

странах [2]. Расчет численности проводился с использованием пробных площадей и учетом стратификации. Обследовано 30 разнотипных водоемов

Видовое богатство личинок земноводных достигает 7 видов (3.9 ± 0.34). В постоянных водоемах преобладают многовидовые ассоциации, включающие более 4-х видов, причем соотношение между отдельными видами имеет специфичный характер. Как правило, моновидовые группировки наблюдаются для серой (*Bufo bufo* Linne, 1758) и зеленой жаб (*B. viridis* Laurenti, 1768). Выяснено, что количество видов достоверно связано со степенью затененности водоемов размножения ($F=3.07$, $Beta = -0.37 \pm 0.17$, $p < 0.05$).

Таким образом, сопряженность ассоциаций личинок бесхвостых земноводных с некоторыми параметрами водоемов не вызывают сомнений. Тем не менее, адаптивная радиация отдельных видов к тем или иным условиям находится в пределах оптимума по соотношению условий в которых происходит их развитие на личиночных стадиях и существуют строгие закономерности трендов видовой разнообразия в многомерном пространстве этих условий.

Литература

1. Абжамиллов С.Т. Особенности размножения и развития личинок *Bufo viridis* в различных ландшафтных условиях Южного Кыргызстана. – Ст. деп. НИЛ "Дэнаст" 5.01.1995, № 458.
2. Кузьмин С.Л. Земноводные бывшего СССР. – М., 1999. – 298 с.
3. Сурова Г.С. Онтогенетические проблемы поддержания устойчивости популяций личинок бурых лягушек. // Тез. докл.: Проблемы микроэволюции. – М., 1988. – С. 40 – 41.
4. Beebe, T. J. C. Tadpole growth: Is there an interference effect in nature? // *Herpetological Journal*. – 1995. – №5.
5. Kisileva, E.I., Rocek Z., Hart S. Kin recognition in European Anuran tadpoles and their sociality. // *Third world congress of herpetology*, 2-10 August, 1997.

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВ СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА

Кремез О.В., Мазец Ж.Э., Спиридович Е.В., Власова А.Б

В последние десятилетия возросло внимание исследователей к изучению свойств секрета слюнных желез [3,4]. Это связано не только с бурным развитием аналитической техники, но и с растущим интересом к уникальным свойствам слюны и диагностическим свойствам, связанным с полной неинвазивностью. Растет интерес к использованию слюны для выяснения метаболизма различных лекарственных средств и наркотиков [11], для изучения влияния физической и умственной нагрузок на эндокринную систему [13]. Использование слюны в качестве объекта для оценки состояния здоровья обеспечивает полную безопасность обследуемого благодаря простоте взятия проб. Таким образом, анализ слюны — одна из наиболее значительных альтернатив анализу крови.

Смешанная слюна выполняет разнообразные функции: пищеварительную, минерализующую, очищающую, защитную, бактерицидную, иммунную, гормональную и др.; в связи с этим она имеет сложный биохимический состав, в формировании которого участвуют разнообразные белки, липиды, стероидные соединения, углеводы, ионы, небелковые азотсодержащие вещества, витамины (С, В₁, В₂, В₆, Н, РР и т.д.). Циклические нуклеотиды и другие соединения [2 – 4]. Многокомпонентное содержание смешанной слюны формируется в результате функциональной деятельности как больших (подчелюстных, подъязычных и околоушных), так и малых слюнных желез слизистой оболочки ротовой полости. Ежедневно у человека выделяется 0,5 – 2,0 л слюны. Свыше 90 % всей массы: слюнного секрета составляет вода [2].

Важнейшим компонентом ротовой жидкости являются соединения белковой природы, значительную часть которых по функциональным свойствам условно можно разделить на 3 группы: участвующие в пищеварительных процессах, связанные с местным иммунитетом и выполняющие регуляторные функции [3]. Неспецифическими защитными свойствами обладают такие слюнные белки, как лизоцим (гидролизует β -(1-4)-гликозидную связь

полисахаридов и мукополисахаридов, содержащих муравовую кислоту в клеточных стенках микроорганизмов), лактоферрин (участвует в различных реакциях защиты организма и регуляции иммунитета). Малые фосфопротенны, гистатины и стератины играют важную роль в антимикробном действии [3, 4, 11]. Цистатины являются ингибиторами цистеиновых протеиназ и могут играть защитную роль при воспалительных процессах в ротовой полости [8].

Муцины выполняют защитные функции и играют важную роль в обменных процессах. в частности в процессах пищеварения [5]. Многие белки слюны обладают полифункциональными свойствами. Так α -амилаза помимо выполнения пищеварительных функций может связываться со стенками ряда бактерий и вовлекаться в антисептические процессы. Кислые пролинобогаченные белки ингибируют кристаллизацию кальций-фосфатных солей из растворов, перенасыщенных гидроксиапатитом, связывают ионы кальция и взаимодействуют с некоторыми бактериями при адсорбции к гидроксиапатитам

Смешанная слюна содержит крупные гликопротеины, называемые муцинами, которые в основном обеспечивают вязкую природу слюны и определяют ее сложную физиологическую активность. Гликопротеины – это гликоконъюгаты, которые представляют собой полипептидную цепь, к которой, путем гликозилирования, ковалентно присоединены углеводные цепи, гликаны. На сегодняшний день является полностью доказанным, что аномальное изменение углеводных компонент гликопротеинов сопровождается ряд заболеваний, в том числе сахарный диабет и онкологические [3, 4]. Кроме того, интересным представляется факт того, что оптимум защитных свойств слюны отмечен при pH 6.2. При сдвигах pH в кислую или щелочную сторону происходят изменения структурно-функциональных свойств слюны и психо-физиологических состояниях человека [1, 6]. В связи с этим, целью наших исследований было изучение pH, вязкости, компонентного состава белков и гликопротеинов смешанной слюны студентов БГПУ им. М. Танка

Научная новизна и значимость работы: Впервые предпринята попытка исследовать физиолого-биохимические свойства слюны студентов БГПУ им. М. Танка с целью прогнозирования уровня их здоровья.

Разделение гликопротеинов слюны проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в денатурирующих условиях по Лэммли. Это позволило получить уникальную информацию о физико-химических свойствах специфического белка. Окрашивали гликозилированные белки с использованием коммерческого набора «Glyco-Pro», Sigma. Принцип метода основан на окрашивании белков окислением-восстановлением периодной кислотой-реагентом Шиффа [5]. В результате углеводные компоненты гликопротеинов окрашивают белок в розовые (маджента) полосы. ПерIODат/реагент Шиффа окрашивает вициновые диоловые группы, которые в основном обнаруживаются у периферически расположенных сахаров и сиаловых кислот. Поскольку белки слюны представлены в большом количестве муциновыми белками, которые являются гликопротеинами, и среди них присутствуют такие с очень высокими молекулярными массами, и в том числе высокомолекулярными комплексами, то препарат слюны был подвергнут дополнительной обработке детергентами (Triton X-100). Кроме того, нами было предпринято дополнительное фиксирование геля для концентрации белковых фрагментов в 20% растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ, Мм 12 000) в течение 40 минут после завершения всех окрашивающих процедур.

Белки слюны человека анализировали методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в щелочной системе с додецилсульфатом Na (SDS) по методу Laemmli на приборе для вертикального электрофореза компаний Hoefer (Amersham Pharmacia Biotech, Швеция). Полиакриламидные гели фиксировали в течение ночи в 40%-ном водном этаноле, содержащем 5% ледяной уксусной кислоты. Затем гели погружали на 2 – 3 ч в 0,7%-ый раствор йодной кислоты; в 5%-ой уксусной кислоте. После этой обработки гели вымачивали: в течение 2 – 3 ч в 0,2%-ом растворе мегабисульфита натрия в 5%-ной уксусной кислоте с однократной сменой этого раствора после первых 30 мин. После этого гели скрашивали погружением в реактив Шиффа [9, 10, 12, 14, 15]. При комнатной температуре окраска развивается в течение 1—3 ч. Реактив Шиффа готовили следующим образом: 10 г основного фуксина растворяли при нагревании в 1 п дистиллированной воды. После охлаждения к рас-

твору добавляли 200 мл 1н. HCl и 17 г метабисульфита натрия и перемешивали до исчезновения окраски. Затем раствор встряхивали с активированным углем, промытым HCl, и удаляли уголь путем центрифугирования. Надосадочную жидкость фильтровали через стеклянную вату. Получали прозрачный и бесцветный фильтрат. Реактив хранили в темной посуде при 4 °С. Мы сравнили эффективность окрашивания гликопротеинов с использованием коммерческого набора "GlycoPro" (Sigma) и на основе воспроизведенной методики. В качестве стандарта, наряду с коммерческим препаратом пероксидазы из хрена, мы использовали наработанные и очищенные в условиях отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Б препарат пероксидазы сои.

Интенсивность окрашивания зон оценивали с использованием программного средства денситометрии Sigma Gel (Германия). При использовании стандартного пакета программ Microsoft Excel, а также специализированных компьютерных программ (Adobe Photoshop) получали электронную версию изображения. Определение молекулярных масс исследуемых пептидов производили с использованием специализированного программного обеспечения для ПЭВМ (Sigma Gel, Германия) на основе известных молекулярных масс белков-маркеров. В качестве белковых маркеров использовали стандартные наборы преокрашенных белков для калибровки фирмы Fermentas (Литва) в диапазоне 6,5 – 97 kD.

Определение pH и вязкости слюны проводили по описанным в литературе методикам [6,7].

Результаты и их обсуждение: Изучение физиолого-биохимических свойств слюны проводилось на базе отдела биохимии и биотехнологии растений Центрального Ботанического сада НАН Б. В качестве объекта исследования была использована слюна 95 студентов III курса факультета естественных наук Белорусского государственного педагогического университета им. М. Танка отделений: биология и химия, биология и валеология, биология и психология.

Анализ полученной электрофореграммы белков слюны студентов, показал наличие специфического окрашивания у значительного количества зон гликопротеинов. В верхней зоне спектров всех образцов присутствуют мажорные фрагменты: в областях ~ 100kDa, однако наблюдаются некоторые отличия между препаратами по количественному содержанию данного фрагмента и значению молекулярных масс. Необходимо отметить, что, несмотря на обработку детергентом, ряд высокомолекулярных фрагментов не вошли в разделяющий гель, что требует дальнейшей оптимизации методики. Модифицированный нами подход с использованием дополнительного фиксирования геля в растворе ПЭГ позволил более интенсивно окрасить дополнительные области спектров, которые не выявлялись ранее. Более отчетливо проявились фрагменты в областях ~28–35 kDa, ~10–20 kDa.

Данный подход выявил довольно четкую гетерогенность образцов по ряду компонентов, что особенно четко проявлено в отношении фрагментов в областях ~28–35 kDa. Можно заключить, что оптимизированная методика демонстрирует результаты, сопоставимые с получаемыми при использовании коммерческого набора, и незначительно отличающиеся по трудоемкости. Кроме того, все необходимые реагенты можно без труда приготовить в лабораторных условиях. Наиболее трудоемким является приготовление реагента Шиффа (окрашивание), однако приготовленного 1 л реактива при правильном хранении (в темном месте при 4°C) достаточно для окрашивания 15 – 20 гелей. Таким образом, при дальнейшей оптимизации методики экстракции белков слюны человека, и специфического окрашивания их на гликопротеины, можно будет рекомендовать данный подход при диагностике и уточнении заболеваний при сопоставлении данных о гликопротеиновом спектре слюны с электрофореграммами крови пациентов и их историей

Литература

1. Акиншикова Г.И. Соматическая и психофизиологическая организация человека. – Л., 1977.
2. Бабаева А.Г., Шубникова Е.А. Структура, функция и адаптивный рост слюнных желез. – М., 1979.
3. Григорьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний. // Клиническая лабораторная диагностика. – № 6. – 1998. – С. 18 – 20.

4. Григорьев И. В., Чиркин А.А. Слюна. как предмет лабораторной диагностики. // Медицинские новости. – 1998 – № 4. – С. 9 – 12.
5. Коробейникова Э.Н., Ильных Е.И. Количественное определение содержания белка и муцина (гликопротеинов) в слюне. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. - № 8. – С. 34 – 35.
6. Леонтьев В. К. Галиулина М. В., Ганзина М. В. Изменение структурных свойств слюны при изменении рН. // Стоматология. – 1999. - № 2. – Т. 78. – С. 22 – 24
7. Сукманский О. И. Биологически активные вещества слюнных желез. – Киев. – 1991.
8. Aguirre A., Testa-Weintraub L.A., Banderas J. A. et al. // Crit Rev Oral Biol. Med. – 1993. – Vol. 4. – № 3 – 4. – P 343 – 350
9. Andrews A.T. Electrophoresis: Theory, Techniques, and Biochemical and Clinical Applications Biochemical and Clinical Applications. 2nd ed (1988). 38 – 42
10. Devine P.L., Warren, J.A. Glycoprotein detection on Immobilon PVDF transfer membrane using the Periodic Acid / Schiff Reagent. // Biotechniques. – 1990. – Vol. 8. – P. 492.
11. Goldberg D. G., Tappin D. M., Cameron S. et al. // Lancet. – 1993. – V. 341. № 8841. – P. 382.
12. Jay, G.D. et al. Silver staining of extensively glycosylated proteins on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels: enhancement by carbohydrate-binding dyes. –1990. Anal. Biochem. – Vol. 185. – P. 324 – 330.
13. Martin R. B., Guthrie S.A., Pitts C.G. // Behav. Med. – 1993. – V. 19. – № 3. – P. 111–114
14. Thornton D.J., Walker J.M. Identification of glycoproteins on nitrocellulose membranes and gels // Meth. Mol. Biol., Totowa, NJ (1994), 32, 119 – 128.
15. Zacharius, R.M. et al. Glycoprotein staining following electrophoresis on acryl amide gels. // Ann. Biochem. – V. 31. – 1969. – P.148 –152.

ПРОЯВЛЕНИЯ ЭРОЗИОННЫХ ПРОЦЕССОВ ПОЧВ НА ТЕРРИТОРИИ ОРШАНО-МОГИЛЕВСКОЙ РАВНИНЫ, МЕРОПРИЯТИЯ ПО ЗАЩИТЕ ПОЧВ ОТ ЭРОЗИИ

Кучерова Е.В., Лепешев А.А.

Проблема рационального использования и охраны земельных ресурсов является, пожалуй, самым актуальным звеном в системе охраны окружающей среды, так как она связана с производством продуктов питания для всего человечества. Многие исследователи-естественники считают почву едва ли не главным чудом нашей планеты, поскольку она является основой для получения урожая сельскохозяйственных культур, главным богатством, от которого зависит наше существование. Однако площади плодородных почв катастрофически сокращаются, при чем большая часть потерь почвы, их плодородия носит антропогенный характер [1]. Безвозвратные потери пашни только вследствие деградации почв достигли 1,5 млн. га в год. Денежное выражение этих потерь составляет не менее 2 млрд. долларов.

Наиболее разрушительные действия на почвенный покров оказывают процессы водной эрозии. Разрушение почв происходит очень быстро, а восстановление плодородного слоя крайне медленно: примерно 2,5 см за 500 лет. Чтобы восстановить 15 см гумусового горизонта необходимо почти 3 тыс. лет. Эрозионные процессы почв Беларуси являются важнейшим видом деградации почв, как по масштабам распределения, так и по наносимому ущербу сельскому хозяйству и окружающей среде. Природно-климатические условия и интенсивность обработки земли в значительной степени способствуют развитию эрозионного смыва и размыва почв на территории нашей республики. По результатам III тура почвенных исследований, в разной степени эродированные и эрозионноопасные почвы занимают около 40 % площади пахотных земель, а деградированные эрозией – около 10 %. Возникает значительный экологический ущерб от эрозии, связанный с переносом почвенных частиц и биогенных элементов, приведший к заилению и загрязнению водоемов. Кроме этого, эрозионные процессы являются основным фактором горизонтальной миграции радионуклидов и вторичного загрязнения сельскохозяйственных и других угодий.

Территория Оршано-Могилевской равнины имеет довольно разнообразный спектр экзогенных рельефообразующих процессов. Среди них преобладающими являются линей-