

Международная  
школа-конференция  
молодых ученых

# БИОТЕХНОЛОГИЯ БУДУЩЕГО

в рамках Международного Симпозиума  
«ЕС – Россия: перспективы сотрудничества  
в области биотехнологии в 7-ой Рамочной Программе»

**СБОРНИК СТАТЕЙ**

Москва  
ОАО «Авиасиздат»  
2006

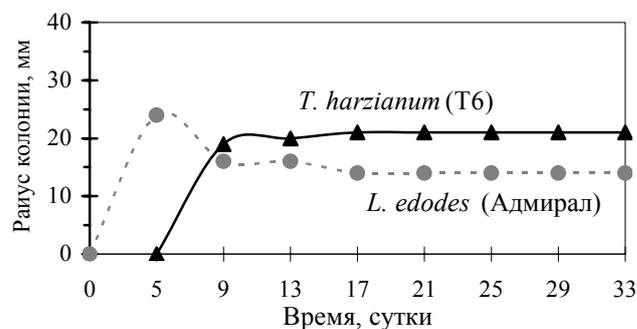
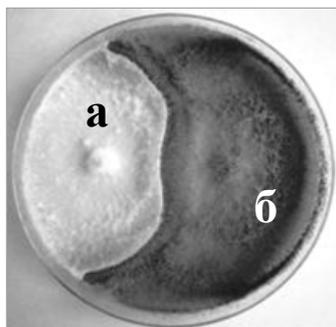


Рис. 2. Ограниченный рост как колонии *L. edodes* (а), так и колонии *Trichoderma* (б) с четкой зоной ингибирования между ними (ТВ 2).

(ТВ 3). Низкая антагонистическая активность. В первые дни взаимодействия между исследуемыми грибами наблюдали приостановление роста колонии ши-таке по сравнению с контрольным вариантом. Но уже через 3-4 дня на границе контакта грибом образовывались достаточно четкие мицелиальные валики *L. edodes*, с помощью которых мицелий ши-таке нарастал поверх колонии *Trichoderma* spp. продолжая, таким образом, свое развитие и рост (рис. 3).

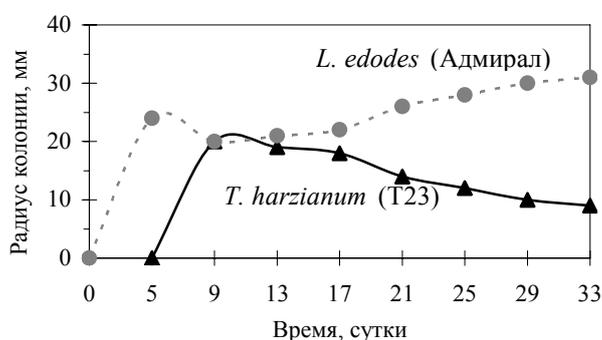
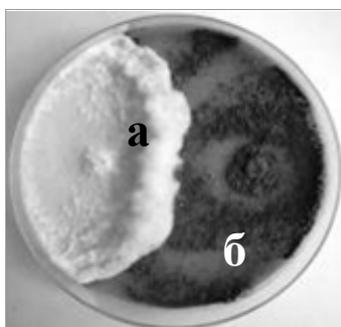


Рис. 3. Нарастание мицелия *L. edodes* на колонию *Trichoderma* (ТВ 2).

#### 4. Заключение

Потери урожая в процессе промышленного выращивания ши-таке зависят в значительной степени не только от продуктивности культиваторов ши-таке, а и от антагонистического действия штаммов *Trichoderma*, которое может сильно варьировать также в пределах одного вида.

#### Благодарность

Автор высказывает глубокую благодарность профессору Р. Пьедеру и доктору М. Кирхмейеру (Микробиологический институт Иннсбрукского университета, Австрия) за помощь в идентификации изолятов методами молекулярной биологии.

#### Литература

- (1) Luo, X.C. Progress of Xiang-Gu (Shiitake) Cultivation in China. (2004) In: C.P. Romaine et al. (Eds.): Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi: Penn State, pp. 317-322.
- (2) Royle, D.J., Schisler, L.C. & Diehle, D.A. (1985) Int. Sci. Rev., 10, 329-335.
- (3) Шульга О.В., Бабаянц О.В. (2004) Захист рослин, 1, 24-25.
- (4) Savoie, J.-M., Mata, G. & Mamoun, M. (2001) Mycologia, 93, 243-248.
- (5) Badham, E.R. (1991) Mycologia, 83, 455-463.
- (6) Pukahuta, C., Limtong, S., Suwanarit, P. & Nutalaya, S. (2000) Natural Sciences, 34, 478-485.
- (7) Seaby, D.A. (1996) Plant Pathology, 45, 913-923.

## ЛЮЦЕРНА ХМЕЛЕВИДНАЯ КАК ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ

Юрков А.П.<sup>1</sup>, Якоби Л.М.<sup>1</sup>, Кожемяков А.П.<sup>1</sup>, Семенов Д.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, 189620 Санкт-Петербург-Пушкин-8, ш. Подбельского 3, Россия

<sup>2</sup>Российский Государственный Гидрометеорологический Университет, 195196 Санкт-Петербург, Малоохтинский пр. 98, Россия

yurkovandrey@yandex.ru

Ключевые слова: арбускулярная микориза, эффективность симбиоза, люцерна хмелевидная, *Glomus intraradices*, полиморфизм

#### 1. Введение

Арбускулярная микориза (АМ) – широко распространенная форма растительно-микробных взаимодействий. АМ положительно влияет на продуктивность растений за счет улучшения минерального (особенно фосфорного) питания, а также оптимизации гормонального статуса растений, их защиты от патогенов и абиотических стрессов. Настоящее исследование направлено на изучение эффективности АМ со

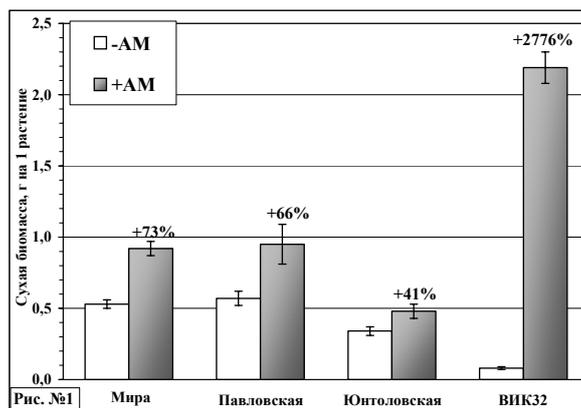
стороны растения-хозяина. Рассматривается один из аспектов проблемы, связанный с адаптацией растений к низкому уровню доступного фосфора (Рд) в почве. Представленные направления работы: 1) изучение полиморфизма растений; 2) анализ взаимосвязей показателей микоризации и продуктивности растений; 3) отбор образцов люцерны. Результаты исследований найдут применение в селекции растений на повышение симбиотического потенциала.

## 2. Материалы и методы

В качестве объекта исследования выбрана люцерна хмелевидная (*Medicago lupulina* L.). Самоопылитель. Диплоид. Является ценной сельскохозяйственной культурой. Обладает высокой семенной продуктивностью. В лабораторном эксперименте на стерильном субстрате выращивали 2 дикорастущие популяции (Павловская и Юнтоловская из Ленинградской обл.) и 2 сортопопуляции (Мира из Московской обл. и ВИК32 из Казахстана). При инокуляции использован штамм гриба арбускулярной микоризы (АМГ) *Glomus intraradices*. Инокуляция ризобиями не проводилась. Микоризация оценивалась по методу А. Травло с соавт. (1986) после окрашивания корней по методу Дж.М. Филипс и Д.С. Хейман (1970). Методика оценки была усовершенствована компьютерной программой "Mycorrhiza", разработанной А.П. Юрковым. Коэффициенты вариации ( $C_v$ ), асимметрии ( $As$ ) и эксцесса ( $Ex$ ) показателей продуктивности и микоризации рассчитаны по Ф. Хедрик (2003).

## 3. Результаты и обсуждение

**Межпопуляционная изменчивость.** Выявлены достоверные различия по отзывчивости на инокуляцию *Gl. intraradices* у образцов люцерны хмелевидной различного происхождения (Рис. №1). На рисунке: "-АМ" – контрольные растения, не инокулированные АМГ; "+АМ" – растения с АМ. Яровая с. ВИК32 имела в контроле признаки карликовости и является облигатно-микотрофной формой (Рис. 1).



Рисунк 1: Сухая биомасса растений люцерны хмелевидной на 88-е сутки от посадки.

**Внутрипопуляционная изменчивость.** Выявлен значительный полиморфизм образцов люцерны по показателям продуктивности (Табл. 1) и микоризообразования. Популяция Павловская отличалась самой высокой изменчивостью по следующим характеристикам: 1) сухая биомасса микоризных растений ( $C_v = 89\%$ , Табл. 1); 2) встречаемость микоризной инфекции (от 0 до 96%).

Таблица 1: Полиморфизм образцов люцерны хмелевидной по продуктивности.

Статистический параметр	Высота		Кустиность		Биомасса	
	-АМ	+АМ	-АМ	+АМ	-АМ	+АМ
Сорт Мира						
$C_v$	29 <sup>1</sup>	61	38	21	39	39
$As$	2,6	1,5	-0,8	-0,3	0,0	0,9
$Ex$	10,3	4,4	-0,2	-0,3	-0,5	0,2
Популяция Павловская						
$C_v$	43	78	61	39	53	89
$As$	1,3	1,7	0,5	-0,3	0,7	1,6
$Ex$	1,6	2,0	-0,8	-0,7	-0,3	1,4
Популяция Юнтоловская						
$C_v$	39	65	53	39	58	57
$As$	0,4	1,4	0,4	0,2	0,4	1,4
$Ex$	-1,0	1,7	-1,1	-0,7	-0,9	1,8
Сорт ВИК32						
$C_v$	32	10	47	12	60	29
$As$	0,5	0,0	1,6	-0,8	1,8	0,0
$Ex$	0,6	-0,6	2,5	0,9	5,7	-0,6

Выявлен полиморфизм растений по эффективности симбиоза с *Gl. intraradices* на основании сравнительного анализа статистических параметров ( $C_v$ ,  $As$ ,  $Ex$ ) показателей продуктивности в контроле и опыте. Так, в табл. 1 значения в серых ячейках имеют достоверные ( $P < 0,05$ ) различия в контроле и опыте, указывая на наличие *внутрипопуляционного полиморфизма* люцерны хмелевидной.

**Взаимосвязи.** Для оценки связи показателей микоризации и продуктивности был проведен корреляционный анализ. По результатам анализа на 88-е сутки от посадки у п. Павловская обнаружены достоверные ( $P < 0,05$ ) положительные корреляции между показателями продуктивности и микоризации, в том числе между сухой биомассой и обилием арбускул. На основании анализа растений этой популяции не обнаружено достоверных корреляционных связей между содержанием фосфора в растениях и показателями микоризации ( $P > 0,05$ ). Для п. Юнтоловская, с. Мира и с. ВИК32 не выявлено линейных корреляций между показателями продуктивности и микоризации, однако они имели достоверные ( $P < 0,05$ ) криволинейные связи. Для этих популяций показано, что обилие арбускул зависело от сухой биомассы, но не наоборот.

**Отбор образцов люцерны.** Популяция Павловская отобрана для выделения контрастных по симбиотической активности генотипов растений и получения высокоэффективных линий. С этой целью планируется лабораторное исследование потомства растений п. Павловская по отзывчивости на инокуляцию *Gl. intraradices*.

Сортопопуляция ВИК32, облигатно-микотрофный симбионт, отобрана в качестве модельного растения для изучения механизмов, регулирующих эффективность АМ в условиях низкого содержания Рд в почве. В настоящее время на растениях с. ВИК32 проводится химический мутагенез с целью получения растительных мутантов с отклонениями в развитии АМ. Ведется фенотипический анализ потомства М2 и М3 по показателям продуктивности и микоризации. Начаты исследования с. ВИК32 по динамике показателей продуктивности, микоризации, фотосинтеза при двух уровнях фосфора в почве (с внесением и без внесения фосфорного удобрения). Отмечено, что отклик на инокуляцию АМГ происходит на ранних этапах онтогенеза растений.

#### **4. Заключение**

Выявлена значительная межпопуляционная и внутривидовая изменчивость люцерны хмелевидной по показателям продуктивности, микоризации и эффективности. Отобраны высоко полиморфная популяция Павловская, а также с. ВИК32 – облигатно микотрофная форма в условиях низкого содержания Рд в почве.

Результаты настоящего исследования будут способствовать решению фундаментальной проблемы биологии микоризы, связанной с изучением механизмов, регулирующих эффективность симбиотических отношений со стороны растения-хозяина. Полученные данные представляют практический интерес при отборе линий с высокой эффективностью АМ для создания высокопродуктивных симбиотических систем «растения – микроорганизмы». Использование сортов с высоким симбиотическим потенциалом позволит снизить нормы минеральных удобрений (особенно фосфорных) и сделать производство сельскохозяйственной продукции экологически безопасным.

#### **Благодарность**

Авторы глубоко признательны к.б.н. Проворову Н.А., д.б.н. Дзюбенко Н.И., к.с.-х.н. Степановой Г.В. за помощь в работе и плодотворное обсуждение результатов.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Амбарцумян А.А., Алебян М.Г., Дюкова К.Г., Папоян А., Алебян Г.П.</i> Усовершенствованный метод одновременного получения L-аланина и D-аспарагиновой кислоты из фумаровой кислоты	3
<i>Березина О.В.</i> Целлюлазная и гемицеллюлазная активности сольвентогенных клостридий	4
<i>Бондаренкова А.Д., Муратова А.Ю.</i> Деградация нефтяных углеводородов стимулирующей рост растения ризобактерией рода <i>Azospirillum</i>	5
<i>Босхомджиев А.П.</i> Сравнительная характеристика тканевой реакции на синтетические эндопротезы PROLENE и SPMM и протезы PROLENE и SPMM, покрытые фибробластами	7
<i>Бурцева Ю.В., Щипунов Ю.А., Карпенко Т.Ю., Шевченко Н.М., Звягинцева Т.Н.</i> Высокоэффективная иммобилизация ламинариназ морских моллюсков в новых гибридных полисахарид-силикатных наноконструкциях	8
<i>Воронин О.Г., Морозов С.В., Карякин А.А.</i> Водородные топливные электроды на основе различных гидрогеназ	10
<i>Воронова Е.А., Решетилов А.Н.</i> Адаптация микробного биосенсора для детекции различных субстратов путем изменения условий культивирования биомассы	12
<i>Ганнибал Ф.Б., Ули-Матила Т.</i> Обнаружение и идентификация токсигенных видов грибов рода <i>Alternaria</i> в зерне молекулярными методами	14
<i>Глотов А.С., Иващенко Т.И., Наседкина Т.В., Баранов В.С.</i> Разработка и апробация тест-систем на основе гелевых биочипов для изучения генетического полиморфизма человека	15
<i>Голубев С.Н.</i> Фитостимулирующая активность <i>Sinorhizobium meliloti</i> – продуцента ИУК и деструктора ПАУ – в чистом и загрязненном грунте	17
<i>Голубева Л.И., Куваева Т.М., Каташкина Ж.И.</i> Использование Red-зависимой системы рекомбинации фага $\lambda$ для получения библиотек промоторов в <i>Enterobacteriaceae</i>	18
<i>Горбатова О.Н., Королева О.В.</i> Роль редокс-медиаторов в биодеградации гербицида атразина грибной лакказой	18
<i>Городнова Е.А., Грачев С.В., Малов В.А., Белобородов В.Б.</i> Мутация Лейдена – фактор риска развития неблагоприятного исхода у больных сепсисом	20
<i>Громова Т.Ю., Костров С.В.</i> Протеализин – от фундаментальных исследований к биотехнологии	21
<i>Губайдуллин И.И., Баймиев Ал.Х., Баймиев А.Х.</i> Получение лектинов с измененной углеводспецифичностью	23
<i>Думова В.А., Пароменская Л.Н.</i> Консорциум микроорганизмов для биоремедиации почв, загрязненных триазиновыми гербицидами	24
<i>Ермаков И.В., Копчик Г.Н.</i> Загрязнение и восстановление почв лесных экосистем в зоне влияния горно-металлургического комбината	26
<i>Жернаков А.И., Цыганов В.Е.</i> Использование симбиотических систем в процессе биоремедиации почв	27
<i>Жила Н.О.</i> Распределение радиоуглерода среди основных макромолекул у бактерий <i>Ralstonia</i> <i>eutropha</i> B5786 при аккумуляции и внутриклеточной деградации полигидроксibuтирата	28
<i>Жуков В.А., Тихонович И.А.</i> Секвенирование ключевого симбиотического гена <i>sym37</i> гороха посевного <i>Pisum sativum</i> L.	30
<i>Захарова М.Ю.</i> Метод детекции активности летального фактора сибирской язвы с использованием FRET между флуоресцентными GFP подобными белками	31
<i>Иванов А.В.</i> Клонирование, экспрессия и рефолдинг рекомбинантных рибосомных белков человека	33
<i>Иванова А.В.</i> Электрохимические методы и сенсоры для исследования биологических жидкостей и пищевых продуктов	35

<i>Козицина А.Н.</i> Бесферментные сенсоры в анализе биологических объектов .....	36
<i>Колотвин В.В., Валихов А.Ф.</i> Разработка тест-системы ПЦР для индикации вируса бычьего иммунодефицита и выявления ВБИ - инфекции у крупного рогатого скота в России .....	37
<i>Коновалова Е.Н.</i> Разработка системы для исследования ДНК-микросателлитов крупного рогатого скота .....	39
<i>Копыльцов С.В., Иванов Г.И.</i> Создание высокопродуктивных гибридных штаммов вешенки .....	40
<i>Костюнина О. В., Зиновьева Н.А.</i> Полиморфизм гена NSOA1 у свиней различных пород .....	41
<i>Краснов М.С., Ямскова В.П., Гурмизов Е.П., Ямсков И.А.</i> Разработка офтальмологических препаратов на основе эндогенных пептидов .....	43
<i>Кузнецова Е.В., Борисов А.Ю.</i> Картирование гена <i>Crt</i> , влияющего на взаимодействие гороха с симбиотической микрофлорой .....	44
<i>Кузнецова М.В.</i> Сравнение каталитических свойств нитрилгидратаз штаммов рода <i>Rhodococcus</i> .....	46
<i>Лагодич А.В.</i> Плазмиды семейства pBS72 как основа для создания векторных систем .....	48
<i>Лептянен И.В., Долгих Е.А., Цыганов В.Е., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.</i> Анализ экспрессии генов ранних нодулинов <i>PsENOD5</i> и <i>PsENOD12a</i> у мутантов гороха <i>Pisum sativum</i> L., характеризующихся блоком в развитии симбиоза на различных стадиях .....	49
<i>Лившиц В.А.</i> Синтез анионных производных мио-инозита и других полиолов и исследование их антивирусной активности .....	51
<i>Лисов А.В.</i> Окисление устойчивых соединений гибридной Mn-пероксидазой в присутствии медиаторов .....	52
<i>Маликова Н.П., Борисова В.В.</i> Ca <sup>2+</sup> -регулируемые фотопотеины и их «цветные» мутанты как биоломинесцентные репортерные белки .....	53
<i>Марченко А.Н.</i> Использование принципа статистической самосборки вирусоподобных частиц из общего пула белка р1 для объединения вариативных доменов антитела .....	55
<i>Меремьянин А.В., Курганов Б.И.</i> Подавление агрегации белков природными и искусственными шаперонами .....	56
<i>Микулинская Г.В., Зимин А.А., Феофанов С.А.</i> дНМФ-киназа бактериофага T5 – эффективный инструмент для получения дНТФ .....	58
<i>Молчанова М.А.</i> Разработка промышленного способа получения АДД расщеплением боковой цепи стеринов с использованием <i>Mycobacterium neoaurum</i> .....	59
<i>Морозкина Е.В.</i> Новые ферменты экстремофилов и их биотехнологический потенциал .....	60
<i>Наумов Д.Г.</i> Иерархическая классификация гликозил-гидролаз с TIM-типом третичной структуры .....	62
<i>Некпелая В.В., Семенов Д.В.</i> Белок человеческого молока, индуцирующий апоптоз клеток аденокарциномы MCF-7 .....	64
<i>Нестеренко И.С., Нокель М.А.</i> Определение сульфаниламидных препаратов в образцах меда методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа .....	66
<i>Новиков А.Д., Яненко А.С.</i> Цианид устойчивые нитрилгидратазы как эффективные катализаторы гидролиза циангидринов .....	68
<i>Новопашина Д.С.</i> Новые флуоресцентные зонды на основе олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) – прецизионные инструменты молекулярной биотехнологии .....	70
<i>Носарева О.В., Нестеров А.Е., Болдырев А.Н., Смирнова О.Ю., Туманов Ю.В., Татьков С.И.</i> Исследование экспериментального препарата на основе микобактериального антигена ESAT6 .....	72
<i>Погорелова Л.В.</i> Иммунологические и физико-химические основы создания биосенсора на содержание бактерий в питьевой воде .....	73
<i>Попов В.Н.</i> Роль фитохромной системы в регуляции активности сукцинатдегидрогеназы зеленых листьев мутантов <i>Arabidopsis thaliana</i> L. ....	75

<i>Рафиева Л.М., Костров С.В.</i> Про-зависимый фолдинг и конструирование искусственных шаперонов . . . . .	76
<i>Румянцев Д.Е.</i> Возможности использования дендрохронологической информации при изучении факторов формирования урожая древесины . . . . .	77
<i>Савельева Н.В., Дудник Е.Э.</i> Создание и анализ растений-продуцентов бычьего гамма-интерферона . . . . .	79
<i>Садыкова В.С.</i> Разработка биопрепаратов на основе биоконтрольных штаммов <i>Trichoderma</i> с использованием растительных отходов техногенной сферы . . . . .	80
<i>Сандлерский Р.Б., Пузаченко Ю.Г.</i> Оценка эффективности использования солнечной энергии при синтезе биологической продукции по мультиспектральной дистанционной информации . . . . .	82
<i>Сафина Д.Р.</i> Изучение влияния пронейротрофинов на возникновение и развитие неврологических заболеваний человека . . . . .	83
<i>Синицына О.А.</i> Фитаза <i>Penicillium canescens</i> . . . . .	84
<i>Скомаровский А.А., Синицын А.П.</i> Новые целлюлазы для высокоэффективного гидролиза лигноцеллюлозной биомассы . . . . .	86
<i>Сотников Д.В.</i> Регистрация ферментативных и иммунохимических реакций на основании изменений акустических свойств среды . . . . .	87
<i>Сурина Е.Р., Митькевич О.В.</i> Характеристика ДНК-аптамеров, полученных к полимерным формам NM-фрагмента белка Sup35p . . . . .	89
<i>Тумайкина Ю.А., Турковская О.В., Игнатов В.В.</i> Участие растительно-микробной ассоциации на основе элодеи канадской в биодеградации ароматических углеводов . . . . .	90
<i>Ужаченко Р.В., Карпенко Л.И.</i> Сравнительный анализ иммуногенной активности полиэпитопных вакцин против ВИЧ-инфекции . . . . .	92
<i>Фурманов А.А., Гончар Р.С.</i> Разработка системы менеджмента качества в лабораториях в соответствии с требованиями международного стандарта ISO/IEC 17025:2001 . . . . .	93
<i>Ходоренко А.В., Бревин Н.</i> Иммуноцитохимический анализ организации специфических молекулярных компонентов внеклеточных симбиотических компартментов, обеспечивающих взаимодействие между симбионтами, в ходе развития азотфиксирующих клубеньков гороха ( <i>Pisum sativum</i> L.) . . . . .	95
<i>Цыганов В.Е., Балушка Ф.</i> Мутационный анализ влияния кадмия на организацию тубулиновых микротрубочек в кончиках корней у гороха посевного ( <i>Pisum sativum</i> L.) . . . . .	96
<i>Чемерис Д.А., Романенкова М.Л., Матнязов Р.Т.</i> Использование основанных на FRET-эффекте полимеразной, лигазной и гибридизационной цепных реакций для детекции в реальном времени специфических фрагментов ДНК или РНК . . . . .	97
<i>Чубик М.В., Чубик М.П., Булатова Н.Ш.</i> Роль микроорганизмов в процессах деструкции природных фосфоритов . . . . .	99
<i>Чулкин А.М., Беневоленский С.В.</i> Штамм гриба <i>Penicillium canescens</i> - продуцент секретируемой эндо-(1-4)-бета-ксилаказы с пониженной активностью эндоглюканаза . . . . .	100
<i>Шульга Е.В.</i> Основные проявления антагонизма <i>Trichoderma</i> SPP. По отношению к съедобному грибу <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	102
<i>Юрков А.П., Якоби Л.М., Кожемяков А.П., Семенов Д.Г.</i> Люцерна хмелевидная как объект для изучения эффективности арбускулярной микоризы . . . . .	103