

Вестник Московского университета

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Основан в ноябре 1946 г.

Серия 16 **БИОЛОГИЯ**

Издательство Московского университета

№ 3 • 2012 • ИЮЛЬ–СЕНТЯБРЬ

Выходит один раз в три месяца

СОДЕРЖАНИЕ

Физиология

- Новоселецкая А.В., Тушмалова Н.А. Новый спектр действия препарата деринат: влияние на память 3

Биохимия

- Студитский В.М., Орловский И.В., Чертков О.В., Ефимова Н.С., Логинова М.А., Кулаева О.И. Молекулярные механизмы транскрипции хроматина РНК-полимеразой 3. Часть 1 6

Генетика

- Сафронова Л.Д., Сергеев Е.Г., Монахова М.А. СК-кариотипирование на основе электронно-микроскопического анализа сперматоцитов лисиц (*Vulpes fulvus*) 12

Энтомология

- Елаева Н.Ф., Корсуновская О.С. Экологические особенности и звуковая сигнализация реликтового кузнечика *Deracantha onos* (Pallas, 1772) (Orthoptera, Tettigoniidae, Bradyporinae) 16
- Беляев О.А., Чуканов В.С., Фарисенков С.Э. Сравнительная характеристика крылового аппарата и полета некоторых двукрылых (Diptera, Brachycera) 23

Микология и альгология

- Буркин А.А., Толпышева Т.Ю., Кононенко Г.П. Сохранность вторичных метаболитов грибов в гербарных образцах лишайников 28

Экология

- Ильяш Л.В., Белевич Т.А., Маторин Д.Н. Параметры флуоресценции беломорского фитопланктона при разных источниках азота 33
- Зарубина А.П., Гапочка М.Г., Новоселова Л.А., Гапочка Л.Д. Биотестирование тест-системой “Эколюм” влияния электромагнитного поля низкой интенсивности на токсичность бытовых стоков 39
- Таранец И.П., Смуров А.В., Кузнецова Н.А. Репрезентативность проб разного размера при учете численности и оценке горизонтального распределения почвенных коллембол 44

Фауна, флора

- Копылов-Гуськов Ю.О. Ковыли украинский и Залесского: морфологическое и ареалогическое сравнение 49

CONTENTS

Physiology

- Novoseleetskaya A.V., Tushmalova N.A.* Derinat a new range of action: influence on memory 3

Biochemistry

- Studitsky V.M., Orlovsky I.V., Chertkov O.V., Efimova N.S., Loginova M.A., Kulaeva O.I.* Molecular mechanisms of transcription through chromatin by RNA polymerase III. Pt. 1. . . . 6

Genetics

- Safronova L.D., Sergeev E.G., Monachova M.A.* SC-karyotyping on electronic microscopy (EM) of analysis of synaptonemal complexes (SC) spermatocytes of fox (*Vulpes fulvus*) . . . 12

Entomology

- Elaeva N.F., Korsunovskaya O.S.* Environmental features and sound signalling of the relict bush cricket *Deracantha onos* (Pallas, 1772) (Orthoptera, Tettigoniidae, Bradyporinae) . . . 16
- Belyaev O.A., Chukanov V.S., Farisenkov S.E.* Comparative characteristics of flight apparatus and flight of some flies (Diptera, Brachycera). 23

Mycology and Algology

- Burkin A.A., Tolpysheva T.Yu., Kononenko G.P.* Safety of fungal secondary metabolites in herbarial lichen specimens 28

Ecology

- Ilyash L.V., Belevich T.A., Matorin D.N.* Fluorescence of White Sea phytoplankton under different nitrogen source and two levels of irradiance. 33
- Zarubina A.P., Gapochka M.G., Novoselova L.A., Gapochka L.D.* Biotesting of influence of the electromagnetic field of low intensity on the toxicity of the sewage water by the test system "Ecolum" 39
- Taranets I.P., Smurov A.V., Kuznetsova N.A.* Different size sample representativeness in population accounting and estimation of soil-dwelling collembola horizontal distribution . . . 44

Fauna, Flora

- Kopylov-Guskov Yu.O.* *Stipa ucrainica* and *S. zalesskii* (Gramineae): morphological and areological comparison. 49

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.82:612.821.6

НОВЫЙ СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ДЕРИНАТ: ВЛИЯНИЕ НА ПАМЯТЬ

А.В. Новоселецкая, Н.А. Тушмалова

*(кафедра высшей нервной деятельности, лаборатория эволюции механизмов памяти;
e-mail: neuron1211@rambler.ru)*

В данном исследовании был выявлен мнемотропный эффект в действии дерината — биологически активного соединения природного происхождения — на формирование у крыс условных рефлексов активного и пассивного избегания. Деринат ускоряет выработку условных рефлексов. Эффект проявляется на начальных этапах выработки, что напоминает влияние ноотропов.

Ключевые слова: деринат, память, условный рефлекс активного избегания.

Введение

В эпоху ноосферы, эпоху активного техногенного прогресса, приводящего к негативным антропогенным воздействиям, все большее значение приобретает разработка способов защиты психики человека. Именно поэтому трудно переоценить роль природных соединений как регуляторов поведения человека и животных.

Следует специально подчеркнуть значение этих соединений в регуляции такой “чуткой” формы поведения, как приобретенная память. В частности, было продемонстрировано положительное влияние на условно-рефлекторную память крыс биологически активных соединений различного природного происхождения — полидана, пиявита, пантогематогена [1–4].

Несмотря на всестороннее изучение различных свойств дерината [5–8], мы не обнаружили экспериментов, посвященных изучению мнемотропных спектров действия этого природного соединения.

Цель нашей работы состояла в изучении эффекта препарата на формировании и сохранение оборонительных условных рефлексов пассивного и активного избегания как общепринятых экспериментальных моделей приобретенной памяти.

Материалы и методы

Деринат — это натриевая соль ДНК, деполимеризованная ультразвуком до частиц с молекулярной массой 270–500 кД в 0,1%-м растворе хлорида натрия. Препарат получают из молок осетровых и лососевых рыб.

Работа проводилась на 54 белых беспородных крысах весом в среднем 200 г, которые содержались в стандартных условиях вивария в полиэтиленовых клетках при нормальном световом режиме и

свободном доступе к воде и пище. Животные были разделены на две группы: I — вырабатывали условный рефлекс активного избегания (УРАИ) (36 крыс), II — вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) (18 крыс).

До выработки условных рефлексов животным опытной подгруппы в течение пяти дней внутрибрюшинно (в одно и то же время) один раз в сутки вводили препарат деринат (300 мг/кг) в объеме 0,3 мл. Контрольным крысам вводили физиологический раствор эквивалентного объема. Во II группе животных в качестве препарата сравнения был использован эталонный ноотроп пирацетам в дозе, оптимизирующей память (300 мг/кг).

На пятый день, через 40 мин после инъекции, у животных вырабатывали условные рефлексы. Выработку проводили в челночной камере размером 60 × 30 × 30, разделенной перегородкой, имеющей дверцу. Отделения были снабжены электрифицированным решетчатым полом из прутьев из нержавеющей стали диаметром 0,6 см, расстояние между которыми составило 1 см. В тесте УРПИ стены и потолок одной половины камеры были затемнены, в другой половине — прозрачны, а в тесте УРАИ стены и потолок двух отделов камеры были прозрачны.

Критерием выработки УРПИ являлось увеличение значения латентного периода перехода в темную половину камеры. Также был изучен отдаленный эффект дерината при повторном воспроизведении реакции у крыс через 48 ч, через неделю и через две недели после обучения.

Выработку УРАИ начинали с определения порога индивидуальной чувствительности животного к электрическому току. Пороговым значением считали минимальное напряжение тока, на которое животное отвечало двигательной реакцией [9]. К условно-

му раздражителю (звук 700 Гц) через 10 с изолированного действия подключался безусловный раздражитель — электрический ток силой 0,4–0,9 мА в зависимости от порога индивидуальной чувствительности. При переходе животного в другую половину камеры звук и ток выключались. Каждый опыт состоял из 25 предъявлений с 25–30-секундным межсигнальным периодом. Опыты проводили ежедневно в течение 14 дней до формирования устойчивого рефлекса, который оценивали по критерию обученности (более 80% реакций избегания от числа предъявлений). Фиксировалось число реакций избегания, избегания и межсигнальных реакций.

Статистическую обработку результатов проводили в программе STATISTICA с использованием непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Нами была проведена серия экспериментов, где о влиянии на память исследуемого соединения судили по изменению латентного периода захода животных в темный отсек камеры. Этот временной критерий сравнивали с таковым у контрольной группы животных и животных, получающих эталонный ноотроп пирацетам (рис. 1).

Были изучены мнемоторные эффекты дерината как через 24 ч, так и в более отдаленный срок (спустя 48 ч, 7 дней и 14 дней). Во время проверки образования пассивно-оборонительной условно-рефлекторной реакции при тестировании животных через 24 ч после обучения оказалось, что большинство крыс первоначально неподвижны в светлом отсеке, но спустя какое-то время они проявляли активную ориентировочную реакцию — исследование входа в темный отсек камеры.

При анализе отдаленного влияния препарата деринат оказалось, что через неделю все крысы не вошли в темный отсек камеры, а у животных контрольной группы латентный период перехода в темную часть камеры составил 107 с. Через две недели после формирования памятного следа время вхождения в темную часть камеры у контрольных животных составило 108 с; у животных, которым вводили пирацетам, — 180 с, а у животных, которым вводили деринат, — 173 с.

Следует подчеркнуть, что время нахождения в светлом отсеке камеры у всех опытных крыс, получавших внутривентрикулярно препараты пирацетам и деринат, превышало 3 мин по сравнению с контрольными животными, у которых латентный период нахождения в светлом отсеке камеры был меньше.

Полученные нами результаты при исследовании выработки условного рефлекса пассивного избегания у крыс выявили оптимизирующий эффект дерината на память (увеличение длительности сохранения памятного следа). Полученные данные могут быть

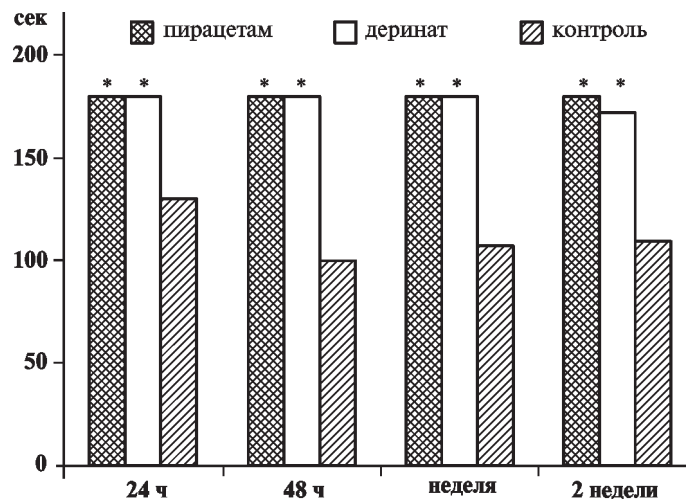


Рис. 1. Сравнение усредненных значений латентного периода входа в темную камеру у экспериментальных животных через определенные промежутки времени. * — $p < 0,05$ относительно контроля (физиологический раствор)

объяснены с точки зрения влияния этого препарата на характер активности внутриклеточных макромолекулярных перестроек, отражающих процессы формирования памяти животных в эволюции [10].

При изучении влияния ДНК-содержащего препарата на формирование реакции избегания показано, что деринат ускоряет процесс ее формирования по сравнению с контрольной группой. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что процесс обучения в опытной группе животных происходил значительно быстрее, чем в контрольной, на протяжении 350 предъявлений условного и безусловного стимулов (рис. 2). Первые реакции избегания, а также 5 и 10 подряд реакций избегания у животных, которым вводили внутривентрикулярно деринат, появлялись раньше.

Следует отметить, что деринат ускоряет формирование реакции избегания и способствует снижению латентного периода перехода в другую часть камеры под действием условного сигнала. Во все дни экспериментов животным опытной группы требуется мень-

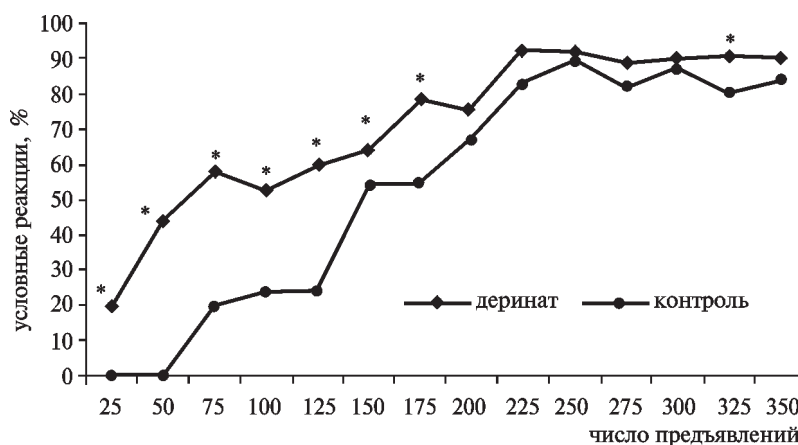


Рис. 2. Динамика формирования условного рефлекса. * — $p < 0,05$ относительно контроля (физиологический раствор)

шая продолжительность действия условного сигнала в отличие от контрольной группы животных.

В первый день экспериментов латентный период перехода в другую часть камеры у опытной группы составлял максимум 16 с, а в контроле — 18 с. Таким образом, уже в первый день выработки УРАИ деринат снижает латентный период перехода животного в другую часть камеры.

В настоящей работе получены данные, свидетельствующие о том, что деринат ускоряет процесс формирования реакции избегания по сравнению

с контрольной группой в каждый из дней обучения, что согласуется с данными, полученными на ноотропных препаратах [11]. Важной характеристикой влияния дерината на УРАИ служит снижение латентного периода перехода в другую часть камеры. Полученные нами результаты исследования выработки условного рефлекса активного избегания у крыс на фоне внутрибрюшинного многократного введения препарата выявили оптимизирующий эффект этого препарата на память.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прагина Л.Л., Тушмалова Н.А., Баскова И.П., Завалова Л.Л. Новый спектр действия пиявита — влияние на память // VI Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”, Москва. 19—21 апреля 1999 г. М., С. 106.
2. Прагина Л.Л., Тушмалова Н.А., Шебалин Н.И. Влияние пантогематогена на память // VII Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”, Москва. 19—23 апреля 2000 г. М., С. 537.
3. Тушмалова Н.А., Прагина Л.Л. Улучшение выработки и воспроизведение УРПИ под действием деривата ДНК (полидан) // Журн. высш. нервн. деят. 1999. Т. 49. С. 777—780.
4. Тушмалова Н.А., Прагина Л.Л. Эволюционно-молекулярный принцип индикации мнемотропных свойств биологически активных соединений природного происхождения // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2002. № 3. С. 3—6.
5. Каплина Э.Н., Вайнберг Ю.П. Деринат — природный иммуномодулятор для детей и взрослых. М.: Научная книга, 2007. 240 с.
6. Каплина Э.Н., Бажанов Н.О. Применение дерината в хирургии. Пособие для практикующих врачей. М.: Научная книга, 2006. 38 с.
7. Каплина Э.Н., Бажанов Н.О. Применение дерината в офтальмологии. Пособие для практикующих врачей. М.: Научная книга, 2006. 29 с.
8. Каплина Э.Н., Бажанов Н.О. Применение дерината в кардиологии. Пособие для практикующих врачей. М.: Научная книга, 2006. 48 с.
9. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. С. 175—189.
10. Тушмалова Н.А., Маракуева И.В. Сравнительно-физиологическое исследование ультраструктурных аспектов памяти. М.: Наука, 1986. 158 с.
11. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Редмедимум, 2000. С. 126—130.

Поступила в редакцию
26.05.11

DERINAT A NEW RANGE OF ACTION: INFLUENCE ON MEMORY

A.V. Novoseletskaia, N.A. Tushmalova

In the present research we studied mнемotropic effect of Derinat — the biologically active compound of natural origin — on the passiv avoidance conditioned reflex and active avoidance conditioned reflex. Derinat accelerates the development of the conditioned reflexes. The effect was observed in early stages of the experiments, similarly to the influence of nootropic drugs.

Key words: *Derinat, memory, active avoidance conditioned reflex.*

Сведения об авторах

Новоселецкая Анна Владимировна — науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности и лаборатории эволюции механизмов памяти биологического факультета МГУ. Тел: 8-495-939-50-01; e-mail: neuron1211@rambler.ru

Тушмалова Нина Александровна — докт. биол. наук, проф., гл. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности и лаборатории эволюции механизмов памяти биологического факультета МГУ, заслуженный научный сотрудник Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Тел: 8-495-939-50-01; e-mail: neuron1211@rambler.ru

БИОХИМИЯ

УДК 577.214.39

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ТРАНСКРИПЦИИ
ХРОМАТИНА РНК-ПОЛИМЕРАЗой 3. ЧАСТЬ 1**В.М. Студитский*, И.В. Орловский, О.В. Чертков, Н.С. Ефимова,
М.А. Логинова, О.И. Кулаева****(лаборатория регуляции транскрипции и репликации, кафедра биоинженерии;
e-mail: studitym@umdnj.edu)*

Хроматин обеспечивает плотную упаковку ДНК в эукариотических ядрах и ее надлежащее функционирование. В обзоре описаны механизмы, с помощью которых РНК-полимераза 3 (РНКП3) транскрибирует хроматин. Этот механизм характерен для эукариотических РНКП3, РНКП некоторых бактериофагов и многих АТФ-зависимых комплексов, ремоделирующих хроматин. При ремоделировании хроматина по этому механизму нуклеосомы перемещаются вдоль ДНК без диссоциации октамера в раствор.

Ключевые слова: хроматин, транскрипция, элонгация, нуклеосома, РНК-полимераза 3.

Транскрипция является первой стадией экспрессии генетического материала в клетках всех организмов. Именно на уровне транскрипции действуют основные механизмы генетической регуляции. Главным ферментом, осуществляющим транскрипцию, является РНК-полимераза (РНКП). Структура РНКП и механизм синтеза РНК высококонсервативны у всех организмов, от бактерий до человека [1]. У эукариот синтез РНК осуществляется на ДНК, организованной в хроматин.

Хроматин состоит из повторяющихся элементов, называемых нуклеосомами. Ядро ("кор") нуклеосомы представляет собой участок ДНК длиной 147 п.н., организованный в виде 1,66 сверхспиральных витков на поверхности гистоновой октамеры, включающего две молекулы коровых гистонов H2A, H2B, H3 и H4 [2, 3]. Одна молекула линкерного гистона H1 связана с ДНК на входе и выходе из кор-нуклеосомы, а также с участками ДНК между соседними нуклеосомами [4]. Нуклеосомы упакованы в 30-нм фибриллы хроматина [5, 6], которые в свою очередь упакованы в пока недостаточно изученные, более компактные структуры.

Компактная структура хроматина существенно затрудняет протекание таких процессов, как репликация, рекомбинация, репарация и транскрипция ДНК *in vivo*. В работах лабораторий Бикмор и Кука была предложена двухступенчатая модель изменений структуры хроматина, ассоциированных с транскрипцией РНКП2 *in vivo* [7]. (1) Нетранскрибируемый, высококомпактный хроматин переходит в состояние го-

товности к транскрипции (30-нм фибриллы, (2)) (3). При транскрипции структура 30-нм фибриллы нарушается. Участки ДНК, расположенные между транскрибирующими молекулами РНКП2, остаются связанными с нуклеосомами, за исключением случаев, когда гены транскрибируются с чрезвычайно высокой эффективностью. В то же время транскрипция генов РНК-полимеразой 3 (РНКП3) сопровождается существенно более выраженным нарушением структуры хроматина и, скорее всего, интенсивным обменом всех коровых гистонов.

Структуры 30-нм фибрилл и нуклеосом несовместимы с процессом транскрипции и должны быть по крайней мере частично разрушены, чтобы РНКП могли двигаться вдоль ДНК (рис. 1: цепочка нуклеосом образует соленоид, в котором на виток приходится шесть—восемь динуклеосом. Показана только ДНК. Для сравнения приведен приблизительный размер мультисубъединичной РНК-полимеразы 3 (РНКП3) и РНК-полимеразы бактериофага SP6. При транскрипции РНКП3 нарушается как структура 30-нм фибриллы, так и нуклеосомная структура (вставка)). В то же время нарушение нормального метаболизма хроматина во время элонгации транскриптов приводит к потере жизнеспособности клеток [8], преждевременному старению [9] и часто наблюдается при развитии различных форм рака [10]. Таким образом, понимание детального механизма транскрипции хроматина представляет не только фундаментальный интерес, но имеет и важнейшее практическое значение.

*Department of Pharmacology, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, 675 Hoes Lane, Room 405, Piscataway, NJ 08854, USA.

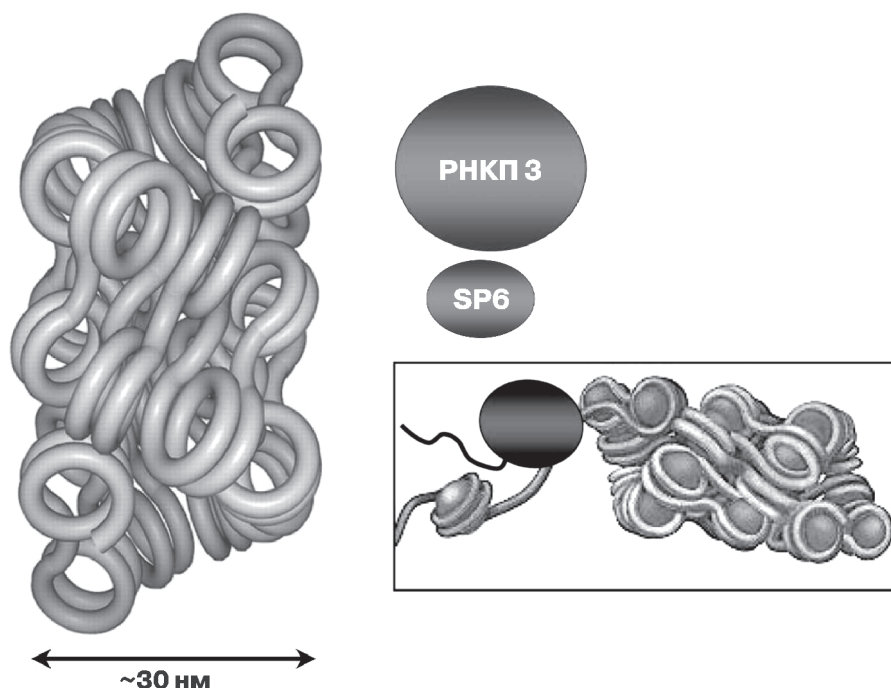


Рис. 1. Структура 30-нм фибрилл хроматина

РНК-полимераза бактериофага SP6 была использована для анализа механизмов транскрипции хроматина главным образом потому, что эта РНКП способна эффективно транскрибировать большинство матриц, упакованных в нуклеосомы, и поэтому позволяет проводить прямые биохимические исследования механизма транскрипции хроматина *in vitro*. Кроме того, такая экспериментальная система успешно воспроизводит сохранение нуклеосом на транскрибируемой матрице [11], описанное *in vivo* [12].

Современные представления о механизме транскрипции хроматина опираются на открытие транслокации нуклеосом при транскрипции хроматина РНК-полимеразой бактериофага SP6 [11, 13]. Эти работы были выполнены с использованием линейных матриц, имеющих длину, достаточную для образования только одного нуклеосомного кора (во всех описанных в этой части работах использовали только гистоновый октамер без линкерных гистонов) (рис. 2. **Верх:** рестрикционная карта 227-п.н. моонуклеосомной матрицы, использованной в эксперименте. ДНК была помечена по концу. Основные позиции нуклеосом до и после транскрипции показаны. **Низ:** защита от рестриктаз моонуклеосомной ДНК: анализ с помощью ПААГ-электрофореза в нативных условиях. Нуклеосомы обрабатывали различными рестриктазами (А, В и Н). Устойчивость и чувствительность нуклеосомной ДНК к различным рестриктазам до и после транскрипции указывают на то, что происходит перенос нуклеосомы (нуклеосомы, расположенные на разных концах фрагмента ДНК, имеют одинаковую подвижность в нативном геле)).

Использование коротких (220—265 п.н.) матриц ДНК ограничивает число возможных положений нук-

леосомы и поэтому облегчает их анализ во время и после транскрипции. Кроме того, позиционные изомеры нуклеосом легко различить по их подвижности после гель-электрофореза и по изменению чувствительности участков, защищенных от гидролиза рестриктазами (если сайт рестрикции приходится на участок ДНК, упакованный в нуклеосому, он становится практически полностью защищенным от гидролиза).

Было показано, что после первого раунда транскрипции октамер остается на матрице, но перемещается (обычно на 40—80 п.н.) в направлении, обратном транскрипции (рис. 2 [11]), так что нуклеосомы после транскрипции располагаются на промоторе, блокируя последующую реинициацию транскрипции (рис. 3: анализ меченых транскриптов в денатурирующем геле). Нуклеосомы транскрибировали без меченых нуклеотидов, чтобы вызвать перемещение октамера гистонов в область промотора и чтобы *ScaI* и *AvaI* сайты были защищены от рестриктаз (как показано на схеме). Затем все чувствительные матрицы были обработаны *ScaI* и *AvaI* (только матрицы с нуклеосомами на промоторе не чувствительны к ферментам). Добавлены [α - 32 P] УТФ и свежая

меченых нуклеотидов, чтобы вызвать перемещение октамера гистонов в область промотора и чтобы *ScaI* и *AvaI* сайты были защищены от рестриктаз (как показано на схеме). Затем все чувствительные матрицы были обработаны *ScaI* и *AvaI* (только матрицы с нуклеосомами на промоторе не чувствительны к ферментам). Добавлены [α - 32 P] УТФ и свежая

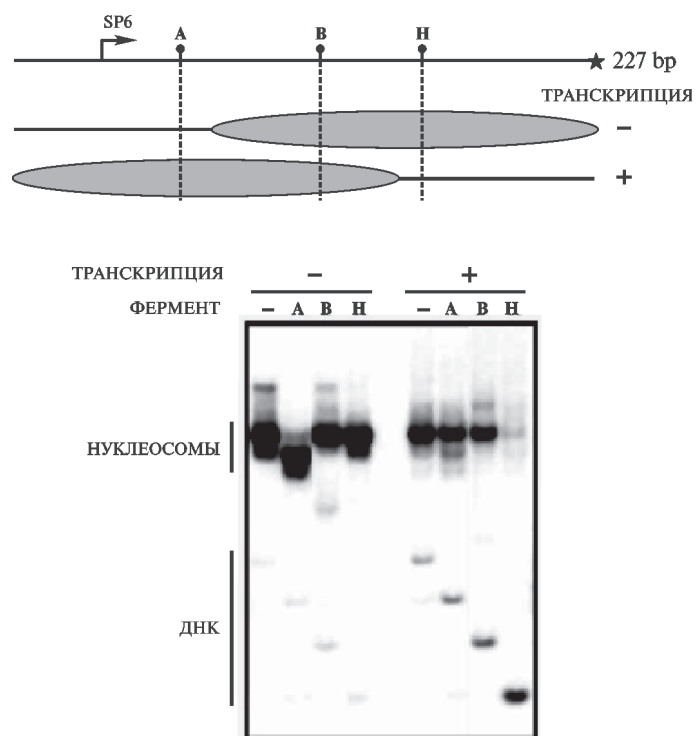


Рис. 2. Транскрипция коротких (227 п.н.) линейных моонуклеосомных матриц SP6 РНК-полимеразой вызывает транслокацию нуклеосомного кора на расстояние около 80 п.н. [11]

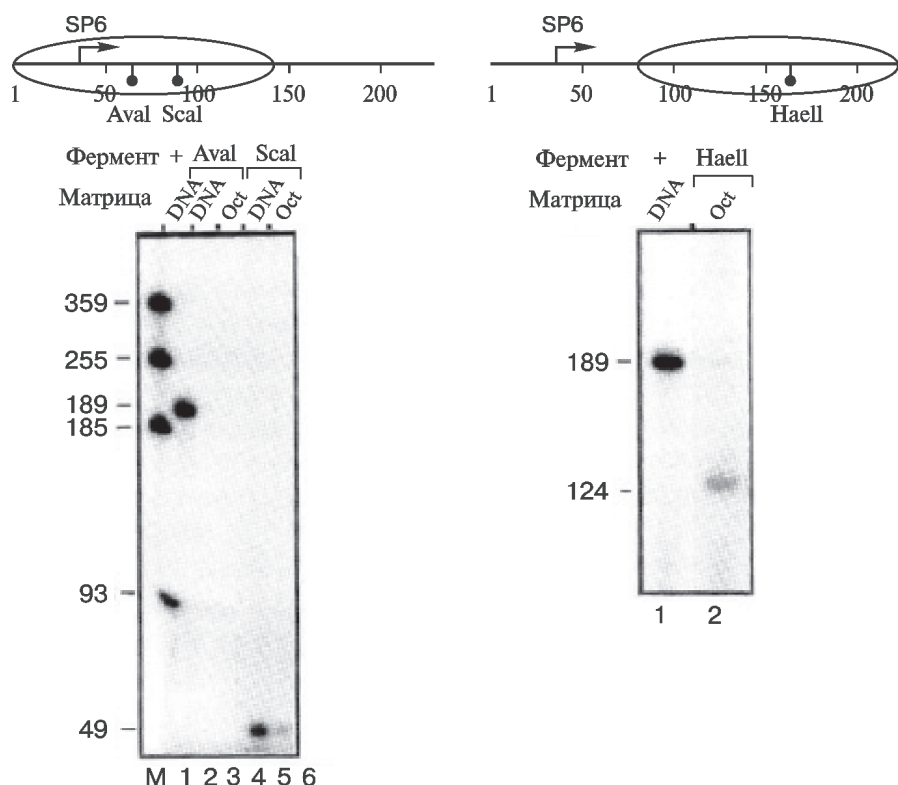


Рис. 3. Транслокация нуклеосом во время транскрипции приводит к блокировке промотора [11]

полимераза, после чего транскрипцию продолжали в течение 20 мин. Видно, что после предварительной транскрипции ДНК продолжает транскрибироваться, тогда как нуклеосомные матрицы (после транслокации) не дают полноразмерных транскриптов (М — маркеры РНК). Переносится более 90% октамеров, и этот процесс зависит от транскрипции: при удалении из реакционной смеси РНК-полимеразы или одного из нуклеозидтрифосфатов (НТФ) переноса октамера не происходит. Таким образом, в условиях относительно простой и высокоочищенной экспериментальной системы воспроизводятся важные характеристики транскрипции хроматина *in vivo* (см. выше): способность нуклеосом сохраняться при транскрипции и при этом менять свое положение на ДНК.

Эти данные позволяют предположить, что октамеры гистонов либо: 1) диссоциируют от ДНК и затем снова связываются с фрагментом ДНК, либо 2) напрямую (без полного выхода октамера в раствор) переносятся к промотору при продвижении РНК-полимеразы. В поддержку второй модели были получены данные по распределению позиционных изомеров нуклеосом, в которых единичные нуклеосомы расположены на разных участках одного фрагмента ДНК до транскрипции. Каждый позиционный изомер генерирует определенный набор положений октамера после транскрипции (рис. 4: расположение нуклеосом на матрицах длиной 262 п.н. до и после транскрипции. Стрелкой отмечено положение

промотора для РНК-полимеразы бактериофага SP6. Для каждой матрицы (2 и 3) положения нуклеосом до и после транскрипции показаны в верхней и нижней частях рисунка соответственно. Распределения положений нуклеосом, полученных после транскрипции матриц 2 и 3, совпадают только частично). Трудно было бы найти объяснение такому “запоминанию” претранскрипционного положения октамера на ДНК, если допустить полную диссоциацию октамера в раствор с последующим его связыванием с ДНК [11].

Дополнительное доказательство модели прямого переноса гистонов октамера было получено в следующих биохимических опытах. В определенных экспериментальных условиях (например, в присутствии низких концентраций НТФ) не происходит переноса октамера на конкурентную ДНК. В то же время октамер эффективно переносится *in cis* на тот же фрагмент ДНК, с которым он был изначально связан [11]. Этот результат также согласуется только с опи-

санной выше моделью прямого переноса, но не с моделью диссоциации октамера в раствор и его реассоциации. Тот факт, что при высоких концентрациях НТФ октамер может быть перенесен на фрагмент ДНК *in trans*, свидетельствует о том, что концентрация конкурентной ДНК была бы достаточна для связывания с октамером, если бы произошел его выход в раствор во время переноса при низких концентрациях НТФ [11].

Для объяснения механизма прямого переноса была предложена модель “намотки” (рис. 5: 1 — при достижении РНК-полимеразой SP6 нуклеосом происходит диссоциация проксимальной нуклеосомной ДНК и частично высвобождается поверхность гистонов октамера. Отмечена граница (В) нуклео-

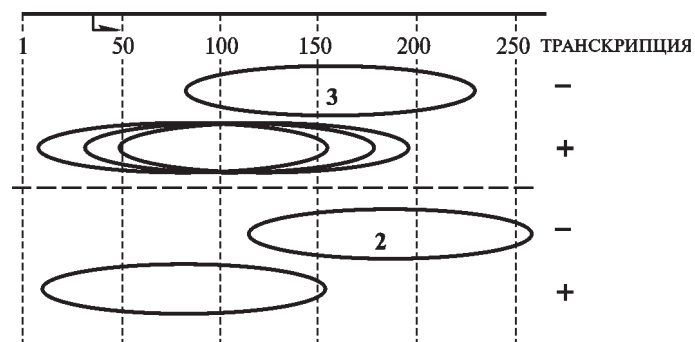


Рис. 4. “Память” при транслокации нуклеосомы: положение нуклеосом после транскрипции зависит от их положения до транскрипции [11]

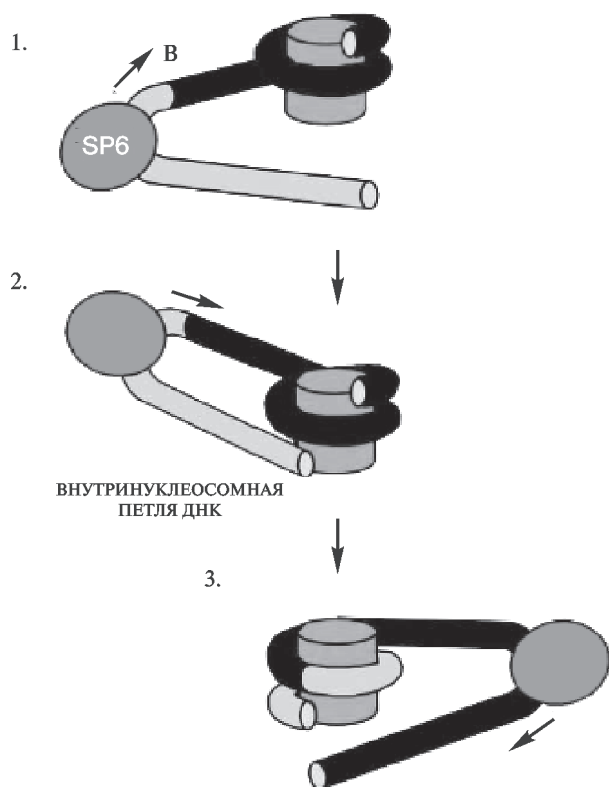


Рис. 5. Механизм “намотки” (прямого переноса) нуклеосом при транскрипции [11]

сомы, черным выделена нуклеосомная ДНК до переноса. 2 — ДНК сзади полимеразы связывается с поверхностью гистоновых октамеров, формируя внутринуклеосомную петлю, причем сохраняется связь между нуклеосомной ДНК и полимеразой. Такая петля является топологически обособленным доменом и подвергается сильному сверхспирализующему воздействию. ДНК перед транскрибирующей полимеразой продолжает раскручиваться с поверхности октамера, ДНК же сзади полимеразы начинает накручиваться на октамер. 3 — нуклеосомный кор располагается сзади полимеразы, которая завершает транскрипцию. РНК не показана [11]). Когда транскрибирующая полимеразы достигает нуклеосомы, она вызывает частичное раскручивание проксимального участка ДНК с поверхности гистоновых октамеров. По мере того как полимеразы входит в нуклеосому, происходит дальнейшее разворачивание сверхспиралей нуклеосомной ДНК, поверхность гистоновых октамеров высвобождается и может связывать только что пройденный полимеразой участок ДНК, в результате чего образуется петля ДНК внутри нуклеосомного кора. Образование внутринуклеосомной петли ДНК в элонгационном комплексе, скорее всего, облегчается с помощью индуцируемого полимеразой излома ДНК в элонгационном комплексе. Участок ДНК перед транскрибирующей полимеразой раскручивается с поверхности октамера гистонов, в то время как участок ДНК за полимеразой

накручивается на октамер гистонов. Таким образом, нуклеосомный кор переносится в новое положение, а полимеразы получает возможность завершить транскрипцию.

Транслокация нуклеосом наблюдалась при транскрипции РНК-полимеразой бактериофага SP6 как коротких линейных, так и гораздо более длинных кольцевых моноклеосомных матриц. Многочисленные наблюдения подтверждают, что такой механизм “намотки” работает и в случае полинуклеосомных матриц. Так, при транскрипции полинуклеосомных матриц не наблюдалось потери гистоновых октамеров, что может свидетельствовать об участии в этом процессе сходных механизмов.

В опытах *in vitro* было показано значительное уменьшение скорости транскрипции всеми исследованными РНК-полимеразой (бактериофага SP6, *E. coli*, полимеразы 2 и 3) в присутствии нуклеосом. При завершении этапа прямого переноса гистоновых октамера во время транскрипции на нуклеосоме можно было бы ожидать, что этот нуклеосомный барьер исчезнет. Так, изучение вызванных нуклеосомными пауз при транскрипции может позволить определить момент переноса гистоновых октамера. Для изучения замедления транскрипции нуклеосомными использовали короткие моноклеосомные матрицы, позволяющие синхронизировать момент начала транскрипции. Сразу после точки начала транскрипции на матрицах помещали короткую последовательность, не содержащую цитозина, что допускало синтез только коротких транскриптов, после чего реакция блокировалась в отсутствие ЦТФ. Добавление ЦТФ в реакцию снимало блокаду и запускало немедленное синхронное продолжение всех транскриптов. При транскрипции нуклеосом наблюдаются отчетливые и специфичные паузы [14]. Для двух нуклеосом, по-разному позиционированных на одном и том же фрагменте ДНК, участок зависимого от нуклеосомы замедления транскрипции ограничен участком нуклеосомной ДНК, предшествующей диадной оси нуклеосомы (25–60 п.н. внутри нуклеосомы). Тот факт, что участки замедления транскрипции расположены в сходных местах относительно нуклеосомы независимо от последовательности ДНК, показывает, что такой механизм замедления транскрипции связан, скорее всего, со свойствами нуклеосомы, чем со свойствами ДНК как таковой. Не обнаружено пауз в транскрипции на участке после диадной оси; это свидетельствует о том, что этот участок нуклеосомной ДНК транскрибируется так, как будто он находится в свободном состоянии, и что, по-видимому, перенос гистоновых октамера завершается до этого. Перед переносом ДНК-связанный октамер приводит к формированию пауз при транскрипции; после переноса октамера никаких других препятствий для продвижения полимеразы нет, и задержки транскрипции не проис-

ходит. Таким образом, анализ распределения нуклеосом-специфичных пауз позволяет предположить, что перенос гистоновых октамеров завершается до того момента, когда полимеразы достигают диадной оси нуклеосомы [14].

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ в рамках выполнения постановления № 220 (Договор с Министерством науки и образования № 11.G34.31.0009).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Borukhov S., Nudler E. RNA polymerase: the vehicle of transcription // *Trends Microbiol.* 2008. Vol. 16. N 3. P. 126—134.
2. Davey C.A., Sargent D.F., Luger K., Maeder A.W., Richmond T.J. Solvent mediated interactions in the structure of the nucleosome core particle at 1,9 Å resolution // *J. Mol. Biol.* 2002. Vol. 319. N 5. P. 1097—1113.
3. Luger K., Mader A.W., Richmond R.K., Sargent D.F., Richmond T.J. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2,8 Å resolution // *Nature.* 1997. Vol. 389. N 6648. P. 251—260.
4. Syed S.H., Goutte-Gattat D., Becker N., Meyer S., Shukla M.S., Hayes J.J., Everaers R., Angelov D., Bednar J., Dimitrov S. Single-base resolution mapping of H1-nucleosome interactions and 3D organization of the nucleosome // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107. N 21. P. 9620—9625.
5. Schalch T., Duda S., Sargent D.F., Richmond T.J. X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre // *Nature.* 2005. Vol. 436. N 7047. P. 138—141.
6. Routh A., Sandin S., Rhodes D. Nucleosome repeat length and linker histone stoichiometry determine chromatin fiber structure // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. Vol. 105. N 26. P. 8872—8877.
7. Fraser P., Bickmore W. Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation // *Nature.* 2007. Vol. 447. N 7143. P. 413—417.
8. Martens J.A., Wu P.Y., Winston F. Regulation of an intergenic transcript controls adjacent gene transcription in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genes Dev.* 2005. Vol. 19. N 22. P. 2695—2704.
9. Feser J., Truong D., Das C., Carson J.J., Kieft J., Harkness T., Tyler J.K. Elevated histone expression promotes life span extension // *Mol. Cell.* 2010. Vol. 39. N 5. P. 724—735.
10. Chi P., Allis C.D., Wang G.G. Covalent histone modifications—miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers // *Nat. Rev. Cancer.* 2010. Vol. 10. N 7. P. 457—469.
11. Studitsky V.M., Clark D.J., Felsenfeld G. A histone octamer can step around a transcribing polymerase without leaving the template // *Cell.* 1994. Vol. 76. N 2. P. 371—382.
12. Mavrich T.N., Jiang C., Ioshikhes I.P., Li X., Venters B.J., Zanton S.J., Tomsho L.P., Qi J., Glaser R.L., Schuster S.C., Gilmour D.S., Albert I., Pugh B.F. Nucleosome organization in the *Drosophila* genome // *Nature.* 2008. Vol. 453. N 7193. P. 358—362.
13. Bednar J., Studitsky V.M., Grigoryev S.A., Felsenfeld G., Woodcock C.L. The nature of the nucleosomal barrier to transcription: direct observation of paused intermediates by electron cryomicroscopy // *Mol. Cell.* 1999. Vol. 4. N 3. P. 377—386.
14. Studitsky V.M., Clark D.J., Felsenfeld G. Overcoming a nucleosomal barrier to transcription // *Cell.* 1995. Vol. 83. N 1. P. 19—27.

Поступила в редакцию
17.10.11

MOLECULAR MECHANISMS OF TRANSCRIPTION THROUGH CHROMATIN BY RNA POLYMERASE III

V.M. Studitsky, I.V. Orlovsky, O.V. Chertkov, N.S. Efimova,
M.A. Loginova, O.I. Kulaeva

Chromatin is designed to tightly package DNA into the eukaryotic nucleus while maintaining its proper functioning. This review describes the mechanisms by which RNA polymerase III transcribes through the chromatin templates. This mechanism is characteristic of eukaryotic Pol III, bacteriophage RNA polymerases, and probably ATP-dependent chromatin remodeling complexes. In this case, nucleosomes are translocated without release of the octamer into solution.

Key words: chromatin, transcription, elongation, nucleosome, RNA polymerase III.

Сведения об авторах

Студитский Василий Михайлович — докт. биол. наук, зав. лабораторией регуляции транскрипции и репликации биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: studitm@umdnj.edu
Орловский Игорь Вячеславович — науч. сотр. лаборатории регуляции транскрипции и репликации биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91, 8-495-922-89-91, e-mail: igor.orlovski@gmail.com

Чертков Олег Валерьевич — науч. сотр. лаборатории регуляции транскрипции и репликации биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: o_chertkov@mail.ru

Ефимова Надежда Сергеевна — аспирантка кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: shordome@gmail.com

Логинова Мария Андреевна — аспирантка кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-938-22-91; e-mail: perhydroselenazina@gmail.com

Кулаева Ольга Игоревна — канд. биол. наук, глав. науч. сотр. лаборатории эпигенетической регуляции транскрипции (Университет Ратгерса, США). E-mail: studitoi@umdnj.edu

ГЕНЕТИКА

УДК 576.316:599.323.4

**СК-КАРИОТИПИРОВАНИЕ НА ОСНОВЕ
ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
СПЕРМАТОЦИТОВ ЛИСИЦ (*VULPES FULVUS*)****Л.Д. Сафронова¹, Е.Г. Сергеев², М.А. Монахова***(кафедра генетики; e-mail:safronova@sevin.ru)*

В данном исследовании представлен электронно-микроскопический (ЭМ) анализ синаптонемного комплекса (СК) сперматоцитов самцов серебристо-черных лисиц (*Vulpes fulvus*) на стадии пахитены и описание СК-кариотипа. Впервые проведено кариотипирование мейотических клеток (пахитенных сперматоцитов). Знание нормального СК-кариотипа необходимо для выявления нарушения синапсиса аутосомных и половых бивалентов в течение пахитены. Показано, что ЭМ анализ СК сперматоцитов — исследование синаптонемного комплекса у сельскохозяйственных животных — является очень хорошим инструментом для проведения сравнительного анализа нормального СК-кариотипа лисиц с носителями аномалий хромосом, в том числе и у пушных зверей.

Ключевые слова: цитогенетика лисицы (*Vulpes fulvus*), мейоз, электронная микроскопия, синаптонемный комплекс, сперматогенез.

Цитогенетический анализ у животных до недавнего времени основывался на изучении хромосом в метафазе соматических клеток. С появлением метода, разработанного М. Дрессером и М. Мозесом [1], стало возможно изучать кариотип, используя синаптонемный комплекс (СК), формирующийся между конъюгирующими хромосомами в зиготене-пахитене в профазе I мейоза. Число СК в клетке равно гаплоидному набору хромосом.

Метод кариотипирования на основе СК получил широкое применение при исследовании мейоза как у животных, так и у человека. Развитие этого метода и оригинальные теоретические разработки были сделаны Мозесом [2, 3]. Этот метод имеет высокую разрешающую способность, позволяет исследовать характер поведения мейотических хромосом и обнаруживать структурные перестройки, которые не выявляются при общепринятом анализе мейотических хромосом в диакинезе. Электронно-микроскопический (ЭМ) анализ СК дает точную информацию о повреждениях хромосом в раннем мейозе и графическое изображение хромосом, отражающее процесс конъюгации, и позволяет выявлять тонкие повреждения хромосом. С помощью ЭМ анализа СК уже изучен мейоз у многих млекопитающих: домового мыши, крысы, мунтжака, китайского хомячка, лемуру, слепушонка, собаки, домашней кошки и др. [2, 4—6], а также имеется ряд исследований,

проведенных на сельскохозяйственных животных (свинья, курица, лошадь) [7, 8] на стадии пахитены-диплотены. Задачей настоящего исследования является ЭМ анализ СК сперматоцитов серебристо-черной лисицы (*Vulpes fulvus*) на стадиях пахитены, а также проведение СК-кариотипирования на основе этого анализа. Знание нормального СК-кариотипа необходимо для выявления нарушения синапсиса хромосом в мейозе, обусловленного хромосомными абберациями.

Материалы и методы

В исследованиях использовали серебристо-черных лисиц (*V. fulvus*), содержащихся в клеточных условиях. Для эксперимента при забое были взяты семенники двух половозрелых (старше двух лет) самцов из популяции зверохозяйства “Пушкинский” Московской обл. Исследованные животные были фенотипически нормальными.

Ввиду растянутости гона у серебристо-черных лисиц была проведена оценка оптимальных сроков взятия материала для исследования мейоза. Наиболее подходящим временем для получения мейотических препаратов с достаточным количеством различных стадий сперматогенеза является последняя декада января [9].

Для электронно-микроскопического анализа синаптонемных комплексов сперматоциты выделяли

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва.

² ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, РАСХН, г. Москва.

по методу Дрессера и Мозеса [1] из клеточной суспензии семенников. Анализ гетерогенной популяции сперматоцитов 1-го порядка, находящихся на разных стадиях профазы 1-го мейоза проводили по Дрессеру и Мозесу [1]. Окрашенные 50%-м раствором нитрата серебра клетки отбирали под световым микроскопом, вырезали с помощью алмазного метчика и анализировали под электронным микроскопом JEM-100C (Япония). Препараты анализировали в течение ранней—поздней пахитены по классификации Мозеса [2]. Всего просмотрено более 40 клеток. Длины СК аутосомных и половых бивалентов сперматоцитов на стадии средней пахитены измерены с помощью программы Leica Application Suite V3 на электронных микрофотографиях. СК-кариотипирование клеток на ранней—средней стадии пахитены (15 клеток), а также на стадии поздней пахитены осуществляли на основе идентификации СК аутосом по относительной длине каждого СК. Раскладка и нумерация СК бивалентов проводилась согласно произведенным измерениям в порядке убывания их линейных размеров.

Результаты и обсуждение

Представлены результаты электронно-микроскопического анализа синаптонемных комплексов сперматоцитов самцов серебристо-черных лисиц (*V. fulvus*) на стадиях пахитены. ЭМ анализ СК сперматоцитов серебристо-черных лисиц обнаружил 16 аутосомных бивалентов нормального типа и Х-У половой бивалент (рис. 1). Синаптонемные комплексы аутосомных бивалентов имели структуру, типичную для млеко-

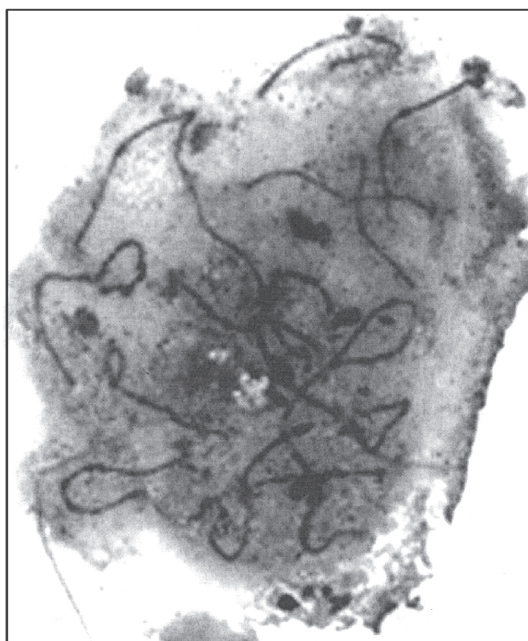


Рис. 1. Электронная микрофотография сперматоцитов самца серебристо-черной лисицы *V. fulvus*. Нормальный синапсис аутосомных бивалентов с четко видимыми осями боковых элементов. Ув. $\times 2000$

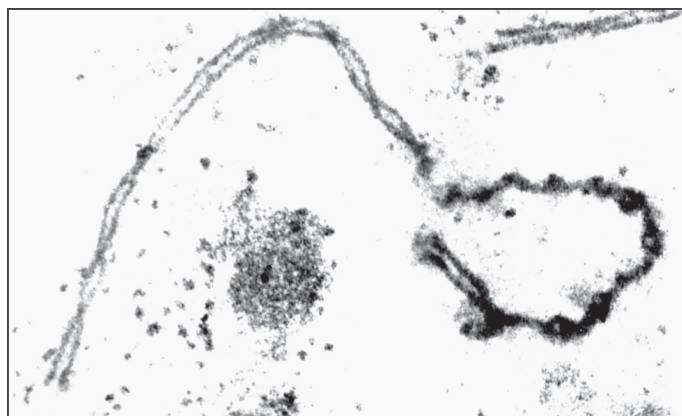


Рис. 2. ХУ-половой бивалент (синапсис осей Х и У половых хромосом, участок СК (РА район на стадии средней пахитены)) СК осей половых бивалентов оказывался сильно утолщенным (и укороченным) и свободные сегменты имели вид бусинок (средняя пахитена); ассиметричное перекручивание (твистирование) осей аутосомных боковых элементов. Ув. $\times 2000$

питающих (рис. 1, 2), боковые элементы были протяженными, центральный элемент был выявлен, хотя не во всех СК. На электронных фото визуализирован нормальный синапсис аутосомных бивалентов с четко видимыми осями боковых элементов, но в некоторых случаях имелись аномалии: ассиметричное перекручивание (твистирование) боковых осей аутосомных бивалентов (рис. 2), особенно в терминальных участках, соответствующих гетерохроматиновым районам хромосом, интенсивно окрашенных нитратом серебра.

Синаптирование половых бивалентов характеризовалось различной протяженностью РА района — участка СК — в течение пахитены (рис. 1). В средней пахитене синапсис осей Х и У был полным (протяженным) или почти полным в ранней пахитене. В поздней пахитене в некоторых случаях несинаптируемые оси половых бивалентов были утолщены и укорочены по сравнению с аутосомами, некоторые оси половых хромосом имели очень грубую перекрученную структуру. В то же время у некоторых млекопитающих в поздней пахитене половые хромосомы чаще всего спутаны в клубок [10]. Однако у лисиц на осевых элементах половых бивалентов наблюдалось значительное число утолщений СК в виде бусинок (рис. 2). В средней пахитене СК осей половых бивалентов оказывались сильно утолщенными (и укороченными), и свободные сегменты имели вид бусинок. Также наблюдали складчатость или ауто-синапсис (self-folding) осевых элементов половых хромосом (грубая, темноокрашенная структура), особенно характерная для Х-хромосомы. В некоторых случаях Х-хромосомы были замкнуты в виде кольца. Иногда осевые элементы половых бивалентов были расплетены в ряде сегментов.

Таким образом, ЭМ анализ СК сперматоцитов серебристо-черных лисиц (*V. fulvus*) обнаружил 16 ауто-

сомных бивалентов нормального типа и X-Y один половой бивалент (рис. 1). Синаптонемные комплексы аутосомных бивалентов имели структуру, типичную для млекопитающих. Половой бивалент у лисиц интенсивно окрашен так же, как у многих млекопитающих. Но на стадии средней пахитены наблюдались отличия в структуре СК полового бивалента сперматоцитов серебристо-черных лисиц (*V. fulvus*) по сравнению с некоторыми животными, например домовою мышью, крысой [2, 11].

В данном исследовании использовался метод мониторинга животных — цитогенетический мониторинг пушных зверей. Ранее показано, что падение продуктивности (или численности) животных (носителей и их потомства) обусловлено хромосомными аномалиями, которые ведут к их гибели [12]. Распространение хромосомных аномалий в популяциях животных может давать ощутимый экономический ущерб. Поэтому необходим цитогенетический мониторинг, который определяет изменения в геноме, играющие важную роль в популяционно-генетических процессах и онтогенезе.

Цитогенетический мониторинг у животных до недавнего времени основывался на изучении хромосом в метафазе соматических клеток. Для этого проводилось кариотипирование родительских видов на митотических хромосомах. В настоящее время получил применение метод, позволяющий изучать ка-

риотип в мейозе (на мейотических хромосомах) с использованием ЭМ анализа СК. Данный метод дает возможность исследовать хромосомные аномалии на ранних стадиях мейоза (в пахитене-диplotене). В связи с большой чувствительностью метода выявляются микроабберрации, которые не обнаруживаются при световой микроскопии.

М. Свитонски и И. Густавссон [13] обнаружили транслокационное центрическое слияние с помощью ЭМ анализа синаптонемного комплекса в кариотипе песца (*Alopex lagopus*), у некоторых из них наблюдался гетеромофизм в поздней зиготене и ранней пахитене.

Иммунофлуоресцентный анализ синаптонемных комплексов у сперматоцитов красной лисицы (*V. fulvus*) проведен Е.А. Башевой [14]. С использованием иммунолокализации белка MLH1, маркирующего сайты кроссинговера на синаптонемных комплексах, получена точная оценка общей длины генетической карты аутосом самцов лисицы (1530 сМ). Анализ распределения сайтов кроссинговера по бивалентам лисицы позволил выявить общие с другими млекопитающими характеристики паттернов рекомбинации — высокую частоту рекомбинации в дистальных районах бивалентов и низкую в проксимальных.

Таким образом, на цитологическом уровне можно определить причину снижения плодовитости

животных. Часто значительные нарушения в структуре мейотических хромосом приводят к нарушению сперматогенеза. В связи с этим ЭМ анализ СК сперматоцитов самцов имеет большое практическое значение при изучении фертильности сельскохозяйственных животных. Поэтому для выявления нарушений СК первоначально необходимо знание нормального СК-кариотипа. Впервые нами представлено описание кариотипа на основе СК распластанных пахитенных сперматоцитов серебристо-черных лисиц (*V. fulvus*) (рис. 3).

Итак, ЭМ анализ СК сперматоцитов — исследование синаптонемного комплекса у сельскохозяйственных животных — является очень хорошим инструментом для проведения сравнительного анализа нормального СК-кариотипа и с носителями аномалий хромосом у пушных зверей (лисиц).

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Биоресурсы (грант № 111.13).

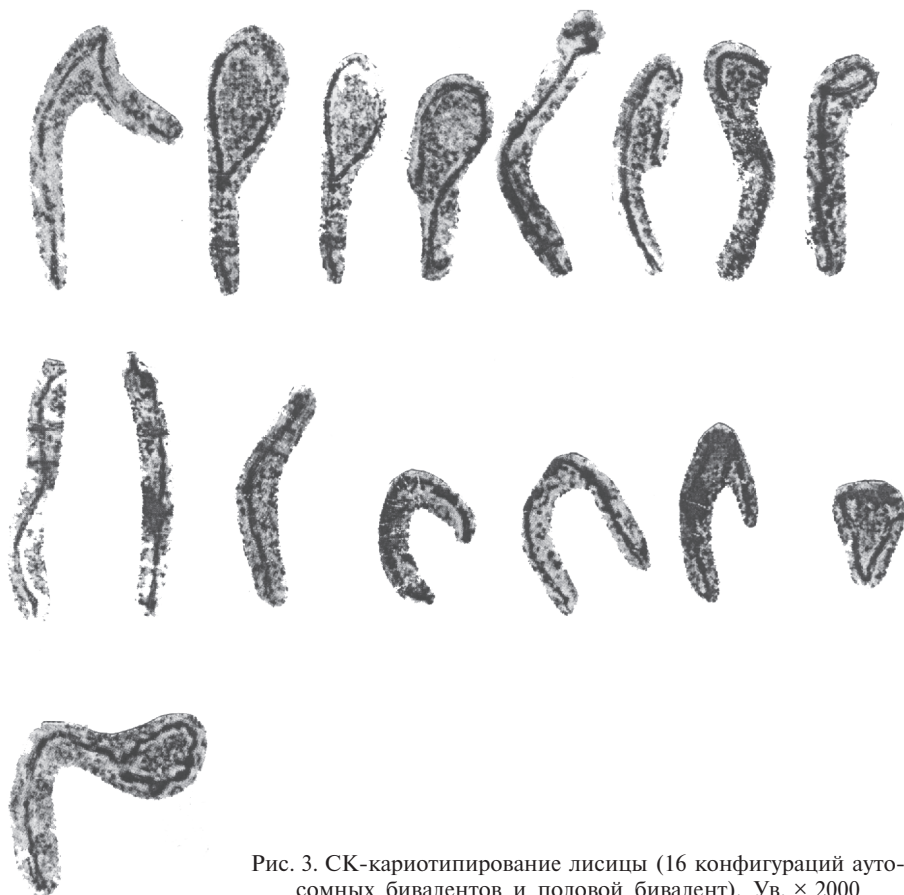


Рис. 3. СК-кариотипирование лисицы (16 конфигураций аутосомных бивалентов и половой бивалент). Ув. × 2000

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dresser M.E., Moses M.J. Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). IV. Light and electron microscopy of synapsis and nucleolar development by silver staining // *Chromosoma* (Berl.). 1980. Vol. 76. P. 1—22.
2. Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Кариотипирование на основе синаптонемных комплексов и применение этого метода в цитогенетике // *Генетика*. 1985. Т. 21. № 5. С. 793—802.
3. Moses M.J. Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). I. Morphology of the autosomal complement in spread preparations // *Chromosoma*. 1977. Vol. 60. P. 99—125.
4. Сафронова Л.Д. Электронно-микроскопический анализ синаптонемных комплексов у самцов-гибридов // *Онтогенез*. 1999. Т. 30. № 4. С. 255—266.
5. Демин Ю.С., Сафронова Л.Д., Черезжанова Л.В., Сафронов В.А. Исследование синаптонемных комплексов у млекопитающих. Сообщение 1. Природа и механизм образования центрических слияний хромосом (Робертсоновских транслокаций) // *Генетика*. 1984. Т. 20. № 9. С. 1499—1506.
6. Gilles C.B., Cowan S.K. A pachytene synaptonemal complexes complement of cat // *Genetics*. 1985. Vol. 67. P. 99.
7. Kaelbing M., Fechheimer M.S. Synaptonemal complexes and chromosome complement of domestic fowl, *Gallus domesticus* // *Cytogenet. Cell. Genet.* 1983. Vol. 35. P. 87—92.
8. Сафронова Л.Д., Пименова Т.И. Кариотипы крупного рогатого скота (*Bos Taurus*) и лошадей (*Equus Caballus*) на основе синаптонемных комплексов // *Генетика*. 1988. Т. 24. № 4. С. 708—714.
9. Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных животных: Атлас. Новосибирск: Наука, 1988. С. 88—89.
10. Solary A.J. The relationships between chromosome axes in the chiasmatic XY pair of the American hamster (*Cricetulus migratorius*) // *Chromosoma*. 1974. Vol. 48. P. 89—106.
11. Сафронова Л.Д., Левенкова Е.С., Мейер М.Н. Электронная микроскопия мейоза экспериментальных гибридов крыс *Rattus rattus* и *Rattus flavipictus* // *Систематика и филогения грызунов и зайцеобразных*. М.: КМК, 2000. С. 149—151.
12. Демин Ю.С., Сафронова Л.Д. Цитогенетический мониторинг в животноводстве // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1984. № 5. С. 702—715.
13. Switonski M., Gustavsson I. Centric-fusion translocation and whole-arm heterochromatin in the cariotipe of the bluefox (*Alopex lagopus* L.) synaptonemal complex analysis // *Cytogen. Cell. Genet.* 1991. N 57. P. 1—8.
14. Башева Е.А. Иммунофлуоресцентный анализ синаптонемных комплексов у сперматоцитов красной лисицы (*Vulpes fulvus*) // *Пятый съезд ВОГиС, посвященный 200-летию со дня рождения Чарльза Дарвина*. Ч. II. Москва, 21—28 июня. М., 2009. С. 367.

Поступила в редакцию
5.08.10

SC-KARYOTYPING ON ELECTRONIC MICROSCOPY (EM) OF ANALYSIS OF SYNAPTONEMAL COMPLEXES (SC) SPERMATOCYTES OF FOX (*VULPES FULVUS*)

L.D. Safronova, E.G. Sergeev, M.A. Monachova

It present electronic microscopy (EM) of analysis of synaptonemal complexes (SC) spermatocytes of ale silver fox *Vulpes fulvus* at the pachytene stage. It was carried out karyotypeing and discribe of SC-karyotypes of pachytene cells. The knowledge of normal SC-karyotypa it need for recognize revealed synaptic abnormalities of sex chromosomes and autosomes in pachytene. It was showed that electronic microscopy (EM) of analysis of synaptonemal complexes (SC) spermatocytes — it was very good tool for studying cause of distortion fertility of carriers anomalies for further investigations of foxes.

Key words: meiosis, synaptonemal complex, spermatogenes, SC-karyotype.

Сведения об авторах

Сафронова Лариса Дмитриевна — докт. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории проблем микроэволюции млекопитающих Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН. Тел.: 8-499-135-97-06; e-mail: safronova@sevin.ru

Сергеев Евгений Геннадьевич — канд. с.-х. наук, зав. сектором селекции пушных зверей и кроликов ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева Россельхозакадемии. Тел.: 8-495-501-53-55; e-mail: seg008@rambler.ru

Монахова Маргарита Александровна — канд. биол. наук, доцент кафедры генетики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-54-90; e-mail: monakhova@list.ru

ЭНТОМОЛОГИЯ

УДК 595.728:591.582.2

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЗВУКОВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ РЕЛИКТОВОГО КУЗНЕЧИКА *DERACANTHA ONOS* (PALLAS, 1772) (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE, BRADYPORINAE)**Н.Ф. Елаева*, О.С. Корсуновская**

(кафедра энтомологии; e-mail: elnata.61@mail.ru)

Описан образ жизни и акустическая сигнализация центрально-азиатского вида *Deracantha onos* (Pall.). Самцы и самки издают призывные сигналы и звуки протеста. Впервые приводятся электронограммы стридуляционных жилок, осциллограммы и частотные спектры акустических сигналов самок.

Ключевые слова: *Tettigoniidae*, *Deracantha onos*, акустическая сигнализация.

Deracantha onos (Pall.) (толстун Палласа) является видом, относящимся, наряду с немногочисленными представителями четырех других родов (*Damalacantha*, *Deracanthina*, *Deracanthella*, *Zichya*), к своеобразной трибе *Zichyini*, ареал которой занимает территории Казахстана, юга Сибири, Монголии, Китая и Кореи [1]. Эта триба, по-видимому, представляет собой древнейший автохтонный элемент пустынно-степной центрально-азиатской фауны [2]. Тщательное изучение *Deracantha onos* представляет интерес в связи со статусом и систематическим положением подсемейства *Bradyporinae*, до сих пор являющимся предметом дискуссий. Так, использование различных морфологических и (или) этологических признаков в филогенетическом анализе или разных маркеров и алгоритмов при построении кладограмм в молекулярно-генетическом анализе дает противоречащие друг другу результаты [3–8]. Некоторые анатомические особенности, а также значительное габитуальное и экологическое сходство *Bradyporinae* (sensu Горохов [4]) с африканскими кузнечиками из подсемейства *Hetrodinae* позволяют в дальнейшем поставить вопрос о причинах этого сходства, которое может быть обусловлено как конвергенцией, так и родством.

Для акустической коммуникации *Deracantha onos* характерно наличие звукового аппарата не только у самцов, но и у самок, а также способности последних издавать длительные ритмические сигналы и звуки протеста, до настоящего времени не описанные. Этот вид во многих частях своего ареала находится под угрозой исчезновения: в Бурятии он уже внесен в региональную Красную книгу [9], поэтому экологические данные, возможно, облегчат

разработку мер по сохранению *D. onos* в указанном регионе.

Материал и методы

Исследование образа жизни *Deracantha onos* проводилось в Юго-Западном Забайкалье, окрестностях пос. Ново-Селенгинск, окрестностях с. Нур-Тухум, Дзэбэн Селенгинского р-на, г. Кяхта (Бурятия). Материал для биоакустических исследований был собран в окрестности пос. Ново-Селенгинск и в Читинской обл., заказник Цасучейский бор; заповедник Даурский, оз. Зун-Торей.

Запись звуковых сигналов и наблюдения за акустическим поведением осуществлялись в лаборатории на кафедре энтомологии МГУ. В этологических экспериментах использовали сетчатый садок 30 × 30 × 150 см, разделенный подъемными перегородками на 3 камеры длиной 60, 30 и 60 см. Насекомых помещали в среднюю камеру (30 × 30 × 30 см). У одного из торцов садка устанавливали динамик, через который транслировали записи конспецифических сигналов (КС), или небольшой садок с поющим кузнечиком. После того как перегородки были убраны, насекомые получали возможность двигаться вдоль продольной оси садка. Кузнечикам, находящимся в центральной камере, в течение 4 мин предъявляли КС и регистрировали их фонотаксис.

Акустические сигналы записывали при контролируемой температуре на магнитную ленту с помощью усовершенствованного в лаборатории магнитофона “Юпитер-202 Стерео” (нелинейность частотной характеристики ± 1 дБ в диапазоне 2–70 кГц при скорости 38 см/с) или непосредственно после усиления

* Боханский филиал Бурятского государственного университета, Россия, 669310, Иркутская обл., пос. Бохан, ул. Доржи Банзарова, 8.

подавали на вход АЦП L305 или E14-440 фирмы "L-card" (Россия). Звуковые сигналы оцифровывали с частотой дискретизации 30 303, 58 864, 133 333 и 142 857 Гц, после чего полученные цифровые записи обрабатывали на компьютере в программах Turbolab v.4.2 и MiniAnalysis. Для анализа амплитудно-частотных характеристик сигналов спектры звуковых сигналов получали на компьютере с помощью программы Turbolab. При регистрации звуков использовали микрофоны 4135 фирмы "Brüel & Kjær" (Дания) или МК-301 фирмы RFT и усилители тех же фирм (2604 и 00017 соответственно). Микрофон устанавливали в 5–10 см от насекомого.

Данные о строении стридуляционного аппарата получали с помощью сканирующего микроскопа CamScan S-2 (Япония).

Результаты

Распространение. Южная Бурятия, юг Читинской обл., юг Амурской обл. Восточная Монголия, Северо-Восточный Китай.

Экология. В степях Юго-Восточного Забайкалья в 1947 и 1948 гг. были проведены исследования образа жизни *D. onos* [10]. В Юго-Западном Забайкалье таких исследований не проводилось. Местообитания *D. onos* расположены по днищам котловин и нижним частям горных склонов. Эти экосистемы подвергаются наибольшему сельскохозяйственному освоению, ведущему к прямому истреблению насекомых (затаптывание скотом, запахивание яиц, личинок и взрослых особей, сгорание во время сельхозпалов и др.) или, чаще, к косвенному воздействию посредством ухудшения состояния естественных биотопов.

Морфологической особенностью кузнечика *D. onos* является отсутствие крыльев и укороченные надкрылья, преобразованные в скрытый под передне-спинкой звуковой аппарат. Это крупный кузнечик с массивным грузным телом и шаровидной головой. Взрослое насекомое имеет пеструю маскирующую окраску, которая хорошо сливается с разреженным травостоем холодно-полынных степей. На передне-спинке и по бокам брюшка хорошо заметны темные пятна. В степях Юго-Западного Забайкалья нами отмечены особи с темной и светлой окраской. Все конечности ходильные и сравнительно слабые. При испугивании *D. onos* старается уползти под ближайшие кусты; насекомое, находящееся на растении, при опасности падает или сползает вниз. По данным Дмитриевой-Юргенсон [10], по гладкой, лишенной растительности поверхности *D. onos* проходят 1,5 м за 10 сек. В наших экспериментах они развивали скорость, превышающую указанную в 1,5–2 раза. Кузнечики быстро, высоко приподняв свои массивные тела, убегали с открытого места (дорога) в траву на обочине.

Излюбленными биотопами кузнечика *D. onos* являются сухие степи с разреженной растительностью,

с кустами караганы. За час можно собрать около 12 особей. Для этого вида характерен мозаичный тип распределения, поэтому на небольшом участке можно встретить подряд несколько особей, а затем на довольно большом протяжении однотипного биотопа они не встречаются. Чаще попадаются самцы, что соответствует наблюдениям и других авторов, изучавших представителей подсемейства *Bradyporinae* в разных регионах: *D. onos* — в Восточном Забайкалье [10] и *Bradyporus multituberculatus* — в степях Предкавказья [11]. На линейном маршруте (100 м) по стрекотанию можно насчитать до 20–25 особей. В кустарниково-белополянно-злаковой степи (Читинская обл.) максимальные значения плотности этих кузнечиков были значительно ниже: 1,8 экз./га [10].

По типу питания кузнечик относится к фитофагам, но может иногда питаться и животной пищей. Как показали наши наблюдения в природе и в лаборатории, спектр кормовых растений *D. onos* широк: он включает более 20 видов растений. Наиболее предпочитаемыми являются карагана мелколистная (*Caragana microphylla*), полынь холодная (*Artemisia frigida*), осока твердоватая (*Carex duriscula*), лапчатка бесстебельная (*Potentilla acaulis*), клевер луговой (*Trifolium pratense*), пырей ползучий (*Elytrigia repens*), мятлик луговой (*Poa pratensis*) и др. Содержащимся в садках насекомым предлагали овощные и плодовые культуры, которые также охотно поедались. При отсутствии какой-либо пищи наблюдались случаи каннибализма. При совместном содержании этих кузнечиков с саранчовыми были случаи поедания кобылок даже при наличии растительного корма (свежие степные злаки).

При опасности (при тактильном контакте) у *D. onos* из 2 пар отверстий на стернитах средне- и заднегруди выделяется гемолимфа [10]. Это явление, получившее название автогеморрагии, зарегистрировано также у представителей других триб *Bradyporinae* и в подсемействе *Hetrodinae*.

Массовое спаривание начинается в конце июля и продолжается до начала сентября. При содержании в садках мы также наблюдали высокую половую активность самцов, которые в отсутствие самок пытались копулировать друг с другом. Яйца откладываются в почву на глубину 3–4 см. Наши наблюдения в течение 1999–2005 гг. показали, что личинки отрождаются в последней декаде июня, первые имаго появляются со второй декады июля. В период размножения отмечается скопление кузнечиков в группы до 6–7 особей, в которых обычно одна самка, а остальные самцы. Вскрытие самок показало, что в их яичниках содержится от 30 до 70 яиц.

Таким образом, *D. onos* в степях Юго-Западного Забайкалья является видом с мозаичным распределением, обитающим только в настоящих степях с разреженным травянистым покровом. В Юго-Западном Забайкалье он встречается на периферии видового ареала и, по-видимому, находится вне зоны

своего экологического оптимума. Поэтому ему свойственны некоторые особенности, которые не отмечены другими исследователями. В частности, этот вид отличается характерной для периферийных популяций стенотопностью [12], которая, возможно, компенсируется его полифагией и высокой плодовитостью, поддерживающими стабильность популяций.

Звуковая сигнализация

Строение звукового аппарата. У самцов *D. opus* используемая при пении стридуляционная жилка (*pars stridens*) располагается на нижней поверхности верхнего надкрылья (рис. 1, а, б). Она слабо изогнута и содержит около 80 шипиков одинаковой величины (за исключением краевых) и плотности на единицу длины. Острый кант (*plectrum*), о который при стридуляции трутся шипики *pars stridens*, находится на медиальном крае нижнего надкрылья. Самки обладают звуковыми органами, гомологичными таковым самца. Их стридуляционная жилка (рис. 1, в, г) развита так же хорошо, как и у самца.

Акустическое поведение. Взрослых насекомых в природе легко обнаружить по характерному стрекотанию. Звуки издают как самцы, так и самки. У кузнечиков подсемейства *Bradyorhinae* ранее были зарегистрированы призывные сигналы и звуки протеста самцов [13]. В данной работе у самок нам впервые удалось зарегистрировать и проанализировать сигналы, представляющие собой длительные трели, и звуки протеста. Ритмическая стридуляция

самок может быть как спонтанной, так и вызванной трелями конспецифических особей. Во время призывного пения насекомые обычно поднимаются на различные возвышенности (камни, сурчины тарбаганов) или на растения, обычно — на кусты караганы мелколистной. После оплодотворения самки кузнечиков других подсемейств, как правило, перестают издавать ответные звуки. Мы же наблюдали спонтанное пение оплодотворенных самок *D. opus* как в природе, так и в лаборатории.

В экспериментах по исследованию фонотаксиса насекомым предъявляли призывный сигнал особи противоположного пола. Как самки, так и самцы выходили из центральной камеры садка и приходили к источнику звукового сигнала. Таким образом было показано, что 1) спонтанные звуки самок выполняют функцию призывного сигнала и 2) фонотаксис наблюдается не только у самок, но и у самцов. Самки, услышав сигнал самца, через 40–70 с начинают стридулировать. Время, затрачиваемое на активацию фонокинетической реакции, в наших опытах составляло у самок около 3 мин, у самцов — 1–3 мин. Скорость при фонотаксисе как у самцов, так и у самок составляла около 5 см/с.

Физические характеристики звуковых сигналов. Призывный сигнал самца (рис. 2, а–в) представляет собой длительную трель из пульсов, которым предшествуют интерпульсы меньшей амплитуды (терминологию см. в [14]). При 30°C каждый пульс состоит из 15–16 щелчков (при более низкой температуре

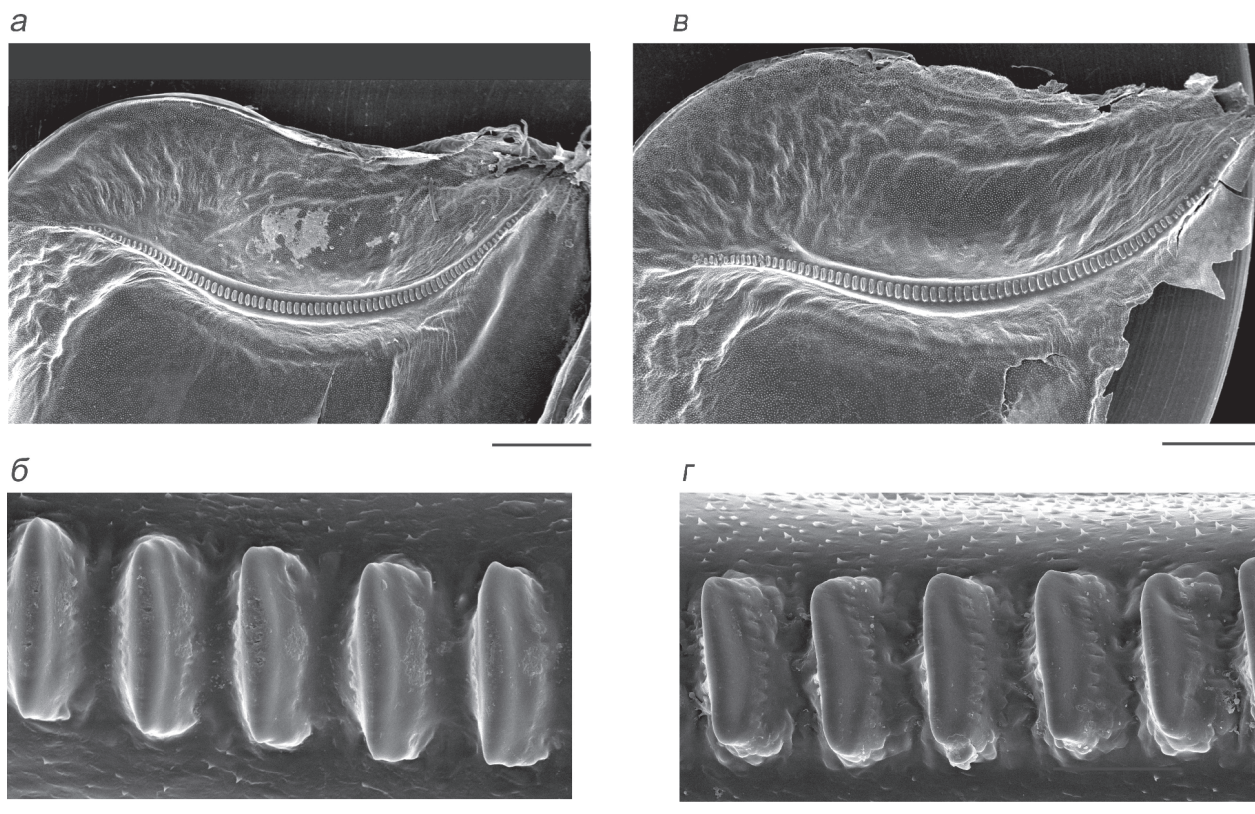


Рис. 1. Стридуляционные жилки самца (а, б) и самки (в, г) *D. opus*. Масштаб 1 мм (а, в) и 100 мкм (б, г)

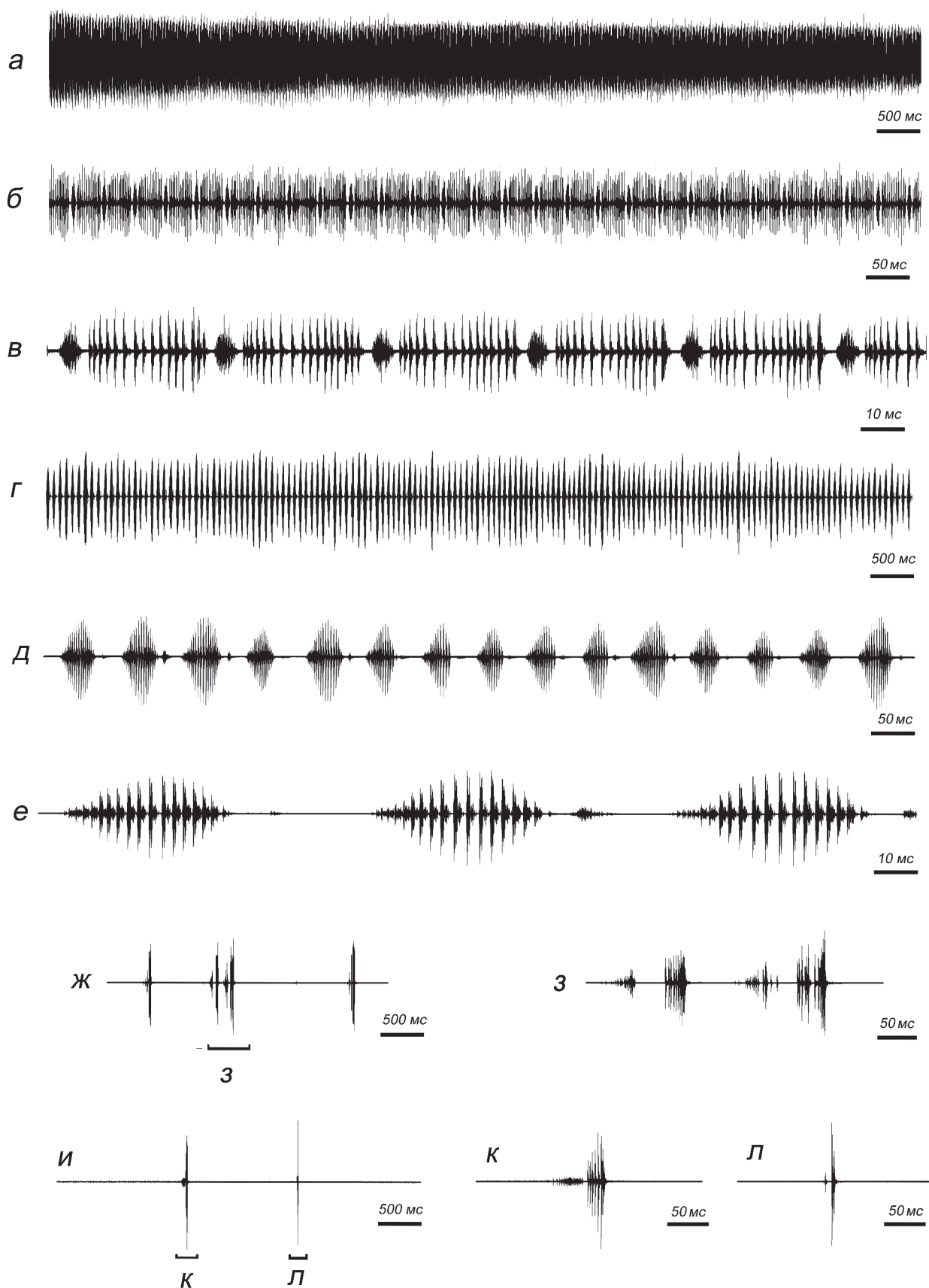


Рис. 2. Акустические сигналы *D. opus* при разных скоростях развертки: — призывный сигнал самца (а—в) и самки (г—е), сигналы протеста самца (ж—з) и самки (и—л)

их число сокращается до 10–12). Длительность пульса у двух исследованных при температуре 30°C самцов составляла $22,4 \pm 0,1$ и $27,1 \pm 0,1$ мс (стандартное отклонение $SD = 0,6$ и $0,7$ соответственно), интервала между пульсами — $6,4 \pm 0,1$ и $7,6 \pm 0,1$ мс ($SD = 0,7$ и $0,5$ соответственно), интерпульса — $4,4 \pm 0,1$ и $5,5 \pm 0,1$ мс (SD не превышает 0,4). Частота повторения пульсов составляла 29 и $35,2 \text{ с}^{-1}$ соответственно.

Частотный спектр лежит в диапазоне 10–60 кГц и содержит несколько пиков в области 14 кГц (доминирующая частота), 15, 24, 29 и 33 кГц (рис. 3, а).

Призывный сигнал самки (рис. 2, з–е) издаются также в виде длительной трели; ее параметры значительно менее стабильны, чем у самцов. Длительность пульсов больше, чем у самцов: $39,6 \pm 0,8$ мс ($SD = 3,8$), интерпульсы ($8,3 \pm 0,4$ мс ($SD = 2,1$)) выражены значительно слабее, иногда они не возникают, т.е. надкрылья при пении разводятся бесшумно. Продолжительность межпульсового интервала составляет $27,8 \pm 0,7$ мс ($SD = 3,2$), а частота повторения пульсов достигает 15 с^{-1} .

Частотный спектр занимает более узкий, чем у самца, диапазон: 9–30 кГц. Доминирующая частота составляет 15 кГц, дополнительные максимумы с более низкой амплитудой расположены в области 16, 21–22 и 28–29 кГц (рис. 3, б).

Сигналы протеста как самцов (рис. 2, ж, з), так и самок (рис. 2, и–л) издаются в ответ на тактильные, вибрационные или громкие звуковые стимулы. Ранее было показано, что у других представителей трибы *Zichyini* при нападении на насекомое хищников (*Alactaga sibirica*, *Allocricetulus curtatus*) аналогичные звуки выполняют защитную функцию [13]. У *D. onos* эти сигналы представляют собой одиночные или сгруппированные в короткие серии пульсы различной длительности. Их амплитуда и продолжительность зависят от уровня возбуждения насекомого. Длительность интерпульса значительно превышает таковую в призывных сигналах. Наблюдения за поведением *D. onos*, предшествующим копуляции, показали, что самка после сближения с самцом время от времени может издавать сигналы протеста. Число щелчков в них может варьировать от 1–2 до 17, однако, как правило, оно составляет 7–8. Число щелчков в пульсах сигналов протеста самцов обычно также меньше, чем в призывных звуках.

В частотных спектрах звуков самца (рис. 3, в) наблюдается несколько пиков: доминирующий — на 12 кГц, меньшей амплитуды на 13 и 18 кГц; у самки доминирующая частота составляет около 14 кГц, пики меньшей амплитуды располагаются в области 9 и 16–17 кГц (рис. 3, г).

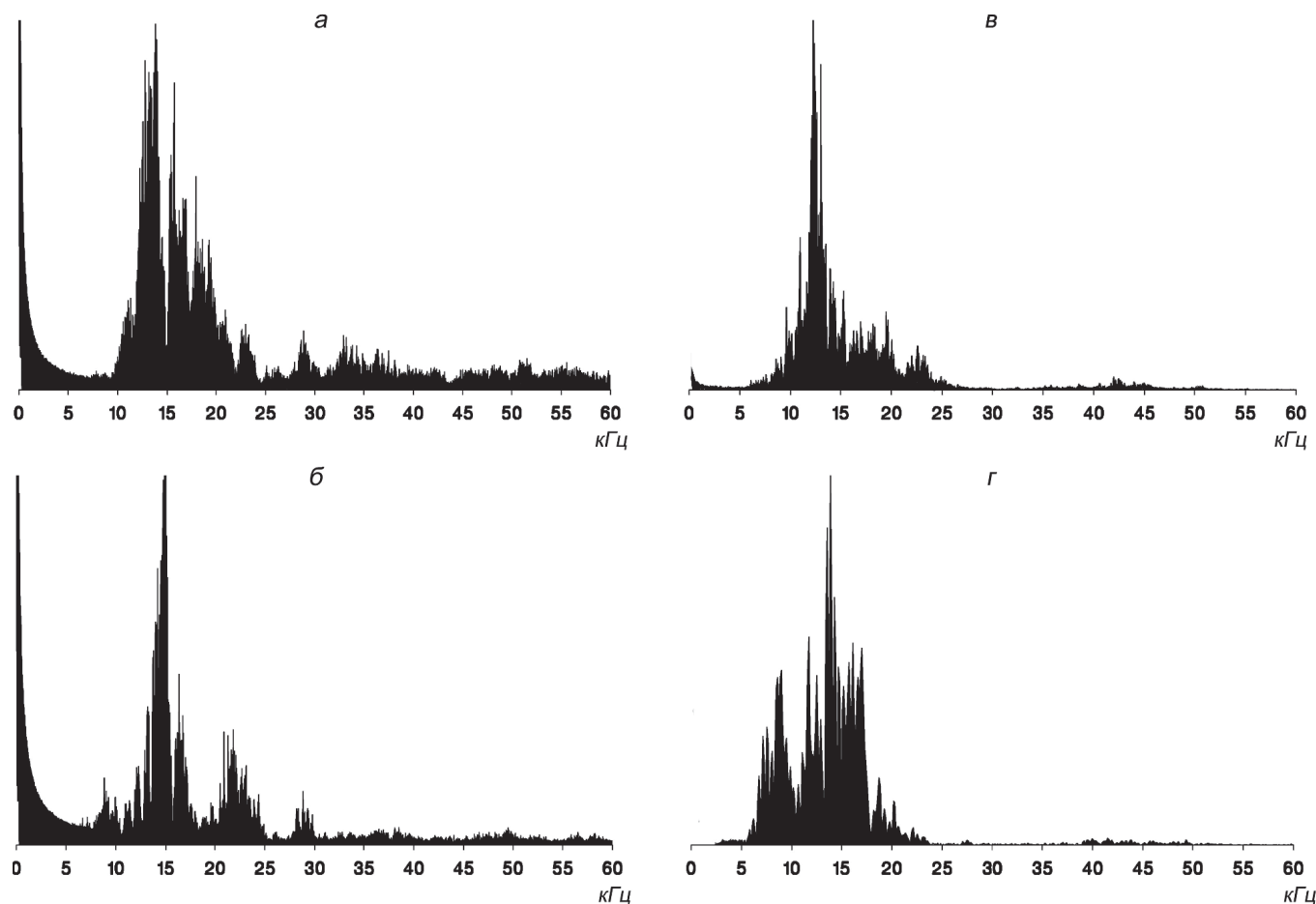


Рис. 3. Амплитудно-частотные спектры (в линейном масштабе) акустических сигналов *D. onos*: призывный сигнал самца (а) и самки (б), сигнал протеста самца (в) и самки (г)

Обсуждение

Одной из важных особенностей сигнализации *D. onos* является наличие призывных сигналов самок. По нашим и литературным данным [10], численность особей данного вида колеблется год от года. Когда она сравнительно высока, одиночные поющие самцы находятся на расстоянии около 30 м друг от друга. Кроме того, судя по энтомологическим сборам и наблюдениям в природе, в популяциях *D. onos* соотношение полов сдвинуто в сторону самцов, поэтому последние, по-видимому, могут испытывать определенные трудности при нахождении полового партнера. Способность самок издавать спонтанные призывные сигналы и фонотаксис самцов, несомненно, повышают вероятность встречи особей противоположного пола в условиях низкой плотности популяции. Длительные призывные сигналы обладают высоким демаскирующим эффектом, который, однако, компенсируется специфическими защитными адаптациями, главными из которых являются автогеморрагия и способность издавать звуки протеста. Данный тип акустической коммуникации мы назвали деракантоидным [15]. Он свойственен представителям триб Zichyini, Bradyporini и, возможно, Rycnogastrini. Сходный тип сигнализации описан также у представителей Hetrodinae, самки которых, однако, не обладают звуковыми органами [16, 17].

Сравнение акустической сигнализации и строения звукового аппарата у *D. onos* и иберийских представителей подсемейства Bradyporinae (род *Platystolus*) свидетельствует о том, что у Zichyini наблюдается плезиоморфное состояние коммуникационной системы, которое содержит некоторые преадаптации, способствующие дальнейшему усложнению акустического репертуара (в трибе Ephippigerini). Так, самки некоторых видов рода *Platystolus* также издают спонтанные призывные сигналы, которые, однако, вызывают ответные звуки самца. Помимо этого,

у самок зарегистрированы ответные сигналы со структурой, сходной с временным паттерном призывных звуков самцов [18]. В качестве упомянутых преадаптаций в сигналах *D. onos* можно считать высокую степень влияния на призывную стридуляцию как самцов, так и самок КС призывных сигналов. Сходное влияние кон- и гетероспецифических звуков на акустическую активность самцов известно и у других кузнечиковых (например, у видов из родов *Gampsocleis* и *Platycleis*, подсем. Tettigoniinae), но это явление связано с развитием в популяции территориальных взаимоотношений, в трибе же Zichyini стимуляция звукоизлучения при восприятии конспецифических сигналов наблюдается в брачном поведении.

В заключение следует отметить, что *D. onos* является реликтовым видом, во многих частях своего ареала находящимся под угрозой исчезновения. Стенотопность и узкий температурный диапазон активности особей делают этот вид чрезвычайно уязвимым для антропогенного воздействия. Биотопы *D. onos* требуют проведения природоохранных мероприятий, без которых этот вид может последовать за *Callimene multituberculatus*, уже более 50 лет находящимся лишь в музейных коллекциях.

Выводы

1. Самки издают спонтанные звуки (длительные трели) и сигналы протеста (в ответ преимущественно на тактильные раздражения). Спонтанные звуки выполняют функцию призывного сигнала, а звуки протеста, по-видимому, — защитную функцию при нападении хищников.

2. Фонотаксис наблюдается как у самок, так и у самцов.

3. Для сохранения *D. onos* в составе восточно-сибирской фауны следует обеспечить мониторинг его популяций, а при необходимости — проведение природоохранных мероприятий в местах обитания этого вида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стороженко С.Ю. Длинноусые прямокрылые насекомые (Orthoptera, Ensifera) Азиатской части России. Владивосток: Дальнаука, 2004. 279 с.
2. Сергеев М.Г. Закономерности распределения прямокрылых насекомых Северной Азии. Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1986. 237 с.
3. Rentz D.C.F., Colless D.H. A classification of the shield-backed katydids (Tettigoniinae) of the world // The Tettigoniidae: biology, systematics and evolution / Eds. W.J. Bailey, D.C.F. Rentz. Bathurst: Crawford House Press, 1990. P. 352–377.
4. Горохов А.В. Система и эволюция прямокрылых подотряда Ensifera (Orthoptera). Ч. 1, 2 // Тр. Зоол. ин-та РАН. 1995. Т. 260. Ч. 1. С. 1–224. Ч. 2. С. 1–213.
5. Jost M.C., Naskrecki P. Phylogeny and evolution of acoustic communication in Orthoptera // Entomol. Abhandl. 2003. Bd 61. N 2. P. 142–143.
6. Jost M.C., Shaw K.L. Phylogeny of Ensifera (Hexapoda: Orthoptera) using three ribosomal loci, with implications for the evolution of acoustic communication // Mol. Phylogen. and Evol. 2006. Vol. 38. P. 510–530.
7. Бугров А.Г., Новикова О.С., Нетёсова Е.С., Горохов А.В., Блинов А.Г. Опыт использования нуклеотидных последовательностей двух митохондриальных генов (CO I и CO II) для выяснения таксономического статуса и реконструкции филогенетических отношений шароголовых кузнечиков (Orthoptera, Ensifera, Tettigoniidae) // Евразийский энтомол. журн. 2009. Т. 8. Вып. 1. С. 1–8.
8. Legendre F.E., Robillard T., Song H., Whiting M.F., Desutter-Grandcolas L. One hundred years of instability in ensiferan relationships // Systematic Entomology. 2010. Vol. 35. P. 475–488.

9. Красная книга редких и находящихся под угрозой исчезновения видов животных и растений Бурятской АССР. Улан-Удэ: БНЦ СО АН СССР, 1988. 416 с.
10. Дмитриева-Юргенсон И.А. К биологии кузнечика *Deracantha onos* Pall. // Энтомол. обозр. 1950. Т. 31. Вып. 1—2. С. 157—164.
11. Федоров С.М. К биологии кузнечиков *Bradyporus multituberculatus* F.-W. и *Onconotus laxmanni* Pall. (Orthoptera, Tettigoniidae) в степях Предкавказья // Энтомол. обозр. 1962. Т. 41. Вып. 4. С. 751—762.
12. Джиллер П. Структура сообществ и экологическая ниша. М.: Мир, 1988. 184 с.
13. Жантеев Р.Д., Корсуновская О.С., Бызов С.Д. Акустическая коммуникация пустынных кузнечиков (Bradyporidae, Deracanthinae) // Зоол. журн. 1995. Т. 74. Вып. 9. С. 58—71.
14. Жантеев Р.Д. Биоакустика насекомых. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. 256 с.
15. Корсуновская О.С. Акустические системы связи кузнечиковых (Orthoptera, Tettigoniidae): Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2009. 44 с.
16. Schmidt G.H., Feierabend H., Paiva M.R. Ein Beitrag zum Kopulations- und Stridulationsverhalten von *Eugaster guyoni fernandezii* I. Bolivar, 1935 (Ensifera: Heterodidae) // Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent. 1997. Bd 11. S. 405—410.
17. Conti E., Vighiani F.M. Ecology of the calling song of two Namibian armoured ground crickets, *Acanthopplus longipes* and *Acanthoproctus diadematus* (Orthoptera, Tettigoniidae, Heterodidae) // Ethology, Ecology, Evolution. 2005. Vol. 17. P. 261—269.
18. Pfau H.K. Untersuchungen zur Bioakustik und Evolution der Gattung *Platystolus* Bolivar (Ensifera, Tettigoniidae) // Tijds. voor Entomol. 1996. Vol. 139. P. 33—72.

Поступила в редакцию
22.12.10

ENVIRONMENTAL FEATURES AND SOUND SIGNALLING OF THE RELICT BUSH CRICKET *DERACANTHA ONOS* (PALLAS, 1772) (ORTHOPTERA, TETTIGONIIDAE, BRADYPORINAE)

N.F. Elaeva, O.S. Korsunovskaya

Life history and acoustic signalling of central-asian species *Deracantha onos* (Pall.) are described. Males and females produce calling songs and disturbance sounds. For the first time electrograms of stridulatory files, oscillograms and spectrograms of the female songs are given.

Key words: Tettigoniidae, *Deracantha onos*, acoustic signalling.

Сведения об авторах

Елаева Наталья Филипповна — канд. биол. наук, доц. кафедры зоологии Боханского филиала Бурятского государственного университета. Тел.: 8(395-38)25-8-83; e-mail: elnata.61@mail.ru

Корсуновская Ольга Сергеевна — докт. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры энтомологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-27; e-mail: korsuno@mail.ru

УДК 595.77; 57.043:533.6

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРЫЛОВОГО АППАРАТА И ПОЛЕТА НЕКОТОРЫХ ДВУКРЫЛЫХ (DIPTERA, BRACHYCERA)

О.А. Беляев, В.С. Чуканов, С.Э. Фарисенков

(кафедра энтомологии; e-mail: olegent@yandex.ru)

Проведен сравнительный анализ крылового аппарата и летных характеристик у представителей 5 семейств двукрылых (Bombyliidae, Syrphidae, Scatophagidae, Calliphoridae и Sarcophagidae). Получены данные о скорости полета, аэродинамической силе, угле наклона плоскости взмахов крыльев, амплитуде и частоте взмахов, а также о площади крыльев, массе и объеме тела. Проанализированы соотношения между этими параметрами. Определены признаки, по которым различаются виды одного рода, представители разных родов одного семейства и разных семейств.

Ключевые слова: крыловой аппарат, полет, Diptera, Brachycera.

Подавляющее большинство двукрылых обладает чрезвычайно совершенным крыловым аппаратом, обеспечивающим максимальную скорость и маневренность полета. Его изучению посвящено большое количество работ [1—9 и др.]. Однако большая их часть выполнена на нескольких модельных объектах, относящихся преимущественно к родам *Calliphora*, *Drosophila*, *Musca* и *Tipula*. Между тем результаты некоторых сравнительных исследований [5, 7, 10, 11] и наблюдений за представителями разных семейств в естественных условиях свидетельствуют о том, что в морфофункциональной организации их крылового аппарата и летной активности могут существовать значительные различия, отражающие определенные адаптивные и эволюционные тенденции. Пытаясь получить представление о характере и величине этих различий, мы исследовали некоторые морфологические и аэродинамические особенности крылового аппарата у представителей 14 семейств короткоусых двукрылых (Diptera, Brachycera). В настоящей работе приводятся сведения о результатах сравнительного изучения нескольких видов из семейств Bombyliidae, Syrphidae, Scatophagidae, Calliphoridae и Sarcophagidae.

Материалы и методы

В работе были использованы 8 видов двукрылых: *Hemipenthes maurus* L., *Hemipenthes morio* L. (Bombyliidae), *Eristalis tenax* L., *Syrphus ribesii* L. (Syrphidae), *Scatophaga lutaria* F., *Scatophaga stercoraria* L. (Scatophagidae), *Lucilia caesar* L. (Calliphoridae) и *Sarcophaga carnaria* L. (Sarcophagidae). Насекомых отлавливали в окрестностях Москвы. Для опытов отбирали только самцов, по 5—7 экземпляров каждого вида, так как масса тела самок двукрылых может варьировать в процессе созревания и откладки яиц. Опыты про-

изводили в лабораторных условиях при температуре 25—28°C.

Скорость полета двукрылых (v) измеряли в камере размером 45 × 40 × 15 см с помощью цифрового фотоаппарата, производя видеозапись с частотой 210 и 420 кадров в секунду. При этом регистрировали только прямолинейные пролеты в горизонтальной плоскости, перпендикулярные оптической оси фотоаппарата. Скорость полета определяли при компьютерном анализе видеозаписей.

Для регистрации аэродинамической силы (T) использовали вертикально расположенную тонкую гибкую металлическую или пластмассовую пластину. Ее верхний конец фиксировали на штативе, а к нижнему за среднеспинку прикрепляли насекомое. Во время его летной активности регистрировали максимальный изгиб конца пластины. После опыта определяли, какой вес в ньютонах, приложенный к вершине горизонтально закрепленной пластины, вызывает зарегистрированное нами отклонение. Этот метод не позволяет отделить силу тяги от подъемной силы, но дает представление о максимальной суммарной силе, развиваемой в процессе работы крылового аппарата.

Частоту взмахов крыльев (n) в закрепленном полете определяли, регистрируя звуковые колебания, сопровождающие полет. Затем в ходе компьютерного анализа выделяли основную частоту колебаний.

Амплитуду взмахов (A) и угол наклона плоскости взмахов крыльев (β) в закрепленном полете определяли в процессе обработки результатов скоростной съемки.

Морфологические измерения проводили сразу после умерщвления насекомых. Массу тела (m) определяли с помощью аналитических весов. Для измерения объема тела (V) насекомых погружали в тонкие бюретки, частично заполненные водой. Площадь крыльев (S) определяли по фотографиям при помощи компьютерной программы “Компас”.

Таблица 1

Морфологические параметры

Вид	m, мг	V, мм ³	m/V, мг/мм ³	S, мм ²	P, Н/м ²	S/m, мм ² /мг
<i>Hemipenthes morio</i>	17,5 ± 2,6	38 ± 7	0,47 ± 0,05	26,3 ± 2,9	3,1 ± 0,1	1,58 ± 0,06
<i>Hemipenthes maurus</i>	24,7 ± 3,6	46 ± 2	0,56 ± 0,10	27,0 ± 2,2	4,4 ± 0,4	1,14 ± 0,10
<i>Eristalis tenax</i>	110,5 ± 4,6	186 ± 12	0,60 ± 0,03	34,6 ± 1,1	15,8 ± 1,0	0,32 ± 0,02
<i>Syrphus ribesii</i>	37,6 ± 3,0	76 ± 8	0,52 ± 0,03	21,8 ± 1,4	8,8 ± 0,3	0,56 ± 0,02
<i>Scatophaga lutaria</i>	19,8 ± 3,0	32 ± 4	0,64 ± 0,07	16,5 ± 1,5	5,8 ± 0,3	0,86 ± 0,05
<i>Scatophaga stercoraria</i>	29,3 ± 4,0	49 ± 7	0,62 ± 0,03	19,4 ± 1,3	7,3 ± 0,7	0,70 ± 0,06
<i>Lucilia caesar</i>	45,2 ± 5,4	63 ± 12	0,70 ± 0,06	17,7 ± 1,0	12,7 ± 1,2	0,40 ± 0,04
<i>Sarcophaga carnaria</i>	61,6 ± 4,0	113 ± 12	0,56 ± 0,03	24,4 ± 1,2	12,4 ± 0,4	0,40 ± 0,01

Примечание: m — масса тела; V — объем тела; m/V — плотность тела; S — площадь крыла; P — нагрузка на крылья; S/m — относительная площадь крыла. Средние значения представлены со стандартной ошибкой среднего.

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью компьютерных программ “Statistica” и “Statgraphics Plus”. Для оценки достоверности различий параметров использовали критерий Уилкоксона—Уитни—Манна и критерий Колмогорова—Смирнова. Достоверность корреляций между параметрами устанавливали по критерию Спирмана.

Результаты и обсуждение

Масса и объем тела. Для многих двукрылых характерно наличие большого числа воздушных мешков в грудном и брюшном отделах тела, поэтому были основания предполагать, что они обладают сравнительно низкой плотностью тела. Наши измерения показали, что масса тела у изученных видов варьирует в пределах 17,5—110,5 мг, а объем — 32—186 мм³. Соответственно средняя плотность тела колеблется от 0,47 до 0,70 мг/мм³ и в целом является относительно малой [12]. Меньшей плотностью обладают виды *Hemipenthes*, *S. ribesii* и *S. carnaria*, а большей — виды *Scatophaga* и *L. caesar* (табл. 1). Для выяснения функционального значения отмеченных различий плотности тела у представителей разных семейств необходимо получение дополнительных данных.

Площадь крыльев. Рассматриваемые виды имеют крылья сходной формы, различающиеся по величине и пропорциям. Площадь крыла зависит от размеров насекомого, поэтому для сравнения мы использовали относительную величину S/m — отношение площади одного крыла к массе тела. Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о том, что максимальные значения относительной площади крыла характерны для представителей Bombyliidae и Scatophagidae (0,70—1,58 мм²/мг), а минимальные — для трех других семейств (0,32—0,56 мм²/мг).

Аналогичная тенденция наблюдается и при сравнении длины тела и крыла: у видов из первой группы длина крыла слегка превышает (Bombyliidae) или

максимально близка к длине тела (Scatophagidae). Представители второй группы (Syrphidae, Calliphoridae, Sarcophagidae) обладают крыльями, длина которых несколько уступает длине тела.

Сравнение крыловой нагрузки (отношения веса насекомого к суммарной площади крыльев) у изученных видов так же указывает на наличие различий между двумя вышеупомянутыми группами семейств: у первой из них она лежит в пределах 3,1—7,3 Н/м², а у второй — между 8,8 и 15,8 Н/м² (табл. 1).

Скорость полета. В лабораторных условиях у изученных видов максимальная скорость полета варьировала от 1,7 до 3,5 м/с. Средние значения лежат в пределах 1,4—2,5 м/с (табл. 2). При прочих равных условиях скорость полета зависит от массы тела насекомого. При этом может наблюдаться как прямая, так и обратная зависимость. Например, у *H. morio* (m = 17,5 мг) скорость полета составляет 1,5 м/с, а у *S. stercoraria* (m = 29,3 мг) она достигает 2,4 м/с (p < 0,05). Но у представителей Syrphidae более крупные виды летают с меньшей скоростью. Так, *E. tenax* (m = 110,5 мг) демонстрирует среднюю скорость 1,4 м/с, в то время как у *S. ribesii* (m = 37,6 мг) она составляет 2,5 м/с (p < 0,05).

Относительная скорость полета v/m так же широко варьирует (табл. 2). Ее максимальное значение (107 мм/с · мг у *S. lutaria*) на порядок превышает минимальное (12 мм/с · мг у *E. tenax*).

Аэродинамическая сила, как и скорость полета, зависит от размеров насекомого. Среди изученных видов ее среднее значение колеблется от 3,1 · 10⁻⁴ Н у *S. lutaria* до 14,1 · 10⁻⁴ Н у *E. tenax* (табл. 2) и находится в прямой зависимости от массы тела (рис. 1).

Однако относительная аэродинамическая сила (T/m) ограничена более узкими рамками, и при сравнении видов из разных семейств наблюдается обратная зависимость этой величины от размеров тела. Так в семействе Syrphidae максимальное значение этого параметра зарегистрировано не у крупного вида *E. te-*

Таблица 2

Кинематические параметры

Вид	v , м/с	v/m , мм/с · мг	T , 10^{-4} Н	T/m , Н/кг	n , Гц	A , град.	β , град.
<i>Hemipenthes morio</i>	$1,5 \pm 0,3$	89 ± 35	$4,9 \pm 1,7$	$28,7 \pm 1,5$	105 ± 2	77 ± 4	62 ± 8
<i>Hemipenthes maurus</i>	$1,8 \pm 0,1$	78 ± 9	$6,2 \pm 1,4$	$24,3 \pm 2,8$	110 ± 5	88 ± 5	62 ± 3
<i>Eristalis tenax</i>	$1,4 \pm 0,3$	12 ± 3	$14,1 \pm 2,3$	$12,7 \pm 1,8$	179 ± 7	83 ± 2	44 ± 2
<i>Syrphus ribesii</i>	$2,5 \pm 0,3$	68 ± 15	$9,0 \pm 1,2$	$22,5 \pm 1,7$	189 ± 9	78 ± 3	48 ± 2
<i>Scatophaga lutaria</i>	$2,0 \pm 0,1$	107 ± 14	$3,1 \pm 0,9$	$15,8 \pm 4,0$	112 ± 3	105 ± 4	50 ± 2
<i>Scatophaga stercoraria</i>	$2,4 \pm 0,1$	91 ± 16	$6,1 \pm 1,2$	$19,9 \pm 1,5$	132 ± 5	110 ± 4	55 ± 2
<i>Lucilia caesar</i>	$1,8 \pm 0,6$	40 ± 6	$7,3 \pm 0,9$	$17,6 \pm 2,0$	205 ± 17	104 ± 6	49 ± 2
<i>Sarcophaga carnaria</i>	$2,2 \pm 0,3$	37 ± 7	$11,3 \pm 1,7$	$18,2 \pm 2,5$	200 ± 10	93 ± 3	43 ± 1

Примечание: v — скорость полета; v/m — относительная скорость полета; T — аэродинамическая сила; T/m — относительная аэродинамическая сила; n — частота взмахов крыльев; A — амплитуда взмаха крыльев; β — угол наклона плоскости взмахов крыльев к продольной оси тела. Средние значения представлены со стандартной ошибкой среднего.

нах, а у сравнительно небольшого *S. ribesii* (табл. 2). Таким образом, отмеченные ранее различия в скорости полета этих видов, по-видимому, определяются относительной, а не абсолютной аэродинамической силой.

Частота взмахов крыльев у исследованных представителей Brachycera лежит в пределах 105–205 Гц (табл. 2). Наименьшее значение (105 Гц) зафиксировано у *H. morio* (Bombyliidae), а наибольшие (200 Гц и 205 Гц) — у представителей Sarcophagidae (*S. carnaria*) и Calliphoridae (*L. caesar*) соответственно.

Амплитуда взмахов крыльев у изученных нами видов варьирует в пределах 77–110° (табл. 2), достигая максимума у видов Scatophagidae (105° и 110°) и минимума у представителей Syrphidae (78° и 83°) и Bombyliidae (77° и 88°). При этом она, по-видимому, слабо зависит от размеров насекомого.

Угол наклона плоскости взмахов крыльев к продольной оси тела у двукрылых может существенно изменяться при маневрировании. В закрепленном по-

лете его значения лежат в пределах 43–62° (табл. 2). Максимальные углы зарегистрированы у видов *Hemipenthes* (62°) и *Scatophaga* (50° и 55°), а минимальные — у *S. carnaria* (43°) и *E. tenax* (44°).

Результаты сравнительного изучения крылового аппарата насекомых свидетельствует о “высокой степени коррелятивной зависимости многих параметров его организации и функционирования...” [6]. По литературным данным [2], при сравнении особей одного вида, например *Calliphora vicina* R.-D., отмечается положительная корреляция между частотой взмахов и подъемной силой, а также между этими параметрами и скоростью полета.

Полученные нами данные позволяют провести предварительный анализ соотношения некоторых параметров у двукрылых разной видовой принадлежности. По частоте взмахов крыльев эти виды можно разделить на две группы: одну из них образуют представители *Hemipenthes* и *Scatophaga* ($n = 105$ –132 Гц), другую — остальные виды ($n = 179$ –205 Гц). Кроме того, эти группы различаются по массе тела, крыловой нагрузке и аэродинамической силе.

Дальнейший анализ позволяет выделить несколько пар зависимых признаков. Четыре параметра находятся в зависимости от размеров насекомого. Положительная корреляция наблюдается между массой тела и крыловой нагрузкой ($r = 0,92$), а также между массой тела и аэродинамической силой ($r = 0,84$) (рис. 1). От размеров насекомого зависит и скорость его полета. Увеличение массы ведет к возрастанию скорости полета до определенного предела, а дальнейший рост массы тела приводит к замедлению полета (рис. 2). Относительная скорость полета находится в обратной зависимости от массы тела (рис. 3). У большинства видов наблюдается прямая зависимость скорости полета от относительной аэродинамической силы (рис. 4). Исключение составляют только

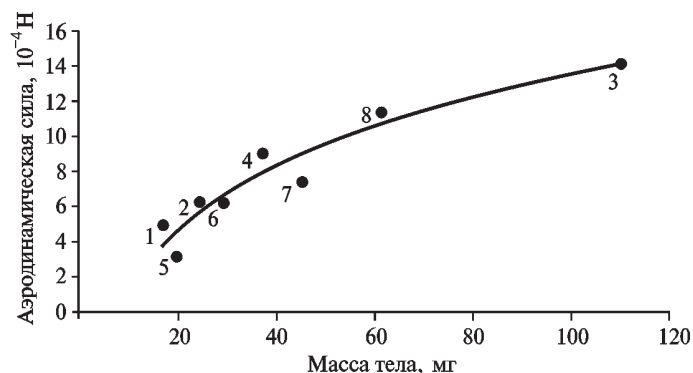


Рис. 1. Соотношение аэродинамической силы и массы тела. Линия регрессии построена по средним значениям данных параметров, измеренных у 43 особей. Точки — средние значения. 1 — *H. morio*; 2 — *H. maurus*; 3 — *E. tenax*; 4 — *S. ribesii*; 5 — *S. lutaria*; 6 — *S. stercoraria*; 7 — *L. caesar*; 8 — *S. carnaria*

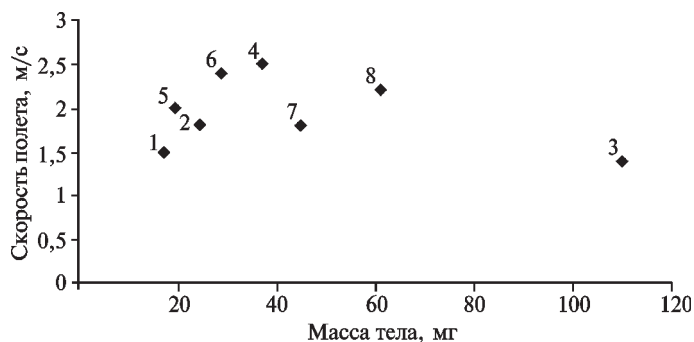


Рис. 2. Соотношение скорости полета и массы тела. Обозначения, как на рис. 1

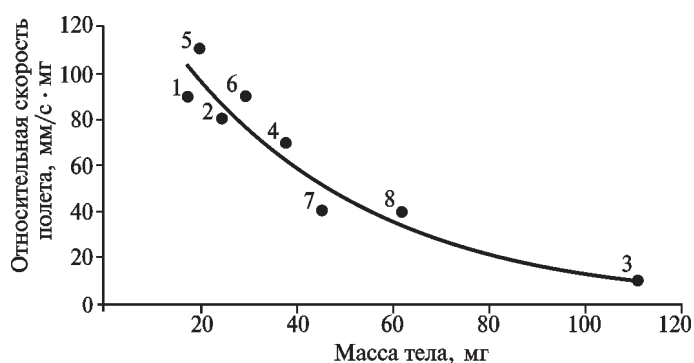


Рис. 3. Соотношение относительной скорости полета и массы тела. Обозначения, как на рис. 1

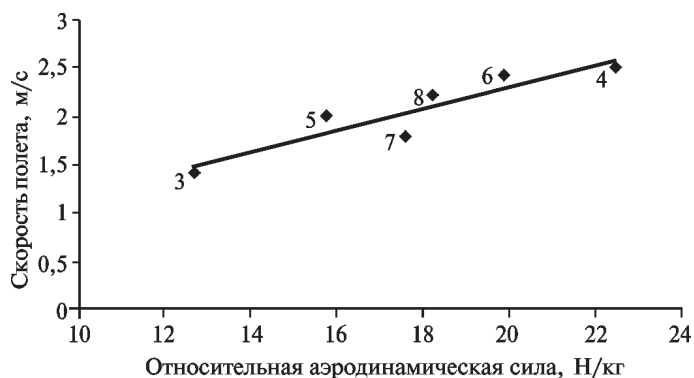


Рис. 4. Соотношение скорости полета и относительной аэродинамической силы. Линия регрессии построена по средним значениям данных параметров, измеренных у 34 особей. Обозначения, как на рис. 1

виды *Hemipenthes*, которые, по-видимому, не развивали максимальной скорости полета в условиях эксперимента. Отрицательная корреляция наблюдается

между частотой взмахов и углом наклона плоскости взмахов крыльев ($r = -0,83$).

Анализ полученных данных позволяет провести предварительное сравнение изученных параметров у представителей разных видов, родов и семейств. Результаты такого сравнения свидетельствуют о том, что виды одного рода могут различаться по некоторым признакам. Так, представители рода *Scatophaga* достоверно различаются по частоте взмахов крыльев, а у видов *Hemipenthes* имеются различия в относительной площади крыльев и соответственно крыловой нагрузке.

Аналогичные закономерности могут наблюдаться и при сравнении видов из разных родов одного семейства. Например, для *E. tenax* по сравнению с *S. ribesii* характерны большая масса и объем тела, а также более высокие показатели крыловой нагрузки. Однако первый вид уступает второму по таким показателям, как относительная аэродинамическая сила и скорость полета.

В пределах рассматриваемых семейств все изученные параметры варьируют в широком диапазоне, поэтому трудно выделить из них те, которые были бы специфичными для каждого семейства. Тем не менее, как ранее отмечалось, по комплексу признаков все исследованные нами объекты распадаются на 2 группы. В первой из них выделяется семейство Bombyliidae (Orthorrhapha), отличающееся от всех остальных семейств по максимальному значению относительной аэродинамической силы и минимальному — крыловой нагрузки. От представителей той же группы (Scatophagidae) виды *Hemipenthes* отличаются меньшими значениями плотности тела и скорости полета. Вторую группу образуют семейство Syrphidae (Cyclorrhapha, секция Aschiza), а также два близких семейства — Calliphoridae и Sarcophagidae (Cyclorrhapha, секция Shizophora). Несмотря на то, что все эти виды занимают различное систематическое положение, они обладают сходными общими характеристиками крылового аппарата и летной активности.

Все отмеченные нами закономерности работы крылового аппарата и полета рассмотренных двукрылых, несомненно, определяются особенностями образа жизни и поведением этих насекомых. Для выяснения их адаптивного значения необходимо проведение специальных исследований в естественных условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vogel S. Flight in Drosophila. I. Flight performance of tethered flies // J. Exp. Biol. 1966. Vol. 44. P. 567–578.
2. Nachtigall W., Roth W. Correlations between stationary measurable parameters of wing movement and aerodynamic force production in the blowfly (*Calliphora vicina* R.-D.) // J. Comp. Physiol. 1983. Vol. 150. P. 251–260.

3. Nachtigall W. *Calliphora* as a model system for analysing insect flight // Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology / Eds. G.A. Kerkut, L.J. Gilbert. London: Pergamon Press, 1985. Vol. 5. P. 571–605.

4. Бродский А.К. Полет насекомых с высокой частотой взмаха крыльев // Энтномол. обозр. 1986. Т. 65. Вып. 2. С. 269–279.

5. *Ellington C.P.* The aerodynamics of hovering insect flight I—V // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1984. Vol. 305. P. 1—181.

6. *Бродский А.К.* Механика полета насекомых и эволюция их крылового аппарата. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1988. 208 с.

7. *Ennos A.R.* The kinematics and aerodynamics of the free flight of some Diptera // *J. Exp. Biol.* 1989. Vol. 142. P. 49—85.

8. *Zanker J.M.* The wing beat of *Drosophila melanogaster*. I. Kinematics // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1990. Vol. 327. P. 1—18.

9. *Dudley R.* The biomechanics of insect flight: form, function, evolution // Princeton: Princeton University Press, 2002. 476 p.

10. *Grodnitsky D.L., Morozov P.P.* Morphology, flight kinematics and deformation of the wings in holometabolous insects (Insecta: Oligoneoptera — Scarabaeiformes) // *Russian Entomol. J.* 1995. Vol. 3(3—4). P. 3—32.

11. *Гродницкий Д.Л.* Адаптации к машущему полету у различных насекомых с полным превращением // *Зоол. журн.* 1996. Т. 75. Вып. 5. С. 692—700.

12. *Bennet-Clark H.C., Alder G.M.* The effect of air resistance on the jumping performance of insect // *J. Exp. Biol.* 1979. Vol. 82. P. 105—121.

Поступила в редакцию
25.05.11

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF FLIGHT APPARATUS AND FLIGHT OF SOME FLIES (DIPTERA, BRACHYCERA)

O.A. Belyaev, V.S. Chukanov, S.E. Farisenkov

Comparative analysis of flight apparatus and flight characteristics in representatives of 5 dipterous families (Bombyliidae, Syrphidae, Scatophagidae, Calliphoridae and Sarcophagidae) is carried out. Data on flight velocity, aerodynamic force, wing-beat frequency, stroke amplitude and stroke plane angle, wing area, body mass and body volume are received. Relations between these parameters are analyzed. Features upon which species of the same genus, representatives of different genera in one family and different families separates are determined.

Key words: *flight, Diptera, Brachycera.*

Сведения об авторах:

Беляев Олег Александрович — мл. науч. сотр. кафедры энтомологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-27; e-mail: olegent@yandex.ru.

Чуканов Виталий Сергеевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры энтомологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-27.

Фарисенков Сергей Эдуардович — студент кафедры энтомологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-27.

МИКОЛОГИЯ И АЛЬГОЛОГИЯ

УДК 582.29:619.611.573.616:092.632.636.578

СОХРАННОСТЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ
В ГЕРБАРНЫХ ОБРАЗЦАХ ЛИШАЙНИКОВ

А.А. Буркин*, Т.Ю. Толпышева, Г.П. Кононенко*

(кафедра микологии и альгологии; e-mail: tolpysheva@mail.ru)

Методом иммуноферментного анализа в гербарных и свежесобранных слоевищах эпигейных лишайников *Cladonia stellaris*, *C.rangiferina*, *Allocetraria nivalis*, *A. cucullata*, *Cetraria islandica*, *Peltigera canina* и *Nephroma arcticum* не выявлено существенных различий в содержании вторичных метаболитов, относящихся к микотоксинам — дезоксиниваленола, диацетоксисцирпенола, зеараленона, альтернариола, цитринина, стеригматоцистина, циклопиазоновой кислоты, микофеноловой кислоты, эмодина и PR-токсина. Обнаружение этих веществ в образцах, сроки хранения которых превышают несколько десятилетий, свидетельствует об эффективной системе консервации продуктов метаболического обмена в лишайниках.

Ключевые слова: лишайники, микотоксины, гербарий.

Известно, что лишайники перед инсерацией не подвергают химической или температурной обработке, их просто хорошо просушивают на воздухе и помещают в бумажные пакеты. При длительном хранении такого материала не отмечено случаев его порчи насекомыми, поражения грибами или другими микроорганизмами. Отсутствие внешних воздействий дает возможность использовать гербарные образцы лишайников для изучения характера биохимических изменений, сопровождающих процесс хранения. Так, было показано, что у *Sticta* sp. через 4 года полиолы — рибитол, арабинитол и маннитол уже практически не удается обнаружить, а количество белка снижается с 34 до 18% [1]. Специальные эксперименты по влиянию сроков хранения на уровни содержания лишайниковых кислот не проводились, но в гербарных образцах нескольких видов р. *Evernia* показано присутствие усниновой кислоты [2]. В слоевищах *Cladonia stellaris*, хранившихся около 10 лет, содержание этой кислоты варьировало в зависимости от места и времени сбора от 0,37 до 2,17% [3]. В 66 исследованных гербарных образцах *Parmelia vagans* Nyl. [= *Xanthoparmelia camschadalis* (Ach.) Nyl.] найдены усниновая, салациновая и норстиктовая кислоты [4].

Недавно в свежесобранных лишайниках разной таксономической принадлежности были обнаружены низкомолекулярные биологически активные вещества из группы микотоксинов [5–7]. Эти метаболиты продуцируют микроскопические грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* [8] для которых лишайники могут служить экологической нишей [9].

Цель данной работы — сравнительная оценка уровней содержания вторичных метаболитов, принадлежащих к микотоксинам, в гербарных и свежесобранных образцах нескольких видов эпигейных лишайников.

Материалы и методы

В работе использовали 7 видов эпигейных лишайников — *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouz et Vězda, *C. rangiferina* (L.) F.H. Wigg., *Allocetraria cucullata* (Bellardi) Randl. et Saag, *A. nivalis* (L.) Randl. et Saag, *Cetraria islandica* (L.) Ach., *Peltigera canina* (L.) Willd. и *Nephroma arcticum* (L.) Torss. Исследовано 46 фрагментов от образцов лишайников, хранящихся в гербарии им. Д.П. Сырейщикова (MW) Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Для сравнения слоевища соответствующих видов лишайников в количестве 100 образцов были собраны в 2010 г. в Мурманской обл. и на полуострове Таймыр.

В образцах проводили определение количественного содержания 10 вторичных метаболитов, относящихся к группе микотоксинов: дезоксиниваленола (ДОН), диацетоксисцирпенола (ДАС), зеараленона (ЗЕН), альтернариола (АОЛ), цитринина (ЦИТ), стеригматоцистина (СТЕ), циклопиазоновой кислоты (ЦПК), микофеноловой кислоты (МФК), эмодина (ЭМО) и PR-токсина (PR) с помощью непрямого конкурентного иммуноферментного анализа по методике, описанной в работе [7]. Слоевища лишайников измельчали, экстрагировали смесью ацетонитрила в воде в объемном соотношении 84 : 16, интен-

* Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены, экологии РАСХН, г. Москва.

сивно встряхивали, выдерживали 14–16 ч при комнатной температуре и еще раз перемешивали. Соотношение навески и раствора составляло 1 : 10 (г/мл). Полученные экстракты перед анализом разбавляли в 10 раз 0,15 М фосфатно-солевым буфером (рН 7,5), состоящим из 0,01 М Na_2HPO_4 , 0,14 М NaCl и 0,05% Твин 20.

Результаты и обсуждение

Из 6 метаболитов, наиболее часто встречающихся у *Cladonia stellaris*, ДАС, СТЕ и ЭМО обнаружены во всех исследованных гербарных образцах и в соответствующих количествах, а по остальным частота случаев подтверждения снижалась в ряду АОЛ, МФК, ЦИТ (табл. 1). Уровни содержания этих веществ в гербарных образцах соответствовали количественному диапазону, найденному для свежесобранных слоевищ.

У *C. rangiferina* из 4 регулярно обнаруживаемых веществ СТЕ и ЭМО находили во всех без исключения образцах, в том числе в сборе 1910 г. из Забайкалья. Количество ЭМО здесь было более чем в 2 раза выше предельного уровня накопления у свежесобранного лишайника (табл. 2). Положительными по содержанию АОЛ были два из 3 гербарных

образцов, по МФК — 1, но с количеством на порядок выше, чем в слоевищах 2010 г. Редко встречающиеся метаболиты (ДАС, ЦПК) также находили в гербарных образцах, при этом в некоторых случаях даже в больших количествах, чем в слоевищах, собранных в 2010 г. По отсутствующим в образцах сравнения ДОН и ЭА получены положительные результаты для гербарных образцов из восточных районов России.

Для лишайников р. *Allocetraria* с 5 характерными метаболитами — ДАС, АОЛ, СТЕ, МФК и ЭМО полное воспроизведение наблюдалось у *A. nivalis* по АОЛ, СТЕ, МФК и ЭМО, у *A. cucullata* — по СТЕ, МФК и ЭМО, а АОЛ не был найден ни в одном из образцов (табл. 3, 4). Такие же исключения наблюдались и для ДАС. Этим видам свойственно нерегулярное обнаружение всех других веществ, поэтому редкие положительные результаты поиска в гербарных образцах вполне понятны.

Для 3 наиболее частых в свежесобранных слоевищах *Cetraria islandica* метаболитов АОЛ, СТЕ и ЭМО представленность в гербарных образцах выражена в полной мере для ЭМО, с одним исключением для СТЕ и с тремя — для АОЛ (табл. 5). Тот факт, что редкие в образцах сравнения метаболиты — ЦИТ, ЦПК, МФК, ДАС — в гербарных образ-

Таблица 1

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Cladonia stellaris*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г					
	ДАС	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	МФК	ЭМО
Мурманская обл., 2010 г. ($n = 30$)	27 100–355	17 37–1260	17 41–89	30 42–200	28 35–132	21 100–8910
Якутская АССР, 1938	251	40	—	100	78	631
Якутская АССР, 1938	100	200	—	126	—	2510
Читинская обл., 1958	285	50	—	129	—	157
Читинская обл., 1958	234	—	—	79	—	1000
Якутская АССР, 1961	282	—	—	126	—	178
Якутская АССР, 1961	151	519	—	48	63	1290
Мурманская обл., 1983	178	—	—	141	—	132
Читинская обл., 1987	288	—	50	112	56	100

Таблица 2

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Cladonia rangiferina*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г								
	ДОН	ДАС	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	ЦПК	МФК	ЭА	ЭМО
Мурманская обл., 2010 ($n = 13$)	—	1 124	5 45–200	3 40–98	10 15–417	1 219	8 41–76	—	12 45–638
Забайкалье, 1910	—	100	—	—	15	407	562	794	1640
Читинская обл., 1987	129	153	89	—	8	—	—	—	684
Мурманская обл., 2000	—	—	62	—	48	—	—	—	119

Таблица 3

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Allocetraria nivalis*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г						
	ДАС	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	ЦПК	МФК	ЭМО
Мурманская обл., 2010 ($n = 11$)	10 100—202	7 44—1000	3 45—66	11 63—631	—	11 50—151	11 193—1905
Южный Урал, 1927	—	355	61	102	—	1259	12 580
Коми АО, 1927	—	124	—	79	—	98	1290
Читинская обл., 1933	112	529	66	120	—	204	1445
Алтайский заповедник, 1935	158	298	51	282	108	110	28 185
Иркутская обл., 1941	100	59	—	98	—	102	15 850
Тувинская АО, 1946	—	71	47	74	—	72	1000
Мурманская обл., 1971	—	50	—	78	—	88	543
Магаданская обл., 1974	117	148	126	126	—	275	1820

Таблица 4

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Allocetraria cucullata*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г								
	ДОН	ДАС	ЗЕН	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	МФК	ЭА	ЭМО
Таймыр, 2010, $n = 4$	—	3 135—186	2 50; 64	3 98—153	2 38; 40	4 40—90	4 36—254	—	4 63—513
Забайкалье, 1923	—	112	—	126	—	51	200	19	288
Восточные Саяны, 1929	—	—	—	40	—	78	158	—	398
Восточные Саяны, 1937	—	100	—	164	40	98	114	—	513
Мурманская обл., 1971	98	98	—	—	—	48	74	—	229
Магаданская обл., 1975	—	178	—	1259	50	66	190	—	2818

Таблица 5

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Cetraria islandica*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г								
	ДОН	ДАС	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	ЦПК	МФК	ЭА	ЭМО
Мурманская обл., 2010 ($n = 12$)	—	1 170	11 54—1000	3 40—71	9 20—313	2 102; 126	2 62; 104	—	11 100—962
Московская губ., 1912	100	—	—	45	20	355	64	—	630
Московская губ., 1925	138	155	50	64	32	372	190	158	1620
Нижегородская губ., 1926	112	100	88	50	43	394	86	—	87
Архангельская губ., 1927	127	—	40	80	12	610	64	—	51
Мурманская обл., 1961	—	—	—	52	9	263	—	—	794
Мурманская обл., 1971	—	—	—	50	—	363	104	—	380

цах встречались повсеместно (ЦИТ и ЦПК), за единственным исключением (МФК) или несколько реже (ДАС), по-видимому, связан с географической неоднородностью и малыми выборками материала. Более того, ДОН и ЭА, которые не удалось найти в этом лишайнике в 2010 г., присутствовали в са-

мых старых гербарных образцах слоевищ, собранных в 1912—1927 гг.

У всех рассмотренных выше видов лишайников в морфологическом строении есть как общие черты, так и некоторые отличия. *Cladonia stellaris* и *C. rangiferina* имеют кустистое слоевище с ложным ко-

Таблица 6

Содержание вторичных метаболитов грибов
в образцах *Peltigera canina*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания, нг/г		
	АОЛ	СТЕ	ЭМО
Мурманская обл., 2010 ($n = 5$)	2 158; 158	5 25–102	4 251–417
Иркутская губ., 1902	64	38	398
Владимирская губ., 1913	—	95	120
о. Валаам, 1915	46	18	204
Восточно-Казахстанская обл., 1953	—	316	214
Мурманская обл., 1962	—	41	331
Магаданская обл., 1974	—	335	168
Хабаровский край, 1976	—	442	309
Мурманская обл., 1994	—	72	132
Соловецкие о-ва, 1996	—	9	50

ровым слоем и полостью внутри, а в качестве фотобионта — зеленую водоросль *Trebouxia* [10]. *Allo-cetraria nivalis*, *A. cucullata* и *Cetraria islandica* — кустистое уплощенное слоевище с хорошо развитым с обеих сторон лопастей коровым слоем, с фотобионтом *Trebouxia* [11]. Сохранность веществ исследуемой группы у них одинаково высока, некоторые отличия наблюдаются только в отношении качественного состава и уровней накопления этих метаболитов.

У *Peltigera canina* в самом старом из исследованных образцов 1902 г. из Иркутской губернии присутствовали все три характерных метаболита — АОЛ, СТЕ и ЭМО, в остальных — всегда СТЕ и ЭМО и реже — АОЛ (табл. 6). Морфологической особенностью этого лишайника с листоватым слоевищем является то, что коровый слой развит только с верх-

ней стороны и фотобионтом является цианобактерия *Nostoc*. Возможно, это имеет отношение к малому числу встречающихся в нем метаболитов, но явно не влияет на их сохранность, ее следует признать высокой.

Для вида *Nephroma arcticum*, которому свойственно наибольшее многообразие в составе присутствующих метаболитов микромицетов, в гербарных образцах сохраняются эти черты (табл. 7). Из 7 наиболее типичных соединений во всех случаях обнаружены АОЛ, ЦИТ, СТЕ, МФК, ЭМО и за немногими исключениями — ЦПК и ДАС. Для остальных метаболитов встречаемость была хотя и ниже (ЗЕН, ДОН, PR), но, как правило, количества оставались в рамках ожидаемого диапазона. Листоватое слоевище этого лишайника имеет хорошо развитый с обеих сторон коровый слой и два фотобионта — зеленую водоросль *Coccomyxa* и во внутренних цетралиях — цианобактерию *Nostoc* [12]. Накопление обширного спектра вторичных метаболитов отличает его от других видов, но по сохранности этих веществ он не имеет особенностей.

Таким образом, у морфологически отличающихся видов лишайников наблюдаются особенности в разнообразии и уровнях содержания вторичных метаболитов из группы микотоксинов. Однако независимо от таксономической принадлежности организмов эти вещества одинаково хорошо сохраняются в сухих слоевищах и могут быть обнаружены даже в образцах, собранных в начале прошлого века. Результаты анализа гербарных образцов с длительными сроками хранения подтверждают возможность эффективной консервации метаболитов грибов в лишайниках. Расшифровка особых биохимических механизмов, обеспечивающих сохранность продуктов вторичного обмена при удалении организма из среды естественного обитания, может стать новым важным этапом развития фундаментальных исследований в лихенологии.

Таблица 7

Содержание вторичных метаболитов грибов в образцах *Nephroma arcticum*

Место и год сбора образцов	n^+ , диапазон содержания веществ, нг/г									
	ДОН	ДАС	ЗЕН	АОЛ	ЦИТ	СТЕ	ЦПК	МФК	ЭМО	PR
Мурманская обл., 2010 ($n = 25$)	5 200–525	25 112–785	20 40–151	25 129–2600	25 63–345	25 56–631	25 141–638	25 700–5012	25 1914–23 380	7 100–193
Коми АО, 1927	90	—	—	97	180	30	184	1000	2500	—
Тюменская обл., 1962	89	141	—	229	178	61	190	1288	3273	—
Мурманская обл., 1962	—	—	—	158	155	23	200	785	5623	—
Мурманская обл., 1971	—	190	—	305	182	28	162	977	6310	—
Мурманская обл., 1971	209	108	112	1122	127	67	174	1230	3548	153
Магаданская обл., 1974	—	251	75	363	52	23	—	1000	22 390	507
Мурманская обл., 1983	98	195	48	245	190	87	309	1905	6310	—

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Corradi da Silva M., Iacomini M., Jablonski E., Gorin Ph.A.J. Carbohydrate, glycopeptide and protein components of the lichen *Sticta* sp. and effect of storage // *Phytochemistry*. 1993. Vol. 33. N 3. P. 547—552.
2. Culbertson Ch.F. The lichen substances of the genus *Evernia* // *Phytochemistry*. 1963. Vol. 2. N 4. P. 335—340.
3. Равинская А.П., Вайнштейн Е.А. Хематаксономическое значение изменений содержания лишайниковых кислот // *Новости систематики низших растений*. 1975. Т. 12. С. 266—273.
4. Шапиро И.А. Содержание усниновой кислоты в лишайнике *Parmelia vagans* Nyl. // *Растительные ресурсы*. 1977. Т. 13. Вып. 3. С. 463—466.
5. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Первые сведения о контаминации ягеля микотоксинами // *Иммунология, аллергология, инфектология*. 2010. № 1. С. 185—186.
6. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Контаминация ягеля микотоксинами // *Докл. Рос. акад. с.-х. наук*. 2011. № 2. С. 56—58.
7. Кононенко Г.П., Буркин А.А., Толпышева Т.Ю. Иммуноферментный анализ вторичных метаболитов микроорганизмов в составе лишайниковых веществ // *Прикладная биохим. и микробиол.* 2012. Т. 48. № 1. С. 81—89.
8. Moreau C., Mould S. *Toxins and food*. Chichester; New York; Brisbane; Toronto: John Wiley & Sons, 1979. 477 p.
9. Girlanda M., Isocrone D., Bianco C., Luppi-Mosca A.M. 1997. Two foliose lichens as microfungus ecological niches // *Mycologia*. Vol. 89. N 4. P. 531—536.
10. Трасс Х.Х. Сем. *Cladoniaceae* // *Определитель лишайников СССР*. 1978. Вып. 5. С. 7—79.
11. Рассадина К.А. Сем. *Parmeliaceae* // *Определитель лишайников СССР*. 1971. Вып. 1. С. 282—386.
12. Домбровская А.В. Сем. *Peltigeraceae* incl. *Nephromataceae* // *Определитель лишайников СССР*. 1975. Вып. 3. С. 139—196.

Поступила в редакцию
21.06.11

SAFETY OF FUNGAL SECONDARY METABOLITES IN HERBARIAL LICHEN SPECIMENS

A.A. Burkin, T.Yu. Tolpysheva, G.P. Kononenko

Fresh and taken from herbarium thalli of epigeous lichens *Cladonia stellaris*, *C. rangiferina*, *Allocetraria nivalis*, *A. cucullata*, *Cetraria islandica*, *Peltigera canina*, *Nephroma arcticum* were studied by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). There were found no significant differences in the content of secondary metabolites belonging to mycotoxins deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, zearalenone, alternariol, citrinin, sterigmatocystin, cyclopiazonic acid, mycophenolic acid, emodin, PR-toxin. Revealing of these substances in specimens kept in herbarium for some decades testify to an effective system of conservation of metabolic products in lichens.

Key words: lichens, mycotoxins, herbarium.

Сведения об авторах

Буркин Алексей Анатольевич — канд. мед. наук, ст. науч. сотр. Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН. Тел.: 8-499-256-80-31.

Толпышева Татьяна Юрьевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-22, e-mail: tolpyшева@mail.ru

Кононенко Галина Пантелеевна — докт. биол. наук, зав. лаб. микотоксикологии Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН. Тел.: 8-499-256-80-31; e-mail: kononenkogp@mail.ru

ЭКОЛОГИЯ

УДК 577.475

ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БЕЛОМОРСКОГО ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКАХ АЗОТА

Л.В. Ильяш, Т.А. Белевич, Д.Н. Маторин

(кафедра гидробиологии; e-mail: ilyashl@mail.ru)

Зависимость параметров флуоресценции и биомассы фитопланктона от источника азота и освещенности исследовали в обогатительных скляночных опытах с фитопланктоном Белого моря в августе—сентябре 2007 г. Фитопланктон экспонировали *in situ* 18 сут с добавками 180 мкмол/л азота в виде нитратов, мочевины, аммония и глицина при двух уровнях освещенности. В адаптированных к темноте пробах определяли максимальную квантовую эффективность ФС2 (F_v/F_m). Быстрые световые кривые для каждой пробы получали при последовательном увеличении интенсивности радиации (8 уровней). Рассчитывали максимальную относительную скорость электронов по электрон-транспортной цепи ($rETR_{max}$), коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α) и нефотохимическое тушение флуоресценции NPQ. После внесения добавок азота обилие фитопланктона увеличивалось и изменялись его фотосинтетические параметры. Значения возрастали до 0,64—0,71, что свидетельствует о хорошем физиологическом состоянии водорослей и отсутствии азотного лимитирования. Динамика $rETR_{max}$ и NPQ зависела от источника азота и освещенности, тогда как α от добавки азота практически не зависела.

Ключевые слова: фитопланктон, флуоресценция, органический и неорганический азот, освещенность.

Первичная продукция в большинстве районов Мирового океана ограничена недостатком азота [1]. В Белом море фитопланктон лимитирован азотом в летний период [2, 3]. Азотное лимитирование приводит к снижению эффективности световых реакций фотосинтеза, уменьшению скорости фотосинтетической фиксации углерода и скорости роста водорослей [4]. В условиях недостатка минерального азота возрастает значимость потребления планктонными водорослями растворенного органического азота (N_{org}). При обширном объеме сведений о способности различных водорослей ассимилировать тот или иной содержащий азот органический субстрат [5], данные о динамике фотосинтетической активности, в частности световых реакций фотосинтеза, при потреблении N_{org} практически отсутствуют. Оценка параметров флуоресценции — один из широко используемых подходов для определения эффективности световых реакций фотосинтеза у водорослей. В частности, максимальная квантовая эффективность фотосистемы 2 (относительный выход переменной флуоресценции у адаптированных к темноте водорослей) отражает эффективность фотохимического преобразования энергии в реакционных центрах фотосистемы 2 (ФС2) [4]. Этот параметр используется в качестве характеристики физиологического состояния фитопланктона и его фотосинтетической активности [4].

В природных экосистемах концентрация N_{org} изменяется значительно как во времени, так и в пространстве. Значимую долю в N_{org} составляют вещества, которые планктонные водоросли способны ассимилировать. Азот мочевины составляет от 20 до 50% в суммарном количестве азота, ассимилируемого морским фитопланктоном, а доля азота аминокислот варьирует от 10 до 90% [6, 7]. Набор ассимилируемых водорослями азотсодержащих субстратов видоспецифичен, и их потребление зависит от освещенности [5]. В природных экосистемах фитопланктон в поверхностном слое испытывает стресс фотоингибирования, на промежуточных глубинах фотической зоны освещенность близка к насыщающему фотосинтез уровню, на нижней границе фотической зоны освещенность лимитирует фотосинтез [4]. Различная обеспеченность фитопланктона световой энергией, а также зависимость скорости потребления водорослями N_{org} от освещенности выдвигают в качестве актуальных задач исследование динамики параметров флуоресценции у водорослей, ассимилирующих N_{org} при разных уровнях освещенности. Особую актуальность такой подход приобретает в свете ежегодного возрастания количества поступающего в водные экосистемы органического азота антропогенного происхождения [8].

В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ динамики параметров флуоресцен-

ции экспериментальных сообществ фитопланктона Белого моря, растущих с добавками азота в виде нитратов, аммония, глицина или мочевины при двух уровнях освещенности.

Материал и методы исследования

Эксперимент проводили на Беломорской биологической станции МГУ (Кандалакшский залив) с 23 августа по 10 сентября 2007 г. В позднелетний период концентрация минерального азота в Кандалакшском заливе не превышает 3 мкмоль/л, и фитопланктон лимитирован недостатком азота [2, 3].

Схема эксперимента. Фитопланктон, служивший исходным материалом для экспериментов, отбирали с помощью сети из планктонного газа № 78 в слое 2–5 м и пропускали через газ № 40 для устранения зоопланктона. В 1,5-литровые пластиковые емкости добавляли отфильтрованную морскую воду, концентрированный фитопланктон (посевной титр — 1150 кл/мл, 2940 мкгС/л) и все, за исключением азота, биогенные элементы, согласно прописи среды f/2 [9]. Азот вносили в виде мочевины, глицина, нитратов или аммония в концентрации 180 мкмоль азота/л. Соотношение содержания азота и фосфора в среде равнялось пяти, что обуславливает ограничение развития водорослей недостатком азота [10]. В качестве контроля использовали фитопланктон без добавок азота. Экспериментальные емкости экспонировали *in situ* на плотиках на глубине 1 м. Полуденная освещенность на этой глубине (E_1) колебалась в пределах 25–364 мкЕ/(м² · с). Более низкую освещенность (E_2), составлявшую в среднем 51% от E_1 , создавали путем экранирования склянок тканью средней плотности. Все варианты эксперимента проводили в трех повторностях. Раз в трое суток из каждой емкости отбирали пробы объемом 20 мл. Пробы, представляющие повторности для каждого варианта добавки и контроля, объединяли в одну интегральную пробу (объем 60 мл). Из каждой интегральной пробы фитопланктона отбирали подпробу объемом 5 мл для оценки параметров флуоресценции, оставшийся объем фиксировали раствором Люголя для оценки численности и биомассы водорослей.

Параметры флуоресценции измеряли с использованием флуорометра WaterPAM (Walz, Германия) по методологии быстрых световых кривых [11]. Перед измерениями все подпробы выдерживали в темноте не менее 30 мин. Измерения для каждой подпробы проводили при последовательном увеличении (от нуля) интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР), генерируемой в флуорометре. Интенсивность ФАР составляла 25, 52, 71, 98, 144, 208, 291 и 401 мкЕ/(м² · с), время освещения фитопланктона при каждой интенсивности ФАР равнялось 30 с. Квантовую эффективность ФС2 измеряли при насыщающей вспышке 5000 мкЕ/(м² · с) продолжительностью 0,8 с, генерируемой флуорометром.

У клеток, акклиматизированных к темноте, флуорометр регистрирует F_0 — минимальный выход флуоресценции, измеренный непосредственно перед насыщающей вспышкой, и F_m — максимальный выход флуоресценции при насыщающей вспышке. У клеток, подвергшихся освещению светом определенной интенсивности, регистрируются F_t — выход флуоресценции при данной интенсивности света, измеренный непосредственно перед насыщающей вспышкой, и F'_m — выход флуоресценции при насыщающей вспышке. На основе этих показателей флуорометром автоматически рассчитываются следующие параметры.

1. Максимальная квантовая эффективность ФС2 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$.

2. Фотохимическая эффективность ФС2 клеток, освещаемых в течение 30 с светом определенной интенсивности $\Phi_{\text{ФС2}} = (F'_m - F_t)/F'_m$. Параметр $\Phi_{\text{ФС2}}$ отражает долю световой энергии, используемую в фотохимических реакциях, от световой энергии, поглощенной хлорофиллом ФС2.

3. Нефотохимическое тушение флуоресценции $\text{NPQ} = (F_m - F'_m)/F'_m$. Величина NPQ характеризует рассеивание световой энергии в виде тепла.

4. Относительная скорость нециклического электронного транспорта при определенной интенсивности ФАР $\text{rETR} = \Phi_{\text{ФС2}} \cdot 0,5 \cdot E_i$, где E_i — освещенность, мкЕ/(м² · с).

Соотнесение каждой интенсивности ФАР значения rETR дает так называемые быстрые световые кривые [11], обозначаемые далее как Р/Е кривые. На основании полученных Р/Е кривых оценивали коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α) и максимальную относительную скорость электронов по электротранспортной цепи (rETR_{max}). Величину α рассчитывали как коэффициент линейной регрессии, построенной по точкам, лежащим на светолимитированном участке Р/Е кривой, rETR_{max} — как среднее по значениям rETR, находящимся на светонасыщающем участке [12].

Численность водорослей определяли методом прямого счета в камере Нажотта (объемом 0,05 мл). Объемы клеток определяли методом геометрического подобия [13]. Клеточное содержание органического углерода рассчитывали по аллометрическим уравнениям [14].

При дальнейшем изложении сообщества, росшие с использованием разных источников азота, обозначены следующим образом: сообщество, ассимилирующее нитраты — N, глицин — G, мочевины — M, аммоний — A.

Результаты

В составе экспериментальных сообществ фитопланктона отмечено 55 видов, относящихся к диатомовым и динофитовым водорослям. Диатомовые водоросли составили 87% от общего числа видов. В исходном сообществе суммарная биомасса составляла 2,94 мг С/л. Доминировала диатомовая водо-

росль *Ditylum brightwellii*. Ее вклад в суммарную численность составил 32%, а вклад в суммарную биомассу — 76%. Параметры флуоресценции водорослей в исходном сообществе: F_v/F_m — 0,61, $rETR_{max}$ — 0,31, α — 0,198, NPQ_{401} — 0,698.

После внесения добавок азота во всех сообществах наблюдалось увеличение суммарной биомассы водорослей, превосходящее таковое в контроле. Увеличение биомассы продолжалось до 6-х сут при E_1 и до 9-х сут при E_2 , после чего биомасса начинала снижаться. Величина накопленной биомассы фитопланктона зависела от источника азота и уровня освещенности (таблица). Доминирование *D. brightwellii* сохранялось на протяжении всего эксперимента.

После внесения добавок азота параметры флуоресценции водорослей изменялись в зависимости от источника азота, освещенности и стадии роста (таблица). На стадии активного роста с 1-х по 6-е сут значения F_v/F_m изменялись в пределах 0,64—0,71. Такие величины свидетельствуют о хорошем физиологическом состоянии водорослей в экспериментальных сообществах, а также о том, что водоросли не лимитированы недостатком азота [15].

Через сутки после внесения азотсодержащих субстратов при всех добавках величины $rETR_{max}$ возрастали до 3-х сут, а затем снижались. На 3-и сут наибольшие величины $rETR_{max}$ при E_1 отмечались в сообществе N, а при E_2 — в сообществе M. При достижении максимальной биомассы (при E_1 — 6-е сут, при E_2 — 9-е сут) наибольшие величины $rETR_{max}$ отмечались в сообществах M. Сопоставление величин $rETR_{max}$ у водорослей, ассимилирующих ту или иную добавку при двух уровнях освещенности, показывает, что с 3-х по 9-е сут $rETR_{max}$ были выше при E_2 , чем при E_1 при всех добавках за исключением сообществ N на 3-и сут.

Динамика коэффициента максимальной утилизации световой энергии α практически не зависела от добавки азота. При всех добавках наибольшие значения α достигались на 3-и сут роста как при E_1 , так и при E_2 . На 6-е и 9-е сут при всех добавках значения α при E_2 были выше таковых при E_1 .

Динамика нефотохимического тушения зависела от ассимилируемого субстрата и уровня освещенности. Значения NPQ при увеличении интенсивности ФАР возрастали более резко в сообществах G за исключением 1-х сут при E_1 и

6-х сут при E_2 . Значения NPQ при интенсивности ФАР 401 мкЕ/(м² · с) (NPQ_{401}) с 1-х по 3-и сут снижались во всех сообществах, а по мере достижения водорослями максимальных значений биомассы (на 6-е и 9-е сут) снова возрастали. В большинстве случаев значения NPQ_{401} у водорослей, росших при E_1 , были выше таковых при E_2 . Исключение составили сообщества G в 1-е сут и A на 3-и сут.

Обсуждение результатов

Азотное лимитирование ведет к подавлению синтеза белков и пигментов на уровне трансляции [4],

Динамика максимальной квантовой эффективности ФС2 (F_v/F_m), максимальной относительной скорости фотосинтетического транспорта электронов ($rETR_{max}$), коэффициента максимальной утилизации световой энергии (α), нефотохимического тушения при интенсивности света 401 мкЕ/(м² · с) (NPQ_{401}) у водорослей, росших с добавками нитратов (N), мочевины (M), глицина (G) и аммония (A) при освещенности E_1 и E_2 . Данные приведены для периода увеличения биомассы водорослей

Сутки роста	Освещенность							
	E_1				E_2			
	добавки				добавки			
	N	M	G	A	N	M	G	A
	B, мг C/л							
3	3,856	4,793	6,527	3,948	5,696	4,991	5,096	5,534
6	8,957	13,268	14,578	9,216	8,375	9,14	11,253	6,378
9	38,344	35,766	32,225	29,926	22,683	14,781	32,373	26,737
	F_v/F_m , усл. ед.							
1	0,69	0,69	0,68	0,68	0,69	0,66	0,70	0,67
3	0,67	0,66	0,70	0,67	0,71	0,67	0,70	0,69
6	0,64	0,67	0,67	0,69	0,70	0,70	0,69	0,72
9	0,61	0,57	0,55	0,61	0,66	0,65	0,68	0,66
	$rETR_{max}$, усл. ед.							
1	29,9	30,7	29,0	26,7	30,1	30,2	31,7	28,8
3	35,1	32,2	31,5	32,2	28,5	37,7	34,5	33,0
6	20,4	23,0	21,6	22,6	26,5	27,7	26,0	31,3
9	18,3	17,5	12,0	16,0	26,4	29,2	26,7	29,0
	α , усл. ед.							
1	0,200	0,197	0,194	0,179	0,201	0,204	0,192	0,175
3	0,217	0,222	0,218	0,213	0,217	0,228	0,212	0,215
6	0,184	0,194	0,186	0,194	0,205	0,211	0,205	0,224
9	0,177	0,156	0,131	0,158	0,203	0,203	0,200	0,194
	NPQ_{401} , усл. ед.							
1	0,97	0,81	0,80	1,13	0,82	0,74	1,04	0,92
3	0,61	0,64	0,77	0,45	0,43	0,37	0,56	0,57
6	1,15	1,01	1,43	0,92	0,94	0,89	0,82	0,82
9	1,02	1,09	1,31	0,91	0,86	0,95	0,93	0,85

что обуславливает целый ряд изменений в фотосинтетическом аппарате и метаболизме водорослей. В частности, при недостатке азота снижаются способность водорослей улавливать световую энергию, уменьшается эффективность световых реакций фотосинтеза, нарушается перенос энергии возбуждения от светособирающего комплекса к реакционным центрам, снижается фотоиндуцируемый транспорт электронов, повышается чувствительность к фотоингибированию, уменьшаются скорость фотосинтетической фиксации углерода и скорость роста водорослей [16, 17, 18, 19]. Инактивация фотосинтетического аппарата при дефиците азота является обратимой. После того как ресурс становится доступен водорослям, происходит восстановление фотосинтетического аппарата и увеличивается скорость роста [16, 17, 20, 21].

В Белом море в летний период фитопланктон лимитирован недостатком азота [2, 3]. После внесения добавок разных форм азота у исходно лимитированного фитопланктона наблюдалось увеличение суммарной биомассы и изменение параметров флуоресценции. При этом динамика биомассы и параметров флуоресценции зависела от источника азота и освещенности. Величины максимальной квантовой эффективности ФС2 в период активного роста свидетельствуют о хорошем физиологическом состоянии водорослей и отсутствии азотного лимитирования при доступности азота во всех четырех формах. Это говорит о том, что водоросли (в первую очередь, доминирующая диатомея *D. brightwellii*) потребляли и ассимилировали органический азот мочевины и глицина.

Зависимость динамики биомассы и параметров флуоресценции фитопланктона от источника азота и освещенности, по-видимому, обусловлена тем, что разные формы этого незаменимого элемента используются отдельными водорослями на рост и другие метаболические нужды с неодинаковой эффективностью [22], причем эффективность зависит от освещенности [23]. Помимо этого на динамику параметров флуоресценции в сообществах, росших при E_1 , особенно на начальных этапах роста, могли влиять процессы акклимации к повышению освещенности и, возможно, некоторая степень фотоингибирования водорослей. Фитопланктон, использовавшийся в качестве посевного материала, был отобран в слое 2–5 м, т.е. был акклимирован к более низкой освещенности. При повышении освещенности уменьшается количество энергии возбуждения, направляемое из светоулавливающего комплекса на реакционные центры ФС 2, и максимальная скорость фотосинтеза снижается [24]. При фотоингибировании идет накоп-

ление неактивных реакционных центров ФС2 [25]. Все эти причины могли привести к более низким величинам максимальной относительной скорости фотосинтетического транспорта электронов при E_1 по сравнению с таковыми при E_2 . При E_1 на 3-и сут наибольшая величина $gETR_{max}$ отмечалась в сообществе N. Это, по-видимому, обусловлено тем, что при ассимиляции нитратов на их восстановление используются фотогенерированные электроны. Такой “отток” электронов из фотосинтетической электрон-транспортной цепи способствует более быстрой акклимации к повышению освещенности и препятствует развитию фотоингибирования [26].

Динамика коэффициента максимальной утилизации световой энергии α практически не зависела от добавки азота. Ранее отсутствие зависимости α от источника (органический или минеральный) азота была показана для водоросли *Aureoumbra lagunensis*, относящейся к классу Pelagophyceae [28].

При всех добавках и обеих освещенностях на начальных этапах роста значения нефотохимического тушения снижались, а по мере достижения максимальных значений биомассы снова возрастали. Такая динамика согласуется с выявленной ранее зависимостью NPQ от стадии роста водорослей [28]. В большинстве случаев значения NPQ у водорослей, росших при E_1 , были выше таковых при E_2 . В экспериментальных сообществах по числу видов и биомассе преобладали диатомеи. У диатомовых водорослей основной компонентой NPQ является энергезависимое тушение в ксантофильном цикле [29, 30]. Амплитуда и кинетика NPQ у диатомей зависят от уровня освещенности, при котором растут водоросли, и выше у клеток, акклимированных к более высокой освещенности [29, 31]. Амплитуда и кинетика NPQ различаются у отдельных видов диатомей [30]. Этот факт, а также видоспецифичная эффективность использования водорослями разных азотсодержащих субстратов [22] обуславливают зависимость NPQ сообществ от источника азота и освещенности.

Подводя итог вышесказанному, можно заключить, что позднелетний азот лимитированный фитопланктон Белого моря ассимилирует не только в минеральной, но и органической форме. При этом эффективность световых реакций фотосинтеза у планктонных водорослей зависит от источника азота и уровня освещенности.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-00932) и Рособразования П 2219,211/4667.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Glibert P.M. Primary productivity and pelagic nitrogen cycling // Nitrogen cycling in coastal marine environments / Eds. T.H. Blackburn, J. Sorensen. New York, 1988. P. 3—31.

2. Максимова М.П. Гидрохимия Белого моря // Гидрометеорология и гидрохимия морей СССР. 1991. Т. 2. Белое море. Ч. 1. С. 8—193.

3. Ильяш Л.В., Житина Л.С., Федоров В.Д. Фитопланктон Белого моря. М.: Янус-К, 2003. 168 с.
4. Falkowski P.G., Raven J.A. Aquatic photosynthesis. Malden: Blackwell Science, 1997. 375 p.
5. Antia N.J., Harrison J.P., Oliveira L. The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology // *Phycologia*. 1991. Vol. 30. P. 1–89.
6. Mulholland M.R., Lee C., Glibert P.M. Extracellular enzyme activity and uptake of carbon and nitrogen along an estuarine salinity and nutrient gradient // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2003. Vol. 258. P. 3–17.
7. Andersson M.G.I., van Rijswijk P., Middelburg J.J. Uptake of dissolved inorganic nitrogen, urea and amino acids in the Scheldt estuary: comparison of organic carbon and nitrogen uptake // *Aquat Microb. Ecol.* 2006. Vol. 44. P. 303–315.
8. Seitzinger S.P., Sanders R.W. Atmospheric input of dissolved organic nitrogen stimulate estuarine bacteria and phytoplankton // *Limnol. Oceanogr.* 1999. Vol. 44. P. 721–736.
9. Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies on marine diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // *Can. J. Microbiol.* 1962. N 8. P. 229–239.
10. Ryther J., Dunstan W.M. Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment // *Science*. 1971. Vol. 171. P. 1008–1013.
11. Schreiber U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview // *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis* / Eds. G.C. Papageorgiou, Govindjee. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004. P. 279–319.
12. Jassby A.D., Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // *Limnol. Oceanogr.* 1976. Vol. 21. P. 540–547.
13. Hillebrand H., Durselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U., Zohary T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // *J. Phycol.* 1999. Vol. 35. P. 403–424.
14. Menden-Deuer S., Lessard D.J. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton // *Limnol. Oceanogr.* 2000. Vol. 45. P. 569–579.
15. Parkhill J.-P., Maillet G., Cullen J.J. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress // *J. Phycol.* 2001. Vol. 37. P. 517–529.
16. Ильяш Л.В., Белевич Т.А., Уланова А.Ю., Маторин Д.Н. Флуоресцентные параметры морских планктонных водорослей при ассимиляции органического азота // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология*. 2007. № 3. С. 17–22.
17. Kolber Z., Zehr J., Falkowski P.G. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 923–929.
18. Geider R.J., Roche J., Greene R., Olaizola M. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tri-*
cornutum to nitrate, phosphate, or iron starvation // *J. Phycol.* 1993. Vol. 29. P. 755–766.
19. Lippemeier S., Hintze R., Vanselow K.H., Harting P., Colijn F. In-line recording of PAM fluorescence of phytoplankton as a new tool for studying effects of fluctuating nutrient supply on photosynthesis // *Eur. J. Phycol.* 2001. Vol. 36. P. 89–100.
20. Young E.B., Beardall J. Rapid ammonium- and nitrate-induced perturbations to chlorophyll *a* fluorescence in nitrogen-stressed *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) // *J. Phycol.* 2003. Vol. 39. P. 332–342.
21. Young E.B., Beardall J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle // *J. Phycol.* 2003. Vol. 39. P. 897–905.
22. Fan C., Glibert P.M., Lomas M.W. Characterization of urease activity in three marine phytoplankton species, *Aureococcus anophagefferens*, *Prorocentrum minimum*, and *Thalassiosira weissflogii* // *Mar. Biol.* 2003. Vol. 142. P. 949–958.
23. Levasseur M., Thompson P.A., Harrison P.J. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources // *J. Phycol.* 1993. Vol. 29. P. 587–595.
24. Blanchard G., Guarini J.-M., Dang C., Richard P. Characterizing and quantifying photoinhibition in intertidal microphytobenthos // *J. Phycol.* 2004. Vol. 40. P. 692–696.
25. Han B.-P., Virtanen M., Koponen J., Straskraba M. Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model // *J. Plankton Res.* 2000. Vol. 22. P. 865–885.
26. Lomas M.W., Glibert P.M. Temperature regulation of nitrate uptake: a novel hypothesis about nitrate uptake and reduction in cool-water diatoms // *Limnol. Oceanogr.* 1999. Vol. 44. P. 556–572.
27. Muhlstein H.I., Villareal T.A. Organic and inorganic nutrient effects on growth rate-irradiance relationships in the Texas brown-tide alga *Aureocymba lagunensis* (Pelagophyceae) // *J. Phycol.* 2007. Vol. 43(6). P. 1223–1226.
28. Arsalane W., Rousseau B., Duval J.-C. Influence of the pool size of the xanthophyll cycle on the effects of light stress in a diatom: competition between photoprotection and photoinhibition // *Photochem. Photobiol.* 1994. Vol. 60. P. 237–243.
29. Lavaud J., Rousseau B., Etienne A.-L. Enrichment of the light-harvesting complex in diadinoxanthin and implications for the non-photochemical fluorescence quenching in diatoms // *Biochemistry*. 2003. Vol. 42. P. 5802–5808.
30. Lavaud J., Rousseau B., Etienne A.-L. General features of photoprotection by energy dissipation in planktonic diatoms (Bacillariophyceae) // *J. Phycol.* 2004. Vol. 40. P. 130–137.
31. Perkins R.G., Mouget J.-L., Lefebvre S., Lavaud J. Light response curve methodology and possible implications in the application of chlorophyll fluorescence to benthic diatoms // *Mar. Biol.* 2006. Vol. 149. P. 703–712.

Поступила в редакцию
26.04.11

FLUORESCENCE OF WHITE SEA PHYTOPLANKTON UNDER DIFFERENT NITROGEN SOURCE AND TWO LEVELS OF IRRADIANCE

L.V. Ilyash, T.A. Belevich, D.N. Matorin

The response of phytoplankton fluorescence and biomass to addition of different nitrogen sources and irradiance were assayed in enriched bottle experiments with the White Sea phytoplank-

ton in August–September 2007. Phytoplankton was exposed in situ 18 days with the additions of 180 $\mu\text{M/L}$ of nitrogen as nitrate, urea, ammonium and glycine under two levels of irradiance. The maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m) was determined in the dark-acclimated algae. Rapid light curves (RLC) were constructed based on 8 actinic increasing light levels. The maximal relative electron transport rate ($rETR_{\text{max}}$), the maximum light use coefficient (α), and the non-photochemical quenching (NPQ) were calculated. After enrichment abundance of phytoplankton increased, and the photosynthetic parameters changed. The maximum quantum efficiency of PSII increased to 0,64–0,71, indicating a good physiological state of algae and a lack of stress due to nutrient limitation. The dynamic of $rETR_{\text{max}}$ and NPQ depended on nitrogen source and growth irradiances while α did not depended on nitrogen form.

Key words: *phytoplankton, mineral and organic nitrogen, fluorescence, irradiance.*

Сведения об авторах

Ильяш Людмила Васильевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: ilyashl@mail.ru

Белевич Татьяна Алексеевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии, биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: 3438083@list.ru

Маторин Дмитрий Николаевич — докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-39-68; e-mail: matorin@biophys.msu.ru

УДК 621.391+317.532.783+535

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМОЙ “ЭКОЛЮМ” ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ТОКСИЧНОСТЬ БЫТОВЫХ СТОКОВ

А.П. Зарубина, М.Г. Гапочка*, Л.А. Новоселова, Л.Д. Гапочка

(кафедра микробиологии, кафедра гидробиологии; e-mail: al-zar1@ayndex.ru)

Облучение сточной воды электромагнитным излучением низкой интенсивности ($\nu = 42,25$ ГГц) влияет на интегральную токсичность воды разной степени очистки, выявленную экспресс-методом на основе бактериальной люминесценции тест-системы “Эколюм-08”. Показано, что чем меньше степень очистки воды, тем больше токсическое действие ЭМИ. Это позволяет предложить бактериальный люминесцентный биосенсор тест-системы “Эколюм” для первичной оценки действия ЭМИ.

Ключевые слова: бактериальный люминесцентный тест, электромагнитное излучение (ЭМИ), токсичность, сточная вода разной степени очистки.

Основной задачей охраны окружающей среды является обеспечение объективного контроля изменения состояния водоемов, почв и атмосферы. Создание в XX в. мощных источников электромагнитного излучения (ЭМИ) для радиосвязи, локации, применения в промышленности, медицине, быту обусловило появление нового и мощного биосферного фактора — ЭМИ искусственного происхождения, оказывающего воздействие на живые организмы и среду их обитания. Данные литературы о биологической активности ЭМИ некоторых диапазонов не могут быть объяснены только тепловыми механизмами ввиду небольшой энергии электромагнитного поля [1]. В связи с этим актуальна разработка технологии на основе использования биотестов для оценки биологических эффектов ЭМИ.

В современной токсикологии при биотестировании активно используют новый класс аналитических систем — биологические сенсоры, чувствительным элементом которых являются клетки бактерий, обладающие способностью к биолюминесценции. Воздействия различной природы на бактериальные светящиеся клетки и опосредованно на их метаболизм приводят к изменению интенсивности их свечения [2–6]. В лаборатории биологически активных веществ кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова разработана бактериальная люминесцентная тест-система “Эколюм” [7]. Удобная и экономически выгодная тест-система на основе бактериальной люминесценции широко используется для первичной экспресс-оценки токсичности самых различных химических веществ и их смесей, а также физических воздействий [7–9]. Значение EC_{50} (EC_{50} — эффективная концентрация или объем,

вызывающие тушение биолюминесценции на 50%) коррелирует с LD_{50} эукариотных организмов [10]. Коэффициент корреляции для многих ксенобиотиков составляет от 0,8 до 0,95 [11]. Если ксенобиотики имеют цитотоксическое действие, то при их действии на люминесцентные бактерии тушение бактериального свечения обязательно связано не только с их токсическим действием, но и с гибелью клеток бактерий [12, 13]. Этот тест позволяет не только быстро и экономно определить токсичность, но и выяснить во время анализа другие важные свойства исследуемых препаратов: стабильность, токсичность продуктов деградации и способность к биоаккумуляции [14].

Самым первым и до настоящего времени актуальным является использование биолюминесцентной системы бактерий в мониторинге токсичности водных образцов [15]. Применение бактериального люминесцентного биосенсора особенно широко в анализе сбросов промышленных предприятий и контроле чистоты воды, для оценки качества воды рек, искусственных и естественных водоемов, атмосферных осадков, грунтовых вод, питьевой воды, стоков промышленных предприятий и очистных сооружений и т.п. [15–18]. Биолюминесцентный тест используют для оценки качества воды после всех видов фильтрации, а также воды, полученной в процессе регенерации на специальных установках, например при длительных космических полетах, и др. [19, 20].

В настоящей работе проведена оценка биологического действия электромагнитного поля низкой интенсивности на токсичность сточной воды разной степени очистки экспресс-методом на основе бактериальной люминесценции тест-системы “Эколюм”.

* Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова.

Объекты и методы исследования

Используемый биосенсор. В анализах использовали тест-систему “Эколюм-8” на основе генно-инженерных бактерий *Escherichia coli K12 TG1* с клонированным в них *lux*-опероном почвенных светящихся бактерий *Photorhabdus luminescens ZM1* [6].

Подготовка биосенсора “Эколюм-8” к использованию в качестве биотеста. Перед проведением анализа биотест приводили в рабочее состояние, т.е. регидратировали лиофильно высушенные бактерии разработанным методом [8, 21]. Использовали в анализах “рабочую” суспензию бактерий с $1,4 \times 10^7$ кл./мл.

Плотность бактериальных суспензий оценивали нефелометрически (при длине волны $\lambda = 670$ нм) и выражали числом клеток в 1 мл по предварительно составленным калибровочным кривым.

Интенсивность свечения бактерий, выраженную в относительных единицах (отн. ед.), регистрировали с помощью люминометра “Биотокс” (Россия) автоматически по программе люминометра определяя индекс токсичности исследуемых образцов воды.

Подготовка к анализу проб воды. 3 образца воды разной степени очистки получены из Курьяновской станции аэрации: образец № 1 — механическая очистка и первичный отстойник, образец № 2 — механическая очистка, первичный отстойник и аэротенк, образец № 3 — механическая очистка, первичный отстойник, аэротенк и песчано-гравийные фильтры.

Обработку исследуемой воды разной степени очистки (50 мл) электромагнитным излучением (ЭМИ) низкой интенсивности ($\nu = 42,25$ ГГц) осуществляли с помощью прибора Г4-141 (Россия) в течение 30 мин в тефлоновых стаканах.

Постановка эксперимента (процедура проведения анализа и определение индекса токсичности). Измерения токсичности образцов проводили при комнатной температуре (22°C) следующим образом. Наливали в чистые пробирки (Эпендорфа) объемом 1,5 мл по 0,1 мл рабочей суспензии биосенсора. Для определения индекса токсичности трех исследуемых образцов воды к контрольной кювете добавляли 0,9 мл дистиллированной воды (для всех образцов — дистиллированная вода, pH = 7,0), к опытной — 0,9 мл водного экстракта исследуемого образца необлученной воды. Общий объем растворов в пробирке равен 1 мл.

Биологический эффект ЭМИ на облученных образцах воды разной степени очистки выявляли следующим образом: в качестве контрольного образца использовали необлученную воду каждого образца воды, а опытным образцом служили те же образцы воды, но облученные.

Измерение свечения контрольного образца предшествовало измерению опытного. Эффективность действия токсического вещества может меняться во времени, поэтому время экспозиции опытного и контрольного образцов воды с биосенсором было одно-

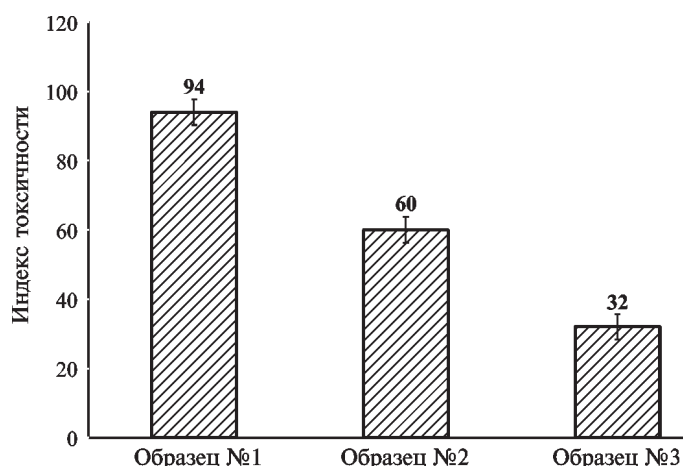
временным и строго фиксированным — через 30 мин экспозиции биосенсора с образцами воды. Ставили в кюветное отделение люминометра пробирки с образцами воды с биосенсором и регистрировали биолюминесцентный сигнал (в относительных единицах — отн. ед.), интенсивность свечения контрольного образца — I_0 , затем — интенсивность свечения опытного образца I , определяя величину индекса токсичности $T = 100 \times (I_0 - I)/I_0$ автоматически по программе люминометра “Биотокс” ($T_{\max} = 100$).

В анализах с бактериальным люминесцентным тестированием приняты следующие критерии токсичности: 1) T — равен или менее 20 — образец нетоксичен, $T = 20$ — “пороговая” токсичность, 2) T — от 20 до 50 — образец токсичен, 3) T — от 50 и более — образец очень токсичен [4, 7].

Для получения достоверных данных в анализах использовали контрольные и опытные образцы воды в трех повторностях.

Результаты и обсуждение

На рисунке представлены данные об интегральной токсичности трех исследуемых образцов сточной воды, полученных с помощью биотеста люминесцентной тест-системы “Эколюм” (для всех образцов биосенсора со сточной водой контролем является биосенсор в дистиллированной воде, pH = 7,0). Как видно из рисунка, исследуемая вода образца № 1 очень токсична ($T > 95$), у более очищенной воды образца № 2 также высокая токсичность ($T > 65$), а наиболее чистая вода образца № 3 — слаботоксична (T около 30), что превышает “пороговую” токсичность ($T = 20$). Следует отметить, что московская хлорированная водопроводная вода во многих на-



Индекс токсичности (T) трех образцов сточной воды разной степени очистки, полученный экспресс-методом на основе бактериальной люминесценции тест-системы “Эколюм-08”. Обозначения: образец воды № 1 — вода прошла механическую очистку и первичный отстойник; образец воды № 2 — вода очищенная, прошла механическую очистку, первичный отстойник и аэротенк; образец воды № 3 — вода доочищенная, прошла механическую очистку, первичный отстойник, аэротенк и песчано-гравийные фильтры

ших домах и лабораториях МГУ после отстаивания также часто имеет индекс токсичности (Т) от 20 до 30.

Для четкого представления о влиянии ЭМИ на исследуемую воду разной степени очистки мы использовали в контрольных образцах сами образцы воды разной степени очистки, а не дистиллированную воду, как в предыдущих экспериментах. В качестве опытных образцов воды брали те же самые образцы воды, но только облученные. Следует отметить, что биотестированием мы также оценивали токсичность облученных образцов воды разной степени очистки по отношению к необлученному контрольному образцу в дистиллированной воде. Эти данные соответствуют превышению токсичности облученных образцов воды разной степени очистки, суммированными с данными токсичности этих же необлученных образцов воды (рисунок и таблица). В таблице приведены данные о вкладе ЭМИ в общую токсичность исследуемых образцов воды. Представленные результаты свидетельствуют об увеличении токсичности воды исследуемых образцов после облучения. Из-за высокой токсичности воды образца № 1 с малой очисткой ($T > 100$) действие ЭМИ не удастся выявить при использовании контрольного образца биосенсора в дистиллированной воде. Однако при использовании в качестве контрольного образца биосенсора в воде образца № 1 вклад ЭМИ в общую токсичность воды наиболее выражен при действии на самую “грязную” воду: индекс токсичности (Т) воды в этом случае значительно увеличивается (на 60—68). Меньшее действие облучения оказывает на воду образца № 2: значение Т увеличивается до 30, т.е. облученный образец этой воды еще более токсичен (облученный контрольный образец — биосенсор в дистиллированной воде — имеет Т около 80). У образца № 3 вклад ЭМИ в токсичность воды менее значителен — Т увеличен на

18—21, т.е. чем чище вода, тем меньше выражено действие ЭМИ на показатель интегральной токсичности сточной воды.

Таким образом, биотестирование с помощью бактериальной люминесцентной тест-системы позволило (предварительно до облучения ЭМИ) оценить качество исследуемых образцов сточной воды: образец № 3 наиболее очищен и имеет наименьшую токсичность (Т самой воды около 30), наибольшая токсичность у образца воды с наименьшей очисткой — образец № 1 (Т самой воды более 95). Эти данные подтверждают качество очистки сточной воды на Курьяновской станции аэрации.

Особый интерес представляют данные биотестирования о влиянии ЭМИ на воду разной степени очистки: облучение ЭМИ сточной воды увеличивает ее токсичность (таблица). Установлено, что вклад облучения в интегральную токсичность воды зависит от чистоты воды: чем более загрязнена вода, тем более выражено токсическое действие ЭМИ (Т увеличивается до 60). При более высокой степени очистки воды действие ЭМИ выражено меньше (Т увеличивается до 20).

Одним из объяснений механизма действия ЭМИ на водные системы является структурирование воды. Полученные данные в этой работе подтверждают ранее полученные нами данные в других экспериментах. Так, было показано, что действие облучения зависит от чистоты раствора воды [22—24]. В данной работе использовали ЭМИ низкой интенсивности ($\nu = 42,25$ ГГц), так как проведенные ранее исследования показали эффективность этого воздействия на другие биологические объекты [24].

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что бактериальный люминесцентный биосенсор тест-систем может быть использован не только для оценки токсичности воды, что известно и

Вклад ЭМИ ($\nu = 42,25$ ГГц) в интегральную токсичность образцов сточной воды разной степени очистки

Образцы воды	Вид очистки исследуемых образцов воды	Индекс токсичности (Т)	Вывод о вкладе ЭМИ в токсичность образцов воды
№ 1 — контрольная вода	Контроль — вода прошла механическую очистку и первичный отстойник	809 отн. ед.	
№ 1 — облученная вода	Облученная ЭМИ вода образца № 1	64 ± 4	Очень увеличивает токсичность
№ 2 — контрольная вода	Контроль — вода очищенная, прошла механическую очистку, первичный отстойник и аэротенк	3307 отн. ед.	
№ 2 — облученная вода	Облученная ЭМИ вода образца № 2	30 ± 2	Увеличивает токсичность
№ 3 — контрольная вода	Контроль — вода доочищенная, прошла механическую очистку, первичный отстойник, аэротенк и песчано-гравийные фильтры	3492 отн. ед.	
№ 3 — облученная вода	Облученная ЭМИ вода образца № 3	18 ± 3	Пороговая токсичность

широко используется на практике [4; 5; 7; 14–16; 19; 21], но и для выявления биологического действия ЭМИ. При этом лиофильно высушенные люминесцентные бактерии биосенсора представляют стандартный материал биотестирования, длительно хранятся (более полугода) и могут быть использованы по мере необходимости.

Очень важно подчеркнуть, что наличие в настоящее время в биосфере мощных источников ЭМИ искусственного происхождения может повышать токсичность объектов окружающей среды, в частности загрязненных водоемов, что диктует необходимость экспрессного мониторинга их состояния методами биотестирования.

Выводы

1. Проведено биотестирование качества очистки сточной воды (трех образцов разной степени очистки) на Курьяновской станции аэрации экспресс-методом на основе люминесцентной бактериальной

тест-системы “Эколюм-08”. Подтверждено качество очистки исследуемых образцов воды: вода, прошедшая три ступени очистки имеет наименьший индекс токсичности (Т около 30); наибольшая токсичность у сточной воды, прошедшей только механическую очистку и первичный отстойник (Т более 95).

2. Облучение ЭМИ низкой интенсивности сточной воды разной степени очистки увеличивает ее токсичность. Обнаружено, что чем выше степень очистки, тем меньше выражено влияние ЭМИ на показатель интегральной токсичности исследуемых образцов воды.

3. Бактериальный люминесцентный биосенсор тест-системы “Эколюм” может быть рекомендован для экспрессного выявления биологического действия ЭМИ.

Благодарим сотрудника Курьяновской станции аэрации Н.В. Щеголькову за предоставленные образцы сточной воды разной степени очистки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М.: Радио и связь, 1991. 169 с.
2. Steinberg S.M., Poziomek E.J., Engelmann W.H., Rogers K.R. A review of environmental applications of bioluminescence measurements // *Chemosphere*. 1995. Vol. 30. N 11. P. 2155–2197.
3. Ганишин В.М., Данилов В.С. Клеточные сенсоры на основе бактериальной биолюминесценции // *Сенсорные системы*. 1997. Т. 11. № 6. С. 245–255.
4. Зарубина А.П., Мажуль М.М., Новоселова Л.А., Гапочка М.Г. Бактериальный люминесцентный биотест // *Сенсор*. 2005. № 3. Р. 14–21.
5. Медведева С.Е., Тюлькова Н.А., Кузнецов А.М., Родичева Э.К. Биолюминесцентные биотесты на основе светящихся бактерий // *Журнал Сибирского федерального университета*. Сер. Биология. 2009. Т. 2. № 4. С. 418–452.
6. Ulitzur S., Lahav T., Ulitzur N. A novel and sensitive test for rapid determination of water toxicity // *Environ. Toxicol.* 2002. Vol. 17. N 3. P. 291–296.
7. Данилов В.С., Зарубина А.П., Ерошиков Г.Е., Соловьева Л.Н., Карташев Ф.В., Завильгельский Г.Б. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе люмоперонов разных видов люминесцентных бактерий // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. 2002. № 3. С. 20–24.
8. Mantel J., Freidin M., Bulich A., Perry H. The effect of radiation on bioluminescent bacteria: possible use of luminescent bacteria as a biological dosimeter // *Physics in Medicine and Biology*. 1983. Vol. 28. N 5. P. 599–602.
9. Страховская М.Г., Пархоменко И.М., Зарубина А.П., Румбаль Я.В., Данилов В.С., Странадоко Е.Ф. Фотоиндуцированное подавление биолюминесценции генно-инженерного штамма бактерий *Escherichia coli* TG1 (pXen 7) в присутствии фотодитозина // *Микробиология*. 2002. Т. 71. № 3. С. 345–348.
10. Bulich A. A., Tung K.-K., Scheibner G. The luminescent bacteria toxicity test: its potential use as an in vitro alternative // *Biolum. Chemilum.* 1990. Vol. 5. N 2. P. 71–77.
11. Kaiser K.L. Correlation of *Vibrio fischeri* bacteria test data with bioassay data for other organisms // *Environ. Health Perspect.* 1998. Vol. 106. N 2. P. 583–591.
12. Backhaus T., Grimme L.H. The toxicity of antibiotic agents with aid of intact luminous bacterium *Vibrio fischeri* // *Chemosphere*. 1999. Vol. 38. N 14. P. 3291–3301.
13. Jassim S.A.A., Ellison A., Denyer S.P. et al. In vivo bioluminescence: a cellular reporter for research and industry // *Biolum. Chemilum.* 1990. Vol. 5. N 3. P. 115–122.
14. Данилов В.С., Ганишин В.М. Бактериальные биосенсоры с биолюминесцентным выводом информации // *Сенсорные системы*. 1998. Т. 12. № 1. С. 56–68.
15. Bulich A.A., Isenberg D.L. The use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity // *Instr. Soc. Am. Transactions*. 1981. Vol. 20. N 1. P. 29–33.
16. Bulich A.A. A practical and reliable method for monitoring of aquatic samples // *Proc. Biochemistry*. 1982. Vol. 17. N 2. P. 45–47.
17. Araujo C.V.M., Nascimento R.B., Oliveira C.A., Strotmann U.J., Da Silva E.M. The use of microtox to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camacari (BA, Brazil.) // *Chemosphere*. 2005. Vol. 58. N 9. P. 1277–1281.
18. Mueller J.G., Middaugh D.P., Lantz S.E., Chapman P.J. Biodegradation of creosote and pentachlorophenol in contaminated groundwater: chemical and biological assessment // *Appl. Environ. Microb.* 1991. P. 1277–1285.
19. Stewart G.S.A.B. In vivo bioluminescence: new potentials for microbiology // *Lett. Appl. Microbiol.* 1990. Vol. 10. P. 1–8.
20. Rabbow E., Rettberg P., Baumstark-Khan C., Homeck G. The SOS-LUX-LAC-FLUORO-Toxicity-test on the International Space Station (ISS) // *Adv. Space Res.* 2003. Vol. 31. N 6. P. 1513–1524.
21. Ревазова Ю.А., Данилов В.С., Зарубина А.П., Маркелова С.И., Соловьева Л.Н., Аверин А.В. Методика экспрессного определения токсичности воды с помощью лю-

минесцентного бактериального теста “Эколюм” // Методические рекомендации. Гос. сан.-эпид. нормирование РФ. Минздрав России. М, 2000. 19 с.

22. Гапочка М.Г., Королев А.Ф., Костиенко А.И., Мир-Касимов О.Р. Возможность существования неравновесных устойчивых структур воды, возникающих при воздействии электромагнитного излучения миллиметрового диапазона // Тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. “Применение СВЧ энергии в технологических процессах и научных исследованиях”. Саратов: Издание Саратовского политехнического института, 1991. С. 138—139.

23. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Королев А.Ф., Костиенко А.И., Сухоруков А.П., Тимошкин И.В. Воздействие электромагнитного излучения КВЧ и СВЧ диапазонов на жидкую воду // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Физика, астрономия. 1994. № 4. С. 71—76.

24. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Костиенко А.И., Сухоруков А.П., Шайхалова Г.А. Влияния электромагнитных микроволн низкой интенсивности на оптические свойства одноклеточной зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* // Препринт физического факультета МГУ. № 6. 1998. 16 с.

Поступила в редакцию
29.06.11

BIOTESTING OF INFLUENCE OF THE ELECTROMAGNETIC FIELD OF LOW INTENSITY ON THE TOXICITY OF THE SEWAGE WATER BY THE TEST SYSTEM “ECOLUM”

A.P. Zarubina, M.G. Gapochka, L.A. Novoselova, L.D. Gapochka

Electromagnetic radiation of low intensity ($\nu = 42,25$ GHz) changes integrated toxicity of the sewage water of different degree of treating. It is shown that the less degree of water treating the more toxic effect of ER. It was revealed by express method on basis of a bacterial luminescence of the test system “Ecolum-08” that allows to offer this test system for a primary estimate of the ER action.

Key words: *bacterial luminescent test, electromagnetic radiation (ER), toxicity, sewage water, different degree of water treating.*

Сведения об авторах

Зарубина Алевтина Петровна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-56-03; e-mail: al-zar1@ayndex.ru

Гапочка Михаил Германович — канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры фотоники и физики микроволн физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-10-47; e-mail: gapochka@physics.msu.ru

Новоселова Людмила Александровна — мл. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-56-03.

Гапочка Людмила Дмитриевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-78.

УДК 595. 713:631.46

РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТЬ ПРОБ РАЗНОГО РАЗМЕРА ПРИ УЧЕТЕ ЧИСЛЕННОСТИ И ОЦЕНКЕ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЧВЕННЫХ КОЛЛЕМБОЛ

И.П. Таранец, А.В. Смулов, Н.А. Кузнецова*

(кафедра общей экологии; e-mail: iris1_@mail.ru)

Исследована пространственная структура популяций почвенных коллембол в пробах с разными размерами (100, 36, 12 и 3 см²) в пределах однородного, мертвопокровного по почвенному покрову соснового леса. Выявлен “эффективный размер” проб (12 см²) для адекватной оценки численности и характеристик пространственного распределения коллембол, а также необходимое количество проб для репрезентативных результатов учета.

Ключевые слова: коллемболы, пространственное распределение, агрегированность, “эффективный” размер пробы.

Установление объема выборки или числа проб, необходимых для получения оценок параметров с некоторой точностью, является неперменной частью любого исследования. При этом исследователь сталкивается с проблемами выбора оптимального размера проб, их расположения в биотопе, статистической обработки полученных данных, чтобы в конечном счете с наименьшими затратами труда и времени получить репрезентативные результаты. Безусловно, выбор наиболее “эффективной” пробы, т.е. пробы такого размера, которые показывают достоверный результат при наименьших затратах труда на их обработку, должен зависеть от конкретных целей исследователя и от особенностей объекта. Стандартные методики базируются, как правило, на большом эмпирическом опыте, однако даже они допускают изменение размеров проб в определенных пределах [1, 2]. Для учета почвенных коллембол обычно применяют рамку или бур. Наиболее частые размеры рамки: 5 × 5 см (25 см²). Диаметры буров: от 3 до 6 см (от 7 до 28 см²). Размеры пробы зависят от предполагаемой численности микроартропод — при низкой численности обычно отбирают пробы большего размера [3]. На объем выборки, необходимой для достижения требуемой точности учета, в большой степени влияет пространственное размещение организмов. Чем выше мозаичность и меньше численность, тем большее количество проб требуется взять. При этом размер проб в определенном интервале может не влиять на их количество [4]. Заметим, что анализ структуры сообщества, базирующийся на данных пространственно-временного размещения организмов, а не репрезентативность ведет к искажению реальной картины.

Цель работы — проиллюстрировать на примере учета почвенных коллембол выбор “эффективного” размера пробы и объема выборки для репрезентативной оценки численности и параметров пространственного размещения.

Материал и методы

Нами была выбрана площадка 10 × 10 м² в мертвопокровном сосновом лесу. Для экономии учетных усилий исследователя применяли принцип “матрешки”, когда пробы меньшего размера вложены внутрь проб большего размера (рис. 1). При изъятии грунта использовали буры диаметром 3,9 и 6,7 см (площадь пробы 12 и 36 см²) и металлическую рамку диаметром 11,2 см (площадь пробы 100 см²). Сначала пробы с размером 36 и 12 см² отбирали почвенными бурами, а пробы маленького

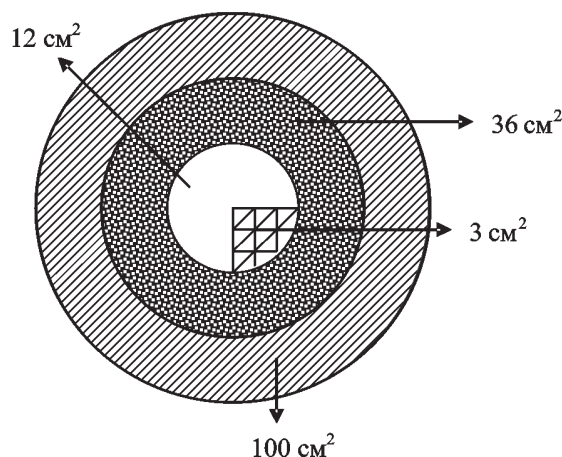


Рис. 1. Схема взятия проб (принцип “матрешки”)

* Кафедра зоологии и экологии МПГУ.

размера (площадь пробы 3 см²) получали путем деления пробы размером 12 см². Далее на место взятой пробы помещали металлическую рамку и вынимали оставшийся грунт. В результате этого проб с размером 100, 36, 12 и 3 см² было отобрано 25, 35, 45 и 55 соответственно.

Почвенные пробы отбирали случайным образом на всю глубину подстилки. Учет проводили 16.05.2007 г. вблизи пос. института Полиомиелит Московской обл. Коллембол экстрагировали из проб по общепринятой методике с помощью воронок Тулльгрена [3]. Всех коллембол заключали в постоянные микропрепараты с жидкостью Фора. Всего было взято и проанализировано 160 проб разного размера. Получено 2753 экземпляра коллембол 30 видов.

Для исследования пространственного размещения коллембол была использована методика, разработанная Ю.Э. Романовским и А.В. Смуровым [5, 6], которая позволяет установить соотношение размеров проб, масштаб агрегаций и избежать ошибок при выборе модели распределения.

Для выбора модели распределения выясняли характер зависимости величины коэффициента дисперсии (относительной дисперсии) от размера проб. Расчет относительной дисперсии (K_{δ^2}) проводили по формуле: $K_{\delta^2} = \delta^2/x$, где x — среднее число особей данного вида в выборке из проб одинакового размера без пересчета на единицу площади, а δ^2 — дисперсия для той же выборки. Ошибку относительной дисперсии (S_K) рассчитывали по формуле:

$$S_K = K_{\delta^2} \sqrt{\frac{2 + K_{\delta^2}/\bar{x}}{n - 1}},$$

где K_{δ^2} — коэффициент дисперсии, $\bar{x}$ — среднее число особей, n — количество проб.

Пока проба остается меньше, чем скопления, график зависимости коэффициента дисперсии от раз-

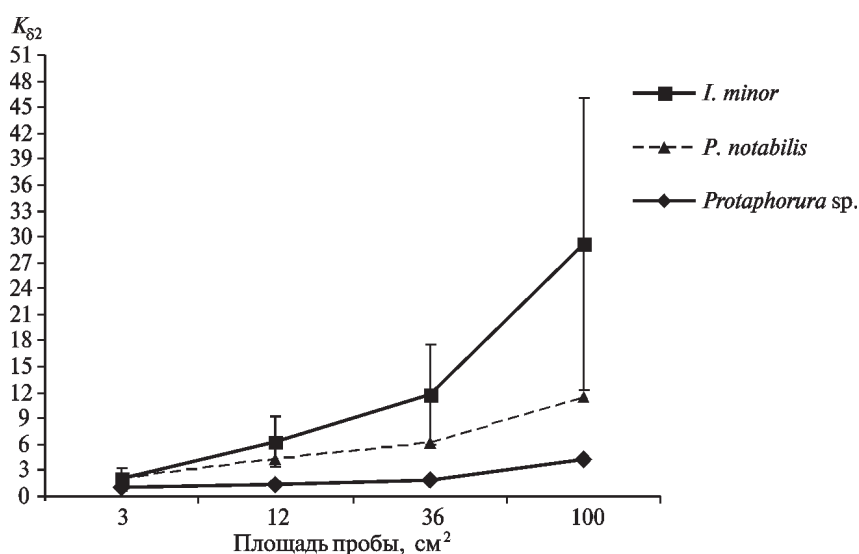


Рис. 2. Зависимость коэффициента дисперсии от разного размера проб для некоторых видов коллембол и ошибка относительной дисперсии для *I. minor*

мера проб имеет вид прямой с начальным значением 1. В этом случае для измерения степени агрегированности использовали индекс, известный как индекс Кэсси [3]. Индекс Кэсси: $C_s = \delta^2 - x/x^2$, где x — среднее число особей данного вида в выборке из проб одинакового размера, а δ^2 — дисперсия для той же выборки. При случайном распределении $C_s = 0$; при $C_s < 0$ — регулярное; при $C_s > 0$ — агрегированное. Пока размер проб остается меньше размера скоплений учитываемых организмов, индекс выполняет измерительную функцию и его величина не зависит от размера пробы [2].

Расчет ошибки средней проводили по формуле: $m = (SD/\sqrt{n}) \cdot t_{st}$, где SD — среднее квадратичное отклонение; n — число проб; t_{st} — значение критерия Стьюдента (1,96).

Коэффициент вариации (V) рассчитывали: $V = (SD/\bar{X}) \cdot 100\%$, где SD — среднее квадратичное отклонение; $\bar{X}$ — среднее значение.

Расчет процентов организмов в скоплениях (P) проводили по следующей формуле [5]: $P = (m^* \cdot K/\bar{X}) \times 100\%$, где $\bar{X}$ — среднее значение; m^* — средняя численность в скоплениях экз./пробу; K — доля площади, занятая скоплениями.

Расчет необходимой повторности для получения результатов с относительной ошибкой, не превышающей 20%, рассчитывали по формуле: $n = (SD \cdot t_{st}/\bar{X} \cdot \xi)^2$, где SD — среднее квадратичное отклонение; t_{st} — значение критерия Стьюдента (1,96); $\bar{X}$ — среднее значение на пробу; ξ — точность, которую задавали сами (мы выбирали относительную ошибку, равную 20% (0,2). Такая ошибка позволяет объективно оценивать и сравнивать численность организмов).

Так как показатели агрегированности дают общую оценку характера пространственного размещения организмов, для более детального анализа мы применяли теоретические модели распределения.

Общий анализ пространственной структуры коллембол проводили с помощью программы ЭКОС (версия 1.3 (1993 г.); разработчики: А.И. Азовский, Н.П. Незлин и М.П. Мороз).

Параметры горизонтального распределения рассчитывали для видов коллембол, средняя плотность которых в выборках пробами любого размера составляла не менее 1 экз. на пробу в пределах ошибки.

Результаты и обсуждение

Проанализированные нами виды коллембол размещены неравномерно (табл. 2, рис. 1, 2). При этом наибольшая агрегированность прослеживается для *Iso-tomiella minor*. Кажущиеся точки перегиба на графике оказались недо-

верными при подсчете стандартной ошибки относительной дисперсии (рис. 2, 3). С большой долей вероятности мы можем утверждать, что размер всех проб меньше, чем размер существующих первичных неоднородностей. В связи с этим нами была использована трехпараметрическая модель, которая описывает агрегированное размещение организмов при размерах пробы меньших, чем средний размер скопления [7].

Полученные оценки численности и значения индекса агрегированности в пробах разного размера различались. Однако индекс агрегированности Кэсси показывал одинаковый результат в пределах ошибки, хотя абсолютные значения этого индекса отличались в пробах разного размера (табл. 2). В маленьких пробах индекс мог быть занижен (*Isotomiella minor*, *Protaphorura* sp.) или, наоборот, завышен (*Parisotoma notabilis*) по сравнению с другими размерами проб. Близкие результаты индекса агрегированности дают размеры проб 12 и 36 см² (табл. 2). Другие параметры пространственного размещения также указывали на существенные различия характеристик в маленьких пробах по сравнению с другими масштабами (12, 36 и 100 см²), у которых они были более или менее схожими между собой. Процент организмов в скоплениях был явно занижен в маленьких пробах для *Parisotoma notabilis* и завышен для остальных видов по сравнению с другими размерами проб.

При изменении размера проб плотность коллембол, рассчитанных на 1 м², различалась. С уменьшением размера проб оценка численности ногохвосток увеличивалась. В маленьких пробах в пересчете на 1 м² плотность всех видов коллембол в 2 раза выше, чем в больших (100 см²). При этом коэффициент вариации в пробах маленького размера значительно выше, чем в пробах большого размера (табл. 1). Как и следовало ожидать, применение слишком мелких проб приводит к искаженной оценке средней численности объектов [1]. Дисперсия при этом, как правило, оказывалась заниженной по сравнению с

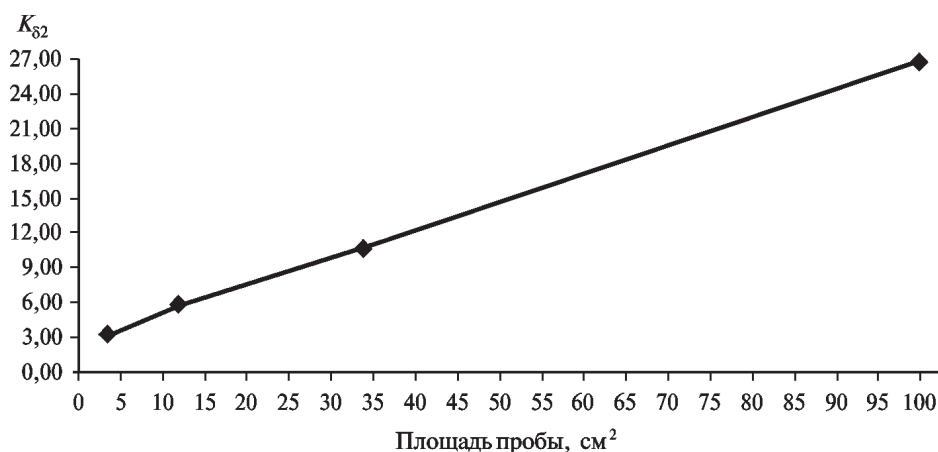


Рис. 3. Зависимость коэффициента дисперсии от разного размера проб для всех видов коллембол

Таблица 1

Сводные показатели

Размер пробы, см ²	Количество проб	$\bar{X} \pm m$	X	SD	V	n
<i>Isotomiella minor</i>						
100	25	14,9 ± 8,2	1488	20,8	140	188
36	35	6,7 ± 2,9	1873	8,9	133	169
12	45	3,6 ± 1,4	3000	4,8	133	171
3	55	0,8 ± 5,5	2787	20,8	2600	41 620
<i>Parisotoma notabilis</i>						
100	25	15 ± 5,1	1504	13,1	87	72
36	35	5,7 ± 2	1587	6	105	116
12	45	3 ± 1	2518	3,6	120	123
3	55	0,7 ± 0,3	2424	1,2	174	580
<i>Protaphorura</i> sp.						
100	25	5 ± 1,8	500	4,6	92	81
36	35	2,9 ± 0,8	810	2,3	79	51
12	45	1,5 ± 0,4	1222	1,4	93	82
3	55	0,5 ± 0,2	1757	0,7	140	230
Общая численность всех видов коллембол						
100	25	50,3 ± 14,4	5032	36,8	73	51
36	35	22,3 ± 5,3	6190	15,9	71	48
12	45	11,9 ± 2,4	9888	8,3	70	46
3	55	3,3 ± 0,8	10 969	3,2	97	79

Примечание. $\bar{X}$ — среднее значение на пробу; m — ошибка средней; X — численность, экз./м²; SD — стандартное отклонение; V — коэффициент вариации; n — рассчитанное необходимое число проб (ошибка 20%).

реальной картиной (табл. 1, 2). Такой маленький размер проб мы не рекомендуем использовать в работе, так как для получения достоверного результата число таких проб необходимо увеличивать в разы. Несмотря на то что мелких проб было отобрано больше всего (55), их оказалось недостаточно для адекватной оценки численности и агрегированности. Больших размеров почвенных проб также оказалось недостаточно, и они трудоемки в подобных работах. Заметим, что используемое нами количество проб дает относительную ошибку в выборках, как правило, больше 30%, а для достижения 20% относительной точности учета проб необходимо отбирать большее число проб

Таблица 2

Параметры пространственного размещения коллембол

Размер пробы, см ²	Количество проб	$\bar{X} \pm m$	δ^2	K_{δ^2}	C_s	m^*	m°	K	% в скопл.	Скопл./фон
<i>Isotomiella minor</i>										
100	25	$14,9 \pm 8,2$	433,4	29,1	1,9	86,3	9	0,1	57,9	9,6
36	35	$6,7 \pm 2,9$	78,9	11,8	1,6	35,8	4,3	0,1	53,4	8,3
12	45	$3,6 \pm 1,4$	22,6	6,3	1,5	14,5	1,9	0,1	40,3	7,6
3	55	$0,8 \pm 5,5$	1,7	2,1	1,2	2,2	0,2	0,3	82,5	11,0
<i>Parisotoma notabilis</i>										
100	25	$15 \pm 5,1$	171,2	11,4	0,7	36,3	7,7	0,3	72,6	4,7
36	35	$5,7 \pm 2$	35,6	6,2	0,9	15,4	2,6	0,2	54,0	5,9
12	45	3 ± 1	12,7	4,2	1,1	9,6	1,5	0,2	64,0	6,4
3	55	$0,7 \pm 0,3$	1,5	2,1	1,5	2,9	0,4	0,1	41,4	7,3
<i>Protaphorura</i> sp.										
100	25	$5 \pm 1,8$	21,1	4,2	0,6	12,8	2,9	0,2	51,2	4,4
36	35	$2,9 \pm 0,8$	5,3	1,8	0,3	6,4	2,2	0,2	44,1	2,9
12	45	$1,5 \pm 0,4$	1,9	1,3	0,2	1,8	0,2	0,8	96,0	9,0
3	55	$0,5 \pm 0,2$	0,6	1,2	0,1	0,5	0	1	100,0	—
Общая численность всех видов коллембол										
100	25	$50,3 \pm 14,4$	1352,5	3,03	0,5	144,7	36,5	0,2	57,5	3,96
36	35	$22,3 \pm 5,3$	251,7	5,8	0,5	53,3	14,9	0,2	47,8	3,58
12	45	$11,9 \pm 2,4$	68,6	11,3	0,4	26,8	8,1	0,2	45,0	3,31
3	55	$3,3 \pm 0,8$	10	26,9	0,6	10,6	2,4	0,1	32,1	4,42

Примечание. $\bar{X}$ — среднее значение на пробу; m — ошибка средней; δ^2 — дисперсия; K_{δ^2} — коэффициент дисперсии; C_s — индекс агрегированности; m^* — средняя численность в скоплениях экз./пробу; m° — средняя численность на фоне экз./пробу; K — доля площади, занятая скоплениями.

(табл. 1, 2). По нашим данным, для отбора почвенных проб “эффективным размером” можно считать 12 см².

Выводы

1. Проанализированные виды коллембол (*Isotomiella minor*, *Parisotoma notabilis*, *Protaphorura* sp.) образовывали скопления, размер которых был больше, чем размер проб и превышал площадь 100 см².

2. Маленький размер проб показывал завышенную, искаженную оценку численности, при этом коэффициент вариации увеличивался.

3. “Эффективным размером” для учета численности и пространственной структуры почвенных коллембол можно считать пробы площадью 12 см².

Авторы признательны докт. биол. наук А.И. Азовскому за консультации и помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Смуров А.В., Полищук Л.В. Количественные методы оценки основных популяционных показателей: статистический и динамический аспекты. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. 208 с.
2. Смуров А.В. Основы экологической диагностики. Биологические и информационные аспекты. М.: Ойкос, 2003. 188 с.

3. Потапов М.Б., Кузнецова Н.А. Методы исследования обществ микроартропод. М.: Т-во научных изданий КМК, 2011. 84 с.

4. Смуров А.В. О точности количественных и качественных учетов организмов при применении проб разных размеров / Доклады МОИП. Сер. биология. 1975. С. 18—20.

5. Смуров А.В. Статистические методы в исследовании пространственного размещения организмов // Методы почвенно-зоологических исследований. М.: Наука, 1975. С. 217—240.

6. Смуров А.В. Новый тип статистического пространственного распределения и его применение в экологи-

ческих исследованиях // Зоол. журн. 1972. Т. 54. № 2. С. 283—289.

7. Смуров А.В., Романовский Ю.Э. Трехпараметрическое статистическое распределение и более общие выражения индекса агрегированности К, имеющие экологический смысл // Журн. общ. биол. 1976. Т. 37. № 1. С. 141—149.

Поступила в редакцию
7.10.11

DIFFERENT SIZE SAMPLE REPRESENTATIVENESS IN POPULATION ACCOUNTING AND ESTIMATION OF SOIL-DWELLING COLLEMBOLA HORIZONTAL DISTRIBUTION

I.P. Taranets, A.V. Smurov, N.A. Kuznetsova

The spatial structure of soil Collembola populations in samples of the different sizes (100, 36, 12 and 3 sm²) in the uppermost of the soil of pine wood has been considered. The research has revealed “the effective size” samples (12 sm²) for an appropriate assessment of number and characteristics of Collembola spatial distribution, and also necessary quantity of samples for the accounting results to be representative.

Key words: *Collembola, spatial distribution, aggregation, “the effective” size of samples.*

Сведения об авторах

Таранец Ирина Павловна — аспирантка кафедры общей экологии биологического факультета МГУ.
E-mail: Iris1@mail.ru

Смуров Андрей Валерьевич — докт. биол. наук, проф. кафедры общей экологии биологического факультета МГУ. E-mail: smr49@mail.ru

Кузнецова Наталия Александровна — докт. биол. наук, проф. кафедры зоологии и экологии МПГУ.
E-mail: mpnk@org.ru

ФАУНА, ФЛОРА

УДК 581.15:582.542.1(581.9)

КОВЫЛИ УКРАИНСКИЙ И ЗАЛЕССКОГО:
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И АРЕАЛОГИЧЕСКОЕ СРАВНЕНИЕ

Ю.О. Копылов-Гуськов

(кафедра высших растений; e-mail: yurez-kg@yandex.ru)

Систематика перистых ковылей родства *Stipa dasyphylla* всегда вызывала трудности у монографов. В данной работе проведен критический анализ используемых в настоящее время основных диагностических признаков и сделана попытка найти новые морфологические признаки, позволяющие облегчить различение некоторых близких видов этой сложной группы. Нами показана необходимость разделения видов *Stipa ucrainica* и *S. zaleskii*, а также неэффективность признака расстояния недодождения краевой полоски волосков на нижней цветковой чешуе до основания ости.

Ключевые слова: *Stipa ucrainica*, *S. zaleskii*, систематика, морфология.

Ковыли принадлежат к трибе *Stipeae* Dum. в подсемействе *Pooidae* A.Br. Род включает около 300 видов в основном многолетних дерновинных трав. На территории бывшего СССР встречаются около 60 видов [1].

Ковыли являются эдификаторами степных сообществ [1–3], поэтому необходимость их изучения не подвергается сомнению. В степях юга европейской России основную роль играют перисто-остистые ковыли [2]. Одна из первых попыток разработать систему перистых ковылей европейской части бывшего СССР принадлежит П.А. Смирнову. Им же были выделены основные диагностические признаки [4]. Следующим важным этапом изучения ковылей стали работы Н.Н. Цвелева, который предложил в целом сходную систему, но отличие все же было и заключалось в изменении ранга некоторых таксонов [1].

Во всех системах возникают трудности с группой родства *Stipa dasyphylla* [1, 4, 5]. Наиболее распространенными видами этой группы на юге европейской части России являются ковыль Залесского (*Stipa zaleskii* Wilensky) и ковыль украинский (*S. ucrainica* P. Smirn.) [3], таксономические взаимоотношения между которыми до сих пор не ясны: некоторые авторы даже отказываются принимать разделение этих таксонов [6].

Ковыль украинский был описан П.А. Смирновым в 1926 г. [7]. Объем таксона с тех пор не менялся. Ковыль же Залесского впервые был описан Г.Д. Виленским в 1921 г. [8], а через 4 года очень подробно переописан П.А. Смирновым как *Stipa rubens* P. Smirn. Впоследствии объем этого таксона был критически пересмотрел J. Martinovsky [9].

На основании проанализированных нами литературных источников [1, 3–13] можно провести крат-

кое сравнение ковылей украинского и Залесского: 1) у *S. ucrainica* краевая полоска волосков на нижней цветковой чешуе не доходит на 1,3 мм и более до основания ости, у *S. zaleskii* эта полоска до основания ости доходит или же не доходит менее чем на 1,2 мм; 2) у *S. ucrainica* на абаксиальной стороне листа чаще встречаются длинные волоски/щетинки; 3) у *S. ucrainica* меньше диаметр листовых пластинок, хотя есть и тонколистные расы *S. zaleskii* (*S. rubens* proles *rubentifformis* P. Smirn.); 4) у *S. zaleskii* опушены влагалища листьев вегетативных побегов; 5) *S. ucrainica* — более западный вид.

Целью настоящей работы стало выяснение таксономических взаимоотношений этих двух видов ковыля на юге европейской части России. Для достижения поставленной цели мы проанализировали ранее опубликованные работы и проверили диагностические признаки, выявленные в них, провели изучение гербарного материала для выявления новых четких диагностических признаков, а также изучили распространение видов на базе сборов, хранящихся в гербариях.

Материалы и методы

Сбор гербарного материала был проведен нами в 2009 и 2010 гг. в Ростовской обл. Всего был собран 71 гербарный лист с 13 географических точек (табл. 1).

В ходе последующей лабораторной обработки сборов мы изучили пять морфологических признаков (табл. 2). Измерения были проведены в пяти повторностях для каждого образца. Обработка данных была проведена в программе STATISTICA 6.1. Для выявления групп мы использовали метод многомерного шкалирования и дискриминантный анализ. Затем

Таблица 1

Точки сборов материала. N — число собранных образцов

Точка сбора		Код	N
хут. Недвиговка	N 47°17'10" E 39°22'59"	S01a	5
хут. Недвиговка	N 47°17'02" E 39°22'54"	S01b	3
хут. Недвиговка	N 47°18'15" E 39°22'59"	S02	8
пос. Большекрепинская	N 47°34'33" E 39°21'56"	S03	10
пос. Сан-Маньч	N 46°24'11" E 42°46'01"	S04	5
хут. Рунный	N 46°29'44" E 42°50'44"	S05	9
пос. Стрелетов	N 46°31'47" E 42°30'54"	S06	1
пос. Протоки	N 46°35'55" E 41°50'36"	S07	2
пос. Курганый	N 46°36'13" E 42°47'42"	S08	2
хут. Свободное	N 46°53'31" E 44°06'39"	S09	3
хут. Киселевка	N 47°22'31" E 44°15'12"	S10	10 + 9
пос. Лысогорка	N 47°43'20" E 39°12'33"	S11	2
пос. Лысогорка	N 47°43'35" E 39°12'39"	S12	1
хут. Андреев	N 47°02'11" E 44°12'20"	S13	1

Примечание. Коды соответствуют подписям точек на рис. 2.

сравнивали группы между собой по каждому признаку методами одномерной статистики.

Микроскульптуру мы изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа Jeol JSM-6380.

Ареалы строили на основании сборов, хранящихся в фондах гербариев Московского университета (MW), Главного ботанического сада РАН (МНА) и Центрально-черноземного заповедника. Для построения карты мы использовали программу Atlas Florae Europaeae Data Editor 2010, в которую заложено разделение региона на квадраты согласно сетке “Атласа флоры Европы”.

Таблица 2

Сравнение групп № 1 и № 2 по морфологическим признакам

Признак	Группа № 1	Группа № 2
Длина нижней цветковой чешуи, мм*	17,09 (± 0,07)	18,83 (± 0,11)
Краевая полоска волосков не доходит до основания ости, мм**	1,96 (± 0,11)	0,03 (± 0,01)
Опушение влагалищ листьев вегетативных побегов (баллы от 0 до 2) [†] **	0 [0 : 0]	2 [1 : 2]
Диаметр листовой пластинки, мм*	0,56 (± 0,01)	0,71 (± 0,01)
Число волосков на у.е. (2,9 мм) нижней стороны листа*	11,21 (± 0,37)	0,04 (± 0,02)

Примечание. Приведены средние арифметические (± стандартные ошибки среднего). [†] — приведены медианы [нижняя квартиль: верхняя квартиль]. * — для сравнения использовался t-критерий Стьюдента. ** — для сравнения использовался U-критерий Манна—Уитни. Во всех случаях p-value << 0,001.

Результаты и обсуждение

При лабораторной обработке сборов нами было установлено, что заметное опушение влагалищ развивается только на нижних листьях вегетативных побегов. На верхних листьях тех же побегов опушение представлено только ресничками по краям влагалища и на язычке. Подобные реснички (рис. 1) мы выделили в отдельный тип опушения.

Метод многомерного шкалирования выявил неоднородность собранных данных. Из диаграммы (рис. 2) видно наличие двух отдельных групп: более крупная группа (далее — группа № 1) с неявным разделением на подгруппы и менее многочисленная (далее — группа № 2). Дискриминантный анализ подтвердил эту разнородность, а также выявил наиболее важные классификационные признаки. Ими оказались (по убыванию степени значимости): число волосков на единицу длины листа; длина нижней цветковой чешуи; расстояние, на которое краевая полоска волосков не доходит до основания ости; диаметр листовой пластинки.

Выявленные таким образом группы мы сравнили попарно друг с другом (табл. 2). По всем признакам группы различаются с высокой степенью значимости, однако крайние значения всех количественных признаков перекрываются.

У всех растений из группы № 2 так или иначе опушены влагалища листьев. У образцов из группы № 1 влагалища опушены лишь в исключительных случаях — мы обнаружили лишь один вегетативный побег с рассеянным опушением. Но, несмотря на опушение, у данного образца отсутствовали реснички на язычке и по краям влагалища.

Выявленные математическими методами группы № 1 и № 2 практически полностью соответствуют описаниям *S. ucrainica* и *S. zaleskii* соответственно. Поэтому в дальнейшем мы закрепим за группами эти названия.

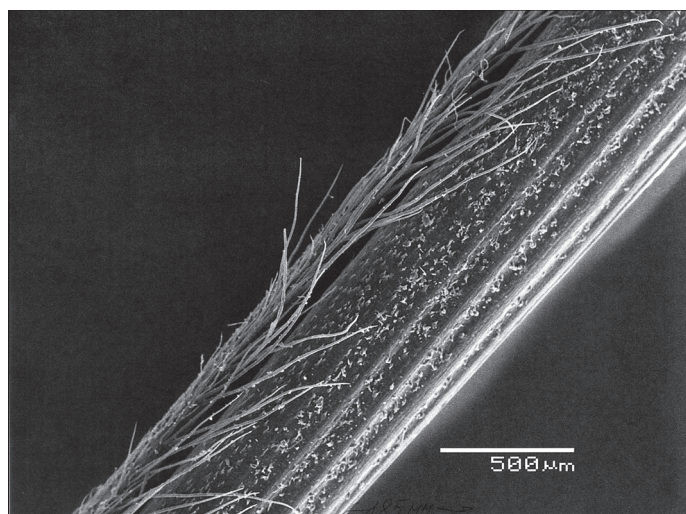


Рис. 1. Реснички по краям влагалища верхнего листа вегетативного побега у растения из группы № 2

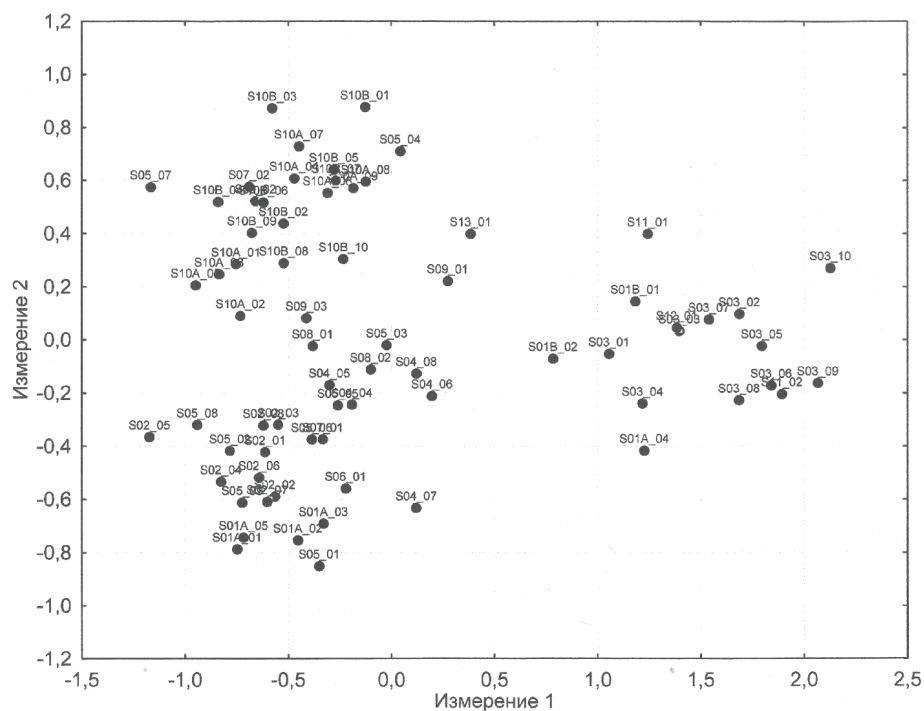
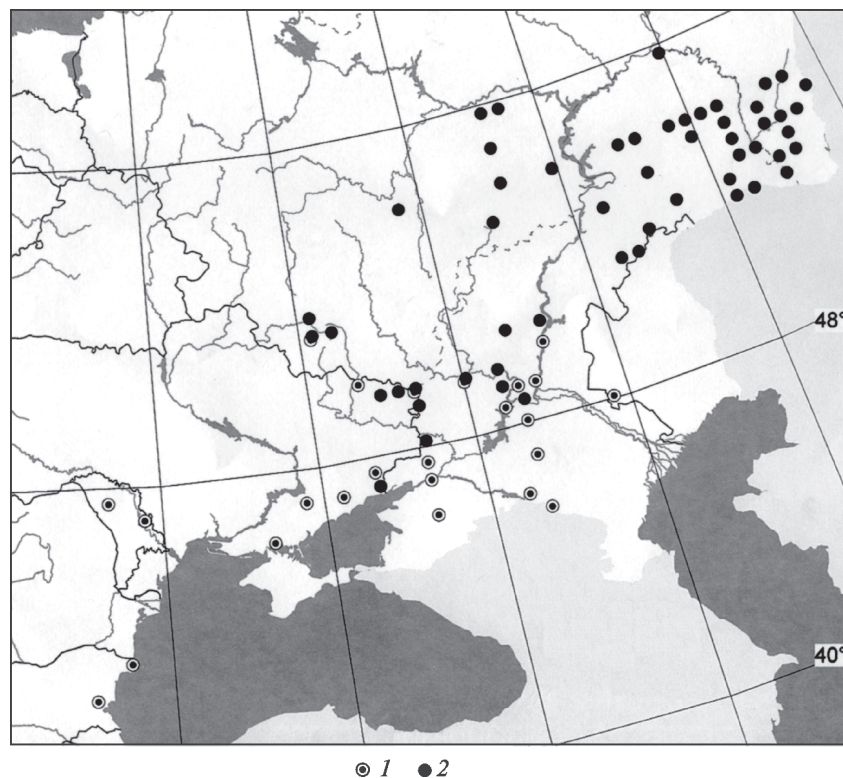


Рис. 2. Результаты многомерного шкалирования

Ни по одному из изученных признаков наши собственные данные не расходятся с литературными. Однако остается проблема с признаком о недоразвитии полоски волосков на нижней цветковой чешуе до основания ости, так как этот признак является основным в различении изучаемых видов во

многих определительных ключах [1, 3–6, 10–12]. Разные авторы проводят границу между видами по-разному и тем самым искусственно вносят hiatus в практически непрерывное распределение признака. Но реально hiatus нет. Это может приводить к ошибкам определения отдельных растений. Из всех изученных нами диаспор промежуточное значение признака наблюдалось у 10,1%. А у 4 растений разные диаспоры формально должны быть отнесены к разным видам. По результатам статистической обработки все эти образцы попали в группу *S. ucrainica*. В предыдущих работах на этот факт тоже обращалось внимание. В подробных описаниях видов (но не в ключах) часто указывается, что признак сильно варьирует [3–5, 11, 12]. Однако на структуру ключей подобные указания до сих пор не повлияли.

Другими словами, наиболее часто используемый диагностический признак в реальности не обеспечивает надежности определения. Но и монографы и статистический анализ говорят о существовании двух видов. Эти факты приводят к мысли о необходимости искать новый четкий определительный признак.

Рис. 3. Значковые ареалы для *Stipa ucrainica* (1) и *S. zalesskii* (2)

Среди исследованных нами признаков в качестве диагностического можно использовать признак опушения влагалищ и язычков листьев вегетативных побегов. Этот признак не является непрерывным, его состояния легко различимы, а также именно по этому признаку мы наблюдали наименьшее перекрытие между группами (1 образец из 71 всего).

На основании этикеток образцов из фондов гербариев мы построили значковые ареалы для *S. ucrainica* и *S. zalesskii* (рис. 3). Ковыль украинский — более южный причерноморский вид, не заходит восточнее Волги и севернее Курской области. Ковыль Залесского — более восточный и северный вид; западнее Курской области проникает только одна из его рас [4, 5, 9]. Знакомство с гербарными образцами *S. zalesskii* показало, что наиболее ярко реснички по краям влагалища проявляются, начиная с Волгоградской обл., и становятся более выраженными при продвижении на юго-запад, т.е. позволяют различать виды именно в зоне перекрытия их ареалов.

Выводы

Stipa ucrainica P. Smirn. и *Stipa zalesskii* Wilensky являются двумя независимыми видами, отличающимися морфологически и географически.

Надежными диагностическими признаками являются наличие ресничек по краям язычков и влагалищ листьев вегетативных побегов и число волосков на абаксальной стороне листовой пластинки. *S. zalesskii* характеризуется наличием ресничек и почти полным отсутствием волосков, а *S. ucrainica* — отсутствием ресничек и значительным числом волосков.

Основной используемый в определителях признак — недоразвитие краевой полоски волосков

на нижней цветковой чешуе до основания ости — не всегда позволяет различить эти виды, поэтому его нужно использовать в качестве дополнительного.

Автор выражает благодарность С.Р. Майорову и О.Н. Деминой за руководство, П.А. Волковой, З.В. Гершельман, Д.Ф. Лыскову за помощь в сборе материала, Т.Е. Краминой за ценные советы по статистической обработке данных, В.И. Золотухину за предоставление информации о распространении изучаемых видов в Курской области, И.М. Калиниченко за помощь в подготовке списка литературы, В.С. Новикову и Д.Д. Соколову за сделанные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л.: Наука. Ленингр. отд., 1976. 788 с.
2. Лавренко Е.М. Степи // Растительность европейской части СССР. Л.: Наука, 1980. С. 203—272.
3. Слюсаренко Л.П. *Stipa* — Ковыль // Злаки Украины / Под ред. Ю.Н. Прокудина. Киев: Наукова думка, 1977. С. 405—424.
4. Смирнов П.А. *Stipa* L. — Ковыль // Флора Юго-Востока европейской части СССР / Под ред. Б.А. Федченко. Л.: Изд. Гл. бот. сада, 1928. Вып. 2. С. 98—118.
5. Martinovsky J.O. *Stipa* // Flora Europaea. Vol. 5: Alismataceae to Orchidaceae (Monocotyledones). Cambridge: Cambridge University Press, 1980. P. 247—252.
6. Васюков В.М. О ковылях (*Stipa* L., Poaceae) Приволжской возвышенности и сопредельных территорий // Фиторазнообразие Восточной Европы. 2007. № 2. С. 42—47.
7. Smirnow P. Zwei neue russische Stipen // Feddes Repertorium specierum novarum regni vegetabilis. 1926. Fasc. 22. S. 374—375.
8. Вилинский* Г.Д. О новом виде ковыля из цикла *St. pennata* L., распространенном в Ю.-В. России // Дневник 1-го Всероссийского съезда русских ботаников в Петрограде в 1921 году / Под ред. Б.Л. Исаченко. Пг., 1921. С. 40—41.
9. Martinovsky J.O. Taxonomische Studie uber die *Stipa*-Serie *Dasyphyllae* // Preslia. 1975. Vol. 47. S. 249—261.
10. Рожевиц Р.Ю. Ковыль — *Stipa* L. // Флора СССР / Под ред. В.Л. Комарова. Т. 2. Л.: Изд-во АН СССР, 1934. С. 79—112.
11. Клоков М.В., Осычнюк В.В. Ковыли Украины // Новости сист. высш. и низш. растений. Киев, 1975. С. 7—92.
12. Цвелев Н.Н. О ковылях (*Stipa* L., Gramineae) Украины // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1986. Т. 91. Вып. 1. С. 116—123.
13. Ломоносова М.Н. *Stipa* — Ковыль // Флора Сибири. Т. 2: Poaceae (Gramineae) / Под ред. Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой. Новосибирск: Наука. Сиб. отд., 1990. С. 222—230.

Поступила в редакцию
07.09.11

STIPA UCRAINICA AND S. ZALESSKII (GRAMINEAE): MORPHOLOGICAL AND AREOLOGICAL COMPARISON

Yu. O. Kopylov-Guskov

Feather grasses of *Stipa dasyphylla* group always were a problem group for taxonomy. In this research we performed a critical analysis of diagnostic characters are used nowadays, and attempted to find new morphological characters which could make a discrimination of species of the group easier. We have shown a necessity of *Stipa ucrainica* and *S. zalesskii* distinguishing and also a distance of not-reaching a base of awn by ventral line of hairs on lemmas was non-effective character.

Key words: *Stipa ucrainica*, *S. zalesskii*, taxonomy, morphology.

Сведения об авторе

Копылов-Гуськов Юрий Олегович — студент кафедры высших растений биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-435-74-07; e-mail: yurez-kg@yandex.ru

* В “Дневнике...” опечатка: написано “Вилинский” вместо Виленский.