat N.S. 338,340
Trosheva T.D. 282
Trubina M.A. 438,444

Adaptive Strategies of Living Systems

June 11-16, 2012, Novy Svet, AR Crimea
Ukraine

Trushina V.A. 114,118,188
Tsepko N.L. 264
Tseyslyer Yu.V. 180,334
Tsudzevich B. 336
Tsvetkov V.O. 46,122
Tsymbalyuk O.V. 288,290
Tsyriuk O.I. 218
Tugay A.V. 506
Tugay T.I. 506
Tumanyants K.N. 328
Tymchenko O.I. 504
Udalova Zh.V. 372
Ulinets V.Z. 108
Ushakova M.V. 418
Uzenbaeva L.B. 14
Varentsova A.A. 20,366
Varlamov V.P. 144
Vasilenko D.A. 18,22
Vengzhen G.S. 102,276
Ventskovska O.A. 66
Vera-Mendoza C. 514
Veselova Zh.V. 146
Vladimirova I.G. 24
Vlasova N.N. 20,366
Voitsitsky V.M. 78
Volodin V.V. 280
Volodina S.O. 280

Voronov I.V. 228,230
Vovk T.B. 150
Voychuk S. 236
Voytenko V.V. 152
Vydzhak O. 202
Vyshnevska A. 148
Yakovchenko L.S. 378
Yakovenko L. 202
Yakubtsova I.V. 348
Yalkovskaya L.E. 424
Yamalov S.M. 512
Yancev A.V. 166
Yanchuk P.I. 118
Yanishevskaya G.S. 346
Yan'kova V.I. 48
Yegorenkova I.V. 368
Yeliseeva O.P. 40
Yerokhina I.A. 42
Yurkevich L.N. 310
Yurkevich O.Yu. 340
Yushkova E.A. 128,344
Zadyra S.V. 464
Zagoskina N.V. 70
Zainullin V.G. 128,344
Zakhoshy I.G. 76
Zalata O.A. 466
Zarei-Darki B. 378

Zayachnikova T.V. 220,340
Zelenin A.V. 390
Zelenskaya N.N. 436
Zhdanova S.N. 384
Zheltukhina G.A. 250
Zhigulskaya Z.A. 434
Zhivotovsky L.A. 510
Zholos A.V. 129
Zhuikova T.V. 370
Zhuk I.V. 252
Zhuk O. 256
Zhuk O.N. 296,298
Zhuk V.V. 254
Zhuravsky A.N. 230
Zima I.G. 112
Zinovieva S.V. 372
Zobov V.V. 294
Zotin A.A. 44
Zubkova J.N. 316
Zueva I.V. 294
Zuza S.G. 88
Zuza V.A. 88
Zvonkova M.B. 258
Zykov S.V. 374

Адаптационные стратегии живых систем

11-16 июня 2012, Новый Свет, АР Крым
Украина

СОДЕРЖАНИЕ

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, КЛЕТОЧНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ	3
2. ПАТОЛОГИЯ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ	131
3. УПРАВЛЕНИЕ АДАПТАЦИОННЫМИ ПРОЦЕССАМИ С ПОМОЩЬЮ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ	207
4. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ ЧЕЛОВЕКА В СОЦИУМЕ	351
5. МЕХАНИЗМЫ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ	359
6. АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНОГО ПОТЕПЛЕНИЯ	429
7. АДАПТАЦИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ К УСЛОВИЯМ ТЕХНОСФЕРЫ	445
8. ВОПРОСЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ	517
9. СПИСОК АВТОРОВ	521

CONTENT

1. MOLECULAR, CELL AND SYSTEM MECHANISMS OF ONTOGENETIC ADAPTATIONS	3
2. PATHOLOGY OF ONTOGENETIC ADAPTATIONS	131
3. ADAPTATION PROCESSES CONTROL USING PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS	207
4. MEDICAL-BIOLOGICAL PROBLEMS OF HUMAN ADAPTATION IN SOCIUM	351
5. MECHANISMS OF PHYLOGENETIC ADAPTATIONS	359
6. ADAPTIVE STRATEGY OF ECOSYSTEMS IN A GLOBAL WARMING	429
7. ADAPTATION OF LIVING ORGANISMS TO THE TECHNOSPHERE	445
8. BIOSAFETY	517
9. LIST OF AUTHORS	525

Научное издание

**Тезисы докладов
Междисциплинарной научной конференции
«АДАПТАЦИОННЫЕ СТРАТЕГИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ»
Новый Свет, Крым, Украина
11–16 июня 2012**

Редактор: В.С. Мартынюк

Дизайн: В.С. Мартынюк
Дизайн обложки: В.С. Мартынюк
Верстка: В.С. Мартынюк

Подписано в печать 15.05.2012 г.
61 усл. печ. л. Формат: 86 x122М/16
Бумага офсетная
Гарнитура Arial,
Печать: офсетная
Тираж 200 экз.

Издатель В.С. Мартынюк
Свидетельство субъекта издательского дела
серия ДК № 2935 от 14.08.2007
Украина, г. Киев, 030022, ул. Ломоносова, 81, корп. 1.
www.publisher.science-center.net
e-mail: mavis@science-center.net
тел.: +38 050 6535592

Отпечатано в типографии ФЛП Бровко А.А.
96500, г. Саки, ул. Тимирязева, 30.