



Рис. 1. Метод «Влажных камер»



Рис. 2. Конидии на отмершей хвое



Рис. 3. Спородохии на хвое

Также нами были выделены чистые культуры патогенных высокоспецифичных грибов на ИПС Чапека с добавлением хлорамфеникола в концентрации 0,5 мг/мл. Кроме того, при выделении тотальной ДНК первый образец был выделен с использованием фенолхлороформа 1:1 для очистки от белковых загрязнений, а последующие с помощью хлороформа. Причём, учитывая концентрацию нуклеиновых кислот, белков и полисахаридов в финальном центрифугате, качество и результат при подобном исходном материале остаются неизменными. Также для лизирования клеток лизис-буфером следует увеличить время нахождения материала в термостате.

**Заключение.** В экспериментах успешно применена методика «Влажных камер» для получения биоматериала патогенов хвойных для дальнейшего его молекулярно-генетического исследования. Адаптирована методика выделения тотальной ДНК [1] из чистых культур грибов-паразитов.

1. Дорохов, Д.Б. Быстрая и экономичная технология RAPD-анализа растительных геномов Текст. / Д.Б. Дорохов, Э. Клоке // Генетика. – 1997. – Т. 33. -№4. – С.443 – 450.

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ТКАНЕЙ ЛЕГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ НА ПРИМЕРЕ ОЗЕР ВИТЕБСКОЙ И ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТЕЙ

*Володько А.С.<sup>1</sup>, Барткевич М.В.<sup>2</sup>, Шамулина Т.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>магистранты, <sup>2</sup>студентка 4 курса ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь  
Научный руководитель – Балаева-Тихомирова О.М., канд. биол. наук, доцент

Наиболее перспективными представителями легочных пресноводных моллюсков для экологических, биохимических и физиологических исследований являются *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*, в связи с высокой плотностью природных популяций, относительно низкой подвижностью и простотой сбора особей данные организмы широко используются в практике как пассивного, так и активного биомониторинга [1]. Моллюски применяются для изучения химических компонентов среды обитания, а также изменения структурно-молекулярных показателей под влиянием антропогенных факторов среды и вводимых биорегуляторов. Наиболее часто гидробионты используются для экологического тестирования загрязнений природных и искусственных водоемов, действия различных физических, химических и биологических факторов [2].

Цель работы – оценить активность ферментов антиоксидантной системы тканей легочных пресноводных моллюсков, обитающих в природных водоемах, с учетом сезонных изменений и местообитания.

**Материал и методы.** Опыты поставлены на 504 легочных пресноводных моллюсках, разделенных на две группы: 252 особи прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L.) и 252 особи катушки роговой (*Planorbarius corneus* L.). Моллюски собирались вручную, из водоемов Витебской и Гомельской обла-

стей (таблица 1). Сбор осуществлялся в осень (октябрь – ноябрь) и весной (апрель – май). В каждой исследовательской подгруппе содержалось по 9 моллюсков.

Таблица 1 – Места сбора моллюсков

Район сбора моллюсков	Место сбора	Название водоема
Дубровский р-н	д. Шеки	оз. Афанасьевское
Гомельский р-н	г. Гомель	оз. Любенское

Для исследований использовали гемолимфу прудовика обыкновенного и катушки роговой. Гемолимфу получали посредством раздражения ноги уколом энтомологической булавкой. Это стимулирует рефлекс втягивания ноги в раковину, в результате чего гемолимфа из мантийной полости выделяется наружу через гемальную пору, находящуюся рядом с дыхательным отверстием. Подобная операция не приводит к гибели животного, поэтому забор гемолимфы можно проводить несколько раз у одних и тех же особей.

Гепатопанкреас моллюсков, расположенный в последних витках раковины, забирали путём механического воздействия на раковину и его отделения от соединительной и жировой тканей. Большая часть печени у *L. stagnalis* и *P. corneus* располагается в.

Определение активности каталазы проводили по реакции с молибдатом аммония [5]. Общую активность глутатионпероксидазы устанавливали по реакции с ДТНБК [6]. Определения активности супероксиддисмутазы выявляли по степени торможения ферментом аутоокисления кверцетина [6]. Активность глутатионредуктазы определяли по измерению скорости окисления НАДФН [7].

**Результаты и их обсуждение.** Озеро Афанасьевское находится в Дубровенском районе Витебской области. Озеро подвергается сильной антропогенной нагрузке, так как используется для мелиорации земель, что приводит к загрязнению воды и береговой зоны водоема. Это доказывается высоким содержанием ионов меди и цинка; катионов аммония, калия, натрия, магния и кальция в воде; цинка в почве, превышающим ПДК в ходе исследования проб воды и почвы при университете. Данный фактор оказывает отрицательное влияние на работу ферментативной антиоксидантной системы тканей моллюсков.

При исследовании активности ферментативной АОС озера Афанасьевское (таблица 2) оценку состояния водной экосистемы проводили с учётом сезонных изменений. Из таблицы следует, что наименьшее значение показателей зафиксировано в осенний период сбора моллюсков по сравнению с весенним, статистически значимые результаты получены при сравнении активности супероксиддисмутазы в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* разница в 1,3 раза, глутатионредуктазы в гепатопанкреасе – в 2,5 раза, ГР глутатионредуктазы в гемолимфе *Planorbarius corneus* - в 1,3 раза. Статистически значимых отличий СОД и каталазы в гепатопанкреасе, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* и показателей *Planorbarius corneus* (кроме глутатионредуктазы в гемолимфе) в зависимости от сезона зафиксировано не было. В зависимости от переносчика кислорода закономерных изменений не обнаружено.

Таблица 2 – Активность показателей антиоксидантной у моллюсков, обитающих в оз. Афанасьевское Дубровенского района ( $M \pm m$ )

Показатель	Осень (n=9)	Весна (n=9)
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
СОД (гепатопанкреас), %	70,71 ± 1,91	87,20 ± 1,01
СОД (гемолимфа), %	48,44 ± 1,80	63,03 ± 2,66 <sup>1</sup>
Каталаза (гепатопанкреас), мкмоль/мин/г	2,94 ± 0,08	3,03 ± 0,12
ГР (гепатопанкреас), мкмоль/мин г ткани	0,248 ± 0,02	0,498 ± 0,08 <sup>1</sup>
ГР (гемолимфа), мкмоль/мин/мл	0,0262 ± 0,009	0,0322 ± 0,004
ГП (гемолимфа), мкмоль/мл мин	0,620 ± 0,04	0,690 ± 0,04
<i>Planorbarius corneus</i>		
СОД (гепатопанкреас), %	75,65 ± 1,18	77,41 ± 1,84
СОД (гемолимфа), %	59,77 ± 1,63	62,34 ± 2,02
Каталаза (гепатопанкреас), мкмоль/мин/г	2,76 ± 0,08	3,04 ± 0,09
ГР (гепатопанкреас), мкмоль/мин г ткани	0,413 ± 0,04	0,560 ± 0,08
ГР (гемолимфа), мкмоль/мин/мл	0,0262 ± 0,009	0,0331 ± 0,004 <sup>1</sup>
ГП (гемолимфа), мкмоль/мл мин	0,570 ± 0,04	0,590 ± 0,02

<sup>1</sup>p<0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

Озеро Любенское находится в Гомельском районе, расположено на южной окраине города Гомель и относится к бассейну реки Сож. Является озером пойменного типа. Существенное влияние на экологическое состояние озера оказывает хозяйственная деятельность человека. Основными источниками загрязнения поверхностных вод являются: промышленные, бытовые и ливневые сточные воды, атмосферные осадки и газодымовые выбросы. Озеро Любенское характеризуется высоким содержанием растворенных органических веществ. Вследствие чего прозрачность воды в озере низкая.

Таблица 3 – Активность показателей АОС у моллюсков, обитающих в оз. Любенское Гомельского района ( $M \pm m$ )

Показатель	Осень (n=9)	Весна (n=9)
<i>Lymnaea stagnalis</i>		
СОД (гепатопанкреас), %	69,93 ± 1,08	72,19 ± 1,18
СОД (гемолимфа), %	47,92 ± 1,46	50,78 ± 0,59
Каталаза (гепатопанкреас), мкмоль/мин/г	3,06 ± 0,12	3,12 ± 0,08
ГР (гепатопанкреас), мкмоль/мин г ткани	0,265 ± 0,05	0,338 ± 0,04
ГР (гемолимфа), мкмоль/мин/мл	0,027 ± 0,008	0,0316 ± 0,009 <sup>1</sup>
ГП (гемолимфа), мкмоль/мл мин	0,630 ± 0,05	0,650 ± 0,02
<i>Planorbarius corneus</i>		
СОД (гепатопанкреас), %	73,68 ± 1,04	77,94 ± 1,05
СОД (гемолимфа), %	60,94 ± 2,73	64,64 ± 1,86
Каталаза (гепатопанкреас), мкмоль/мин/г	3,02 ± 0,07	3,16 ± 0,06
ГР (гепатопанкреас), мкмоль/мин г ткани	0,502 ± 0,02	0,585 ± 0,02
ГР (гемолимфа), мкмоль/мин/мл	0,0290 ± 0,007	0,0301 ± 0,007
ГП (гемолимфа), мкмоль/мл мин	0,390 ± 0,04	0,649 ± 0,03 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>p<0,05 по сравнению с осенним периодом сбора моллюсков.

При исследовании активности ферментативной АОС озера Любенское (таблица 3) оценку состояния водной экосистемы проводили с учётом сезонных изменений. Показатели изменялись следующим образом: отмечено наименьшее значение в осенний период сбора моллюсков по сравнению с весенним. Статистически важное значение имеет изменение показателя активности глутатионредуктазы в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* в 1,2 раза выше в весенний период сбора моллюсков. Для *Planorbarius corneus* эти изменения составляют: у глутатионредуктазы в гепатопанкреасе и глутатионпероксидазы в гемолимфе в 1,2 и 1,7 раза соответственно. Статистически значимых отличий у других показателей установлено не было. В зависимости от переносчика кислорода закономерных изменений не обнаружено.

**Заключение.** В условиях радиационного и экологического загрязнения среды обитания у представителей двух видов моллюсков большее количество биохимических процессов включается в поддержание жизнеспособности организма, что возможно и на уровне экспрессии генов. В ходе проведенных исследований установлено, что показатели АОС тканей легочных моллюсков изменяются под воздействием окружающей среды и зависят от сезона года и радиационного фона местности. Содержание в воде различных вредных для организмов примесей отрицательно влияет на работу ферментов. Повышенный радиационный фон свидетельствует о том, что ПОЛ будет выше на территории Гомельской области. Вследствие чего ферментативная АОС сама не справляется с таким уровнем стресса. В зависимости от переносчика кислорода закономерные изменения не зафиксированы. Отличие активности показателей ферментативной системы моллюсков Гомельской и Витебской области заключается в различном температурном режиме. Гомель характеризуется более теплым климатом, это значит, что гидробионты на данном участке раньше выходят из спячки, вследствие чего их реакция на условия окружающей среды будет отличаться от реакции гидробионтов Витебской области.

1. Кулько, С.В. Морфофункциональная характеристика гемоцитов моллюсков (Gastropoda, Bivalvia) в норме и при осмотической нагрузке: дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 03.03.01 / С.В. Кулько. – Белгород, 2015 – 286 с.
2. Балаева-Тихомирова, О.М. Особенности обмена веществ *Planorbarius corneus* в зависимости от сезона года и местообитания / О.М. Балаева-Тихомирова, Е.И. Кацнельсон // Весн. Вит. гос. ун-та. – 2018. – № 1 (98). – С. 66–74.
3. Королук, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук [и др.] // Лаб. Дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
4. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учебное пособие / Е.В. Барковский [и др.]; под ред. Проф. А.А. Чиркина. – Минск: Выш. шк. - 2013. – С. 77 - 91.
5. Okpodu, M.C. Method for detecting glutathione reductase activity on native activity gels which eliminates the background diaphorase activity / M.C. Okpodu, K.L. Waite // Anal. Biochem. – 1997. – Vol. 244. – P. 410–413.

### ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИИ ЖУЖЕЛИЦЫ *AGONUM ERICETI* (PANZER, 1809) В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ

Гаврилюк Л.И.,

студентка 3 курса ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Сушко Г.Г., канд. биол. наук, доцент

Большую часть территории Витебской области занимают верховые болота. В наши дни – это одни из наиболее уязвимых экосистем в Европе, площадь которых резко сократилась в начале прошлого века в результате осушения и добычи торфа. Естественные торфяники характеризуются очень своеобразными