

ISSN 0206-5657

**ВІСНИК**  
ЛЬВІВСЬКОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 62

2013

**VISNYK** | **ВІСНИК**  
**OF THE LVIV** | **ЛЬВІВСЬКОГО**  
**UNIVERSITY** | **УНІВЕРСИТЕТУ**

**Series Biology** | **Серія біологічна**

**Issue 62** | **Випуск 62**

Scientific journal | Збірник наукових праць

Published 3–4 issues per year | Виходить 3–4 рази на рік

*Published since 1962* | *Видається з 1962 року*

Ivan Franko | Львівський національний  
National University of Lviv | університет імені Івана Франка

2013

Друкується за ухвалою Вченої Ради  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка

Свідоцтво про державну реєстрацію серія  
КВ №14810-3581Р від 28 жовтня 2008 р.,  
перереєстровано як фахове видання України  
(постанова Президії ВАК №1-05/2 від 27  
травня 2009 р.). Видання включене до Thom-  
son Scientific Master Journal List (список ISI)

У “Віснику Львівського університету. Серія біологічна” опубліковані статті з актуальних проблем біології. Для наукових працівників, аспірантів і студентів старших курсів.

Papers on current problems in biology are published in the *Visnyk*. For scientific staff, Ph. D. students and Bachelors.

Редакційна колегія:

д-р біол. наук, проф. *В. Федоренко* – головний редактор; д-р біол. наук, проф. *В. Манько* – заступник головного редактора; *Н. Цимбалюк* – секретар; д-р біол. наук, проф. *С. Волгін* (Волинський національний університет імені Лесі Українки); канд. біол. наук, проф. *С. Гудзь*; д-р біол. наук *А. Бабський*; канд. біол. наук, доц. *І. Хамар*; д-р біол. наук, проф. *О. Демків* (Інститут екології Карпат НАН України); д-р біол. наук, проф. *Г. Калачнюк* (Національний університет біоресурсів і природокористування України); д-р біол. наук, проф. *М. Клевець*; д-р біол. наук *М. Козловський* (Інститут екології Карпат НАН України); д-р біол. наук, проф. *Н. Сибірна*; д-р біол. наук, проф. *Д. Санагурський*; канд. біол. наук, доц. *С. Гнатуш*; чл.-кор. НАН України, д-р біол. наук, проф. *Р. Стойка*; д-р біол. наук, проф. *Л. Тасенкевич*; д-р біол. наук, проф. *О. Терек*; д-р біол. наук, доц. *Н. Федірко*; д-р біол. наук, проф. *Й. Царик*; д-р біол. наук, проф. *Ю. Чорнобай* (Державний природознавчий музей НАН України)

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Fedorenko* – Editor-in-Chief

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Manko* – Assistant Editor

*N. Tymbalyuk* – Managing Editor

Відповідальні за випуск: *В. Федоренко, Н. Цимбалюк*

**Адреса редколегії:**

Львівський національний університет  
імені Івана Франка, біологічний факультет,  
вул. Грушевського, 4  
Львів 79005, Україна  
тел.: (032) 239-47-86

**Editorial office address:**

Ivan Franko National University  
of Lviv, Biology faculty  
4, Hrushevskiy St.  
Lviv 79005, Ukraine  
tel. (032) 239-47-86

E-mail: [biovisnyk@franko.lviv.ua](mailto:biovisnyk@franko.lviv.ua)

<http://www.lnu.edu.ua/faculty/biologh/wis/wis.htm>

Редактор: Л. СІДЛОВИЧ

Комп'ютерна верстка: В. ДЕМЧУК

---

Адреса редакції, видавця і виготовлювача:  
Львівський національний університет  
імені Івана Франка.  
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна  
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої  
справи до Державного реєстру видавців,  
виготівників і розповсюджувачів видавничої  
продукції. Серія ДК №3059 від 13.12.2007 р.

Формат 70x100/16.  
Ум. друк. арк. 18,4.  
Тираж 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет  
імені Івана Франка, 2013

УДК: 576.5+547+645.2+616-006.6

**МЕХАНІЗМИ ПОСИЛЕННЯ АНТИНЕОПЛАСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ  
РУТЕНІЙ-ВМІСНОГО ПРЕПАРАТУ ШЛЯХОМ ІММОБІЛІЗАЦІЇ  
НА ПОЛІМЕРНОМУ НОСІЇ**

**Ю. Сеньків<sup>1,2</sup>, А. Рябцева<sup>3</sup>, Н. Бойко<sup>1</sup>, Н. Мітіна<sup>3</sup>,  
О. Заїченко<sup>3</sup>, Р. Стойка<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Інститут біології клітини НАН України  
вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>3</sup>Національний університет «Львівська Політехніка»  
пл. Св. Юра, 2, Львів 79013, Україна  
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

Ефективність лікування злоякісних новоутворень за допомогою недавно створеного рутеній (Ru<sup>2+</sup>)-вмісного протипухлинного препарату суттєво знижується через його зв'язування білками сироватки крові в організмі. Розроблено метод захисту цього препарату від зв'язування цими білками шляхом інкапсуляції новим полімером полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ. Окрім того, така інкапсуляція протипухлинного препарату дає змогу суттєво прискорити його поглинання і накопичення клітинами-мішенями, а також у 2–22 рази (залежно від лінії клітин) збільшити ефективність його токсичної дії щодо пухлинних клітин людини.

*Ключові слова:* клітини пухлин людини, Ru<sup>2+</sup>-вмісний протипухлинний препарат, інкапсуляція, полімер полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ, ефективність антинеопластичної дії.

Протягом останніх десяти років було розроблено кілька рутеній (Ru<sup>2+</sup>)-вмісних сполук, що мають високу протипухлинну активність. Серед таких рутенієвих комплексів – КР1019 (індазолій транс-(тетрахлорбіс(1Н-індазол(III))) і його аналог КР1339, які були синтезовані під керівництвом Кеплера [3, 8, 9]. Вони належать до найбільш перспективних препаратів у лікуванні раку. У доклінічних випробовуваннях показано, що препарати КР1019 і КР1339 ефективно пригнічують ріст колоректальних сарком людини. Дані речовини проявляли помірну цитотоксичну активність за умов *in vitro* й антинеопластичний ефект у щурів-пухлиноносіїв. Разом з тим, КР1019 не проявляв загальної токсичності у здорових щурів. Лікування даним препаратом не лише сповільнювало ріст, але й забезпечувало часткову ремісію колоректальних сарком.

Встановлено, що ці рутенієві сполуки проникають у клітини, взаємодіючи з трансферином [16, 7, 13], а також індукують апоптоз за участю мітохондрій [15, 14]. Показано, що КР1019 зв'язується білками сироватки крові у безклітинних експериментах, зокрема альбуміном [17] і апотрансферином [16].

Запропоновано два можливих механізми для пояснення пухлиноспецифічної дії рутенієвих сполук, зокрема КР1019:

1. завдяки здатності рутенію імітувати атом заліза, КР1019 може зв'язуватися рецепторами трансферину і проникати у клітини шляхом трансферин-залежного

ендоцитозу; оскільки пухлинні клітини потребують більше заліза порівняно з нормальними клітинами, КР1019 більшою мірою накопичується у пухлинних клітинах;

2. КР1019 може активуватися зі зменшенням його кількості у середовищі пухлинних тканин, що призводить до пухлинної селективності його цитотоксичної дії [17, 5].

Відомо, що зв'язування КР1019 протеїнами плазми крові гальмує Pgp-опосередковане видалення цього препарату з клітин-мішеней. Разом із тим, цитотоксичний ефект КР1019 суттєво не змінюється за умов надекспресії білків MDR1, BCRP, LRP [12]. На даний час КР1019 успішно пройшов першу фазу клінічного випробування [10].

Виходячи зі сказаного, доцільним є пошук шляхів захисту КР1019 та інших (Ru<sup>2+</sup>)-вмісних препаратів від зв'язування білками сироватки крові, що дало би змогу суттєво знизити діючу концентрацію цих препаратів і, тим самим, зменшити загальнотоксичний ефект в організмі. Разом з тим, інкапсуляція цих препаратів у молекули спеціальних носіїв для покращення їхньої доставки у клітини-мішені могла б сприяти підвищенню ефективності антинеопластичної дії завдяки запобіганню впливу транспортних мембранних систем, які забезпечують множинну резистентність злоякісних клітин до лікарських препаратів.

### Матеріали та методи

#### Коротка характеристика полімера полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ

Синтез полімера, використаного в роботі для інкапсуляції препарату КР1019, здійснено під керівництвом к.х.н. О. С. Заїченка на кафедрі органічної хімії національного університету «Львівська Політехніка». Його будова представлена на рис. 1, А. Співвідношення кількості препарату і носія в комплексі становило 1:30 і було визначено шляхом УФ-спектроскопії систем доставки КР1019 (рис. 1). Концентрація КР1019 у системі становила  $3,3 \cdot 10^{-4}$  г/мл, а концентрація полімерного носія тут становила  $9,9 \cdot 10^{-3}$  г/мл.

Розмір частинок утвореного комплексу синтезованого полімеру з КР1019 становить 8 нм. Дзета  $\zeta$ -потенціал цього комплексу дорівнює -1,2 мВ, а  $\zeta$ -потенціал КР1019 у ДМСО – +5,99 мВ.

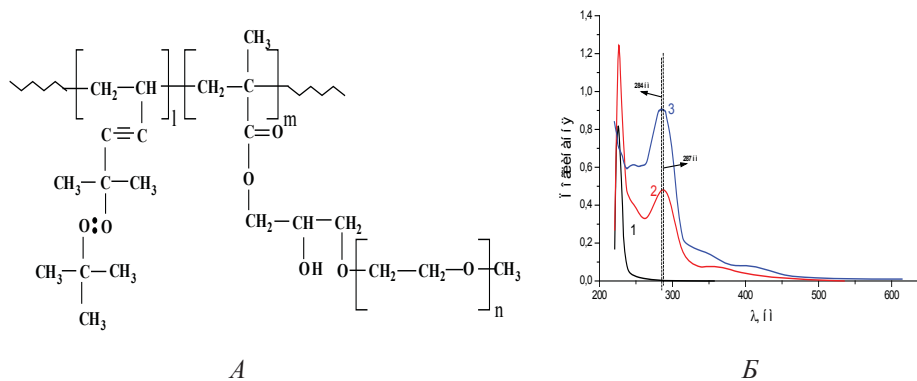


Рис. 1. (А) Полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ, (Б) УФ-спектри розчинів полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (1), кон'югату КР1019 та полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (2) у воді та КР-1019 у диметилсульфоксиді (ДМСО) (3).

#### Культивування клітин

Клітини лінії НСТ116 (сублінії р53<sup>-/-</sup> і р53<sup>+/+</sup>) колоректальної карциноми людини було отримано від доктора Берта Фогельштайна (Університет Джона Хоркінса, Балтімор, США). Клітини вирощували у стандартному культуральному середовищі DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, «Sigma-Aldrich») із додаванням 10% ембріональної сироватки

крові ВРХ («Sigma-Aldrich»), 2 мМ глутаміну і 25 мкг/мл гентаміцину в термостаті із 100%-ною вологістю, 5% CO<sub>2</sub> і 95% повітря за +37°C. Культуральне середовище оновлювали кожні 2–3 дні. Перед пасажуванням клітини промивали фосфатно-сольовим буфером, ФСБ (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 4,3 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,4 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, рН 7,4). Клітини усували з дна чашок за допомогою розчину трипсин/ЕДТА (трипсин/етилендіамінтетраацетат): 137 мМ NaCl, 5,4 мМ KCl, 0,03 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 4,5 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 0,53 мМ ЕДТА, 0,25% трипсин, рН 7,4. Пересів клітин здійснювали у співвідношенні 1:3 кожні 3–4 дні. Клітини були вільними від забруднення бактеріями роду *Mycoplasma*, що встановлено за допомогою наборів «Mycoplasma Detection Kit MycoAlert» фірми «Cambrex Bio Science» (Великобританія) і «PCR Mycoplasma Kit» фірми «Applichem» (Німеччина). Походження клітинних ліній було підтверджене за допомогою аналізу мікросателітної ДНК, як описано [1].

#### **Визначення функціональної активності клітин тестом із МТТ**

Для оцінки впливу різноманітних чинників на проліферацію клітини висівали у 96-лункові планшети (50 000 клітин на лунку) та інкубували у повноцінному культуральному середовищі впродовж 12 год, щоб дати можливість клітинам прикріпитися до поверхні лунок. Опісля клітини промивали ФСБ, змінювали середовище на дослідне й інкубували впродовж 1, 3, 6 і 72 год. За 5 год перед завершенням інкубації до середовища додавали МТТ (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-диметилбромід тетразолію, Sigma-Aldrich, США) у кінцевій концентрації 500 мкг/мл. Після завершення інкубації середовище усували, а в лунки додавали диметилсульфоксид для розчинення фіолетових кристалів формазану, що утворилися внаслідок відновлення реагента МТТ редуктазами, наявними у живих клітинах. Концентрацію формазану в лунках визначали мікрофотометром (Microplate Reader, BioTek, США) за оптичним поглинанням при довжині хвилі 490 нм. Кількість живих клітин (у відсотках) визначали за співвідношенням оптичних густин, виміряних у лунках, у яких клітини інкубували із дослідним і контрольним середовищами.

#### **Вестерн-блот аналіз клітинних білків**

Клітини висівали у 6-лункові пластикові планшети (2\*10<sup>5</sup> клітин/лунку) і залишали на ніч у CO<sub>2</sub>-інкубаторі, для прикріплення клітин до дна лунок планшети. Потім до клітин додавали вільний доксорубіцин, доксорубіцин, іммобілізований на носії, і чистий носій у вказаних концентраціях. Інкубація з досліджуваними препаратами тривала 24 год. Вестерн-блот аналіз білків клітин проводили за описаною методикою (гель-електрофорез білків і перенос їх на PDVF мембрану) [2]. Для цього антитіла досліджуваних білків розводили 2% бичачим сироватковим альбуміном (БСА) у фосфатно-сольовому буфері (ФСБ, рН 7,4) із 0,05% Tween-20 у співвідношенні, вказаному у табл. 1. Після інкубації мембрану промивали тричі по 10 хв у ФСБ із 0,05% Tween-20. Після цього мембрану інкубували з міченими пероксидазою антитілами до кролячого імуноглобуліну (Amersham Pharmacia Biotech, США). Вторинні антитіла розводили блокувальним розчином у співвідношенні 1:5000. Інкубацію мембрану проводили протягом 1 год при 4°C із погойдуванням платформи. Після інкубації мембрану промивали (тричі по 5 хв) ФСБ із 0,05% Tween-20. Рівномірність нанесення білкових проб було підтверджено результатами інкубації мембрану з антитілами до β-актину (вміст цього білка «домашнього господарства» вважається подібним у всіх типах клітин).

Ділянки зв'язування антитіл, мічених пероксидазою хрому, із досліджуваними клітинними білками виявляли за допомогою хемілюмінесценції. Рентгенівську плівку поміщали у стандартний фенідон-гідрохіноновий проявник, після чого її обробляли кислим фіксажем. Зони імунореактивності виявлялися як темні смуги на рентгенівській

плівці. Нормалізацію кількості нанесеного для електрофорезу білка проводили після визначення вмісту  $\beta$ -актину в тих же зразках.

Таблиця 1

## Первинні антитіла, використані у роботі

Білковий антиген	Розведення антитіл	Фірма-виробник антитіл
P53	1:1000	Cell Signalling
$\beta$ -актин (AC-15)	1:5000	«Sigma-Aldrich»
P38	1:1000	Cell Signalling
Фосфорильований білок P38	1:1000	Cell Signalling
Фосфорильований білок JNK	1:1000	Cell Signalling

**Визначення накопичення KP1019 за кількістю рутенію, поглинутого клітинами-мішенями**

Клітини висівали у 24-лункові планшети ( $1 \cdot 10^5$  клітин/лунку) і залишали через ніч у  $\text{CO}_2$ -інкубаторі. Після цього до клітин додавали вільний або кон'югований із носієм KP1019. Тривалість інкубації становила 3 год. Клітини промивали тричі та лізували. Лізати переносили у 50 мл пластикову пробірку типу Фелкон і додавали послідовно 2 мл 20%  $\text{HNO}_3$ , 1 мл  $\text{H}_2\text{O}$  і 200 мкл  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Вміст у клітинах рутенію визначали ICP-MS (ELAN DRC-II, PerkinElmer Sciex, Woodbridge, ON, Канада). Використаний як реакційний газ кисень (чистота 4,5, Linde Gas, Відень, Австрія) [4]. Експериментальні дані представлені як кількість нанограм (нг) рутенію в  $10^5$  клітин.

**Статистичний аналіз експериментальних даних**

Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного варіанта експериментальних і контрольних умов. Дані представлені у вигляді  $M \pm m$ , де  $M$  – середнє значення, а  $m$  – середня похибка, розрахована за результатами трьох вимірювань в одному із трьох однотипових експериментів. Порівняння двох мінливих величин здійснювали на підставі показника статистичної достовірності відмінностей « $p$ », який обраховували за критерієм Стюдента, останній визначали за допомогою « $t$ »-тесту для двох вибірок даних із різними дисперсіями « $\sigma^2$ ». Відмінність між двома величинами вважали достовірною, коли величина « $p$ » була меншою за 0,05.

**Результати і їхнє обговорення**

Рутеній-вмісний препарат KP1019 продемонстрував високу протипухлинну активність у клінічних дослідженнях [8, 15], проте ця активність суттєво знижується через його зв'язування білками сироватки крові [16, 7, 13]. Для подолання цієї проблеми ми іммобілізували KP1019 на полімерному носії ВЕП-ГМА-ПЕГ (далі Пн-ПЕГ-KP1019).

Протипухлинну активність Пн-ПЕГ-KP1019 досліджували з використанням 11-ти ліній пухлинних клітин людини і порівнювали з дією вільного KP1019 через 72 год після початку інкубації клітин із препаратами. Результати проведеного дослідження представлені у табл. 2. Встановлено, що іммобілізація KP1019 на носії ВЕП-ГМА-ПЕГ сприяє зростанню активності цього протипухлинного препарату у 2–22 рази залежно від клітинної лінії, яку використовували в експерименті. Клітини лінії НСТ116 та її сублінії НСТ116 р53-/- виявилися найбільш чутливими до дії KP1019 у комплексі з носієм.

Іммобілізація KP1019 на полімерному носії сприяла суттєвому зростанню ефективності дії цього препарату на клітини раку товстої кишки (НСТ116, НСТ116 р53-/- (рис. 2), Lovo, Lovo / Dox (табл. 2)) і клітини епідермальні карциноми (КВ-3-1, КВС-1).

Як видно з табл. 2, резистентні (з надекспресією Р-глікопротеїну) лінії легеневої карциноми SW1573/2R120 і SW1573/2R160 є у 10 разів чутливішими до дії комплексу KP1019 з носієм, аніж до дії вільного KP1019.

Таблиця 2

Оцінка цитотоксичного ефекту ( $IC_{50}$ ) КР1019, іммобілізованого на носії полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (Пн-ПЕГ-КР1019), порівняно з дією вільного КР1019 у клітинах різних пухлинних ліній людини

Клітинна лінія	Пн-ПЕГ-КР1019		КР1019		Кратність зростання інгібування	Характеристика Лінії
	$IC_{50}$ , нМ	$\pm m$ , нМ	$IC_{50}$ , нМ	$\pm m$ , нМ		
HCT116	18.9	0.9	73.9	1.0	3.9	-
HCT116 p53-/-	13.7	0.6	63.2	0.3	4.6	Делеція гена p53
KB-3-1	55.0	0.2	121.5	5.9	2.2	-
KBC-1	61.1	1.3	140.3	0.5	2.3	Надекспресія Р-глікопротеїну
SW1573	28.9	0.2	45.7	0.7	1.6	-
SW1573/2R120	43.1	0.7	813.8	3.5	18.9	MRP1
SW1573/2R160	34.0	0.2	770.5	2.7	22.7	Надекспресія Р-глікопротеїну; MRP1
MCF-7	13.3	0.2	105.0	0.8	7.9	-
MCF-7/ADR	13.2	0.5	172.2	0.6	13.0	Надекспресія Р-глікопротеїну
LoVo	10.5	0.3	51.2	0.4	4.9	-
LoVo/Dox	11.9	1.0	62.1	1.2	5.2	Надекспресія Р-глікопротеїну

Залежність показника цитотоксичності Пн-ПЕГ-КР1019 від тривалості його дії має подібний до КР1019 характер. Вже на 1 год дії на клітини HCT116 КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 було зафіксовано значну цитотоксичну активність:  $IC_{50}$  для КР1019 - 135 мкМ і для Пн-ПЕГ-КР1019 41 мкМ. Через 3 год інкубації з цими препаратами досягається близько 80% їхньої цитотоксичної активності ( $IC_{50}$  для КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 становили 91,0 і 27,3 мкМ, відповідно).  $IC_{50}$  для дії цих чинників протягом 72 год становили 73,25 і 18,3 мкМ, відповідно (рис. 3).

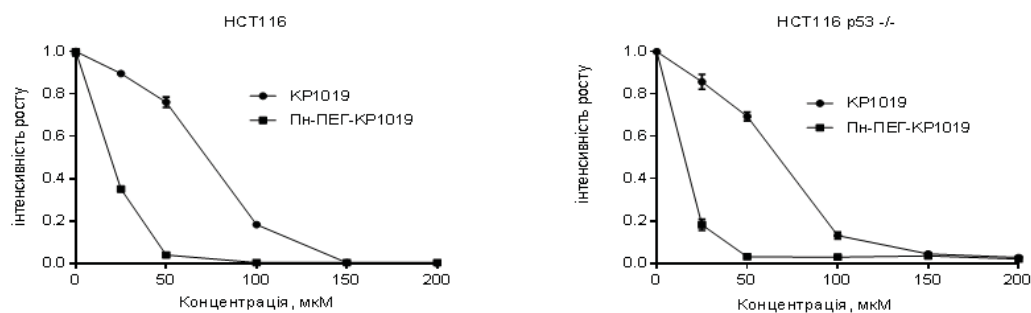


Рис. 2. Цитотоксична дія КР1019, іммобілізованого на полімерному носії ВЕР-ГМА-ПЕГ, і вільного КР1019 на клітини раку товстої кишки HCT116 і її сублінії HCT116 p53-/- із делетованим по обох алелях геном p53.

Отже, іммобілізація протипухлинного препарату КР1019 на носії ВЕР-ГМА-ПЕГ забезпечує більш ранню токсичну дію цього препарату на злоякісні клітини людини.

Щоб з'ясувати можливі механізми вищої антинеопластичної дії Пн-ПЕГ-КР1019 порівняно з такою дією КР1019, визначали: 1) рівень поглинання  $Ru^{2+}$  клітинами-мішенями; 2) рівень зв'язування КР1019 білками сироватки крові. Внутрішньоклітинний вміст рутенію визначали за допомогою методу ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry) (рис. 4) як кількість нанограмів рутенію, поглинутого  $10^5$  клітин протягом 3 год.



Показано, що клітини лінії НСТ116, інкубовані з Пн-ПЕГ-КР1019, поглинали приблизно у 5 разів більше рутенію, ніж клітини, інкубовані з вільним КР1019 у такій самій концентрації цього препарату.

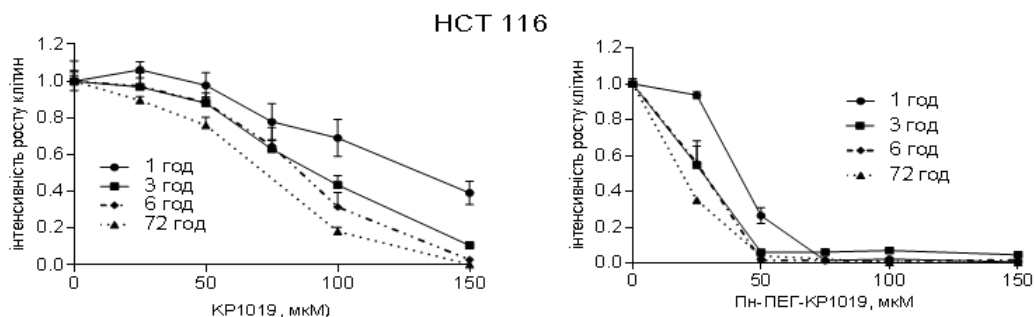


Рис. 3. Характеристика цитотоксичної активності вільного КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 щодо клітин лінії НСТ116 за дії на них цими препаратами протягом 1, 3, 6 і 72 год (показник відносно початкової кількості клітин). За 1 взято показник росту клітин у контролі.

Відомо, що протипухлинний препарат КР1019 інтенсивно зв'язується білками сироватки крові, а це негативно впливає на його антинеопластичний потенціал [9]. Тому ми перевірили, чи може використаний нами полімерний носій захищати КР1019 від такого зв'язування, а отже, й підвищувати таким шляхом ефективність цитотоксичної дії КР1019.

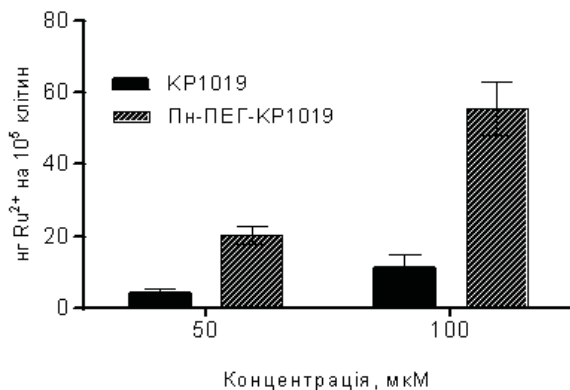


Рис. 4. Накопичення рутенію ( $Ru^{2+}$ ) клітинами НСТ116 при дії на них вільного КР1019 порівняно з дією Пн-ПЕГ-КР1019.

Для цього ми проінкубували вільну й іммобілізовану форму КР1019 із бичачим сироватковим альбуміном (БСА). Як видно з рис. 5, вільний КР1019 змінює свій колір за присутності БСА, тоді як розчин іммобілізованого КР1019 залишається прозорим.

Цей феномен також може бути одним із механізмів вищої антинеопластичної активності КР1019, іммобілізованого на носії, порівняно з активністю вільної форми цього протипухлинного препарату.

Для підтвердження цього висновку ми провели додаткове дослідження рівня цитотоксичної дії КР1019 у вільному й іммобілізованому стані за різної концентрації сироватки крові у культуральному середовищі. Як видно з результатів, наведених на рис. 6, зростання концентрації сироватки крові у культуральному середовищі за дії КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 на клітини лінії НСТ116 супроводжується зростанням показника  $IC_{50}$ , що свідчить про зниження ефективності цитотоксичної дії цих препаратів.

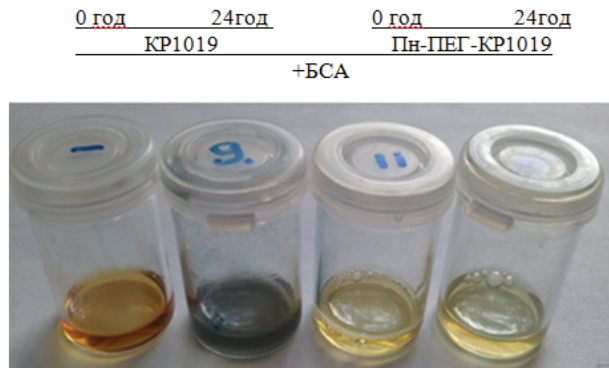


Рис. 5. Зв'язування KP1019 у вільному й іммобілізованому з полімерним носієм стані з бичачим сироватковим альбуміном (БСА).

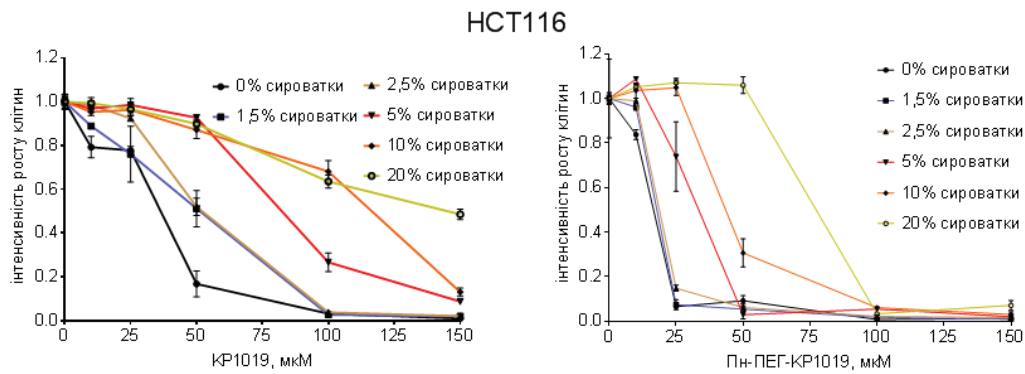


Рис. 6. Залежність цитотоксичної дії вільного KP1019 і комплексу Пн-ПЕГ-KP1019 від концентрації сироватки крові у культуральному середовищі (1,0 - показник росту клітин у контролі).

Необхідно підкреслити, що це зростання показника  $IC_{50}$  є значно менш вираженим за дії іммобілізованого KP1019, ніж за дії вільної форми цього препарату (рис. 6, 7).

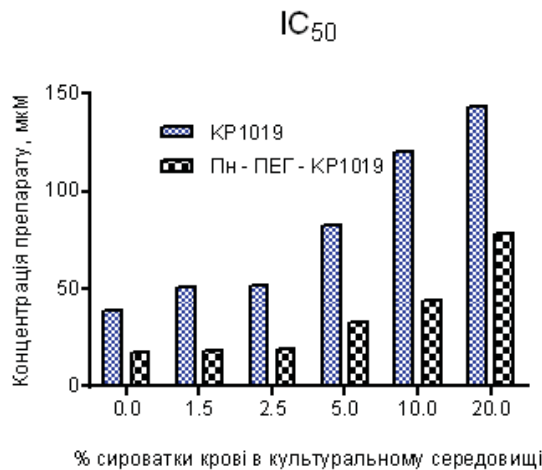


Рис. 7. Показник  $IC_{50}$  (клітини лінії НСТ116) за дії KP1019 і Пн-ПЕГ-KP1019 і присутності в інкубаційному середовищі різної кількості сироватки крові.

Відомо, що КР1019, як і інші металовмісні препарати, наприклад, цисплатин, викликає окисдаційний стрес і пошкодження ДНК у клітинах-мішенях [2, 11]. На рис. 8 видно, що Пн-ПЕГ-КР1019 індукує частіші подвійні розриви ДНК, аніж КР1019, застосований у вільній формі. Також під дією Пн-ПЕГ-КР1019 помітно стимулюється експресія різних маркерів стрес-реакцій (P53, фосфорилування білків P38 і JNK) (рис. 8).

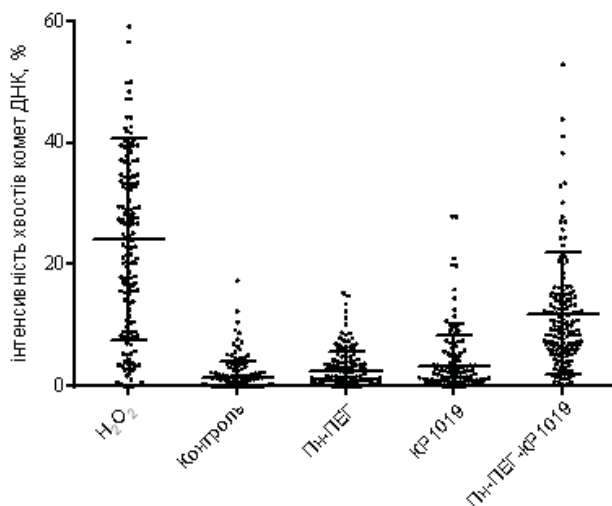


Рис. 8. Комети ДНК, спричинені дією вільного КР1019, носія Пн-ПЕГ і комплексу Пн-ПЕГ-КР1019 у клітинах лінії НСТ116.

Імобілізація рутеній-вмісного протипухлинного препарату КР1019 на полімерному носії:

1. суттєво пришвидшує поглинання цього препарату клітинами-мішенями;
2. захищає даний препарат від його зв'язування білками сироватки крові;
3. суттєво підсилює цитотоксичну дію КР1019 на пухлинні клітини людини, в т.ч. клітини, резистентні до дії відомих протипухлинних препаратів (наприклад, доксорубіцину);
4. сприяє більш вираженому пошкодженню ядерної ДНК клітин-мішеней.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

5. Anderson D. G., Levenberg S., Langer R. Nanoliter-scale synthesis of arrayed biomaterials and application to human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2004. Vol. 22. P. 863–866.
6. Bartek J., Lukas C., Lucas J. Cheking on DNA damage in S-fase // *Nat Rev. Mol. Cell Biol.* 2004. Vol. 5. N 10. P. 792–804.
7. Berger M. R., Garzon F. T., Keppler B. K. et al. Efficacy of new ruthenium complexes against chemically induced autochthonous colorectal carcinoma in rats // *Anticancer Res.* 1987. Vol. 9. N 3. P. 761–765.
8. Bharali D. J., Khalil M., Gurbuz M. et al. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers // *Int J. Nanomedicine.* 2009. Vol. 4. P. 1–7.
9. Clark M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals // *Ordination Chem. Rew.* 2002. Vol. 236. N 1–2. P. 209–233.
10. Fraska D., Ciampa J., Emerson J. et al. Effects of hipoxia and transferring on toxicity and DANN binding of ruthenium antitumor agents in Hela cells // *Med. Based Drugs.* 1996. Vol. 3. N 4. P. 197–209.

11. Fraska D. R., Gechrig L. E., Clarke M. J. Cellular effects of transferring coordinated two // J. Inorg Biochem. 2001. Vol. 83. N 2–3. P. 139–149.
12. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer // Cell. 2000. Vol. 100. N 1. P. 57–70.
13. Hardman J. G., Limbert L. E. The pharmacological basis of therapeutics. 10ed. G. Gilman. 2001.
14. Hartinger C. G., Ciampa J., Emerson J. et al. KP1019, a new redox-active anticancer agent – preclinical development and results of preclinical fase I in tumor patients // Chem. Biodrivers. 2008. Vol. 5. N 10. P. 2140–2155.
15. Heffeter P., Jakupec M. A., Korner W. et al. Anticancer activity of the lanthanum compound [tris(1,10-phenanthroline)lanthanum(III)] trithiocyanate (KP772; FFC24) // Biochem. Pharmacol. 2006. Vol. 71. N 4. P. 426–440.
16. Heffeter P., Pongratz M., Steiner E. et al. Intrinsic and acquired forms of resistance against the anticancer ruthenium compound KP1019 [indasolium trans-[tetrachlorobis(1h-indasole) ruthenate III](FFC14A) // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005. Vol. 312. N 1. P. 281–289.
17. Jakupec M. A., Reisner E., Keppler B. K. et al. Redox-active antineoplastic ruthenium complex with indasole: corilation of in vitro potency and reduction potention // J. Med. Chem. 2005. Vol. 48. N 8. P. 2831–2837.
18. Kapitza S., Pongratz M., Marian B. et al. Heterocycled complexes of ruthenium (III) induce apoptosis in colorectal carcinoma cells // J. Cancer Res. Clin Oncol. 2005. Vol. 131. N 2. P. 101–110.
19. Kapitza S., Jakupec M. A., Uhl M. et al. The heterocycled ruthenium (III) complex KP1019 (FFC14A) causes DNA damage and oxidative stress in colorectal tumor cells // Cancer Lett. 2005. Vol. 226. N 2. P. 115–121.
20. Kratz F., Hartmann M., Keppler B. et al. The binding properties of two antitumor Ruthenium (III) complexes to apotransferring // G. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. N 4. P. 2581–2588.
21. Messori L., Vilchez F. G., Keppler B. et al. Binding of antitumor ruthenium (III) complexes to plasma proteins // Med. Based Drugs. 2000. Vol. 7. N 6. P. 335–342.

Стаття: надійшла до редакції 14.01.13

доопрацьована 18.02.13

прийнята до друку 28.02.13

#### MECHANISMS OF ENHANCEMENT OF ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF RU<sup>2+</sup>-CONTAINING DRUG BY IMMOBILIZATION ON POLYMER CARRIER

Yu. Senkiv<sup>1,2</sup>, A. Ryabtseva<sup>3</sup>, N. Boiko<sup>1</sup>, N. Mitina<sup>3</sup>,  
O. Zaichenko<sup>3</sup>, R. Stoika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine  
14/16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>3</sup>National University "Lviv Polytechnic"  
2, St. George Sq., Lviv 79013, Ukraine

e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

The effectiveness of treatment of malignant tumors by the recently created (Ru<sup>2+</sup>)-containing anticancer drug is significantly reduced by its serum proteins binding in the hu-

man body. We have discovered a method of drug protecting from the binding with albumin and transferrin by encapsulating this drug in new polymer poly(VEP-GMA)-graft-PEG. Besides, this encapsulation of anticancer drug encourage more effective its accumulation and increase from 2 to 22 times its efficiency of actions (depending on the cell line) in malignant human cells.

*Keywords:* cancer cells, (Ru<sup>2+</sup>)-containing anticancer drug, encapsulation, polymer poly(VEP-GMA)-graft-PEG, efficiency of antineoplastic action.

## МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РУТЕНИЙ-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА ИММОБИЛИЗАЦИЕЙ НА ПОЛИМЕРНОМ НОСИТЕЛЕ

Сеньків Ю.<sup>1,2</sup>, Рябцева А.<sup>3</sup>, Бойко Н.<sup>1</sup>, Митина Н.<sup>3</sup>,  
Заиченко О.<sup>3</sup>, Стойка Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии клетки НАН Украины  
ул. Драгоманова, 14/16, Львов 79005, Украина

<sup>2</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

<sup>3</sup>Национальный университет «Львовская Политехника»  
пл. Св. Юра, 2, Львов 79013, Украина  
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

Эффективность лечения злокачественных новообразований с помощью недавно созданного рутений (Ru<sup>2+</sup>)-содержащего противоопухолевого препарата существенно снижается с помощью его связывания белками плазмы крови в организме онкобольных. Разработан метод защиты этого препарата от связывания альбумином и трансферрином путем инкапсуляции новым полимером поли(ПЭП-ГМА)-графт-ПЭГ. Кроме того, такая инкапсуляция противоопухолевого препарата позволяет существенно ускорить его поглощения и накопления клетками-мишенями, а также в 2–22 раза (в зависимости от линии клеток) увеличить эффективность его антинеопластического действия на опухолевые клетки человека.

*Ключевые слова:* клетки опухолей, (Ru<sup>2+</sup>)-содержащий противоопухолевый препарат, инкапсуляция, полимер поли(ПЭП-ГМА)-графт-ПЭГ, эффективность антинеопластического действия.

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЯЦІЇ СОЇ КУЛЬТУРНОЇ (*GLYCINE MAX*)  
МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM***

**В. Заболотна**

*Кременецький обласний гуманітарно-педагогічний інститут імені Тараса  
Шевченка*

*вул. Лицейна, 1, Кременець, Тернопільська обл. 47003, Україна*

*e-mail: virazabolotna@yandex.ua*

В умовах польового дослідження вивчали динаміку утворення кореневих бульбочок і наростання їх маси, ростові процеси, насінневу продуктивність і урожайність сої культурної, інокульованої Tn5-мутантами бактерій виду *Bradyrhizobium japonicum*. Встановлено, що передпосівна обробка насіння цими транспозонними мутантами стимулює формування симбіотичного апарату, ріст і розвиток рослин. Найефективнішою виявилася бактеризація Tn5-мутантом Д1, яка проявилася у підвищенні урожайності насіння рослин цього варіанта на 44,87% порівняно з контролем і на 25,68% порівняно з виробничим штамом 634б.

*Ключові слова:* *Glycine max* (L.) Merr., інокуляція, бульбочкові бактерії, штам, симбіотичний апарат, урожайність.

Сьогодні перед сільським господарством стоїть нелегке завдання – збільшити постачання населенню білка рослинного походження, незважаючи на труднощі енергетичного, економічного й екологічного характеру. Великий потенціал у цьому плані має соя, насіння якої містить 38–42% білка, 18–23% жиру, 25–30% вуглеводів, а також ферменти, вітаміни, мінеральні речовини [1, 14]. Більше того, соєвий білок оптимально збалансований за амінокислотним складом, легко засвоюється, за біологічною цінністю наближається до білків м'яса, молока, яєць і значно дешевший за білок, отриманий з інших продуктів [7].

Значення сої як високобілкової культури різко зростає за умов енергетичної кризи та ресурсного дефіциту, оскільки вона може формувати високі урожаї і без застосування мінеральних добрив, зокрема азотних, за рахунок біологічної фіксації молекулярного азоту атмосфери. Проте висока продуктивність цієї культури залежить від її симбіозу з бульбочковими бактеріями, що визначається активністю та конкурентоспроможністю штаму в конкретних ґрунтово-кліматичних умовах, його комплементарністю до певного сорту, а також генетичними особливостями макросимбіонта [3, 5, 8, 16, 18, 22]. Тому створення вискоєфективних азотфіксувальних систем соя – *Bradyrhizobium japonicum* має велике теоретичне значення і практичну цінність.

Досліди, проведені науковцями зі соєю, показали, що відомим до цього часу специфічним для даної рослини штамом бактерій у різних ґрунтово-кліматичних умовах приростання різна ефективність. Щодо новостворених штамів *B. japonicum*, то зазвичай вони не забезпечують суттєвих переваг над існуючими виробничими і не завжди зберігають свої властивості в тих чи інших ґрунтово-кліматичних умовах [17], оскільки бульбочкові бактерії дуже чутливі до кислотності ґрунтового розчину, аерації, вологозабезпеченості тощо.

Широкі перспективи для отримання вискоєфективних штамів бульбочкових бактерій відкрили дослідження з використанням методів генетичної інженерії, зокрема, методу транспозонного мутагенезу. Однак отримані цим методом мутанти можуть мати різні симбіотичні ха-

рактеристики (здатність до азотфіксації, вірулентність, ефективність симбіозу, конкурентоздатність тощо) [3, 4]. Тому тестування на ефективність нових Tn5-мутантів є обов'язковою умовою перед використанням їх як основи для виготовлення бактерійних препаратів.

#### Матеріали та методи

Перевірка ефективності інокуляції сої новими Tn5-мутантами *B. japonicum* здійснювалася в умовах польового досліджу на дослідних ділянках Кременецького ботанічного саду. Ґрунт ділянок – сірий лісовий.

Об'єктами дослідження були транспозонні мутанти бактерій виду *B. japonicum* В-75, В-171, Д1 та Д33 (люб'язно надані нам відділом симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України) та соя культурна (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Мар'яна (насіння сої отримали із Селекційно-генетичного інституту). Штами 6346 та 646 надійшли з музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

Сорт Мар'яна спільної селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, Селекційно-генетичного інституту й Інституту землеробства УААН належить до середньостиглих сортів. Висота рослин 80–90 см і вище. Середня кількість бобів на одній рослині – 30–50. Сорт високопродуктивний (на родючих ґрунтах урожайність може досягати 30,6–30,9 ц/га). Має високу азотфіксувальну спроможність [11]. Рекомендований для вирощування у всіх зонах України.

Tn5-мутанти *B. japonicum* В-75, В-171, Д1 та Д33 отримані за методом Новикової зі співавт. [13], пристосованим для повільнорослих бульбочкових бактерій сої, з використанням плазмиди pSUP2021 [21]. Для здійснення Tn5-мутагенезу як вихідного використали штам 646.

На дослідних ділянках сою висівали широкорядним способом із шириною міжрядь 45 см; глибина загортання насіння – 4–5 см. Норма висіву – 80 кг/га. Агротехніка вирощування загальноприйнята для регіону. Повторність дослідів – 4-кратна, площа облікових ділянок 5 м<sup>2</sup>. Розміщення дослідних ділянок рендомізоване.

Перед посівом насіння упродовж 10 хв стерилізували 70%-вим етанолом [2], промивали водою й інокулювали суспензіями бульбочкових бактерій. Культури повільнорослих ризобій вирощували на манітно-дріжджовому агарі (МДА) [19] у пробірках при температурі 28°C упродовж 8 діб. Для приготування бактерійної суспензії біомасу клітин змивали з МДА стерильною водою, переносили в рідке манітно-дріжджове середовище та вирощували при постійній аерації і 28°C 4–5 діб до концентрації бактерій  $1 \times 10^8$  клітин в 1 мл суспензії.

Аналізи виконували у різні фази росту і розвитку рослин. Біометричні показники (висоту рослин, кількість і масу бульбочок на кореневій системі) визначали за загальноприйнятими методиками. Для встановлення кількості й маси ризобіальних утворень відбирали моноліти ґрунту 25×25×30 см. Після відмивання коренів із кожної повторності залишали по 5 рослин, відокремлювали від коренів бульбочки, підраховували їх середню кількість на одну рослину, підсушували та зважували. При дозріванні сої визначили насінневу продуктивність і урожайність культури.

Статистичне опрацювання експериментальних даних здійснювали за Доспеховим [6] із використанням пакету програми Excel.

#### Результати і їхнє обговорення

Формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу – це результат складної взаємодії між рослиною та ризобіями. У наших дослідженнях було проаналізовано взаємо-

дію сої культурної сорту Мар'яна з чотирма транспозонними мутантами (В-75, В-171, Д1 та Д33) в умовах Кременецького горбогір'я. Оскільки згадані мутанти раніше не вивчалися, нас цікавило, як вони будуть ініціювати утворення корневих бульбочок, впливати на ростові процеси рослин і урожайність насіння, наскільки кожен із них є комплементарним для даного сорту сої.

Здатність проникати в корені рослини-господаря та викликати утворення бульбочок є однією з важливих симбіотичних характеристик бульбочкових бактерій. Згідно з літературними даними [12], протягом 12–18 днів від початку інфікування клітини бактерій інтенсивно діляться, і лише після цього на поверхні кореня з'являється ризобіальний нарост. Перші видимі бульбочки у більшості бобових культур, у тому числі й сої, виникають при появі перших справжніх листків. У наших дослідах уперше бульбочки на коренях сої, насіння якої перед посівом інокулювали, було виявлено у фазі появи другого справжнього листка (табл. 1). Підрахунок кількості ризобіальних утворень у цій фазі показав, що більше їх сформували рослини, інокульовані Tn5-мутантами *B. japonicum* В-171 та Д33, у зв'язку з чим можна припустити, що в цей період рослини згаданих варіантів отримували дещо більше зв'язаного азоту порівняно з рослинами інших варіантів.

Таблиця 1

Вплив різних штамів *Bradyrhizobium japonicum* на динаміку бульбочкоутворення сої культурної, шт.

Штами бактерій	Фази розвитку			
	2-х справжніх листків	галуження	бутонізації – початку цвітіння	плодоношення
Контроль (без інокуляції)	0	0	0	0
6346 (виробничий)	2,7±0,08	5,7±0,32	10,3±0,65	19,6±0,50
646	3,1±0,04	6,0±0,67	15,3±0,61	20,0±1,27
В-75	3,0±0,02	6,0±0,50	10,7±0,92	22,3±1,72
В-171	3,4±0,08	9,3±0,23	17,0±1,12	23,7±0,42
Д1	3,1±0,07	8,7±0,45	15,0±0,48	25,3±0,98
Д33	3,7±0,08	10,7±0,65	16,3±0,26	26,3±0,49

Подальше вивчення динаміки бульбочкоутворення показало, що кількість цих ризобіальних наростів у досліджуваних рослин зростала протягом усього вегетаційного періоду, причому всі транспозонні мутанти сприяли кращому формуванню корневих бульбочок порівняно з виробничим штамом. Починаючи з фази 2-х справжніх листків і майже впродовж усієї вегетації (за винятком періоду бутонізації – початку цвітіння) найбільше бульбочок сформували рослини, інокульовані штамом Д33. Водночас відзначено зниження темпу їх формування у рослин, інокульованих бактеріями штаму 646 і Tn5-мутантом В-171, у період формування генеративних органів. Подібні результати формування корневих бульбочок і наростання їх маси протягом онтогенезу сої сорту Мар'яна, інокульованої транспозонними мутантами, отримали раніше інші дослідники [9]. Вони також звертали увагу на те, що відбір найкомплементарніших один одному макро- і мікросимбіонтів сприяє інтенсивнішому формуванню симбіотичного апарату й отриманню високих і якісних урожаїв даної культури.

Необхідно також зазначити, що на коренях рослин контрольного варіанта протягом вегетаційного періоду бульбочок спонтанного походження не виявлено. Це дозволяє зробити висновок, що у ґрунті, на якому проводилися дослідження, місцевих штамів бульбочкових бактерій немає. Даний факт узгоджується з результатами досліджень інших вчених [10], які стверджують, що у ґрунтах більшості досліджених полів, на яких сою висівали вперше (83%), ризобії сої відсутні.



При взаємодії бобової рослини з бульбочковими бактеріями може утворюватися як ефективний, так і неефективний симбіоз, який часто пов'язаний зі слабким розвитком корневих бульбочок [20]. Проведені нами дослідження показали, що бактеризація насіння сої усіма досліджуваними транспозонними мутантами *B. japonicum* сприяла утворенню бульбочок рожевого забарвлення, які розміщувалися переважно на головному корені рослин, що характеризує ефективний симбіоз.

Вагомим критерієм ефективності взаємодії рослини і бактерій є маса активних бульбочок на коренях бобових. Нами встановлено, що у фазі 2-х справжніх листків використання для інокуляції усіх досліджуваних транспозонних мутантів, за винятком В-75, призвело до зростання маси бульбочок на коренях сої порівняно з виробничим штамом 6346. В онтогенезі рослин усіх варіантів з передпосівною інокуляцією насіння маса бульбочок наростала. Особливо це було помітно у другій половині вегетаційного періоду (табл. 2). Так, якщо у фазі галушення на коренях сої накопичувалося в середньому від 45,5 до 85,7 мг біомаси бульбочок, то у фазі бутонізації – початку цвітіння цей показник збільшився у 2,9–5,4 разу залежно від варіанта досліду. Найбільшу масу ризобіальних наростів протягом усього вегетаційного періоду формували рослини, інокульовані Тп5-мутантом Д1. Разом із тим, відзначено слабке наростання маси бульбочок у варіанті з інокуляцією транспозанним мутантом В-75 порівняно з виробничим штамом (на 16,3, 13, 3 і 2,7% менше у фазі двох справжніх листків, бутонізації – початку цвітіння та плодоношення відповідно).

Нами також встановлено, що досліджувані Тп5-мутанти впливали на формування бульбочок специфічно. Зокрема, мутант Д33 характеризувався більшою нодуляційною активністю, а бульбочки, утворені ним, були дрібніші та мали меншу масу порівняно з мутантом Д1. Аналогічна закономірність зафіксована і при порівнянні Тп5-мутанта В-75 і виробничого штаму 6346 (див. табл. 1, 2). Подібні результати у дослідях із різними транспозонними мутантами отримували й інші вчені [8], і зумовлена така специфічність перш за все місцем розташування бульбочок на коренях рослин сої, а також їхніми розмірами.

Таблиця 2

Вплив різних штамів *Bradyrhizobium japonicum* на нагромадження маси корневих бульбочок сої культурної, мг

Штами бактерій	Фази розвитку			
	2-х справжніх листків	галушення	бутонізації – початку цвітіння	плодоношення
Контроль (без інокуляції)	0	0	0	0
6346 (виробничий)	12,3±0,73	45,5±0,92	245,3±12,33	249,2±10,25
646	13,1±0,44	60,4±1,83	181,5±10,25	236,3±4,82
В-75	10,3±0,20	72,7±2,50	215,0±10,92	242,5±10,70
В-171	13,4±0,81	69,5±4,23	249,3±11,12	266,9±7,22
Д1	16,4±0,75	85,7±2,45	284,3±6,48	287,3±2,98
Д33	13,7±0,28	84,1±3,65	240,3±8,26	266,5±4,29

Критерієм оцінки ефективності бобово-ризобіального симбіозу можуть також слугувати експериментальні дані щодо наростання надземної маси сої. Як показали результати наших досліджень (табл. 3), передпосівна інокуляція насіння сої всіма штамми і транспозонними мутантами стимулювала ростові процеси рослин порівняно з варіантом без інокуляції. На ранніх етапах онтогенезу (фаза 2-х справжніх листків) найкраще росли рослини у варіанті з інокуляцією насіння бактеріями вихідного штаму 646 (висота рослин у середньому становила 28,9 см). Дещо повільніший ріст зафіксовано у рослин, інокульованих Тп5-мутантом Д1 та виробничим штамом 6346 (висота рослин у цих варіантах

становила 27,77 та 27,53 см відповідно). Найменший ріст рослин у цій і наступних фазах розвитку спостерігався у варіанті без передпосівної інокуляції насіння, що можна пояснити дефіцитом азоту в рослинному організмі.

Починаючи з фази галушення і до кінця вегетації інтенсивний ріст рослин зафіксовано у варіантах з інокуляцією насіння транспозонними мутантами В-75, Д-1 та Д-33, а от рослини, інокульовані ризобіями виробничого штаму 634б і Тп5-мутанта В-171, а також неінокульовані рослини інтенсивно росли тільки до фази бутонізації – початку цвітіння, а надалі дещо сповільнили свій ріст. Встановлено також, що передпосівна інокуляція насіння мутантним штамом В-171 значно менше сприяла ростовим процесам сої, ніж інокуляція іншими транспозантами.

Таблиця 3

Вплив різних штамів *Bradyrhizobium japonicum* на динаміку  
ростових процесів сої культурної, см

Варіант	Фази розвитку			
	2-х справжніх листків	галушення	бутонізації – початку цвітіння	плодоношення
Контроль (без інокуляції)	22,53±1,08*	35,15±0,75	79,50±2,12	82,47±3,60
634б (виробничий)	27,53±0,13	43,33±0,04*	93,36±0,33*	99,13±1,90*
646	28,90±0,11*	46,80±0,34*	90,17±1,10*	104,60±0,08*
В-75	27,10±0,75*	48,60±0,04*	98,17±0,25*	110,33±2,63*
В-171	25,97±0,03*	45,37±0,42*	90,23±2,05*	96,17±1,12*
Д1	27,77±0,12*	46,77±0,09*	94,70±0,08*	105,87±0,83*
Д33	24,97±0,33*	44,90±0,54*	93,60±0,58*	103,63±1,05*

**Примітка.** \* — Різниця достовірна за  $P \leq 0,05$ .

У процесі дослідження насінневої продуктивності сої виявилось, що найбільша кількість плодів утворилася на рослинах, інокульованих транспозонним мутантом В-171, а найменша – на контрольних рослинах (табл. 4). Щодо кількості насінин у бобі, то в загальному можна зробити висновок, що через несприятливі погодні умови (тривале бездощів'я, висока температура повітря) у плодах рослин усіх варіантів сформувалася невелика кількість насінин, і суттєвої різниці за цим показником у рослин різних варіантів не зафіксовано. Найбільшу масу мало насіння сої, яка була інокульована бактеріями Тп5-мутанта В-75 та вихідного штаму 646, найменшу – у варіанті без передпосівної інокуляції.

Таблиця 4

Вплив різних штамів бульбочкових бактерій  
на насінневу продуктивність сої культурної

Варіант	Кількість бобів на рослині, шт.	Кількість насінин у бобі, шт.	Маса 1000 насінин, г
Контроль (без інокуляції)	29,3±1,04	2,0 ± 0,03	179,13±4,12
634б (виробничий)	34,0±1,71*	2,1±0,08*	196,68±5,63*
646	29,8±0,45	2,2±0,01*	204,32±3,25*
В-75	38,3±3,38*	2,0±0,02	205,18±0,09*
В-171	49,3±1,24*	2,0±0,06	198,03±2,73*
Д1	45,7±2,72*	2,1±0,02*	203,24±1,17*
Д33	32,7±2,45*	2,2±0,04*	200,76±1,92*

**Примітка.** \* – Різниця достовірна за  $P \leq 0,05$ .

Як зазначають окремі дослідники [8], при використанні висококомплементарних до сорту Мар'яна штамів бактерій за оптимальних для вегетації умов, коли тепла

погода поєднується з рясними опадами, продуктивність сорту може досягати 35,8 ц/га, а без застосування бактеризації насіння ризобіями урожайність сорту є значно нижчою і коливається від 19,7 до 25,4 ц/га. У наших дослідах через несприятливі погодні умови урожайність сої була порівняно невисокою (табл. 5), однак нами також зафіксовано значний вплив передпосівної інокуляції на формування врожаю насіння.

Таблиця 5

## Вплив різних штамів бульбочкових бактерій на урожай насіння сої культурної

Варіант	Урожай насіння, ц/га	Приріст			
		до контролю		до виробничого штаму	
		ц/га	%	ц/га	%
Контроль (без інокуляції)	15,20±0,32	–	–	2,32	–15,26
6346 (виробничий)	17,52±0,28*	2,32	15,26	–	–
646	16,85±0,44*	1,65	10,86	–0,67	–5,36
В-75	18,48±1,05*	3,28	21,58	0,96	5,48
В-171	20,55±0,73*	5,35	35,20	3,03	17,29
Д1	22,02±0,90*	6,82	44,87	4,50	25,68
Д33	19,15±0,35*	3,95	25,99	1,63	9,30

**Примітка.** \* – Різниця достовірна за  $P \leq 0,05$ .

Порівняння ефективності інокуляції насіння різними транспозонними мутантами показало, що за цим показником створені мутанти В-171, Д1 та Д33 суттєво переважали виробничий штам 6346, про що свідчить достовірна різниця урожаю зерна між цими варіантами досліду. Найбільший урожай сформували рослини, інокульовані штамом Д-1, – у перерахунку на гектар він становив 22,02 ц/га, що на 44,87% більше порівняно з контрольним варіантом та на 25,68% більше порівняно з варіантом, у якому насіння проінокульовано виробничим штамом 6346 (табл. 5). Непоганий приріст урожаю дали також рослини, насіння яких перед посівом інокульовали бактеріями Тп5-мутанта В-171 (35,20% від контролю та 17,29% порівняно з виробничим штамом).

Отже, як свідчать результати досліджень, нами створені різні за ефективністю симбіотичні системи сої, в яких мікросимбіонтами були транспозонні мутанти *V. japonicum*. При цьому мутанти, які активніше ініціювали утворення кореневих бульбочок, не завжди сприяли підвищенню насінневої продуктивності рослин. Нами також виявлено, що бактеризація насіння сої досліджуваними Тп5-мутантами В-171, Д1 та Д33 сприяє кращому утворенню бульбочок і наростанню їхньої біомаси порівняно з інокуляцією насіння виробничим штамом 6346 та вихідним штамом 646. На урожайність насіння найбільше вплинула передпосівна інокуляція бактеріями транспозонного мутанта Д1. Виходячи з цього, можна зробити висновок, що з-поміж досліджуваних Тп5-мутантів *V. japonicum* за більшістю показників найефективнішим виявився мутант Д1. Дослідження ефективності застосування цього мутанта при вирощуванні сої показало його перевагу перед іншими транспозонними мутантами, які апробувалися в різних агрокліматичних умовах [9]. Після додаткових досліджень у регіонах із різними ґрунтово-кліматичними умовами і отримання позитивних результатів цей транспозонний мутант можна буде рекомендувати для використання як біологічної основи при виготовленні бактеріального добрива під сою.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабич А. О. Проблеми білка: сучасний стан, перспективи виробництва і використання сої // Корми і кормовиробництво. 1992. № 33. С. 3–13.

2. Береговенко С. К. Інтенсивність фотосинтетичних процесів різних сортів сої залежно від інокуляції ефективними штамми *Bradyrhizobium japonicum* // Наук. зап. Тернопіл. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Сер. біол. 2003. 2(1). С. 19–23.
3. Воробей Н. А., Коць Н. Я., Кудрявченко Л. А. Конкурентоздатність транспозонових мутантів *Bradyrhizobium japonicum* // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: у 2-х т. Т. 1. К.: Логос, 2009. С. 453–458.
4. Воробей Н. А., Коць Н. Я., Маліченко С. М., Якимчук Р. А. Дослідження симбіотичних систем сої, утворених за участю транспозантів *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. 2006. Т. 38. № 5. С. 418–426.
5. Даценко В. К., Лагута С. К., Старченков Е. П. и др. Эффективность бобово-ризобиального симбиоза различных сортов и штаммов *Bradyrhizobium japonicum* // Физиология и биохимия культ. растений. 1997. Т. 29. № 4. С. 299–303.
6. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
7. Заверюхин В. И., Левандовский И. Л. Производство и использование сои. К.: Урожай, 1998. 112 с.
8. Коць С. Я., Береговенко С. К., Кириченко Е. В. и др. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов. К.: Наук. думка, 2007. 315 с.
9. Коць С. Я., Моргун В. В., Тихонович Н. А. и др. Биологическая фиксация азота: монография: в 4-х т. Т. 3. К.: Логос, 2011. 404 с.
10. Крутило Д. В., Ковалевська Т. М. Бульбочкові бактерії сої як складова мікробіоти ґрунтів України // Живлення рослин: теорія і практика: зб. наук. пр., присвяч. 100-річчю від дня народж. акад. АН УРСР та ВАСГНІЛ П.А. Власюка. К.: Логос, 2005. С. 346–356.
11. Марьюшкин В. Ф., Даценко В. К., Старченков Е. П. и др. Эффективность различных симбиотических систем сои и ризобий // Физиология и биохимия культ. растений. 1994. Т. 26. № 3. С. 257–264.
12. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. М.: Наука, 1968. 240 с.
13. Новикова Н. И., Шарыпова Л. А., Симаров Б. В. Транспозоновый мутагенез у штамма СХМ1-105 *Rhizobium meliloti* // Молекуляр. генетика, микробиология и вирусология. 1986. № 8. С. 32–36.
14. Патица В. П., Волкогон В. В., Надкернична О. В. та ін. Біологічна азотфіксація: вчора, сьогодні, завтра // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть: у 2-х т. Т. 1. К., Фітосоціоцентр, 2001. С. 212–226.
15. Патица В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В. та ін. Біологічний азот. К.: Світ, 2003. 424 с.
16. Патыка В. Ф., Толкачев Н. З., Бутвина О. Ю. Основные направления оптимизации симбиотической азотфиксации в современной земледелии Украины // Физиология и биохимия культ. растений. 2005. Т. 37. № 5. С. 384–393.
17. Толкачев Н. З. Потенциальные возможности симбиотической азотфиксации при выращивании сои на юге Украины // Мікробіол. журнал. 1997. Т. 59. № 4. С. 34–41.
18. Balatti P. A., Pueppke S. G. Cultivar specific interactions of soybean with *Rhizobium fredii* are regulated by genotype of the root // Plant Physiol. 1990. Vol. 94. N 4. P. 1907–1909.
19. Child J. J. Nitrogen fixation by a *Rhizobium* sp. association with non-leguminous plant cell cultures // Nature. 1975. Vol. 253. P. 350–351.
20. Maier R. J., Brill W. J. Ineffective and non-nodulating mutant strains of *Rhizobium japonicum* // J. Bacteriol. 1976. Vol. 127. N 2. P. 763–769.
21. Simon R., O'Connel M., Labes M., Puhler A. Plasmid vector for the genetic analysis and manipulation of rhizobia and other gram-negative bacteria // Meth. Enzymol. 1986. Vol. 118. P. 640–659.

22. Young Y. P. W. Molecular population genetic evolution of rhizobia // The nitrogen fixation and its research in China / Ed. Hong G.F. Berlin; Heidelberg: Springer–Verlag. 1992. P. 366–381.

Стаття: надійшла до редакції 27.11.12

доопрацьована 04.03.13

прийнята до друку 12.03.13

## EFFECTIVENESS OF INOCULATION OF SOYBEAN CULTURAL (*GLYCINE MAX*) BY MUTANTS *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

V. Zabolotna

*Kremenets Regional Humanitarian-Pedagogical Institute  
named after Taras Shevchenko  
1, Litseina St., Kremenets, Ternopil Region 47003, Ukraine  
e-mail: virazabolotna@yandex.ua*

The dynamics of root nodules formation, accumulation of their mass, growth processes, seed production and productivity of soybean cultural, inoculated with Tn5-mutants of bacteria of species *Bradyrhizobium japonicum* was studied in field experiments. It was investigated that presowing treatment of seeds with the help of nodule bacteria of these strains stimulated formation of symbiotic system, growth and development of plants. The most effective bacterization was with Tn5-mutants D1 that was manifested in increasing productivity of seeds of this variant at 44,87% in comparison with control and at 25,68% in comparison with production strain 634b.

*Keywords: Glycine max* (L.) Merr., inoculation, nodule bacteria, strain, symbiotic apparatus, productivity.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНОКУЛЯЦИИ СОИ КУЛЬТУРНОЙ (*GLYCINE MAX*) МУТАНТАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

В. Заболотная

*Кременецкий областной гуманитарно-педагогический институт имени  
Тараса Шевченко  
ул. Лицейная, 1, Кременец, Тернопольская обл. 47003, Украина  
e-mail: virazabolotna@yandex.ua*

В условиях полевого опыта изучали динамику корневых клубеньков и нарастания их массы, ростовые процессы, семенную продуктивность и урожайность сои культурной, инокулированной Tn5-мутантами бактерий вида *Bradyrhizobium japonicum*. Установлено, что предпосевная обработка семян этими транспозонными мутантами стимулирует формирование симбиотического аппарата, рост и развитие растений. Наиболее эффективной оказалась бактеризация Tn5-мутантом Д1, что проявилось в повышении урожайности семян растений этого варианта на 44,87% по сравнению с контролем и на 25,68% по сравнению с производственным штаммом 634б.

*Ключевые слова: Glycine max* (L.) Merr., инокуляция, клубеньковые бактерии, штамм, симбиотический аппарат, урожайность.

**ВИКОРИСТАННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ  
ВИЯВЛЕННЯ СТУПЕНЯ УРАЖЕННЯ СОРТІВ ПЕРСИКА  
ВІРУСОМ ШАРКИ СЛИВИ (*PLUM POX POTYVIRUS*)**

**С. Мартинов<sup>1</sup>, О. Митрофанова<sup>1</sup>, І. Митрофанова<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Нікитський ботанічний сад – Національний науковий центр НААН України  
Ялта, смт Нікіта 98648, АР Крим, Україна  
e-mail: in\_vitro@ukr.net

<sup>2</sup>Навчально-науковий центр біології і екології субтропічних рослин та  
ландшафтознавства НУБіП України  
Ялта, смт Нікіта 98648, АР Крим, Україна  
e-mail: nikita@naui.kiev.ua

Проведено скринінг ураженості вірусом шарки сливи (*Plum pox potyvirus*, PPV) сортів персика на півдні та південному сході України і знайдено 4 осередки ураження, які ліквідовані. В оцінюванні ураженості вірусом PPV рослин персика показано ефективність застосування комплексу діагностичних методів: рослин-індикаторів, системи Піротест-ІФА, імунохроматографічного аналізу (тест-смужки), відбору толерантних і вірусостійких сортів із виявленням стероїдних глікозидів в органах і тканинах рослин методом тонкошарової хроматографії.

*Ключові слова:* персик, вірус шарки сливи, PPV, система Піротест-ІФА, імунохроматографічний аналіз, стероїдні глікозиди.

Кліматичні умови півдня України дають змогу вирощувати цінні плодові культури. Однією з них є персик (*Prunus persica* (L.) Batsch). Серед відомих і найбільш шкідливих вірусних захворювань персика найнебезпечнішою є шарка сливи, яка спричиняється *Plum pox potyvirus* (PPV, рід *Potyvirus*, родина *Potyviriidae*). В Україні це захворювання було зареєстроване 1966 року в Чернівецькій області [5]. Воно викликає зниження врожаю до 70–100% у вразливих сортів і загибель сильно уражених, особливо молодих дерев [8, 9]. У разі тотального зараження вірусом промислових і колекційних насаджень персика необхідне оздоровлення сортів і отримання безвірусного садивного матеріалу [4].

Метою цього дослідження було виявити ступінь ураження сортів персика вірусом шарки сливи на півдні України із застосуванням комплексу діагностичних методів.

**Матеріали та методи**

Об'єктами досліджень були уражені та неуражені вірусом шарки сливи (PPV) сорти персика. Скринінг на виявлення осередків ураження проводили під час експедиційного обстеження (березень-червень, серпень-вересень) колекційних і промислових насаджень Ялтинського, Бахчисарайського і Севастопольського районів АР Крим, а також Нікопольського району Дніпропетровської області. У роботі використано як загальноприйняті методи вірусологічних досліджень [1], так і розроблені або модифіковані нами стосовно конкретної мети і завдань дослідів [3, 4].

Тестування на віруси вихідного матеріалу виконували з використанням рослин-індикаторів (*Chenopodium foetidum* Schrad, *Nicotiana benthamiana* Domin, *N. clevelandii* A.Gray та дерев'янистих індикаторів *Prunus tomentosa* Thunb, *P. persica* (L.) Batsch 'Elberta'), імуноферментного аналізу (DAS ELISA-test). Поряд із тим, для ідентифікації

вірусу шарки сливи застосовували молекулярно-біологічні методи – систему Піротест-ІФА («Иммунотех», Росія) [7] та імунохроматографічний аналіз (ІХА), розроблений фахівцями МДУ (м. Москва, Росія) і вдосконалений за нашою участю [6].

Оцінку сортів персика на вразливість щодо вірусу шарки сливи здійснювали за вмістом стероїдних глікозидів у деревині, корі, бруньках і листках (у зимовий, весняний, літній періоди). Принцип використання стероїдних глікозидів для оцінювання стійких чи толерантних сортів кісточкових плодівих культур ґрунтується на тому, що стероїдні глікозиди можуть слугувати маркером вірусостійкості завдяки своїм антиоксидантним властивостям і здатні стимулювати захисні реакції рослини-живителя, індуючи в неї стійкість [2]. Вміст глікозидів в органах рослин, уражених вірусом шарки сливи, визначали методом тонкошарової хроматографії та оцінювали на хроматограмі за наявністю плям жовтого або морквяного кольору. Візуальне оцінювання сортів персика на толерантність щодо вірусу шарки проводили в період появи симптомів на листках (травень-червень, серпень-вересень). При цьому враховували не лише симптоми ураження вірусом РРV, а й зовнішні ознаки хвороб (міжжилковий хлороз, хлоротичну мозаїку листків, вирости на плодах), спричинених іншими вірусами – некротичною кільцевою плямистістю (*Prunus necrotic ringspot virus*), карликовістю сливи (*Prune dwarf virus*) та ін.

#### Результати і їхнє обговорення

У результаті виконаних польових досліджень визначені оптимальні строки виявлення зовнішніх ознак хвороби та добору сортозразків – квітень-червень, серпень-вересень. Виявлені й описані найхарактерніші зовнішні ознаки хвороби шарки сливи на різних сортозразках персика, що дає змогу вчасно виявити осередки вірусу РРV: на пелюстках квіток утворюються малинові штрихи і плями (рис. 1); на листках – дуги й кільця вздовж центральної та бічних жилок; на зелених плодах – хлоротичні плями й кільця; на стиглих плодах – червоні кільця, а також злиті бузково-червоні плями або великі кільця з блідо-рожево-червоним центром, кісточка деформовані. Наприклад, у сортів Достойний, Золота Москва на листках виявлені хлоротичні плями, дуги й кільця вздовж центральної та бічних жилок; на зелених плодах – хлоротичні плями й кільця; на стиглих плодах – червоні кільця, яскраві злиті бузково-червоні плями або великі кільця з рожевим центром (рис. 2). У сортів Золота Москва і Темісовський кісточка часто були деформовані.



Рис. 1. Характерні симптоми прояву хвороби, спричиненої вірусом шарки сливи (РРV) на квітках персика.

У зв'язку з недостатньо вивченою етіологією захворювання та необхідністю ранньої діагностики захворювання, спричиненого вірусом шарки сливи (*Plum pox potyvirus*), було вдосконалено методи тестування та діагностування цієї хвороби. Для попередньої ідентифікації та вивчення біологічних властивостей вірусу використовували рослини-індикатори. Так, на *Chenopodium foetidum*, *Nicotiana clevelandii*, *N. benthamiana*, *Prunus tomentosa*, *P. persica* 'Elberta' протестовано 562 сортозразки персика, з яких 384 виявилися інфікованими РРV.



Рис. 2. Листки (зліва) та плоди персика (справа), уражені вірусом PPV.

З табл. 1 видно, що досліджувані сорти персика в колекційних і селекційних насадженнях Ялтинського та Севастопольського районів АР Крим були різною мірою інфіковані вірусом шарки сливи. Наприклад, у сорту Пам'ятний Нікитський кількість уражених дерев становила 38,5%, а у сорту Золота Москва – 78,4%. При цьому у сильно уражених сортів Достойний, Золота Москва, Темісовський виявлено високий вміст вірусу в клітинному соці тестованих зразків (+++).

Таблиця 1

Результати візуального обстеження й тестування на ураженість вірусом шарки сливи сортів персика в колекційних і селекційних насадженнях Ялтинського та Севастопольського районів АР Крим

№ з/п	Сорт	К-сть обстежених дерев	Симптоми прояву PPV, зафіксовані під час вірусологічного обстеження	Оцінка вмісту PPV в клітинному соці тестованого зразка*	Відсоток уражених дерев
1	Гармонія	15	Хлоротичні кільця, лінії на листках, деформація листової пластинки	++	60,3
2	Гранатовий	11	Хлоротичні дуги та лінії на листках, кільця на плодах	++	56,5
3	Достойний	12	Кільця й дуги на листках, на плодах яскраво-червоні плями та кільця	+++	48,9
4	Золота Москва	16	Яскраво забарвлені плями та червоні кільця на плодах, хлоротичні кільця й плями на листках	+++	78,4
5	Лакомий	11	Дрібні хлоротичні плями та дуги на листках	+	43,9
6	Любимий	11	Дрібні хлоротичні плями та слабовиражені дуги на листках	+	52,6
7	Мечта	2	Міжжилковий хлороз	0	0
8	Нарядний	12	Міжжилковий хлороз, дрібні хлоротичні плями на листках	++	61,2
9	Пам'ятний	12	Міжжилковий хлороз, хлоротичні плями та дуги на листках	+	38,5
10	Советський	11	Дрібні хлоротичні кільця на листках	++	41,2
11	Темісовський	11	Хлоротичні плями на листках, деформація листової пластинки, камедь і виразки на пагонах	+++	65,8

**Примітка.** \* 0 – вірус відсутній; +++ – висока концентрація вірусу в клітинному соці; ++ – середня концентрація вірусу в клітинному соці; + – низька концентрація вірусу в клітинному соці.



Результати тестування сортозразків персика з промислових насаджень Нікопольського району Дніпропетровської області засвідчили, що серед усіх обстежених дерев 11 сортів вірус шарки сливи було виявлено у 6 сортів з низьким і середнім вмістом вірусу в клітинному соці (табл. 2).

Таблиця 2

Результати візуального обстеження й тестування на ураженість вірусом шарки сливи сортів персика з промислових насаджень Нікопольського району Дніпропетровської області

№ з/п	Сорт	К-сть обстежених дерев, шт.	Симптоми прояву PPV, зафіксовані під час вірусологічного обстеження	Оцінка вмісту PPV в клітинному соку тестованого зразка*	Відсоток уражених дерев
1	Гармонія	168	Дрібні хлоротичні плями та слабовиражені дуги на листках	+	9,7
2	Гранатовий	157	Посвітління жилок листка, деформація листкової пластинки	++	14,8
3	Достойний	98	Дрібні хлоротичні плями на листках	++	17,1
4	Золота Москва	112	Хлоротичні плями на листках, дуги, лінії та кільця на листках, деформація листкової пластинки, кільця й плями на плодах	++	28,9
5	Лакомий	106	Без симптомів	0	0
6	Любимий	98	Дуги на листках, деформація листкової пластинки	+	8,6
7	Мечта	133	Міжжилковий хлороз	0	0
8	Нарядний	110	Без симптомів	0	0
9	Нікітський	141	Без симптомів	0	0
9	Памятний	141	Без симптомів	0	0
9	Нікітський	141	Без симптомів	0	0
10	Орфей	139	Хлоротичні плями на листках, дуги, деформація листкової пластинки	+++	30,4
11	Темісовський	96	Дуги, стягненість листкової пластинки	0	0

**Примітка.** \* 0 – вірус відсутній; +++ – висока концентрація вірусу в клітинному соці; ++ – середня концентрація вірусу в клітинному соці; + – низька концентрація вірусу в клітинному соці.

Унаслідок оцінки стану ураженості персика в промислових насадженнях Бахчисарайського району, де здебільшого зосереджені сорти закордонної селекції, нами відзначено високий ступінь зараженості дерев вірусом шарки сливи. Найсильніше ураженими виявилися дерева сортів O'Henry, Rita Star, Maria Aurally і Sirio (табл. 3).

Таким чином, із проаналізованих 1500 сортозразків ступінь ураженості PPV становив 32,5%.

У результаті проведених лабораторних досліджень нами було з'ясовано, що найефективнішим є застосування системного підходу до виявлення й ідентифікації вірусу шарки сливи із використанням методів Піротест-ІФА (рис. 3) та імунохроматографічного аналізу (ІХА). При проведенні діагностування й тестування рослин на наявність вірусу шарки сливи у них за польових умов ефективним і високочутливим виявився експрес-метод імунохроматографічного аналізу в пористих мембранах (тест-смужках), на які були нанесені антитіла та їхні кон'югати із забарвленими колоїдними частинками, здатними взаємодіяти з PPV. Система Піротест-ІФА та ІХА, порівняно з іншими методами

ідентифікації вірусу шарки в певному сорті, виявилася швидкою та ефективною, що дало змогу визначити мінімальні концентрації PPV у сортозразках (10–50 нг/мл).

Таблиця 3

Результати візуального обстеження й тестування на ураженість вірусом шарки сливи сортів персика з промислових насаджень Бахчисарайського району АР Крим

№ з/п	Сорт	К-сть обстежених дерев, шт.	Симптоми прояву PPV, зафіксовані під час вірусологічного обстеження	Оцінка вмісту PPV в клітинному соці тестованого зразка*	Відсоток уражених дерев
1	Francoise	551	Міжжилковий хлороз	0	0
2	Kevina	545	Хлоротичні плями й дуги на листках, дрібно-, вузьколистість	+	1,0
3	Maria Aurally	226	Хлоротичні дуги й кільця, стягненість листкової пластинки	++	43,0
4	O'Henry	814	Хлоротичні плями й дуги на листках, посвітління жилок листка	+++	48,2
5	Rita Star	1058	Хлоротичні кільця й плями на листках, дуболистий візерунок (аналогічні симптоми виявлені на дикорослих рослинах дурману, які виростають у міжрядді)	+++	68,9
6	Royal Estate	245	Хлоротичні кільця на листках, дуболистий візерунок	+++	38,1
7	Silver Gigant	247	Хлоротичні кільця на листках, деформація листкової пластинки, посвітління жилок листка	++	22,0
8	Vistarich	308	Хлоротичні плями й дуги на листках	+	17,1
9	Sirio	198	Хлоротичні дуги й плями на листках, деформація листкової пластинки	+++	37,1
10	Royal Pride	250	Злиті хлоротичні плями, дрібнолистість	+	24,8

**Примітка.** \*) 0 – вірус відсутній; +++ – висока концентрація вірусу в клітинному соці; ++ – середня концентрація вірусу в клітинному соці; + – низька концентрація вірусу в клітинному соці.

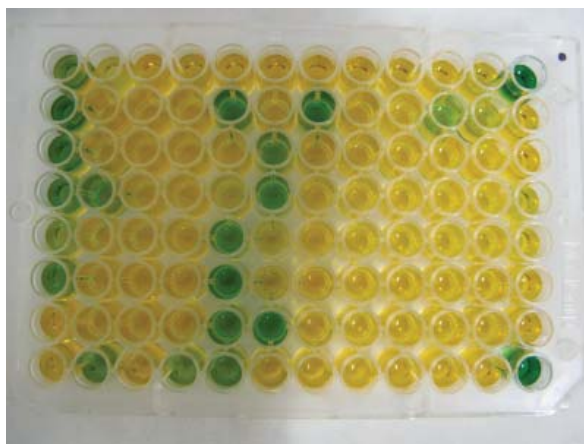


Рис. 3. Діагностування PPV на персику сортів Золота Москва, Пам'ятний Нікітський та ін. методом системи Піротест-ІФА: 1 – позитивна реакція (світлозабарвлена лунка) та 2 – негативна реакція (темнозабарвлена лунка) на PPV.

Як метод діагностування стійкості проти вірусу PPV було використано метод аналізу вмісту стероїдних глікозидів (СГ), які, як відомо, завдяки антиоксидантним властивостям здатні стимулювати захисні реакції рослини-господаря, індукуючи у неї стійкість проти вірусів [2, 3]. Вихідною сировиною для отримання стероїдних глікозидів слугували деревина, кора та бруньки (листки) у двох фазах: зимового спокою і весняного відростання пагонів дерев із різним ступенем ураженості та сприйнятливості щодо вірусу шарки сливи. Локалізацію PPV визначали із застосуванням системи Піротест-ІФА.

Таблиця 4

Результати вивчення локалізації вірусу шарки сливи та стероїдних глікозидів (СГ) у сорторізках персика

№ з/п	Сорторізок	Локалізація PPV *		Локалізація СГ **
		плоди	листки (бруньки)	листки (бруньки)
1	Гранатовий	++	+++	+
2	Достойний	+	+	+
3	Золота Москва	++	+++	0
4	Лакомий	0	+	++
5	Любимий	+	+	++
6	Мечта	+	0	++
7	Нарядний Нікітський	+	++	+
8	Нікітський Подарок	0	0	0
9	Пам'ятний Нікітський	0	++	+
10	Понтійський	++	+++	0
11	Темісовський	+	+++	0
12	Сопрано	0	0	0
13	Loadel	0	0	0
14	Sweet Cap	0	0	0

**Примітка.** \* (0) – вірус відсутній; + – низька концентрація вірусу в клітинному соці; ++ – середня концентрація вірусу; +++ – висока концентрація вірусу; \*\* (0) – СГ не виявлені; (+, ++) – СГ виявлені.

Як видно з табл. 4, локалізацію вірусу шарки сливи відзначено у вегетативних бруньках, листках і плодах персика. Стероїдні глікозиди виявлені нами в листках і бруньках сортів Гранатовий, Лакомий, Любимий, Мечта, Нарядний Нікітський, Пам'ятний Нікітський. Відомо, що СГ починають виявляти активність у період проникнення й розповсюдження PPV у рослині, тому вони можуть витрачатися на захист рослини-живителя від патогена [3]. Внаслідок проведених досліджень виділено 4 толерантних сорти персика: Нікітський Подарок, Сопрано, Loadel, Sweet Cap.

Таким чином, обстежено 5924 дерев 22 сортів персика на виявлення та поширення вірусу шарки (*Plum pox virus* – PPV) як одного з найнебезпечніших захворювань кісточкових плодових культур, вирощуваних у промислових і колекційних насадженнях. Показано ефективність в оцінюванні зараженості вірусом рослин персика застосування комплексу діагностичних методів: рослин-індикаторів, системи Піротест-ІФА, імунохроматографічного аналізу (тест-смужки), відбору толерантних і вірусостійких сортів із виявленням стероїдних глікозидів в органах і тканинах рослин за допомогою методу тонкошарової хроматографії. Проведено скринінг ураженості сортів персика вірусом шарки сливи (*Plum pox potyvirus*, PPV) на півдні та південному сході України і виявлено 4 осередки ураження в Бахчисарайському, Севастопольському, Ялтинському районах АР Крим та Нікопольському районі Дніпропетровської області, які ліквідовано.

Роботу виконано в рамках проектів НААН (№ 09.02/016) і НУБіП України (№ 110/420-пр).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вердеревская Т. Д., Маринеску В. Г. Вирусные и микоплазменные заболевания плодовых культур и винограда. Кишинев: Штиинца, 1985. 311 с.
2. Кинтя П. К., Лазурьевский Г. В., Балашова Н. Н. и др. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. Кишинев: Штиинца, 1987. 142 с.
3. Митрофанова О. В., Митрофанова И. В., Чирков С. Н. и др. Биотехнологические системы диагностики вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) и отбора толерантных сортов косточковых плодовых культур // Сб. науч. трудов Никит. бот. сада. 2009. Т. 131. С. 94–103.
4. Митрофанова О. В., Славгородская-Курпиева Л. Е., Митрофанова И. В., Лукичѐва Л. А. Диагностика вирусных болезней и биотехнологические приѐмы получения безвирусного посадочного материала косточковых плодовых культур. Ялта: Крымпресс, 2000. 45 с.
5. Пискун Н. И. «Шарка» слив на Украине // Защита растений. 1969. № 6. С. 54.
6. Чирков С. Н., Бызова Н. А., Шевелева А. А. и др. Испытание отечественных иммунохроматографических тест-полосок для экспресс-диагностики вируса шарки сливы // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 1. С. 110–116.
7. Чирков С. Н., Приходько Ю. Н. Пиротест – новый метод диагностики вируса шарки сливы // Промышленное производство оздоровленного посадочного материала плодовых, ягодных и цветочно-декоративных культур: междунар. науч.-практ. конф. (Москва, 2001). С. 71–72.
8. Cambra M., Capote N., Myrta A., Llacer G. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2006. 36. P. 202–204.
9. Spiegel S., Kovalenko E., Varga A., James D. Detection and partial molecular characterization of two *Plum pox virus* isolates from plum and wild apricot in southeast Kazakhstan // Plant Disease. 2004. Vol. 88. P. 973–979.

Стаття: надійшла до редакції 01.03.13

доопрацьована 08.05.13

прийнята до друку 16.05.13

USING THE DIAGNOSTIC METHODS TO IDENTIFY THE INFECTION DEGREE  
OF PEACH CULTIVARS BY *PLUM POX POTYVIRUS*

S. Martinov<sup>1</sup>, O. Mitrofanova<sup>1</sup>, I. Mitrofanova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Centre NAAS of Ukraine  
98648, Ukraine, Crimea, Yalta, Nikita  
e-mail: in\_vitro@ukr.net

<sup>2</sup>Educational Scientific Center of Biology and Ecology of Subtropical Plants and  
Landscape Management of NULES of Ukraine  
98648, Ukraine, Crimea, Yalta, Nikita  
e-mail: nikita@nauu.kiev.ua

The screening of infection degree of peach cultivars caused by *Plum pox potyvirus* (PPV) in the South and South-East of Ukraine has been carried out. Four areas infected by *Plum pox potyvirus* have been revealed and liquidated. The efficiency of complex using

of diagnostic methods for evaluation of PPV infection degree of peach cultivars has been shown: indicator plants, Pirotest-ELISA system, immunochromatographic analysis (test strip), selection of tolerant and virus resistance cultivars with detection of steroid glycosides in organs and tissues of plants by the method of thin-layer chromatography.

*Keywords:* peach, plum pox potyvirus, PPV, Pirotest-ELISA system, immunoassay analysis, steroid glycosides.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОРАЖАЕМОСТИ СОРТОВ ПЕРСИКА ВИРУСОМ ШАРКИ СЛИВЫ (*PLUM POX POTYVIRUS*)

С. Маргынов<sup>1</sup>, О. Митрофанова<sup>1</sup>, И. Митрофанова<sup>1,2</sup>

*Никитский ботанический сад  
Национальный научный центр,  
НААН Украины*

*Ялта, пгт Никита 98648, АР Крым, Украина  
e-mail: in\_vitro@ukr.net*

*Учебно-научный центр биологии и экологии субтропических растений и  
ландшафтоведения НУБиП Украины*

*Ялта, пгт Никита 98648, АР Крым, Украина  
e-mail: nikita@naui.kiev.ua*

Проведен скрининг поражаемости сортов персика вирусом шарки сливы (*Plum pox potyvirus*, PPV) на юге и юго-востоке Украины и найдено 4 очага поражения, которые ликвидированы. Показана эффективность применения комплекса диагностических методов в оценке зараженности вирусом сортов персика: растений-индикаторов, системы Пиротест-ИФА, иммунохроматографического анализа (тест-полоски), отбора толерантных и вирусоустойчивых сортов с выявлением стероидных гликозидов в органах и тканях растений методом тонкослойной хроматографии.

*Ключевые слова:* персик, вирус шарки сливы, PPV, система Пиротест-ИФА, иммунохроматографический анализ, стероидные гликозиды.

БІОФІЗИКА

УДК 577.3+615.9

**ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В СЕРЦЕВОМУ М'ЯЗІ ПТИЦІ  
ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ**

**Н. Головчак**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: golovchak\_nataly@ukr.net*

Дослідження проводили на курах домашніх породи Леггорн. Встановлено, що дія гіпохлориту натрію призводить до зростання процесів ліпопероксидації у клітинах серцевого м'яза до 7 доби досліджу. Проте вже на 14 добу дії гіпохлориту натрію інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів повертається до рівня контролю. Доведено, що за дії досліджуваної речовини відбувається активація ферментів антиоксидантної системи: супероксиддисмутази та каталази. Активність супероксиддисмутази за час реабілітаційного періоду дещо знижується, тоді як активність каталази є вища від контролю упродовж усього досліджу. Отже, дія гіпохлориту натрію веде до порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в серцевому м'язі.

*Ключові слова:* перекисне окиснення ліпідів, гіпохлорит натрію, серцевий м'яз, супероксиддисмутаза, каталаза.

Відомо, що підвищення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) виникає внаслідок тривалого впливу екстремальних чинників. Вільні радикали виступають фактором окиснювальної модифікації багатьох клітинних структур. Вони можуть окиснювати молекули білків та ліпідів і атакувати мембранні ліпіди, які містять ненасичені подвійні зв'язки.

Для захисту від надмірної дії вільних радикалів у клітині існує система антиоксидантного захисту, до якої належать ферменти супероксиддисмутаза (СОД) та каталаза (КАТ). Основна їхня функція полягає в нейтралізації супероксиданіон-радикалу ( $O_2^{\cdot-}$ ) і  $H_2O_2$ , які утворюються у результаті «витоку» неспареного електрона з мітохондріального ланцюга переносу електронів. СОД дисмутує  $O_2^{\cdot-}$  до пероксиду водню, який відновлюється КАТ до води та молекулярного кисню або глутатіонпероксидазою до води. В біологічній системі зростання вільнорадикальних реакцій можуть зумовлюватися не лише радикалами, які є ендogenous походження, але і речовинами, які надходять в організм. За дії цих сполук відбувається інтенсифікація процесів ліпопероксидації, в ланцюзі реакцій яких вивільняються вільні радикали. На ці радикали і реагують ферменти антиоксидантної системи (АОС).

Відомо, що гіпохлорит натрію (ГХН,  $NaOCl$ ) є сильним окисним агентом [24]. Нині широко розповсюджене біомедичне використання  $NaOCl$  для дезінфекції приміщень, завдяки його ефективній дії на великий спектр бактерій, вірусів і грибів [25, 26]. На сьогодні ГХН почали застосовувати для детоксикації організму при отруєннях токсинами, цукровому діабеті і т. п. [1, 14–16, 21]. ГХН легко віддає активний кисень, виводиться з організму, має невелику молекулярну масу та малі розміри, завдяки чому швидко проходить крізь клітинні мембрани, і, як наслідок, може окиснювати токсини, що містяться не тільки у крові, але й у тканинах [5]. ГХН реагує з водою і, таким чином, утворюється гіпохлорна кислота

[25], яка характеризується високою хімічною активністю й відносно низькою стабільністю [13, 23].

У ветеринарії ГХН вже застосовують для профілактики токсикозів. Проте відкритим залишається питання механізму його дії на організм, не уражений шкідливими сполуками. Дослідження, проведені у цьому напрямі, дадуть відповідь на питання безпечності застосування ГХН для профілактики патологічних станів людини і тварин.

Раніше нами було встановлено, що ГХН призводить до дозозалежного пригнічення  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази, магнійзалежної  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази, порушення процесів ліпопероксидації протягом раннього ембріогенезу, прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах нирки та печінки [4, 5, 7–9]. Метою цієї роботи є вивчення впливу ГХН на процеси вільно-радикального окиснення та стан АОС у серцевому м'язі, який відповідає за роботу всього організму.

### Матеріали та методи

Дослідження проводили на курах породи Леггорн віком 140–145 днів. Кури домашні (*Gallus gallus domesticus*) належать до класу Птахів, ряду Куриних.

Клінічні дослідження піддослідних і контрольних тварин проводили за загальноприйнятими методами.

Дослідження відбувалося за такою схемою. Тварин розділили на 3 групи по 15 голів у кожній. Першій групі (контрольній) згодовували повноцінний корм і випоювали воду. Тваринам другої групи 14 днів випоювали розчин ГХН у дозі 5 мг/л. Тваринам третьої групи 14 днів поспіль згодовували повноцінний комбікорм і випоювали розчин ГХН у дозі 10 мг/л. Випоювання ГХН птицею контролювалося. Після 14-го дня досліду по 5 тварин із кожної групи залишали на реабілітацію, яка тривала 6 днів.

На 7, 14 та 20 доби досліду по 5 тварин з першої, другої та третьої груп забивали, швидко видаляли серце, відмивали у фізіологічному розчині й заморожували у рідкому азоті, де зберігали до проведення досліджень. Наважки тканин (~ 1 г) гомогенізували при низькій температурі на гомогенізаторі у присутності буферного розчину (0,32 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 50 мМ трис-НСІ, рН = 7,4) [19]. По 1 мл гомогенату кожної проби заморожували в морозильній камері при  $-20^{\circ}\text{C}$ , які в подальшому використовували для дослідження. Кількість білка в кожному зразку визначали за методом Лоурі [27].

У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів ПОЛ за вмістом вторинних продуктів ліпопероксидації – ТБК-реагуючих продуктів, використовуючи метод Р. Р. Тимирбулатова [22]. Також визначали активність ферментів антиоксидантної системи – СОД за методом В.А. Костюка [11] та КАТ за методом М.А. Королюка [10].

Для визначення вмісту ТБК-реагуючих продуктів до 0,1 мл гомогенату проби (розведення 1:1) додавали 3 мл 10 мМ К-На фосфатного буфера, приготованого на 125 мМ КСІ (рН=7,4) та 0,5 мл 1 мМ  $\text{KMnO}_4$ . Для індукції ПОЛ двічі з інтервалом у 10 хв додавали 10 мМ  $\text{FeSO}_4$ . Реакцію припиняли за допомогою 20% ТХО, відцентрифугували. До 2 мл супернатанту додавали 0,5 мл 1н НСІ і 1 мл 0,7 мМ ТБК та інкубували на водяній бані при температурі  $95\text{--}100^{\circ}\text{C}$  протягом 20 хв. Після охолодження додавали 3 мл бутанолу, центрифугували протягом 10 хв при 1 500 г. Екстинкцію вимірювали у верхньому бутаноловому шарі при  $\lambda=532$  нм. Обчислення виконували за формулою:

$$[\text{ТБК}] = \frac{E \cdot V_1 \cdot V_2}{\varepsilon \cdot V \cdot C} \text{ мкмоль/мг білка;}$$

де [ТБК] – вміст ТБК-реагуючих продуктів;  $E$  – екстинкція дослідної проби;  $\varepsilon$  – молярний коефіцієнт екстинкції, що дорівнює  $156\ 000\ \text{M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ , в розрахунках використовували зна-

чення мілімолярного коефіцієнта екстинкції, виражене як  $156 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$ ;  $V_1$  – об'єм бутанолу;  $V_2$  – об'єм проби;  $V$  – об'єм супернатанту;  $C$  – концентрація білка в супернатанті.

Активність СОД вимірювали, додаючи у дослідну пробу 1 мл реактиву С, який містив рівні об'єми 0,08 мМ ЕДТА та 0,1 М фосфатного буферу (рН=7,8), доведеного до рН $\geq$ 10 ТЕМЕДом; 2,3 мл дистильованої  $\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 мл гомогенату (розведеного 1:1000) та 0,1 мл 1,4мкМ кверцетину, приготований на диметилсульфоксиді та розведений у гарячій дистильованій воді у відношенні 1:10. Контрольна проба містила 1 мл реактиву С, 2,4 мл дистильованої  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 мл кверцетину [11]. Вимірювання проводили на спектрофотометрі при  $\lambda=406 \text{ нм}$  відразу після додавання кверцетину та через 20 хв. Розрахунок здійснювали за формулою:

$$\text{АКТ}_{\text{СОД}} = [(D' - D''/D') \cdot 100] \cdot 29,49 \text{ од.акт/хв мг білка};$$

де  $\text{АКТ}_{\text{СОД}}$  – активність супероксиддисмутази,  $D' = E_{\text{к.вих.}} - E_{\text{досл.}} 20 \text{ хв}$ ,  $D'' = E_{\text{досл.}} \text{вих.} - E_{\text{досл.}} 20 \text{ хв}$ ,  $D$  – значення оптичної густини;  $E$  – екстинкція.

При визначенні активності КАТ реакцію запускали додаванням 0,1 мл гомогенату (розведеним у відношенні 1:10) та 2 мл 0,03% розчину  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Контрольна проба містила 1 мл 4% розчину молібдату амонію та 2 мл 0,03%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 1 мл 0,25н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та 0,1 мл гомогенату. Реакцію у дослідній пробі припиняли через 10 хв додаванням 1 мл 0,25н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та 1 мл 4% розчину молібдату амонію, приготованого на 0,025н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Проби центрифугували 10 хв при 10 000 g. Кількість утвореного забарвленого комплексу в холостій і дослідній пробах визначали фотометрично при довжині хвилі 410 нм [10]. Активність КАТ визначали за формулою:

$$A_{\text{КАТ}} = \frac{\Delta E \cdot V \cdot n}{\varepsilon \cdot C \cdot t \cdot \alpha \cdot l} \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O}_2/\text{хв мг білка},$$

де  $A_{\text{КАТ}}$  – активність КАТ;  $\Delta E$  – різниця екстинкції холостої та дослідної проб;  $V$  – загальний об'єм суміші в кюветі;  $n$  – розведення вихідного екстракту;  $\varepsilon$  – молярний коефіцієнт екстинкції комплексу  $\text{H}_2\text{O}_2$  з молібдатом амонію, що дорівнює  $22200 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ , в розрахунках використовували значення мілімолярного коефіцієнта екстинкції  $22,2 \text{ см}^2/\text{мкмоль}$ ;  $C$  – концентрація білка в гомогенатах;  $t$  – час реакції;  $\alpha$  – об'єм екстракту;  $l$  – довжина оптичного шляху.

Дані досліджень обробляли статистично з обчисленням середніх арифметичних величин  $M$ , середньої квадратичної похибки  $\sigma$  та відхилення від середнього арифметичного  $m$  між показниками. Статистичну обробку усіх даних результатів досліджень проводили з використанням програми „Excel-2003” для Windows.

Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності  $p \geq 0,95$ ,  $p \geq 0,99$ ,  $p \geq 0,999$ . Результати обробки представлені у вигляді рисунків.

### Результати і їхнє обговорення

З метою виявлення впливу ГХН на функціональні параметри серцево-судинної системи здорового організму ми здійснили дослідження птиці, якій випоювали високоочищений розчин ГХН у концентраціях 5 та 10 мг/л. Дані концентрації є дещо нижчими від тих, які застосовують у ветеринарній практиці при лікуванні токсикозів курей (20–30 мг/л), що обумовлено пошуком оптимальних доз для використання у профілактичних цілях [12, 13].

Нами встановлено, що при дії ГХН концентрацією 5 мг/л упродовж 7 діб вміст ТБК-реагуючих продуктів збільшується на 54%, а при концентрації ГХН 10 мг/л інтенсивність процесів ліпопероксидації зростає на 83% (рис. 1). Отже, при випоюванні птиці ГХН до-



сліджуваних концентрацій упродовж зазначеного періоду в серцевому м'язі розвивається окисний стрес, про що свідчить інтенсифікація процесів ліпопероксидації. Відомо, що збільшення вмісту продуктів ПОЛ вище базального "нормо-фізіологічного" рівня загрожують окиснювальною деструкцією мембранних компонентів клітин і суттєво видозмінюють реактивність організму на зовнішні подразники [20]. Так, зростання інтенсивності процесів ПОЛ при гострому інфаркті міокарда веде до збільшення активності тромбоцитів, що призводить до внутрішньосудинного тромбозу [2].

При попаданні в організм розчин ГХН розкладається на  $\text{ClO}^-$  і  $\text{Na}^+$  або на  $\text{O}^-$  і  $\text{NaCl}$ . Гіпохлорит-аніон і атомарний кисень є сильними окиснювачами, які значно прискорюють трансформацію токсинів, їх метаболітів і гідрофобних компонентів супутньої ендотоксемії у гідрофільні. Гіпохлорит функціонує в макрофагах при фагоцитозі, йому властива здатність поліпшувати гематологічні показники. Проте за відсутності у внутрішньому середовищі мішені (токсинів), ймовірно, ГХН окиснює на своєму шляху ліпідні компоненти клітинних мембран, у результаті чого і відбувається ініціація процесів ПОЛ та збільшується вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-реагуючих продуктів [18]. Отже, ГХН запускає ланцюг вільнорадикальних реакцій у мембранах клітин серцевого м'яза.

У відповідь на підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів за дії ГХН концентрацією 5 мг/л на 7 добу досліду відбувається зростання активності ферменту СОД (на 28%) і значне зростання ферменту КАТ (на 206%), що свідчить про утворення великих кількостей пероксиду водню супероксиддисмутазою у результаті реакції дисмутації (рис. 2, 3). Відомо, що супероксид-аніон радикал (субстрат для СОД) утворюється внаслідок роботи НАДФН-оксидази, ксантиноксидоредуктази, мітохондріальної цитохром-с-оксидази, мікросомальних монооксигеназ [17]. Очевидно, дія ГХН у клітині призводить до опосередкованого утворення більшої кількості даного радикала цими системами.

Слід зазначити, що на 14 добу досліду за дії ГХН у нижчій концентрації (5 мг/л) інтенсивність накопичення продуктів ліпопероксидації повертається до контрольних позначок і залишається такою під час реабілітаційного періоду (рис. 1). Проте активності ферментів СОД і КАТ на 14-ту добу є підвищеними, порівняно з контрольними значеннями, на 13% (зростання недостовірне) та 51% (зростання достовірне) відповідно (рис. 2, 3). Отже, дія ГХН веде до стимулювання роботи ензимів АОС клітин серцевого м'яза та розвитку адаптаційних процесів до ГХН цієї концентрації.

Відомо, що серце має значні енергетичні затрати, які потребують постійного забезпечення необхідною кількістю хімічної енергії у вигляді АТФ. Серце поглинає з крові коронарних судин близько 70% кисню. Синтез великої кількості АТФ забезпечується добре розвиненою структурою мітохондрій. Так, у лівому шлуночку мітохондрії займають близько 30–35% об'єму кардіоміоцитів. З огляду на це, ймовірно, вже на 14 добу кардіоміоцити пристосовуються до збільшеного вмісту активного кисню, і гомеостаз тканин серцевого м'яза поновлюється.

Слід зазначити, що під час реабілітаційного періоду на 20 добу досліду після дії ГХН у концентрації 5 мг/л простежується недостовірне (внаслідок значного відхилення вибірки даних від середнього арифметичного) зниження активності СОД на 32%, а активність КАТ залишається достовірно підвищеною на 30%, тоді як вміст вторинного продукту ПОЛ залишається в межах контрольних значень (рис. 1–3). Ймовірно, при відновленні природних умов функціонування серцевого м'яза, тобто при припиненні введення в організм окиснювальної сполуки, відбувається накопичення  $\text{H}_2\text{O}_2$ , який елімінується каталазою.

При введенні в організм птиці розчину ГХН концентрацією 10 мг/л на 7 добу досліду, на фоні підвищення вмісту вторинного продукту ліпопероксидації (на 83%

щодо контролю), активність ключового ферменту антиоксидантної системи – СОД – залишилася на рівні контрольних значень, проте активність КАТ зростала на 69%. Але вже на 14 добу відбувається зниження вмісту ТБК-реагуючих продуктів до рівня контролю і різке зростання активностей СОД (на 51%) і КАТ (на 235%). На 20 добу досліду нами встановлено підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації (на 13%) і різкий спад активності ферменту СОД (на 67%) та КАТ (недостовірно на 7% щодо контролю), що свідчить про розбалансування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та виснаження клітин серцевого м'яза протягом 20 днів досліду за дії ГХН у концентрації 10 мг/л (рис. 1–3). Підтвердженням цього є дані літератури, що у фазах тривоги та виснаження при стресі відбувається зростання процесів ПОЛ [3] і зниження активності ферменту СОД, що пов'язано з ушкодженням мітохондрій – основного джерела  $O_2^{\cdot-}$  [6].

Отже, випоювання розчину ГХН концентрацією 10 мг/л спричиняє порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, є шкідливим для організму і безпосередньо для серцевого м'яза, тоді як концентрація 5 мг/л справляє менш негативний вплив на тканини серця, що узгоджується з попередніми нашими дослідженнями [4].

За даними літератури, гальмування оксидативних процесів у серці призводить до зниження рівня клітинної АТФ, а також до накопичення у цитозолі деяких потенційно шкідливих метаболітів ( $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ , вільні жирні кислоти, лактат, ацетил-кофермент-А, ацетил-карнітин, вільні радикали тощо), які порушують клітинний гомеостаз і руйнують внутрішньоклітинні структури. Наслідки метаболічних і електролітичних порушень виявляються нейрон- і електрофізіологічними змінами та порушенням скоротливості серця. Раптова реперфузія ішемізованого серця призводить до досить тяжких наслідків, таких як швидке набрякання клітин, вихід ферментів, значне зростання у цитозолі клітин умісту кальцію, підвищення утворення пероксиднорадикальних сполук (наприклад, у реакції за участю ксантинооксидази), що спричинює розрив сарколеми. Зважаючи на такі дані, ймовірно, не слід застосовувати розчини ГХН, які є джерелом додаткового кисню, для профілактики різноманітних патологічних станів серця, що пов'язано з утрудненням кровообігу, хоча відомо, що ГХН є потужним антикоагулянтом.

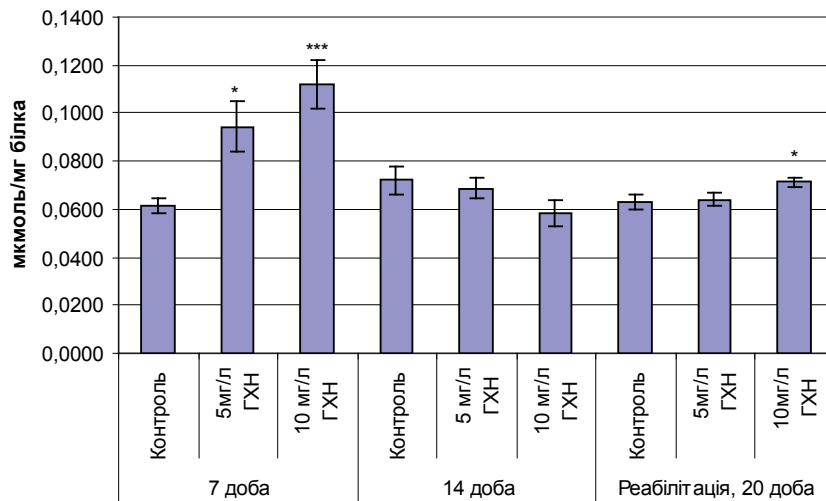


Рис. 1. Вміст ТБК-реагуючих продуктів у серцевому м'язі на 7, 14 та 20 доби досліду в контролі та за впливу ГХН у концентраціях 5 мг/л і 10 мг/л (\*- $p \geq 0,95$ ; \*\*\* -  $p \geq 0,999$ ).

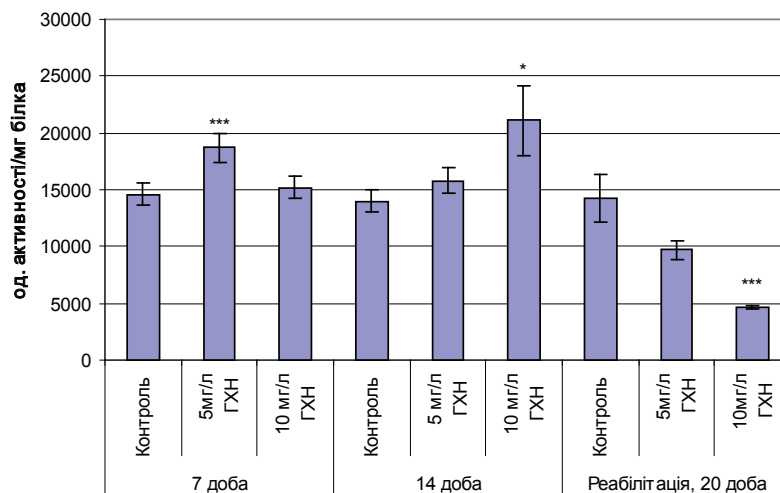


Рис. 2. Активність СОД у серцевому м'язі на 7, 14 та 20 доби дослідження в контролі та за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л і 10 мг/л (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

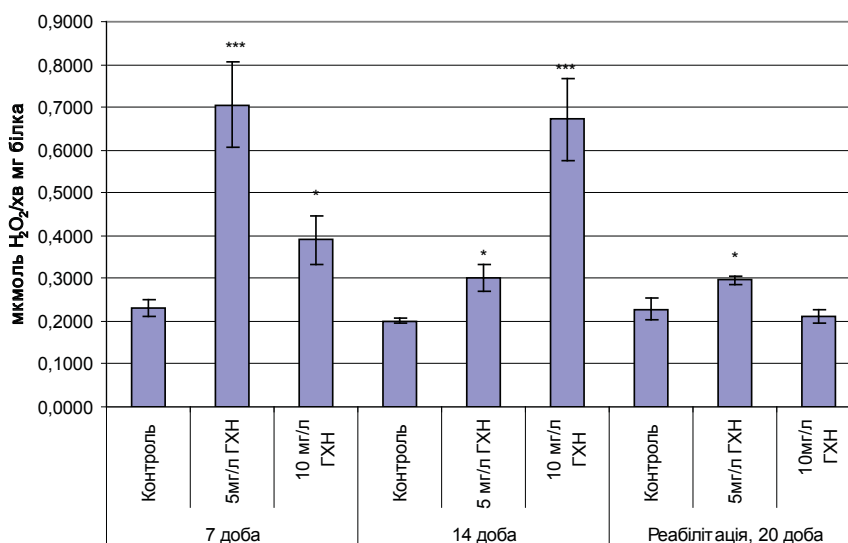


Рис. 3. Активність КАТ у серцевому м'язі на 7, 14 та 20 доби дослідження в контролі та за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л і 10 мг/л (\* –  $p \geq 0,95$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ).

Отже, ГХН концентрацією 5 мг/л викликає помірне зростання процесів ПОЛ у тканинах серця, причому на 14 і 20 доби дослідження інтенсивність процесів ліпопероксидації знижується до рівня контролю. ГХН у концентрації 10 мг/л зумовлює значне підвищення інтенсивності вільнорадикальних реакцій у серці на 7 добу його дії з подальшим незначним посиленням інтенсивності на 20 добу реабілітації.

Дія ГХН веде до зростання активності КАТ упродовж всього дослідження.

Супероксиддисмутазна активність у серцевому м'язі за впливу ГХН вибірково зростає на окремих етапах дослідження. Проте після реабілітаційного періоду активність СОД спадає.

За дії ГХН утворюється велика кількість  $H_2O_2$ , про що опосередковано свідчить зростання активності КАТ навіть після реабілітаційного періоду.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Ачох З. З., Авакмян В. А.* Влияние натрия гипохлорита на антиоксидантную систему при лечении распространенного гнойного перитонита // Современные наукоемкие технологии. 2004. № 4. С. 28.
2. *Білецький С. С., Білецький С. В.* Стан вільнорадикального окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків крові у хворих на нестабільну стенокардію і інфаркт міокарда // Буковинський мед. вісн. 2006. Т. 10. № 2. С. 11–14.
3. *Говта Л.* Загальний механізм патології // Донецький вісн. наук. тов-ва ім.Т. Шевченка. 2008. Т. 20. С. 6–24.
4. *Головчак Н. П., Коцюмбас Г. І., Бішко О. І., Санагурський Д. І.* Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій // Фізика живого. 2010. № 2. С. 146–152.
5. *Головчак Н. П., Коцюмбас Г. І., Санагурський Д. І.* та ін. Зміна інтенсивності ліпопероксидації й активності ферментів системи антиоксидантного захисту у тканині нирок птиці за дії гіпохлориту натрію різних концентрацій // Біологічні студії. 2011. Т. 5. № 1. С. 77–84.
6. *Дворченко К., Савко У., Степанов Ю.* Активність супероксиддисмутази та каталази у мітохондріях загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка шурів за умов експериментальної виразки // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. біол. 2010. Т. 56. С. 24–25.
7. *Зинь А. Р., Головчак Н. П., Мандзинець С. М.* та ін. Сумарна активність  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -АТФази мембран зародків в'юна упродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2012. № 2. С. 39–44.
8. *Зинь А. Р., Головчак Н. П., Санагурський Д. І.* та ін. Активність  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФази мембран зародків в'юна впродовж раннього ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію // Біологічні студії. 2011. Т. 5. № 3. С. 59–66.
9. *Зинь А.Р., Головчак Н.П., Санагурський Д.І.* та ін. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу // Біологічні студії. 2012. Т. 6. № 1. С. 67–76.
10. *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г.* Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.
11. *Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. М.* Простой и чувствительной метод определения СОД, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы медицинской химии. 1990. Т. 36. № 2. С. 88–91.
12. *Коцюмбас Г. І.* Морфофункціональні зміни у головному мозку шурів, поросят і курей за експериментального Т-2 токсикозу та впливу розчинів натрію гіпохлориту: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.02. Біла Церква, 2008. 40 с.
13. *Коцюмбас Г. І.* Т-2 токсикоз птиці: метод. рекомендації. К., 2004. 13 с.
14. *Лопатин С. В.* Опыт применения низкоконцентрированных растворов гипохлорита натрия в лечении диабетических поражений нижних конечностей, а также некоторых других заболеваний // МИС-РТ. 2005. № 36(2). С. 24–31.
15. *Малов А. В., Марченко А. В., Селиванов Е. А.* Влияние непрямого электрохимического окисления крови на некоторые показатели гомеостаза у хирургических больных // Вестн. хирургии имени И.И. Грекова. 2007. Т. 166. № 2. С. 44–46.
16. *Мальцева Л. А., Усенко Л. В., Мосенцев Н. Ф.* и др. Влияние непрямого электрохимического окисления крови на кинетику медиаторов воспаления у септических больных с полиорганной недостаточностью // Вестн. интенсивной терапии. 2000. №1. С. 25–28.
17. *Меньшикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К.* и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.

18. Недогода В. В., Скворцова З. С., Свириденко О. Ю. и др. Гипохлорит натрия – перспективный метод лечения больных хроническими диффузными заболеваниями печени // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2002. № 2–3. С. 88.
19. Нестерова Л. А., Смурова Е. А., Манухин Б. Н. Характеристика связывания специфического блокатора [<sup>3</sup>H]-хинуклидинилбензилата М-холинорецепторами мембран коры мозга крыс // Доклады Академии наук. 1995. Т. 343. № 2. С. 268–271.
20. Огоновський Р. З. Функціональний стан прооксидантної та антиоксидантної систем дермальних тканин експериментальних тварин в динаміці розвитку гострої адреналінової міокардіодистрофії // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2010. № 2. С. 17–24.
21. Петров С. И. Применение гипохлорита натрия в клинической токсикологии: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.20. М., 2005. 205 с.
22. Тимирбулатов Р. Р., Селезнев Е. И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабораторное дело. 1981. № 4. С. 209–211.
23. Aubut V., Pommel L., Verhille B. et al. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite // OOOOE. 2010. N 109(2). P. 120–125.
24. Clarkson R. M., Moule A. J., Podlich H. M. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions // Australian Dental J. 2001. N 46(4). P. 269–276.
25. Evens Emmanuel, Gerard Keck, Jean-Marie Blanchard et al. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater // Environment International. 2004. N 30. P. 891–900.
26. Jean-Marie Laplace, Magalie Thuault, Axel Harlike et al. Sodium Hypochlorite Stress in *Enterococcus faecalis*: Influence of Antecedent Growth Conditions and Induced Proteins // Current Microbiol. 1997. N 34. P. 284–289.
27. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. N 193(1). P. 404–415.

Стаття: надійшла до редакції 01.11.12

доопрацьована 23.11.12

прийнята до друку 25.01.13

## FREE-RADICAL PROCESSES IN THE BIRD MYOCARDIUM AT THE ACTIONS OF SODIUM HYPOCHLORITE

N. Holovchak

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: biolog@franko.lviv.ua*

Researches conducted on the hen domestic breeds Leggorn. It is set that the action of hypochlorite of natrium results in the increase of processes of lipoperoxidation in cardiac to the muscle cells to 7 twenty-four hours to experience. However already on 14 time of action of sodium hypochlorite intensity of processes of peroxidation of lipid returns to the level of control. It is well-proven that for the actions of the investigated substance there is activating of enzymes of the antioxidant system: superoxide dismutase and catalase. Activity of superoxide dismutase some goes down in times of rehabilitation period, while activity of catalase is higher to control on the draught of all experience. Thus, the action of sodium hypochlorite conduces to violation of prooxidant-antioxidant homoeostasis in myocardium.

*Keywords:* peroxidation of lipid, sodium hypochlorite, myocardium, superoxide dismutase, catalase.

## СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ ПТИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

Н. Головчак

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: biolog@franko.lviv.ua*

Исследования проводили на курах домашних породы Леггорн. Установлено, что действие гипохлорита натрия приводит к росту процессов липопероксидации в клетках сердечной мышцы к 7 суткам опыта. Однако уже на 14 сутки действия гипохлорита натрия интенсивность процессов перекисного окисления липидов возвращается до уровня контроля. Доказано, что при действии исследуемого вещества происходит активация ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы и каталазы. Активность супероксиддисмутазы за время реабилитационного периода снижается, тогда как активность каталазы выше контроля на протяжении всего опыта. Следовательно, действие гипохлорита натрия ведёт к нарушению прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в сердечной мышце.

*Ключевые слова:* перекисное окисление липидов, гипохлорит натрия, сердечная мышца, супероксиддисмутазы, каталаза.

**ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ПЕЧІНКИ КРОЛІВ ЗА  
ГОСТРОГО АРГІНІНОВОГО ПАНКРЕАТИТУ І ЙОГО КОРЕКЦІЇ**

**О. Гопаненко**

*Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН України  
бул. Грушевського, 5, с. Оброшино, Пустомитівський р-н,  
Львівська обл. 81115, Україна  
e-mail: hopenenko@gmail.com*

Встановлено, що у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту за рахунок мононенасичених, поліненасичених і, особливо, насичених жирних кислот зростає вміст жирних кислот загальних ліпідів. Вміст жирних кислот загальних ліпідів у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зростає з боку насичених і поліненасичених жирних кислот. За вказаних вище умов рівень жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів підвищується з боку мононенасичених і поліненасичених жирних кислот. У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту й, особливо, за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зростає вміст насичених (12 і менше атомів Карбону в ланцюгу) і ненасичених (18 і більше атомів Карбону в ланцюгу) жирних кислот, яким притаманна антибактеріальна й антигрибкова активність.

*Ключові слова:* жирнокислотний склад, корекція, плазма крові, печінка, панкреатит.

У розщепленні ліпідів і жирних кислот в організмі людини та тварин велику роль відіграє підшлункова залоза [9]. Остання активно екскретує ліпазу у просвіт травного каналу [10]. Крім того, підшлункова залоза через глюкагон та інсулін впливає на рівень глікогену в печінці й глюкози у крові [5]. До того ж інсулін сприяє синтезу із глюкози жирних кислот у тканинах організму людини і тварин [3].

На функціонування підшлункової залози та секрецію нею ензимів і гормонів мають вплив аліментарні й хімічні фактори [12]. Зокрема, одноразовим інтраперитональним введенням L-аргініну в лабораторних тварин можна змоделювати гострий панкреатит [2]. Слід відзначити, що в основі патогенезу гострого панкреатиту людини і тварин лежить пошкодження залози власними ензимами та розвиток синдрому системної запальної відповіді [14].

Дані літератури вказують на те, що за гострого аргінінового панкреатиту в плазмі крові шурів змінюється концентрація окремих класів ліпідів. Насамперед у плазмі крові наведених вище тварин зростає вміст етерифікованого та неетерифікованого холестеролу [7]. Видно, вміст холестеролу в плазмі крові лабораторних тварин зростає внаслідок меншого його перетворення в печінці у жовчні кислоти.

Метою нашої роботи було встановити жирнокислотний склад загальних ліпідів плазми крові та печінки кролів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції лляною олією.

### Матеріали та методи

Дослід проведено в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на трьох групах (по 5 тварин у кожній) кролів-самців породи Сірий велетень живою масою 3,8–4,0 кг. Кролі контрольної, I та II дослідних груп протягом одного місяця отримували стандартний гранульований комбікорм. Однак за цей період кролі II дослідної групи щоденно отримували комбікорм із нанесеною на нього лляною олією, багатою на лінолеву та, особливо, ліноленову кислоти, в розрахунку 1 мл/кг живої маси. Крім того, за п'ять днів до завершення дослідження для моделювання гострого панкреатиту кролям I та II дослідних груп інтраперитонеально у складі 2 мл фізіологічного розчину одноразово ввели L-аргінін у дозі 4 г/кг живої маси [2]. У кінці дослідження піддослідні кролі під ефірним наркозом були забиті шляхом декапітації. Матеріалом для досліджень слугували зразки крові та печінки.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Ліпіди із плазми крові та печінки виділяли методом екстракції хлороформ-метанольною сумішшю (2:1 за об'ємом). Виділені ліпіди омиляли. Отримані жирні кислоти метилювали метанолом у присутності хлористого ацетилю. Чисті метилові ефіри жирних кислот, виділені із загальних ліпідів, вводили у випаровувач газорідного хроматографічного апарата [8].

Для досліджень метилових ефірів жирних кислот використано газорідний хроматографічний апарат “Chrom-5” (Laboratorní přístroje, Praha), який має нержавіючу сталеву колонку довжиною 3700 мм із внутрішнім діаметром 3 мм. Колонку заповнювали Chromaton-N-AW, зернінням 0,120–0,140 мм, силанізованим гексаметилдисилізаном і покритим полідіетиленглікольадипінатом у кількості 10%.

Ідентифікацію піків на хроматограмі проводили методом розрахунку “вуглецевих чисел”, а також використанням хімічно чистих, стандартних, гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот. Розрахунок вмісту окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу здійснювали за формулою, яка включає в себе поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти [8]. Поправкові коефіцієнти знаходили як відношення площ піків гептадеканової (внутрішній стандарт) і досліджуваної кислоти за концентрації 1:1 в ізотермічному режимі роботи газорідного хроматографічного апарата.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [6]. Виразували середні арифметичні значення ( $M$ ), похибку середнього арифметичного ( $m$ ) та вірогідність різниць між досліджуваними середньоарифметичними значеннями ( $p$ ). Зміни вважали вірогідними за  $p < 0,05$ . Для розрахунків використано спеціальну комп'ютерну програму Microsoft Excel for Windows XP.

### Результати і їхнє обговорення

Встановлено, що за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з контролем, зростає вміст жирних кислот загальних ліпідів у плазмі крові кролів (табл. 1).

З табл. 1 видно, що це відбувається за рахунок мононенасичених, поліненасичених і, особливо, насичених жирних кислот. При цьому зменшується ненасиченість загальних ліпідів плазми крові кролів за наведеного вище захворювання. На це вказує індекс ненасиченості ліпідів, який становить 0,23 проти 0,21 у контролі.



Таблиця 1

Вміст жирних кислот загальних ліпідів у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції згодовуваною лляною олією, г<sup>-3</sup>/л (M±m, n=5)

Жирні кислоти і їх код	Інтактні кролі	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом, корегованим згодовуваною лляною олією
Каприлова, 8:0	2,1±0,11	2,8±0,11***	2,3±0,13
Капринова, 10:0	4,3±0,11	5,0±0,10***	4,5±0,09
Лауринова, 12:0	6,9±0,12	7,6±0,11***	7,1±0,13
Міристинова, 14:0	10,7±0,58	12,7±0,14***	12,8±0,14***
Пентадеканова, 15:0	6,4±0,15	7,0±0,07***	7,2±0,10***
Пальмітинова, 16:0	142,5±5,99	170,9±2,29***	169,3±1,91***
Пальмітоолеїнова, 16:1	20,1±0,73	19,4±0,72	21,2±0,65
Стеаринова, 18:0	185,5±4,29	202,7±1,41***	189,1±4,17
Олеїнова, 18:1	739,9±8,96	779,8±3,70***	745,4±8,64
Лінолева, 18:2	280,8±7,19	287,5±7,33	287,2±7,38
Ліноленова, 18:3	151,7±3,57	156,7±3,51	178,8±5,64***
Арахінова, 20:0	5,8±0,19	6,9±0,18***	6,1±0,17
Ейкозаєнова, 20:1	3,8±0,16	4,9±0,21***	4,0±0,17
Ейкозадієнова, 20:2	5,8±0,14	6,0±0,13	6,4±0,09***
Ейкозатриєнова, 20:3	40,6±1,24	43,7±1,29	38,0±1,26
Ейкозатетраєнова (арахідонова), 20:4	117,0±1,65	120,7±1,59	121,7±1,94
Ейкозапентаєнова, 20:5	34,8±1,31	37,7±1,29	44,1±1,67***
Докозадієнова, 22:2	24,8±1,39	28,0±1,27	27,1±1,08
Докозатриєнова, 22:3	27,8±1,33	31,3±1,28	36,3±1,56***
Докозатетраєнова, 22:4	60,7±1,82	66,0±1,84	65,5±2,07
Докозапентаєнова, 22:5	108,7±3,09	116,5±3,02	126,3±2,98***
Докозагексаєнова, 22:6	128,8±3,44	134,9±3,27	147,7±2,91***
Загальний вміст жирних кислот	2109,5	2248,8	2248,5
У т. ч. насичені	364,4	415,8	398,6
мононенасичені	763,7	804,0	770,6
поліненасичені	981,4	1029,0	1079,3
ω-3/ω-6	0,85	0,86	0,98

**Примітка.** У табл. 1 і 2 \* – p<0,02–0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001.

Вміст насичених жирних кислот у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту зростає за рахунок жирних кислот із парною та непарною кількістю карбонових атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родини ω-9 та поліненасичених жирних кислот родин ω-3 і ω-6. Одночасно в їх плазмі крові зростає вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних лінолевої та ліноленової кислот.

Вказані вище зміни вмісту насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот загальних ліпідів можуть свідчити про деяке нагромадження ліпідів у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту. Можна вважати, що це є наслідком вірогідного зростання вмісту етерифікованого та, особливо, неетерифікованого холестеролу в плазмі крові (відповідно 1,61±0,012 і 0,40±0,011 проти 1,32±0,102 і 0,32±0,015 г/л у контролі, p<0,01–0,001). Такий процес є дуже небажаним, оскільки провокує відкладання останнього на стінках кровоносних судин, а отже, і серцево-судинні захворювання.

Встановлено, що під впливом згодовуваної лляної олії у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, концентрація жирних кислот загальних ліпідів збільшується рівномірно за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот (індекс ненасиченості ліпідів становить 0,22 проти 0,21 у контролі). Причому концентрація насичених жирних кислот збільшується за рахунок жирних кислот із парною та непарною кількістю карбонових атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин ω-7 і ω-9 та поліненасичених жирних кислот родин ω-3

і  $\omega$ -6. При цьому зростає відношення поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 до поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -6 (табл. 1).

Відзначені зміни концентрації насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот можуть вказувати, з одного боку, на деяке нагромадження ліпідів, а з іншого, враховуючи те, що не змінюється концентрація триацилгліцеролів, неестерифікованого й естерифікованого холестеролу (відповідно  $0,54 \pm 0,012$ ,  $0,31 \pm 0,024$  і  $1,27 \pm 0,100$  проти  $0,52 \pm 0,014$ ,  $0,32 \pm 0,015$  і  $1,32 \pm 0,102$  г/л у контролі,  $p < 0,5$ ), – на нормалізацію ліпідного обміну в плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією.

Встановлено, що за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, є тенденція до підвищення рівня жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот (індекс ненасиченості ліпідів становить 0,20 проти 0,19 у контролі) (табл. 2).

Слід відзначити, що рівень насичених жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, підвищується за рахунок жирних кислот із парною та непарною кількістю карбонових атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин  $\omega$ -7 і  $\omega$ -9 та поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6. Одночасно в їхній печінці зменшується вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних ліноленової кислоти.

Таблиця 2

Вміст жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекції згодовуваною лляною олією, г/кг натуральної маси ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Жирні кислоти і їх код	Інтактні кролі	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом, корегованим згодовуваною лляною олією
Каприлова, 8:0	$0,02 \pm 0,004$	$0,06 \pm 0,005^{***}$	$0,03 \pm 0,004$
Капринова, 10:0	$0,05 \pm 0,004$	$0,08 \pm 0,004^{***}$	$0,07 \pm 0,004^{***}$
Лауринова, 12:0	$0,07 \pm 0,009$	$0,12 \pm 0,007^{***}$	$0,09 \pm 0,009$
Міристинова, 14:0	$0,12 \pm 0,010$	$0,18 \pm 0,011^{***}$	$0,14 \pm 0,009$
Пентадеканова, 15:0	$0,06 \pm 0,004$	$0,09 \pm 0,005^{***}$	$0,07 \pm 0,004$
Пальмітинова, 16:0	$1,19 \pm 0,046$	$1,36 \pm 0,026^{***}$	$1,23 \pm 0,045$
Пальмітоолеїнова, 16:1	$0,22 \pm 0,011$	$0,25 \pm 0,012$	$0,26 \pm 0,013^*$
Стеаринова, 18:0	$1,74 \pm 0,048$	$1,99 \pm 0,033^{***}$	$1,54 \pm 0,022^{***}$
Олеїнова, 18:1	$6,42 \pm 0,112$	$6,91 \pm 0,107^{***}$	$6,81 \pm 0,079^{**}$
Лінолева, 18:2	$3,28 \pm 0,070$	$3,58 \pm 0,063^{***}$	$3,62 \pm 0,058^{***}$
Ліноленова, 18:3	$1,42 \pm 0,049$	$1,71 \pm 0,047^{***}$	$1,90 \pm 0,102^{***}$
Арахінова, 20:0	$0,05 \pm 0,004$	$0,08 \pm 0,005^{***}$	$0,04 \pm 0,004$
Ейкозаєнова, 20:1	$0,04 \pm 0,004$	$0,05 \pm 0,004$	$0,06 \pm 0,006^*$
Ейкозадієнова, 20:2	$0,05 \pm 0,004$	$0,07 \pm 0,002^{***}$	$0,06 \pm 0,003$
Ейкозатриєнова, 20:3	$0,57 \pm 0,017$	$0,60 \pm 0,016$	$0,60 \pm 0,014$
Ейкозатетраєнова (арахідонова), 20:4	$1,31 \pm 0,045$	$1,48 \pm 0,021^{***}$	$1,35 \pm 0,043$
Ейкозапентаєнова, 20:5	$0,38 \pm 0,016$	$0,41 \pm 0,017$	$0,51 \pm 0,025^{***}$
Докозадієнова, 22:2	$0,27 \pm 0,012$	$0,30 \pm 0,012$	$0,29 \pm 0,012$
Докозатриєнова, 22:3	$0,29 \pm 0,012$	$0,32 \pm 0,013$	$0,34 \pm 0,005^{***}$
Докозатетраєнова, 22:4	$0,65 \pm 0,018$	$0,69 \pm 0,016$	$0,71 \pm 0,018^*$
Докозапентаєнова, 22:5	$1,22 \pm 0,084$	$1,33 \pm 0,082$	$1,64 \pm 0,065^{***}$
Докозагексаєнова, 22:6	$1,53 \pm 0,064$	$1,62 \pm 0,053$	$2,01 \pm 0,084^{***}$
Загальний вміст жирних кислот	20,97	23,28	23,38
У т. ч. насичені	3,31	3,96	3,22
мононенасичені	6,68	7,20	7,12
поліненасичені	10,98	12,12	13,04
$\omega$ -3/ $\omega$ -6	0,79	0,80	0,97

За гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, порівняно з інтактними кролями, також є тенденція до підвищення рівня жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів (табл. 2). Вміст жирних кислот загальних ліпідів у їхній печінці зростає за рахунок мононенасичених і, особливо, поліненасичених жирних кислот (індекс ненасиченості ліпідів становить 0,16 проти 0,19 у контролі).

Вміст мононенасичених жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, порівняно з інтактними кролями, зростає з боку жирних кислот родин  $\omega$ -7 і  $\omega$ -9, а поліненасичених – за рахунок жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6. Одночасно у печінці наведених вище кролів підвищується відношення поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 до поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -6 (табл. 2). При цьому в їхній печінці зменшується вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних лінолевої кислоти.

Зміни рівня жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту спостерігаються на тлі зростання у ній вмісту неетерифікованого та етерифікованого холестеролу (відповідно  $4,90 \pm 0,152$  і  $10,34 \pm 0,041$  проти  $4,37 \pm 0,042$  і  $9,52 \pm 0,269$  г/кг у контролі,  $p < 0,001$ ), а за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, – на фоні зменшення концентрації неетерифікованого холестеролу ( $4,17 \pm 0,019$  проти  $4,37 \pm 0,042$  г/кг у контролі,  $p < 0,001$ ). Наведене вище може вказувати на нормалізацію ліпідного та жирнокислотного обміну в печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією.

Печінка несе відповідальність за синтез ліпопротеїнів, які надходять у кровоносне русло [4]. Головною складовою ліпопротеїнів плазми крові та печінки є фосфоліпіди [1]. Нами встановлено, що за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з контролем, у плазмі крові та печінці кролів є тенденція до зменшення вмісту фосфоліпідів (відповідно  $1,36 \pm 0,069$  і  $18,02 \pm 0,881$  проти  $1,46 \pm 0,076$  г/л і  $18,14 \pm 0,878$  г/кг,  $p < 0,5$ ). При цьому в жирнокислотному складі фосфоліпідів їх плазми крові та печінки зростає відносний вміст насичених і мононенасичених жирних кислот, але зменшується – поліненасичених. Наведене вище призводить до погіршення транспортної функції ліпопротеїнів плазми крові.

За гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, порівняно з контролем, у плазмі крові та печінці кролів є тенденція до підвищення рівня фосфоліпідів (відповідно  $1,53 \pm 0,077$  і  $18,67 \pm 0,819$  проти  $1,46 \pm 0,076$  г/л і  $18,14 \pm 0,878$  г/кг,  $p < 0,5$ ). При цьому в жирнокислотному складі фосфоліпідів їх плазми крові та печінки зростає відносна кількість поліненасичених жирних кислот, але зменшується – мононенасичених. Вказаний вище вміст фосфоліпідів і їх жирнокислотний склад сприяє покращенню транспортної функції ліпопротеїнів плазми крові.

Дані літератури вказують на те, що насиченим (12 і менше атомів Карбону в ланцюгу) та ненасиченим (18 і більше атомів Карбону в ланцюгу) жирним кислотам притаманна антибактеріальна й антигрибкова активність [11]. Зокрема, найбільш виражену антимікробну активність виявляють жирні кислоти, які є у складі фосфоліпідів [13]. Жирні кислоти, насамперед поліненасичені, фосфоліпідів мають також здатність активувати імунну систему людини і тварин [15].

Нами встановлено, що у плазмі крові ( $1829,1$  і  $1842,6$  проти  $1738,4$  г<sup>-3</sup>/л у контролі) та печінці ( $19,33$  і  $20,09$  проти  $17,58$  г/кг у контролі) кролів за гострого аргінінового панкреатиту і за його корекції згодовуваною лляною олією зростає вміст жирних кислот, які мають антимікробну активність. Видно, що антибактеріальна й антигрибкова активність жирних кислот плазми крові та печінки за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з контролем, зростає у відповідь на штучно викликане захворювання, а за гострого

аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, – підвищується за рахунок надходження жирних кислот із кормом.

У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту за рахунок мононенасичених жирних кислот родини  $\omega$ -9, поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 та, особливо, насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю карбонових атомів у ланцюгу зростає вміст жирних кислот загальних ліпідів.

Вміст жирних кислот загальних ліпідів у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зростає з боку насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю карбонових атомів у ланцюгу та поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6. За вказаних вище умов рівень жирних кислот загальних ліпідів у печінці кролів підвищується з боку мононенасичених жирних кислот родин  $\omega$ -7 і  $\omega$ -9 та поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6.

У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту не змінюється відношення поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 до поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -6. Вказане відношення у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зростає.

У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту й, особливо, за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зростає вміст насичених (12 і менше атомів Карбону в ланцюгу) і ненасичених (18 і більше атомів Карбону в ланцюгу) жирних кислот, яким притаманна антибактеріальна й антигрибкова активність.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дябога Ю. З., Рівіс Й. Ф. Жирнокислотний склад фосфоліпідів плазми крові, печінки і скелетних м'язів шурів за експериментальної гіперхолестеринемії та впливу риб'ячого жиру // Біологічні студії. 2011. Т. 5. № 2. С. 73–84.
2. Іващук І. О., Давиденко І. С., Морар І. К. Морфологічне та біохімічне обґрунтування деяких способів моделювання гострого деструктивного панкреатиту на дрібних лабораторних тваринах // Клінічна та експериментальна патологія. 2011. Т. 38. №4. С. 40–45.
3. Іскра Р. Я. Вміст інсуліну і ліпідів у плазмі крові свиней при підвищенні рівня хрому в раціоні // Біологія тварин. 2009. Т. 11. № 1–2. С. 176–179.
4. Калачнюк Л., Мельничук Д., Калачнюк Г. Молекулярні механізми регулювання синтезу, метаболізму й секреції ліпопротеїнів у клітинах печінки // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Т. 38. С. 3–20.
5. Копельнюк В., Галенова Т., Кот Л. та ін. Роль інсуліну у регуляції вуглеводного та ліпідного обміну за умов метаболічного синдрому // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. біол. 2010. Т. 56. С. 15–16.
6. Лопач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Мартон, 2001. 408 с.
7. Привроцька І. Б., Покотило О. С. Жирнокислотний склад ліпідів крові за гострого аргінінового панкреатиту у шурів // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. 2011. Т. 4. С. 19–24.
8. Рівіс Й. Ф., Федорук Р. С. Кількісні хроматографічні методи визначення окремих ліпідів і жирних кислот у біологічному матеріалі. Львів: Сполом, 2010. 109 с.
9. Чернобровий В. М., Феджага І. В. Роль шлункової секреції в патогенезі хронічного панкреатиту // Буковинський мед. вісник. 2008. Т. 12. № 1. С. 156–162.
10. Шманько В. В., Мерецька І. В. Клініко-фармакологічні аспекти застосування ферментних препаратів у гастроентерології // Ліки України. 2008. Т. 119. № 3. С. 82–84.
11. Chandrasekaran M., Senthilkumar A., Venkatesalu V. Antibacterial and antifungal efficacy of fatty acid methyl esters from the leaves of *Sesuvium portulacastrum* L. // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2011. Vol. 15. N 7. P. 775–780.

12. Konturek S. J., Pepera J., Zabielski K. et al. Brain-gut axis in pancreatic secretion and appetite control // *J. Physiol. Pharmacol.* 2003. Vol. 54. N 3. P. 293–317.
13. Pohl C. H., Kock J. L. F., Thibane V. S. Antifungal free fatty acids: A Review // *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Formatex. Microbiology Series.* 2011. Vol. 1. N 3. P. 61–71.
14. Raraty M. G. T., Murphy J. A., Mcloughlin E. et al. Mechanisms of acinar cell injury in acute pancreatitis // *Scandinavian J. of Surgery.* 2005. Vol. 94. P. 89–96.
15. Yaqoob P. Fatty acids as gatekeepers of immune cell regulation // *Trends in Immunology.* 2003. Vol. 24. N 12. P. 639–645.

*Стаття: надійшла до редакції 11.02.13*

*доопрацьована 18.03.13*

*прийнята до друку 20.03.13*

## **FATTY ACID COMPOSITION OF THE BLOOD PLASMA AND LIVER OF RABBITS WITH ACUTE ARGININE PANCREATITIS AND ITS CORRECTION**

**О. Гопаненко**

*Institute of Agriculture of Carpathian Region, NAAS of Ukraine  
5, Hrushevskiy St., Obroshyno, Lviv region 81115, Ukraine  
e-mail: hopenenko@gmail.com*

It was found that the content of fatty acids of total lipids increased by monounsaturated, polyunsaturated and especially saturated fatty acids in the blood plasma and liver of rabbits with acute arginine pancreatitis. The content of fatty acids of total lipids increased by saturated and polyunsaturated fatty acids in the blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis corrected by using linseed oil. In the above circumstances the level of fatty acids of total lipids increased in the liver of rabbits by monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. The fatty acids which have antibacterial and antifungal activity increases in the blood plasma and liver of rabbits with acute arginine pancreatitis and especially with acute arginine pancreatitis corrected by using linseed oil.

*Keywords:* fatty acid composition, correction, blood plasma, liver, pancreatitis.

## **ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ ПРИ ОСТРОМ АРГИНИНОВОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ**

**О. Гопаненко**

*Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН Украины  
ул. Грушевского, 5, с. Оброшино, Пустомытовский р-н,  
Львовская обл. 81115, Украина  
e-mail: hopenenko@gmail.com*

Установлено, что в плазме крови и печени кроликов при остром аргининовом панкреатите за счет мононенасыщенных, полиненасыщенных и, особенно, насыщенных жирных кислот возрастает содержание жирных кислот общих липидов. Содержание жирных кислот общих липидов в плазме крови кроликов при остром аргининовом панкреатите, скорректированном скармливанием льняного масла,

возрастает со стороны насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот. При указанных выше условиях уровень жирных кислот общих липидов в печени кроликов повышается со стороны мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот. В плазме крови и печени кроликов при остром аргининовом панкреатите и, особенно, при остром аргининовом панкреатите, скорректированном скормливанием льняного масла, возрастает содержание насыщенных (12 и менее атомов Карбона в цепи) и ненасыщенных (18 и более атомов Карбона в цепи) жирных кислот, обладающих антибактериальной и антигрибковой активностью.

*Ключевые слова:* жирнокислотный состав, коррекция, плазма крови, печень, панкреатит.

## КИСЕНЬТРАНСПОРТНА ФУНКЦІЯ ГЕМОГЛОБІНУ ПРИ ВВЕДЕННІ АГМАТИНУ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

**М. Люта, І. Ференц, В. Бурда, А. Федорович, К. Дудок, Н. Сибірна**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: lyutam@gmail.com*

Досліджено вплив агматину – селективного інгібітора NO-синтази на стан системи транспортування кисню та спектральні характеристики гемоглобіну шурів за умов експериментального цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином. У разі внутрішньом'язового введення агматину тваринам зі стрептозотоциновим діабетом у концентрації 20 мг/кг маси тіла упродовж 14 днів спостерігали зміни у спорідненості гемоглобіну до кисню. А саме, відбувалося зміщення кривої дисоціації оксигемоглобіну вправо, зростання  $P_{50}$  та зниження рівня лужності гемоглобіну. Також встановлено, що введення агматину викликає зміни у електронних спектрах гемоглобіну в ділянці смуги Сорє (350–450 нм). Показано, що агматин як ендogenous регулятор синтезу NO може виявляти свій вплив на спорідненість гемоглобіну до кисню, спектральні характеристики та кисеньтранспортну функцію гемоглобіну, змінюючи рівень утворення оксиду азоту і процеси депонування NO шляхом утворення S-нітросо- та нітрозилгемоглобіну.

*Ключові слова:* гемоглобін, крива дисоціації оксигемоглобіну, спектри поглинання оксигемоглобіну, агматин, експериментальний цукровий діабет.

Гемоглобін в організмі представлений гетерогенною родиною білків, що містять як простетичну групу протопорфірин IX (гем). Крім транспорту кисню, вони виконують цілу низку важливих функцій: зв'язування оксиду азоту і сульфідів, взаємодію з активними формами кисню та нітрогену, сенсорні функції та інші. За останні роки також значно розширилися уявлення про фізіологічну роль гемоглобінів у живих організмах [10, 34].

У тварин відомі такі типи гемумісних білків, які задіяні у кисеньтранспортній функції: гемоглобіни крові та гемолімфи, що переносять кисень, міоглобіни скелетних м'язів і серця, які беруть участь у транспорті й депонуванні кисню, а також недавно виявлені цитоглобіни та нейроглобіни [19, 25, 27].

Існує велика кількість публікацій, у яких показано, що первинна функція гемоглобінів, ймовірно, полягала у захисті клітин від нітративного стресу і модулювання сигнальної функції NO. Наприклад, спільною для основних груп відомих гемоглобінів є реакція перетворення NO в  $NO_3^-$ . Гемоглобіни також здатні взаємодіяти з активними формами кисню та нітрогену, тобто функціонувати в умовах оксидативного і нітративного стресів, що особливо важливо при дії на живі організми несприятливих чинників, а також за низки патологічних станів, зокрема, і цукрового діабету [10].

У результаті гіперглікемії відбувається посилення утворення вільних радикалів, зокрема, супероксид-аніона, який, взаємодіючи з іншими сполуками, може перетворюватися на гідроксил-радикал, гідроген пероксид і пероксинітрит ( $ONOO^-$ ) [28]. Пероксинітрит, у свою чергу, може викликати модифікації білків, розриви у ДНК, зміни у передачі сигналу

всередині клітини, перекисне окиснення ліпідів, індукцію загибелі клітин шляхом некрозу або апоптозу [28].

Відомо, що гемопротейни є мішенями впливу пероксинітриду. При взаємодії пероксинітриду з оксигемоглобіном і оксиміоглобіном відбувається утворення метформи гемопротейнів, пошкодження порфіринового кільця з подальшою деградацією гему. Деградація гему здійснюється у дві стадії та включає окиснення заліза гему і нітрування залишків тирозину в апоферменті. Нітрування гемоглобіну призводить до зміни конформації білка, в результаті якої гем виходить із гідрофобної кишені, й, отже, підвищується ймовірність його вивільнення і руйнування [17]. Нашими попередніми дослідженнями було показано, що за експериментального цукрового діабету (ЕЦД) у щурів підвищується швидкість нітрозилування гемоглобіну в системі *in vitro* та відбувається перерозподіл вмісту лігандних форм гемоглобіну в еритроцитах [11].

Поглинання світла метало- та хромопротейнами, зокрема гемоглобіном, у видимій ділянці спектра визначається простетичними групами. На межі між видимою і ультрафіолетовою ділянками спектра усі порфірини характеризуються інтенсивною смугою поглинання з максимумом у межах 400–418 нм – смуга *Soret*. Вона характеризує зміни електронної структури порфіринового кільця. За змінами положення та інтенсивності поглинання цієї смуги можна судити про конформаційні зміни у молекулі гемоглобіну на рівні гему. В умовах гіперглікемії оксидативно-нітративного стресу, що мають місце за умов цукрового діабету [28], гемоглобін зазнає глікозилювання, і, як наслідок, змінюється його спорідненість до кисню та порушується кисеньтранспортна функція в цілому. Кисеньзв'язуючі властивості крові відіграють важливу роль у фізіологічних механізмах збереження рівноваги між процесами вільнорадикального окиснення й антиоксидантного захисту в організмі. Зазначені властивості крові визначають характер і величину дифузії кисню до тканин залежно від потреб у ньому й ефективності його використання, вносять вклад у прооксидантно-антиоксидантний стан, виявляючи в різних ситуаціях антиоксидантні або прооксидантні властивості. На спорідненість гемоглобіну до кисню, крім 2,3-дифосфогліцерату, який є основним модулятором кисеньзв'язуючої функції цього гемопротейну, може впливати система L-аргінін/NO. Її вплив здійснюється через внутрішньоеритроцитарні механізми регуляції, кисеньзалежний характер утворення NO, регуляцію судинного тонуусу та дію пероксинітриду [7].

За умов гіперглікемії відбувається нагромадження у крові кінцевих продуктів неферментативного глікозилювання. При їх взаємодії з рецепторами на поверхні клітин відбувається активація цілого каскаду сигнальних шляхів, що призводить до зростання експресії та утворення великої кількості прозапальних цитокінів (ФНП- $\alpha$ , інтерлейкінів 1, та 6) [26]. У результаті в багатьох типах клітин відбувається експресія гена та підвищення кількості індукцибельної ізоформи NO-синтази (iNOS) і, як наслідок, – надсинтез NO [3].

З метою зниження надпродукції NO за умов досліджуваної патології в роботі було використано агматин (4-амінобутил-гуанідин) – продукт декарбоксилування L-аргініну. Оскільки агматин є аналогом L-аргініну за рахунок наявності гуанідинової групи, він виконує роль селективного конкурентного інгібітора iNOS ( $K_i=220$  мкМ).

Метою роботи було дослідити вплив агматину на стан системи транспортування кисню та спектральні характеристики гемоглобіну щурів за умов експериментального цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином.

#### Матеріали та методи

Досліди проводили на безпородних щурах-самцях масою 150–180 г ( $n=24$ ). Тварин утримували у стаціонарних умовах віварію за постійної температури на основному раціо-



ні. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно із Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України „Про захист тварин від жорстокого поводження”, „Загальними принципами роботи на тваринах”, затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погодженими з положеннями „Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, Франція, 1985). Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) у щурів викликали введенням стрептозотоцину фірми “Sigma” (США) з розрахунку 60 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози у крові, яку визначали з використанням набору реактивів “Філісіт-діагностика” (Україна).

Вплив агматину “Sigma” (США) оцінювали *in vivo*: при введенні внутрішньом’язово піддослідним тваринам у концентрації 20 мг/кг маси протягом 14 днів, починаючи з третього дня після індукції цукрового діабету. Дослідження проводили в таких групах тварин: 1. Контроль (К); 2. К + агматин; 3. Діабет (Д); 4. Д + агматин. Вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA<sub>1c</sub>) в еритроцитах визначали колориметричним методом [33]. Рівень гемоглобіну F, який характеризується значною стійкістю до дії лугів, визначали згідно з методом К. Зінгера у модифікації Н. Сибірної [13]. Спорідненість гемоглобіну до кисню визначали спектрофотометричним методом побудови кривих дисоціації оксигемоглобіну [8]. За допомогою побудованих кривих графічно визначали P<sub>50</sub>. Гемоліз еритроцитів проводили 3 мМ К<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>-фосфатним буфером, рН 7,36. Електронні спектри гемоглобіну реєстрували за допомогою спектрофотометра Specord M-40 (Німеччина). Результати обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента. Вірогідною вважалася різниця при P<0,05.

#### Результати і їхнє обговорення

Гемоглобін – перший білок, для якого було показано неферментативне глікозилювання [24]. Неферментативне глікозилювання – посттрансляційна реакція хімічної конденсації білка з моносахаридом. Вміст у крові глікозильованих білків підвищується у разі таких захворювань, як цукровий діабет, галактоземія, різноманітні мелітурії, атеросклероз та ін. [4]. Вміст у крові глікозильованого гемоглобіну (HbA<sub>1c</sub>) є маркером порушень вуглеводного обміну. В результаті проведених нами досліджень встановлено зростання вмісту HbA<sub>1c</sub> у щурів з ЕЦД порівняно з контролем (табл. 1), що узгоджується з літературними даними [4, 10]. Переважно сайтами глікозилювання гемоглобіну є аміногрупи N-кінцевої амінокислоти валіну обох β-ланцюгів, а також ε-аміногрупи деяких залишків лізину α- і β-ланцюгів глобіну [32]. Присутність молекули глюкози на N-кінцях β-ланцюгів глобіну робить неможливою взаємодію HbA<sub>1c</sub> з 2,3-дифосфоліцератом, який зумовлює зниження спорідненості гемоглобіну до кисню. Глікозильований гемоглобін має підвищену спорідненість до кисню, і збільшення його рівня може погіршити оксигенацію тканин [9, 22]. Але, з іншого боку, утворення HbA<sub>1c</sub> також може бути пристосувальною реакцією організму для збільшення кисневої ємності периферичної крові.

Процес зв’язування кисню гемоглобіном, кисеньтранспортну функцію крові та оксигенацію тканин у цілому наочно відображає крива дисоціації оксигемоглобіну (КДО), характер якої змінюється за різних патологій, а особливо тих, що характеризуються розвитком гіпоксичного стану тканин.

Універсальним показником ступеня спорідненості гемоглобіну до кисню (СГК) є P<sub>50</sub> – значення pO<sub>2</sub>, за якого гемоглобін вивільняє 50% зв’язаного кисню. Нами показано, що за ЕЦД при дослідженні гемоглобіну еритроцитів щурів відбувається зсув КДО вліво та зниження P<sub>50</sub> на 21% порівняно з контролем (рис. 1, табл. 1). За цих же умов спостерігали підвищення вмісту HbA<sub>1c</sub>, що вказує на інтенсифікацію процесів неферментативного глікозилювання білків за умов цукрового діабету. Рівень лужностійкого гемоглобіну зростав на 17%.

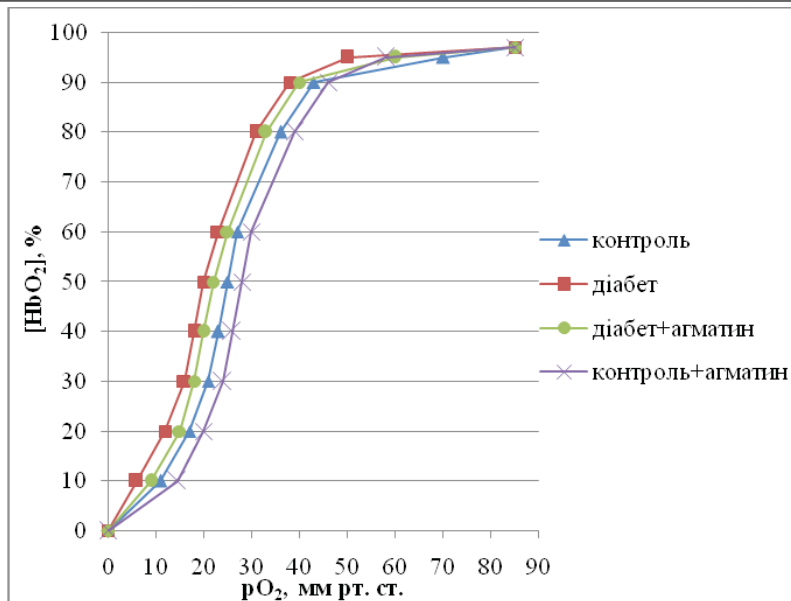


Рис. 1. Криві дисоціації оксигемоглобіну в нормі та за ЕЦД у разі впливу агматину.

Таблиця 1

Значення  $P_{50}$ , вміст глікозильованого і лужностійкого гемоглобіну ( $M \pm m$ ,  $n=8-10$ )

Варіант досліджу	Вміст HbA1c, %	$P_{50}$ , мм рт. ст.	Вміст лужностійкого гемоглобіну, %
Контроль	5,34±0,14	25,62±1,01	13,91±2,30
ЕЦД	8,4±0,41*	20,21±0,60*	17,88±1,08*
Контроль + агматин	4,86±0,62	28,31±1,45*	11,56±1,15
ЕЦД + агматин	7,23±0,33	22,46±0,90#	13,76±1,59#

**Примітки.** У табл. 1 і 2: \* – різниця вірогідна порівняно з контролем,  $P < 0,05$ ; # – різниця вірогідна порівняно з діабетом,  $P < 0,05$ .

Зміна положення КДО ліворуч свідчить про наявність в організмі гіпоксичного стану [31]. Як наслідок відбуваються зміни в системі зовнішнього дихання: гіпервентиляція легень, а в подальшому розвивається газовий алкалоз, що зумовлює підвищення рН усередині еритроцита [12, 20]. У підвищення кисневої ємності крові та спорідненості гемоглобіну до кисню вносить свій вклад збільшення вмісту метгемоглобіну та глікозильованих молекул цього білка. Це перешкоджає алостеричній регуляції кисеньтранспортної функції оксигемоглобіну з боку внутрішньоклітинних фосфатів, особливо 2,3-дифосфогліцерату [12, 30].

Крім того, в роботі [29] було виявлено значно вищий рівень нітрозогемоглобіну (SNO-Hb) в гемолізаті еритроцитів щурів з індукованим стрептозотоцином діабетом, порівняно з контролем, що дає підстави припускати участь глікозильованого гемоглобіну у процесах S-нітрозилування по амінокислотному залишку цистеїну в 93-му положенні  $\beta$ -ланцюга апопротеїну. Адитивний ефект таких посттрансляційних модифікацій гемоглобіну як глікозильування та S-нітрозилування може призводити до порушення функцій судин і розвитку діабетичної мікроангіопатії.

Введення інгібітора індукцйбельної NO-синтази агматину контрольним тваринам і тваринам з ЕЦД не викликало достовірних змін у вмісті HbA1c, проте впливало на

спорідненість гемоглобіну до кисню (рис. 1, табл. 1). В обох випадках відбувалося зміщення КДО, що реєструвалося за значенням  $P_{50}$ . У контрольних тварин, які отримували ін'єкції агматином, КДО зміщувалася праворуч і відбувалося збільшення  $P_{50}$  на 9,5%. Подібну тенденцію було відзначено нами у тварин з ЕЦД за дії агматину – зсув КДО вправо порівняно з діабетом, показник  $P_{50}$  зростає на 10,0% (табл. 1). Цікаво відзначити, що за умов дії агматину знижувався вміст лужностійкого гемоглобіну, що може бути одним із факторів, який викликає зміни у спорідненості гемоглобіну до кисню. Відомо, що різні сполуки NO з гемоглобіном можуть по-різному впливати на СГК всієї крові [5]. Метгемоглобін і SNO-Hb підвищують СГК, а нітрозилгемоглобін ( $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ ) її знижує; відповідно, перші зміщують КДО вліво, а останній – вправо. NO змінює СГК через перехід гемоглобіну з конформаційного стану R в T, підвищення рівня еритроцитарного метгемоглобіну, утворення нітрозотіолів і додаткових продуктів окиснення гемоглобіну [21]. Показник  $P_{50}$  SNO-Hb має значення менше 10 мм рт. ст. [18], а для  $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$  його значення становить  $39,6 \pm 1,5$  мм рт. ст. [23]. Вплив агматину як інгібітора NOS на положення КДО та значення  $P_{50}$ , ймовірно, обумовлений різними ефектами NO-похідних гемоглобіну на СГК.

NO взаємодіє з  $\text{O}_2^-$  із утворенням пероксинітриду (потужного окиснювача), який може бути модифікатором властивостей гемоглобіну. Існують два основні типи реакцій пероксинітриду з гемоглобіном: або з гемом, або з амінокислотними залишками поліпептидних ланцюгів глобіну (тирозином, цистеїном) [15]. Таким чином, гемоглобін може забезпечувати захист від пероксинітриду, виконуючи функцію внутрішньоклітинного антиоксиданта.

У видимій ділянці спектра поглинання оксигемоглобіну є три смуги з максимумами 415, 542–544, та 576–578 нм. На рис. 2 представлені спектри поглинання оксигемоглобіну в ділянці поглинання гему 350–450 нм (смуги Sore) з максимумом оптичної густини при довжині хвилі 415 нм за різних варіантів дослідів. За умов стрептозотоцинового діабету відбувається зниження інтенсивності максимуму поглинання на 11% (табл. 2). Це явище відоме в літературі як гіпохромний ефект [6]. Зниження оптичної густини може свідчити про часткове розгортання білкової глобули гемоглобіну [14]. Можливо, відбувається перерозподіл електронної густини навколо гемового компонента гемоглобіну.

Таблиця 2

Параметри електронних спектрів поглинання гемоглобіну  
за різних умов дослідів ( $M \pm m$ ,  $n=8-10$ )

Варіант дослідів	$\lambda$ , нм (пік Sore)	Інтенсивність поглинання, відн. од.
Контроль (К)	415	$1,483 \pm 0,058^*$
К+агматин	415	$1,582 \pm 0,097^*$
ЕЦД	415	$1,320 \pm 0,084^*$
ЕЦД+агматин	415	$1,511 \pm 0,055^{\#}$

За введення агматину контрольним тваринам спостерігається підвищення інтенсивності максимуму поглинання, зумовлене гемовим компонентом оксигемоглобіну (пік Sore) щодо спектра гемоглобіну контрольних тварин на 6,7%. Така ж картина відзначена нами при введенні інгібітора NO-синтази щурам з ЕЦД – агматин викликає підвищення інтенсивності поглинання у максимумі смуги Sore на 11,5% (гіперхромний ефект) щодо гемоглобіну тварин, хворих на цукровий діабет

Поглинання світла хромопротеїнами, зокрема, гемоглобіном, у видимій ділянці спектра визначається простетичними групами. Тому для аналізу спектрів поглинання гемоглобіну варто розглянути деякі закономірності спектральних характеристик

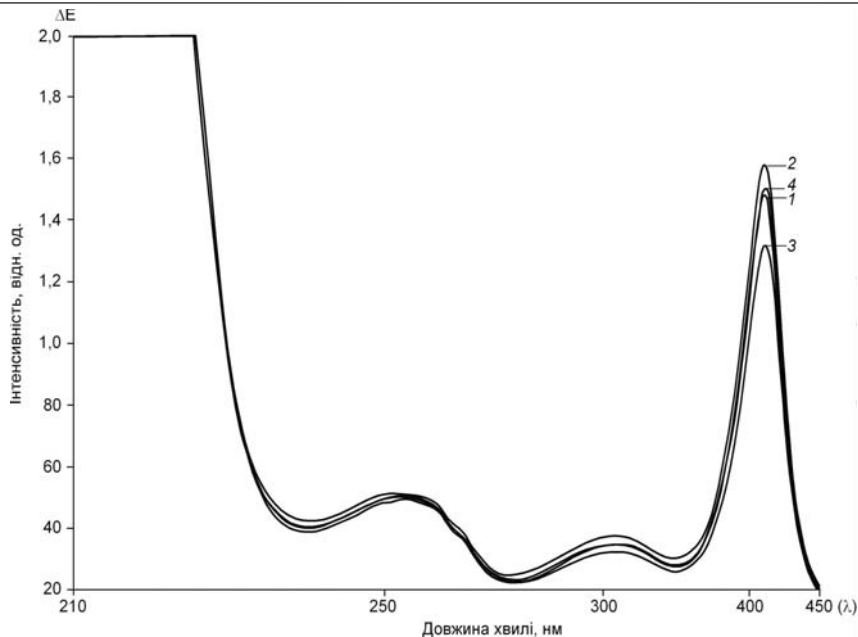


Рис. 2. Спектри поглинання оксигемоглобіну за різних умов досліджу: 1 – контроль; 2 – контроль + агматин; 3 – ЕЦД; 4 – ЕЦД+ агматин.

простетичних груп. Відомо, що порфірини мають плоску структуру, у якій чергуються одинарні та подвійні зв'язки, тобто є системою зі спряженими подвійними зв'язками. Експериментально доведено [1], що спектри поглинання молекул зі спряженими подвійними зв'язками визначаються усією системою спряжених зв'язків. Тому можна припустити, що будь-які зміни у системі спряжених зв'язків порфірину, які призводять до зміни симетрії електронної густини порфіринового ядра, можуть супроводжуватися зміною електронної густини молекули в цілому, розподілу електронних енергетичних рівнів і, як наслідок, зміною спектрів поглинання.

У досліджах *in vitro* показано, що інтенсивність смуги Soret обумовлена електронною структурою гему [1, 2]. Варто зазначити, що специфічні властивості гемоглобіну визначаються структурою молекули в цілому: структурою гему, глобінового компонента, природою зв'язку гему з глобіном. Важливу роль у цьому зв'язку відіграє залізо гему. Не менш вагомий вклад у зв'язках гему з глобіном вносять його карбоксильні групи через взаємодію з боковими групами основних амінокислотних залишків глобіну.

На зміну електронної густини гему може суттєво впливати його мікрооточення. Виявлені нами зміни спектральних характеристик у видимій ділянці, очевидно, є відображенням змін як у гемі, так і у глобіні. Агматин через гуанідинову групу може взаємодіяти з карбоксильними групами амінокислотних залишків глобіну, карбоксильними групами гему, екрануючи його взаємодію з глобіном. Сукупність таких взаємодій може суттєво впливати на електронну структуру гему, зміну взаємного положення площин порфіринових кілець, конформацію молекули в цілому і, як результат, зміну інтенсивності характерних максимумів спектрів поглинання.

Якщо аналізувати електронні спектри гемоглобіну через його взаємодію з NO, потрібно зауважити, що у присутності  $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ , очевидно, відбуваються зміни просторового розташування окремих фрагментів поліпептидних ланцюгів у ділянці

гемової кишені, що полегшує доступ ліганда до активного центру молекули.  $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$  відіграє в цьому процесі роль своєрідного алостеричного регулятора функціональної активності досліджуваного гемопротейну на рівні окремих тетрамерів [2]. Агматин як ендogenous регулятор синтезу NO може виявляти свій вплив на спектральні характеристики гемоглобіну та СГК в цілому через рівень утворення NO та його депонування з утворенням NO-похідних цього гемопротейну.

Таким чином, введення агматину в нашій експериментальній моделі викликало зміни у спорідненості гемоглобіну до кисню, що виявлялись у зміщенні положення КДО та збільшенні показника  $P_{50}$ , а також у зсувах характерних піків електронних спектрів цього гемопротейну, зокрема, у смузї Сорє. Потрібно відзначити, що в разі ЕЦД агматин виявляв позитивний ефект на кисеньтранспортну функцію оксигемоглобіну шурів, оскільки спостерігалася тенденція наближення значення параметра  $P_{50}$  до контрольного рівня.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Артюхов В. Г.* Гемопротейды: закономерности фотохимических превращений в условиях различного микроокружения. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1995. 280 с.
2. *Артюхов В. Г., Калаева Е. А., Путинцева О. В.* Динамика оксигенации нативного и УФ-модифицированного гемоглобина человека в присутствии оксида азота // Физиология человека. 2004. Т. 30. № 2. С. 110–116.
3. *Бродяк І. В., Сибірна Н. О.* Особливості метаболізму L-аргініну в лейкоцитах крові за умов експериментального цукрового діабету // Фізіол. журнал. 2008. Т. 54. № 1. С. 63–69.
4. *Галенок В. А., Боднар П. Н., Диккер В. Е.* и др. Гликозилированные протеины. М.: Наука, 1989. 255 с.
5. *Глебов А. Н., Шульга Е. В., Зинчук В. В.* Роль кислородсвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом. Гродно: ГрГМУ, 2011. 216 с.
6. *Демченко А. П.* Ультрафиолетовая спектрофотометрия и структура белков. К.: Наукова думка, 1981. 208 с.
7. *Зинчук В. В.* Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиол. наук. 2003. Т. 34. № 2. С. 33–45.
8. *Иванов Ю. Г.* Модификация спектрофотометрического метода определения кислородно-диссоциационных кривых гемоглобина // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 1975. Т. 79. № 11. С. 122–123.
9. *Козлов Ю. А., Лаврова В. С.* Система крови при сахарном диабете // Успехи соврем. биологии. 1988. Т. 105. № 3. С. 505–520.
10. *Космачевская О. В., Топунов А. Ф.* Гемоглобины – разнообразие структуры и функций: обзор // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 6. С. 627–653.
11. *Люта М., Федорович А., Бурда В.* та ін. Вплив агматину на фізико-хімічні властивості гемоглобіну шурів за експериментального цукрового діабету // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 55. С. 39–46.
12. *Середенко М. М., Дударев В. П., Лановенко И. И.* и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. К.: Наук. думка, 1987. 200 с.
13. *Сибірна Н. О., Бурда В. А., Чайка Я. П.* Методи дослідження системи крові. Львів: Видавн. центр Львів. нац. ун-ту, 2006. 100 с.
14. *Стародуб Н. Ф., Коробов В. Н., Назаренко В. И.* Миоглобин: структура, свойства, синтез, биологическая роль. К.: Наукова думка, 1992. 282 с.
15. *Стародубцева М. Н., Черенкевич С. Н.* Механизмы реакций гемоглобина с пероксинитритом в водно-солевом растворе // Весті НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2003. Т. 2. С. 86–90.
16. *Столяр О. Б., Петренко А. И., Коробов В. Н.* Молекулярные основы кислородной диссоциации оксигемоглобина кролика при действии рентгеновского облучения в дозе 600 Р // Вестн. Львов. ун-та. 1979. Т. 11. С. 64–75.
17. *Alayash A. I., Ryan B. A., Cashon R. E.* Peroxynitrite-mediated heme oxidation and protein modification of native and chemically modified hemoglobins // Arch. Biochem. Biophys. 1998. Vol. 349. P. 65–73.

18. *Bonaventura C., Ferruzzi G., Tesh S., Stevens R D.* Effects of S-nitrosation on oxygen binding by normal and sickle cell hemoglobin // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. N 35. P. 24742–24748.
19. *Burmester T., Ebner B., Weich B., Hankeln T.* Cytoglobin: A Novel Globin Type Ubiquitously Expressed in Vertebrate Tissues // *Mol. Biol. Evolution.* 2002. Vol. 19. N 4. P. 416–421.
20. *Garcia N., Hopkins S. R., Powell F. L.* Effects of intermittent hypoxia on the isocapnic hypoxic ventilatory response and erythropoiesis in humans // *Respir. Physiol.* 2000. Vol. 123. N 1–2. P. 39–49.
21. *Head C. A., Brugnara C., Martinez-Ruiz R.* et al. Low concentrations of nitric oxide increase oxygen affinity of sickle erythrocytes in vitro and in vivo // *J. Clin. Invest.* 1997. Vol. 100. N 5. P. 1193–1198.
22. *Inoguchi T., Li P., Umeda F.* et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells // *Diabetes.* 2000. Vol. 49. P. 1939–1945.
23. *Kosaka H., Seiyama A.* Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. Vol. 218. N 3. P. 749–752.
24. *Kunkel H. G., Wallenius G.* New hemoglobin in normal adult blood // *Sci.* 1955. Vol. 122. P. 288–288.
25. *Lundberg J., Gladwin M., Ahluwalia A.* et al. Nitrate and nitrite in biology nutrition and therapeutics // *Nature Chem. Biol.* 2009. Vol. 5. N 12. P. 865–869.
26. *Nogueira-Machado J. A., Chaves M. M.* From hyperglycemia to AGE-RAGE interaction on the cell surface: a dangerous metabolic route for diabetic patients // *Expert. Opin. Ther. Targets.* 2008. Vol. 12. N 7. P. 871–82.
27. *Ostojic J., Sakaguchi D. S., Latboudier Y.* et al. Neuroglobin and cytoglobin: oxygen-binding proteins in retinal neurons // *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2006. Vol. 47. N 3. P. 1016–1023.
28. *Pacher P., Beckman S. J., Liaudet L.* Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *Physiol. Rev.* 2007. Vol. 87. N 1. P. 315–424.
29. *Padron J., Peiro C., Cercas E.* et al. Enhancement of S-nitrosylation in glycosylated hemoglobin // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. Vol. 271. N 1. P. 217–221.
30. *Schena F., Cuzzolin L., Rossi L.* et al. Plasma nitrite/nitrate and erythropoietin levels in cross-country skiers during altitude training // *J. Sports Med. Phys. Fitness.* 2002. Vol. 42. N 2. P. 129–134.
31. *Schumacker P. T., Suggett A. J., Wagner P. D., West J. B.* Role of hemoglobin P<sub>50</sub> in O<sub>2</sub> transport during normoxic and hypoxic exercise in the dog // *J. Appl. Physiol.* 1985. Vol. 59. N 3. P. 749–757.
32. *Shapiro R., Mc Manus M. J., Zalut C., Bunn H. F.* Sites of non-enzymatic glycosylation of human haemoglobin // *J. Brit. Chem.* 1980. Vol. 255. N 7. P. 3120–3127.
33. *Van Kampen E. J., Zijlstra W. G.* Spectrophotometry of hemoglobin and hemoglobin derivatives // *Adv. Clin. Chem.* 1983. Vol. 23. P. 199–257.
34. *Vinogradov S. N., Moens L.* Diversity of globin function: enzymatic, transport, storage and sensing // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. P. 8773–8777.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.13

доопрацьована 29.04.13

прийнята до друку 30.04.13

#### OXYGEN TRANSPORT FUNCTION OF HEMOGLOBIN UNDER THE ADMISSION AGMATINE IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**M. Lyuta, I. Ferents, V. Burda, A. Fedorovych, K. Dudok, N. Sybirna**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: lyuta.maryana@mail.ua*

The effect of agmatine – selective inhibitor of NO-synthase in the oxygen transport and spectral characteristics of rats hemoglobin with experimental diabetes induced by streptozotocin. In the case of intramuscular administration of agmatine diabetic animals with

concentration of 20 mg / kg for 14 days, we observed changes in the affinity of hemoglobin for oxygen. Curve of oxyhemoglobin dissociation was shifted to the right with increasing the  $P_{50}$  and reduced alkaline resistant hemoglobin. Also was found that the administration of agmatine causes changes in the electron spectr of hemoglobin in the Sore band (350–450 nm). Agmatine as an endogenous regulator of the synthesis of NO can exert its influence on the affinity of hemoglobin for oxygen, spectral characteristics and oxygen transport of hemoglobin through the level of NO and its deposit with formation of S-nitroso and nitrosyl-hemoglobin.

*Keywords:* hemoglobin, oxyhemoglobin dissociation curve, the absorption spectr of oxyhemoglobin, agmatine, experimental diabetes.

## **КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ВВЕДЕНИИ АГМАТИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА**

**М. Люта, И. Ференц, В. Бурда, А. Федорович, К. Дудок, Н. Сибирная**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: lyutam@gmail.com*

Исследовано влияние агматина – селективного ингибитора NO-синтазы на состояние системы транспорта кислорода и спектральные характеристики гемоглобина крыс в условиях экспериментального сахарного диабета, индуцированного стрептозотоцином. При внутримышечном введении агматина животным со стрептозотоциновым диабетом в концентрации 20 мг / кг массы тела в течении 14 дней наблюдались изменения в сродстве гемоглобина к кислороду. Происходило смещение кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, увеличение  $P_{50}$  и снижение уровня щелочустойчивого гемоглобина. Также установлено, что введение агматина вызывает изменения в электронных спектрах гемоглобина в области полосы Sore (350–450 нм). Показано, что агматин как эндогенный регулятор синтеза NO может оказывать свое влияние на сродство гемоглобина к кислороду, спектральные характеристики и кислородтранспортную функцию гемоглобина, изменяя уровень образования оксида азота и процессы депонирования NO путем образования S-нитрозо- и нитрозилгемоглобина.

*Ключевые слова:* гемоглобин, кривая диссоциации оксигемоглобина, спектры поглощения оксигемоглобина, агматин, экспериментальный сахарный диабет.

## ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО

М. Хохла, Г. Клевета, М. Лупак, О. Канюка, Я. Чайка, М. Скибіцька, Н. Сибірна

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: khmarija@gmail.com

Методом хромато-маспектрометрії досліджено вміст окремих компонентів хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського (*Galega officinalis* L.). У результаті дослідження виявлено 31 сполуку, з них ідентифіковано 26 сполук. Серед них вищі жирні кислоти і їхні ефіри, дитерпени, тритерпени, фітостероли та флавоноїди. Встановлено, що домінуючими компонентами є жирні кислоти, основну частину з яких становлять етиловий естер пальмітинової кислоти і метиловий ефір ліноленової кислоти. Ідентифіковані біологічно активні речовини, виділені з екстракту, дають підстави припустити, що його цукрознижувальна дія зумовлена присутністю фітолу, етилового естеру пальмітинової кислоти, фітостеролів (кампестеролу і стигмастеролу) й  $\alpha$ -амірину.

*Ключові слова:* козлятник лікарський, хлороформна фракція, цукровий діабет, цукрознижувальна дія.

До основних принципів лікування цукрового діабету належать фізичні навантаження, що зменшують рівень гіперглікемії та підвищують чутливість м'язової тканини до інсуліну, дієтотерапію як засіб обмеження надходження вуглеводів, інсулінотерапію як замісну форму, а також гіпоглікемічні пероральні засоби [4]. Важливе місце у фармакотерапевтичному комплексі лікування цієї патології займає і фітотерапія. Лікарські рослини становлять особливу групу об'єктів дослідження, які мають високу біологічну активність і містять складний комплекс хімічних сполук, що виявляють багатогранний вплив на організм людини.

*Galega officinalis* (козлятник лікарський, козлятник звичайний, галега лікарська, рутавка лікарська, рутівка) – багаторічна трав'яна рослина з родини бобових (Fabaceae), використовується у нетрадиційній медицині для лікування цукрового діабету. У Болгарії, Великобританії та США є офіційною рослиною, що застосовується при легких формах діабету. З лікувальною метою використовують траву, а також насіння при повному його досяганні. Траву збирають під час цвітіння рослини, зрізуючи верхні трав'яні частини.

Гіпоглікемічний ефект козлятника лікарського встановлено ще у 1927 р., проте літературні дані про цукрознижувальну дію трави і насіння даного виду суперечливі. Раніше вважали, що гіпоглікемічний ефект притаманний власне алкалоїдам [7, 9, 12]. Основний алкалоїд (галегін) за своєю хімічною будовою та фармакологічною активністю є аналогом протидіабетичних препаратів ряду бігуаніду (глібутид, метформін та ін.). Однак ці висновки базувалися на дослідженні екстракту, який містить алкалоїди у високій концентрації, що зумовлює його токсичність. Водночас привертають увагу літературні дані, в яких вказується про те, що цукрознижувальним ефектом володіє безалкалоїдна фракція екстракту даної рослини [2, 3]. Неоднозначний характер даних літератури вказує на необхідність більш детального дослідження біологічно активних речовин козлятника лікарського з потенційними гіпоглікемічними властивостями.



Метою роботи було визначити кількісний і якісний склад біологічно активних речовин козлятника лікарського, для обґрунтування цукрознижувальної дії безалкалоїдної фракції екстракту досліджуваної лікарської рослини.

#### Матеріали та методи

Для дослідження використовували надземну частину козлятника лікарського з колекції ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка, зібрану в період цвітіння.

Екстракт козлятника лікарського отримували шляхом настоювання 30 г подрібненої надземної частини рослини у 96% етиловому спирті (підкисленому 0,1 н хлоридною кислотою до рН 2) упродовж 12 год у співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі та упарювали у вакуумі за допомогою роторного випарювача LABOROTA 400 (Heidolph, Німеччина) при температурі +50...+55°C до одержання густого залишку екстракту. До максимального упареного етанольного екстракту масою 14 г додавали 9 мл H<sub>2</sub>O (до отримання однорідної маси) та 9 мл хлороформу. Після перемішування (10 хв) зразки центрифугували впродовж 10 хв при 1500 об/хв. Одержані фракції: 1 – водну (темно-коричневого забарвлення) і 2 – хлороформну (темно-зеленого забарвлення) упарювали у вакуумі при температурі +40...+50°C до одержання сухого залишку відповідно масою 3–3,5 г та 1–1,5 г.

Для первинної характеристики водної та хлороформної фракції отриманого екстракту проводили якісні реакції [6].

Органолептичні та фізико-хімічні показники екстракту (опис, розчинність, сухий залишок, втрата в масі при висушуванні) нами було визначено за загальновідомими методиками згідно з Державною Фармакопеєю України [1].

Компонентний склад речовин хлороформної фракції визначали за допомогою хроматографа Agilent Technology 6890N з маспектрометричним детектором 5979B. Умови аналізу: хроматографічна колонка капілярна HP-5MS довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 250 мкм, фазою 0,25 мкм. Гелій використовували як газ-носії при постійній швидкості потоку 1,5 мл/хв і об'ємі проби 1 мкл. Інжектор – автоінжектор 7683B, Split 20:1, температура випарювача 250°C. Температуру термостату програмували від 75°C (протягом 2 хв) з нагріванням 15°C/хв до 300°C (протягом 9 хв). Детектор маселективний, температура інтерфейса 280°C, іонізація – електронним ударом, енергія іонізації 70eV, температура іонного джерела 230°C, температура квадруполя 150°C. Загальна тривалість газової хроматографії 24 хв. Відносну кількість процентного вмісту кожного компонента розраховували шляхом порівняння його середньої площі піку до загальної площі. Ідентифікацію здійснювали на основі порівняння маспектрів з даними маспектральних бібліотек NIST05a та WILEY із загальною кількістю спектрів понад 470 000.

#### Результати і їхнє обговорення

Для первинної характеристики водної та хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського було проведено низку якісних реакцій, за допомогою яких підтверджено наявність алкалоїдів, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів і амінокислот у складі водної фракції та флавоноїдів і тритерпенових сапонінів у хлороформній фракції. Слід зазначити, що у хлороформній фракції нами не виявлено алкалоїдів (табл. 1).

Зважаючи на наявність алкалоїдів у складі водної фракції екстракту досліджуваної рослини, які зумовлюють його високу токсичність, детального фітохімічного аналізу її складу не проводили, натомість було досліджено компонентний склад хлороформної фракції, яка не містила алкалоїдів.

Хлороформна фракція екстракту козлятника лікарського є в'язкою мазеподібною масою темно-зеленого кольору з приємним запахом, гіркуватою на смак, добре розчинною

в метиловому й етиловому спирті, нерозчинною в олії, у воді утворює темно-зелену суспензію, яка після струшування зберігає однорідність не менше 60 хв. Сухий залишок становив  $26,17 \pm 0,05\%$ , а втрата в масі при висушуванні –  $5,09 \pm 0,03\%$ .

Таблиця 1

Якісний аналіз біологічно активних речовин водної та хлороформної фракцій екстракту козлятника лікарського

Біологічно активні речовини	Якісні реакції	Екстракт козлятника лікарського	
		Водна фракція	Хлороформна фракція
Алкалоїди	Загальноосадові реакції з використанням реактивів: Майєра, Драгендорфа, Бушарда, Зоненштейна	+	–
Флавоноїди	Реакція з плюмбум ацетатом і борно-лимоннокислим реактивом	+	+
Тритерпенові сапоніни	Реакція піноутворення	+	+
Стероїдні сапоніни	Реакція осадження холестеролу	–	–
Амінокислоти	Реакція з нінгідриновим реагентом	+	–

У результаті проведеного газохроматографічного визначення складу досліджуваного екстракту було виявлено 31 компонент. Більша частина виявлених компонентів була ідентифікована і представлена в табл. 2.

У хлороформній фракції екстракту козлятника лікарського було показано присутність ароматичної сполуки – інозитулу (2,08%), естеру ароматичної дикарбонової кислоти, а саме 2-етилгексил ізогексильовий естер фталевої кислоти (8,33%). Було виявлено значну кількість жирних кислот і їхніх ефірів, серед них насичені жирні кислоти: міристинова кислота (0,74%), етиловий естер пальмітинової кислоти (17,59%), стеаринова кислота (1,67%), етиловий естер нонанової кислоти (1,28%) та метиловий ефір ліноленової кислоти (17,82%). Також був ідентифікований спирт 9,12,15-октадекатрієн-1-ол, кількість якого становила 1,52%.

Серед терпенів у екстракті козлятника лікарського наявні дитерпени: неофітадієн (2,54%) і фітол (3,62%) та тритерпени: сквален (1,67%) і  $\alpha$ -амірин (5,74%). Було показано присутність флавоноїдів: 3-(2,4-диметоксифеніл)-3,4-дигідро-2Н-1-бензопіран-7-ол (1,88%) та 6а,12а-дигідро-6Н-(1,3)діоксол(5,6)бензофу(3,2-с)хромен-3-ол (1,01%). Також встановлено наявність таких фітостеролів, як кампестерол (1,98%), стигмастерол (15,69%) та 4,14,-диметил-, (3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ .)-9,19-циклоергост-24(28)-єн-3-ол (1,92%). Окрім цього, було ідентифіковано невелику кількість ейкозану (0,62%) та вітаміну Е (0,66%) (рис. 1).

Методом хромато-маспектрометрії визначено компонентний склад сполук хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського та виявлено 31 сполуку, з них ідентифіковано 26. Серед них вищі жирні кислоти і їхні ефіри (39,10% від суми усіх сполук), дитерпени (6,16%), тритерпени (7,41%), фітостероли (19,59%) та флавоноїди (2,89%). Встановлено, що домінуючими компонентами є жирні кислоти, основну частину з яких становлять етиловий естер пальмітинової кислоти і метиловий ефір ліноленової кислоти.

З літературних даних відомо, що фітол здатний знижувати інсулінорезистентність і регулювати метаболічні розлади, що супроводжують діабет шляхом активації RXR (retinoid X receptor), що призводить до посилення експресії гена GLUT2 та мРНК глюкокінази, а також полегшення поглинання глюкози печінкою. Крім цього, фітол здатний впливати на профіль глюкози, знижуючи глюконеогенез і пригнічуючи синтез глюкози в

печінці, а також, мобілізуючи ліпіди м'язів, зумовлює підвищення чутливості м'язів до інсуліну [8]. Показано, що жирні кислоти, а саме пальмітинова кислота, викликає дозозалежне зниження глюкози в плазмі крові у тварин з експериментальним цукровим діабетом [14], а фітостероли, окрім здатності інгібувати адсорбцію холестеролу, здатні знижувати рівень глікозилизованого гемоглобіну [11, 15]. Нещодавніми дослідженнями встановлено гіпоглікемічну активність  $\alpha$ - та  $\beta$ -аміринів, яку пов'язують з їхнім впливом на систему канабіноїдів. Показано, що деякі ліганди до канабіноїдних рецепторів CB1 можуть прямо зв'язуватись і алостерично регулювати Kir6.2/SUR1 K(ATP)канали, тим самим контролюючи глюкозостимульоване вивільнення інсуліну. Крім цього,  $\alpha$ - та  $\beta$ -амірин, завдяки своїм протизапальним і антиоксидантним властивостям, виявляють позитивний вплив на стан тварин зі стрептозотоциновим цукровим діабетом [13].

Таблиця 2

Якісний склад і кількісний вміст біологічно активних речовин  
хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського

№ п/п	Час виходу, хв	Сполука	Вміст, %	Ступінь достовірності, %
1.	10,186	Не ідентифікована	5,24	>50
2.	10,222	Інозитол	2,08	58
3.	10,638	Міристинова кислота	0,74	99
4.	11,215	Неофітадієн	0,83	98
5.	11,251	2-Пентадеканон, 6,10,14 -триметил	0,58	64
6.	12,053	Пальмітинова кислота, етиловий естер	15,79	99
7.	12,232	Пальмітинова кислота, етиловий естер	0,85	97
8.	12,642	Не ідентифікована	2,06	>50
9.	12,999	Фітол	3,62	83
10.	13,201	9,12,15-Ліноленова кислота, метиловий ефір	17,82	91
11.	13,290	Стеаринова кислота	1,67	99
12.	13,332	9,12,15-Октадекатрієн-1-ол, (Z,Z,Z)-	1,52	94
13.	15,151	Не ідентифікована	0,66	>50
14.	15,235	Пальмітинова кислота, 2-гідрокси-1-(гідроксиметил) етиловий естер	0,95	83
15.	15,455	Фталєва кислота, 2-етилгексил ізогексильовий естер	8,33	72
16.	16,085	2Н-1-Бензопіран-7-ол, 3-(2,4- диметоксифеніл)-3,4-дигідро-	1,88	93
17.	16,162	Ейкозан	0,83	86
18.	16,198	Нонанова кислота, 9-(3-гексенілденциклопропілідєн),- 2-гідрокси-1-(гідроксиметил)етиловий естер (Z,Z,Z)-	1,28	91
19.	16,287	6а,12а-Дигідро-6Н-(1,3)діоксол(5,6)бензофу(3,2-с)хромен-3-ол	1,01	94
20.	16,691	Не ідентифікована	0,89	>50
21.	16,816	Сквалєн	1,67	96
22.	17,102	Ейкозан	0,62	90
23.	18,499	Вітамін Е	0,66	96
24.	19,278	Кампєстерол	1,98	99
25.	19,522	Стигмастерол	4,06	96
26.	20,015	Стигмастерол	11,63	99
27.	20,390	$\alpha$ -Амірин	3,18	90
28.	20,705	9,19-Циклоєргост-24(28)-єн-3-ол, 4,14,-диметил-, (3.бєта.,4.альфа.,5.альфа.) -	1,92	86
29.	20,824	$\alpha$ -Амірин	2,56	96
30.	21,317	Не ідентифікована	1,38	>50
31.	22,197	Неофітадієн	1,71	91

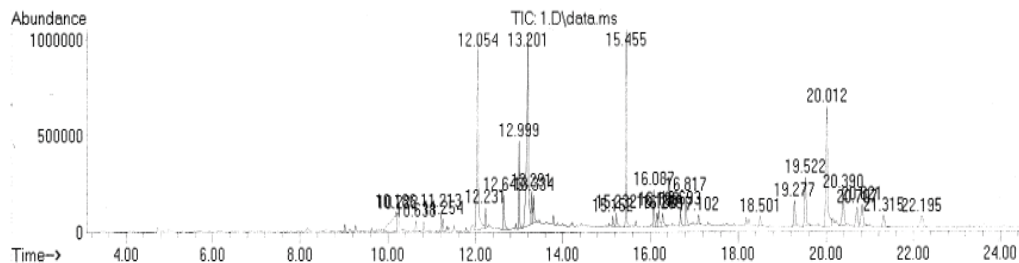


Рис. 1. Хромотограма компонентів хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського.

На основі аналізу якісного та кількісного складу біологічно активних речовин хлороформної фракції екстракту козлятника лікарського можна стверджувати, що її цукрознижувальний ефект, який було показано у наших попередніх дослідженнях [5], зумовлений присутністю фітолу, етилового естеру пальмітинової кислоти, фітостеролів (кампестеролу та стигмастеролу) й  $\alpha$ -амірину, або їхньою синергічною дією.

*Робота виконана за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень України (проект № Ф54.4/017).*

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-ше вид. Х.: РІПЕГ, 2001. 556 с.
2. Липиніна Л. А., Сисоєва Т. Ф. Цукрознижувача властивість козлятника лікарського // Фармацевт. журнал. 1961. № 5. С. 52–56.
3. Липиніна Л. А. Выделение и изучение физиологически активных соединений галеги лекарственной как сырья для получения сахароснижающего препарата: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Х., 1972. 15 с.
4. Мерецький В. М. Фітотерапевтичні аспекти лікування цукрового діабету // Фітотерапія: часопис. 2006. № 1. С. 6–10.
5. Хохла М. Р., Клевета Г. Я., Чайка Я. П. та ін. Цитологічна та біохімічна характеристика периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу та введення галеги лікарської // Біологічні студії. 2012. Т. 6. № 1. С. 37–46.
6. Шелудько В. М. Практичний посібник з фармакогнозії: фотохім. аналіз / В.М. Шелудько, Ю.І. Колесниченко. К.: Здоров'я, 1965. 198 с.
7. Baley J. C., Turner R. Metformin // The new England J. Med. 1996. Vol. 334. P. 574–579.
8. Elmazar M., El-Abhar H. S., Schaalaa M. F., Farag N. A. Phytol/phytanic acid and insulin resistance: potential role of phytanic acid proven by docking simulation and modulation of biochemical alterations // PLoS ONE. 2013. Vol. 8(1). P. 1–10.
9. Gresham A. C. J., Booth K. Poisoning of sheep by goat's rue // Vet. Rec. 1991. Vol. 129. P. 197–198.
10. Haden G. Goat's rue – French lilac – Italic Fitch – Spanish scifoin: galega officinalis and metformin // Royal College of Edinburg. 2003. N 35. P. 258–260.
11. Lee Y. M., Haastert B., Scherbaum W., Hauner H. A phytosterol-enriched spread improves the lipid profile of subjects with type 2 diabetes mellitus. A randomized controlled trial under free-living conditions // Eur. J. Nutr. 2003. Vol. 42. P. 111–117.
12. Rasekh H. R., Nazari P., Kamli-Nejad M., Hosseinzadeh L. Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats // J. Ethnopharmacol. 2008. Vol. 116. P. 21–26.

13. Santos F. Al., Frota J. T., Arruda B. R. et al. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyirin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice // *Lipids in Health and Disease*. 2012. Vol. 11 (98). P. 1–8.
14. Sarkodie J. A., Fleischer T. C., Edoh D. A. et al. Antihyperglycaemic activity of ethanolic extract of the stem of *Adenia lobata* Engl (Passifloraceae) // *Int. J. Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013. Vol. 4(4). P. 1370–1377.
15. Tanaka M., Misawa E., Ito Y. et al. Identification of five phytosterols from Aloe vera gel as anti-diabetic compounds // *Biol. Pharm. Bull.* 2006. Vol. 29(7). P. 1418–1422.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.13

прийнята до друку 14.05.13

### STUDIES OF *GALEGA OFFICINALIS* EXTRACT COMPONENT

**M. Khokhla, G. Kleveta, M. Lupak, O.P. Kaniuka,  
Ya. Chajka, M. Skybitska, N. Sybirna**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: khmarija@gmail.com*

Study the composition of *Galega officinalis* extract chloroform fraction has been performed by the method of chromatography-mass spectrometry. In the current study was revealed 29 compounds from which were identified fatty acids and their esters, diterpenes, triterpenes, phytosterols and flavanoids. The prevailing content of palmitic acid ethyl ester and linolenic acid methyl ester in the chloroform fraction has been established. Hypoglycemic effect of the test extract may be due to the presence phytol, palmitic acid ethyl ester, phytosterols (campesterol and stigmaterol) and  $\alpha$ -amyirin.

*Keywords: Galega officinalis, diabetes mellitus, chloroform fraction, hypoglycemic effect.*

### ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

**М. Хохла, Г. Клевета, М. Лупак, О.П. Каниука,  
Я. Чайка, М. Скибицкая, Н. Сибирная**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: khmarija@gmail.com*

Методом хромато-масспектрометрии исследовано содержание отдельных компонентов хлороформной фракции экстракта галеги лекарственной. В результате исследования выявлено и установлено содержание 26 соединений. Среди них высшие жирные кислоты, а также их эфиры, дитерпены, тритерпены, фитостеролы и флавоноиды. Установлено, что доминирующими компонентами являются жирные кислоты, основную часть из которых составляют этиловый эфир пальмитиновой кислоты и метиловый эфир линоленовой кислота. Сахароснижающее действие исследуемого экстракта может быть обусловлено присутствием фитола, этилового эфира пальмитиновой кислоты, фитостеролов (кампестерол и стигмастерол) и  $\alpha$ -амирина.

*Ключевые слова: галега лекарственная, хлороформная фракция, сахарный диабет, сахароснижающее действие.*

## ВПЛИВ L-ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛУТАТІОНУ ТА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПЕРОКСИДНИХ ПРОЦЕСІВ У ЩУРІВ

Н. Салига, Ю. Салига

*Інститут біології тварин НААН України  
вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: unosyt@yahoo.com*

Вивчено вплив додаткового (10% і 25% відповідно) введення до раціону L-глутамінової кислоти (L-Glu) на активність антиоксидантних ензимів та інтенсивність пероксидних процесів у тканинах мозку й серця щурів. Встановлено, що збагачення раціону щурів L-Glu протягом 30 днів призводило до змін активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту й інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів. Показано, що додаткове введення тваринам L-Glu призводить до підвищення глутатіонпероксидазної активності, вмісту відновленого глутатіону та зниження вмісту гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів у тканинах серця, порівняно з контрольною групою тварин. Вагоміші зміни даних показників спостерігались у тварин другої дослідної групи, які отримували додатково 25% L-Glu до раціону.

*Ключові слова:* L-глутамінова кислота, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, відновлений глутатіон, гідропероксили ліпідів, ТБК-активні продукти.

Найважливішими регуляторними метаболітами захисно-адаптивних систем організму є або самі амінокислоти, або їхні похідні. Амінокислоти можуть бути не тільки пластичним матеріалом для біосинтезу різних білків організму, що визначають його специфічність, але і, включаючись у регуляторні й антиоксидантні системи, визначати його неспецифічну резистентність.

Глутамінова кислота займає одне з провідних місць в обміні речовин, тому що здатна зв'язувати неорганічний Нітроген, переносячи його на інші амінокислоти за рахунок реакції переамінування. L-Glu є однією з основних енергетичних складових усіх тканин [10]. Ензими, залучені у метаболізм цієї амінокислоти, займають центральне місце в амінокислотному обміні. Слід зазначити, що реакції синтезу глутамінової кислоти і глутаміну є одним із важливих механізмів знешкодження надлишків аміаку в організмі [8, 9, 11]. L-Glu має надзвичайно широку біологічну активність і має важливе значення в адаптації організму до пошкоджуючих впливів, перш за все, за рахунок спряження енергетичного обміну з пластичним. У той же час L-Glu є імуномодулятором, який стимулює лімфоїдну систему організму, кровотворення у кістковому мозку при анемії [6]. Вона нормалізує порушені функції ендокринної системи, відновлює функцію мітохондрій при екстремальних впливах на організм, модулює експресію цитохрому P-450 шляхом вироблення гормону росту.

Крім того, глутамінова кислота використовується як сировина для антиоксиданту – глутатіону (який синтезується з глутамінової кислоти, цистеїну і гліцину). Протягом останніх років дедалі більший інтерес приділяється функції глутатіону, який, завдяки своїй унікальній будові, виконує численні функції в більшості живих організмів. Він є досить потужним відновником. У результаті цього відновлена форма глутатіону ( $\gamma$ -глутамілцистеніл-гліцин) ефективно розщеплює пероксили, що утворюються як за нормальних умов, так і за умов оксидативного стресу [2, 5, 12]. Амінокислоти, що входять до складу

глутатіону, можуть бути попередниками інших потужних антиоксидантних субстратів. Так, глутамінова кислота є ефективним стимулятором біосинтезу аргініну і сечовини в печінці. Метаболізуючись в орнітин, глутамінова кислота слугує попередником поліамінів. Введення експериментальним тваринам глутатіону або компонентів, з яких складається цей трипептид, зокрема, глутамінової кислоти, – частково або повністю запобігає розвитку окисного стресу під впливом ксенобіотиків.

Викладене дає підстави зробити висновок, що глутамінова кислота може розглядатись як адаптоген широкого спектра дії та що зміни її обміну тісно пов'язані зі зміною рівня глутатіону в тканинах, а отже, з антиоксидантними і детоксикаційними ресурсами.

У зв'язку з вищесказаним метою нашої роботи було дослідити стан ензимів глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту і вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах мозку та серця щурів за умов додаткового введення L-глутамінової кислоти до раціону.

#### Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, які були розділені на 3 групи по 10 тварин у кожній (дві дослідні та одна контрольна). Тривалість дослідного періоду 1 місяць. Тваринам дослідних груп вводили водний розчин L-глутамінової кислоти в дозі 285 мг/кг (Д1) та 715 мг/кг (Д2) відповідно (1 раз на добу, перорально). Застосовані дози визначали з розрахунку кількості сирого протеїну, який тварина отримувала з кормом. Таким чином, тварини першої дослідної групи отримували додатково 10% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі, тварини другої дослідної групи отримували додатково 25% глутамінової кислоти від вмісту білка в кормі. Щурам контрольної групи упродовж 30-ти днів перорально вводили відповідну кількість дистильованої води. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Після закінчення дослідів тварин усіх груп за анестезії ефіром декапітували. Для аналізу відбирали зразки тканин головного мозку та серця. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

У тканинах мозку та серця визначали вміст ТБК-активних продуктів [4], концентрацію гідропероксидів ліпідів, вміст відновленого глутатіону, глутатіонпероксидазну активність, глутатіонредуктазну активність [1].

Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

#### Результати і їхнє обговорення

Однією з важливих систем інактивації вільних радикалів є відновлений глутатіон (GSH) і комплекс ензимів – глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонтрансферази (ГТ) та глутатіонредуктази (ГР). Глутатіон (L-Глутаміл, L-Цистеїн, Гліцин) — трипептид, присутній у всіх клітинах тварин і людини. Внутрішньоклітинний пул глутатіону включає в себе його відновлену й окислену форми, змішані дисульфідні, тіоефіри [2, 3, 14]. Завдяки наявності глутамільного зв'язку та реактивної сульфгідрильної групи глутатіон бере участь у численних реакціях метаболізму, забезпечуючи тим самим нормальний перебіг ряду фізіологічних і біохімічних процесів. GSH синтезується в печінці, звідки транспортується в різні органи і тканини [7, 13, 15]. Дослідженнями виявлено (рис. 1), що у щурів першої

та другої дослідних груп вміст відновленого глутатіону достовірно зростав у тканинах серця (на 27 та 69% відповідно), виявляв тенденцію до збільшення у тканинах мозку тварин другої дослідної групи та майже не змінювався у тварин першої дослідної групи, порівняно з контролем.

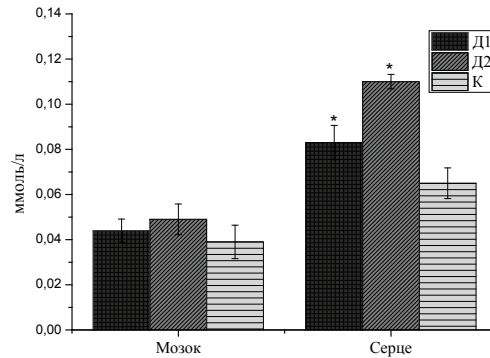


Рис. 1. Вміст відновленого глутатіону у тканинах щурів за дії L-Glu. Рис. 1–5: \* різниця вірогідна щодо тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

Можна припустити, що дане зростання вмісту цього трипептиду відбувалося за рахунок його синтезу *de novo* за участю ферменту  $\gamma$ -глутаміл-цистеїнсинтетази і, очевидно, субстратом для цього виступала L-Glu. Додаткове введення L-Glu призводило не лише до підвищення порівняно з контролем вмісту GSH, а й також до посилення глутатіонпероксидазної активності.

Результати досліджень показали, що функціональна активність системи антиоксидантного захисту в організмі щурів змінюється під впливом L-Glu. Інактивація перекису водню в клітинах відбувається за допомогою ГПО, яка є Se-вмісним ферментом, близько 70% її локалізовано в цитоплазмі та близько 30% – в мітохондріях усіх клітин ссавців. Так, активність ГПО у тканинах серця другої дослідної групи, яка отримувала додатково 25% L-Glu, була вірогідно вищою стосовно тварин контрольної групи (рис. 2). Спостерігається кореляція між вмістом відновленого глутатіону й активністю ГПО, оскільки вони пов'язані між собою. Це свідчить про те, що високий рівень внутрішньоклітинного GSH приводить до активації ГПО.

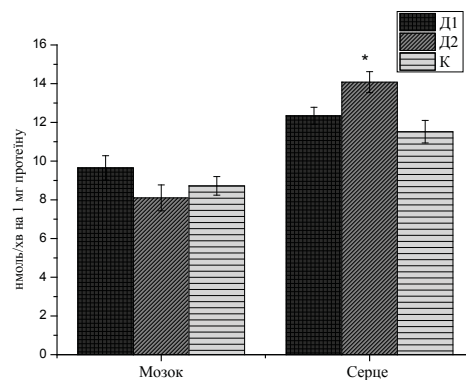


Рис. 2. Активність глутатіонпероксидази у тканинах щурів за дії L-Glu.

Глутатіонредуктаза каталізує відновлення окисленої дисульфідної форми глутатіону (GSSG) у відновлену сульфгідрильну форму GSH за рахунок НАДФН<sup>+</sup>H<sup>+</sup>, який є донором



протонів. ГР в основному локалізована в цитозолі, але міститься і в мітохондріях, ядрах та мікросомах. Нормальне функціонування у клітині NADPH-залежної глутатіонредуктази є дуже важливим для запобігання окисному ушкодженню мітохондрій, оскільки вони не містять каталази, неспроможні синтезувати GSH de novo і тому залежать від відновлення глутатіонредуктазою окисленого глутатіону та його надходження з цитозолу через зовнішню мітохондріальну мембрану.

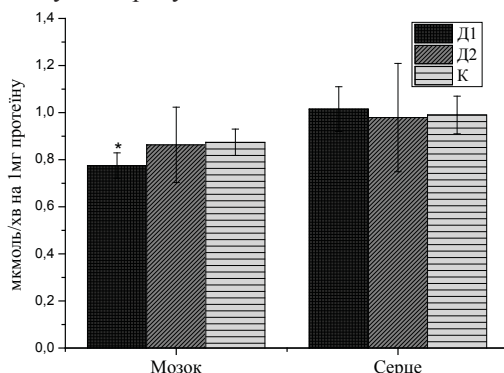


Рис. 3. Активність глутатіонредуктази у тканинах щурів за дії L-Gly.

Із результатів наших досліджень видно (рис. 3), що активність ГР у тканинах серця тварин обох дослідних груп не зазнавала жодних змін, порівняно з контролем. Причиною цього може бути високий рівень GSH, при якому не відбувалася активація ГР. Як відомо, каталітична активність ГР залежить від стану її SH-груп і при фізіологічних концентраціях відновлений глутатіон виявляє інгібуючий вплив на цей ензим. Варто відзначити зниження цього показника у тканинах мозку тварин першої дослідної групи, порівняно з контролем.

Антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації та закінчуючи утворенням гідропероксидів і ТБК-активних продуктів. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний із ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу й інших речовин. Відомо, що глутамінова кислота має виражену антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію завдяки пригніченню пероксидного окиснення ліпідів [13]. Це узгоджується з нашими даними, згідно з якими вірогідно знижується вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах серця обох дослідних груп, порівняно з контролем.

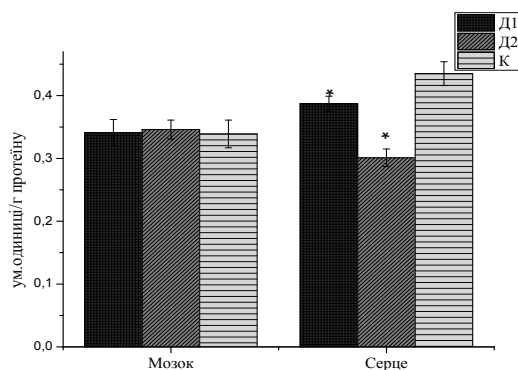


Рис. 4. Вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах щурів за дії L-Gly.

Ймовірно, це також пов'язано з функціонуванням ферментативної редокс-системи глутатіону, яка забезпечує детоксикацію перекисів, органічних гідроперекисів, інактивацію вільних радикалів.

З наведених на рис. 5 даних видно, що вміст ТБК-активних продуктів у тварин другої дослідної групи у тканинах серця був вірогідно нижчим, порівняно з контролем. Слід відзначити тенденцію до зниження цього показника у тканинах мозку та серця тварин першої дослідної групи. Ці дані свідчать, що глютамінова кислота здатна пригнічувати ПОЛ, зокрема, синтез ТБК-активних продуктів шляхом активації антиоксидантної системи захисту.

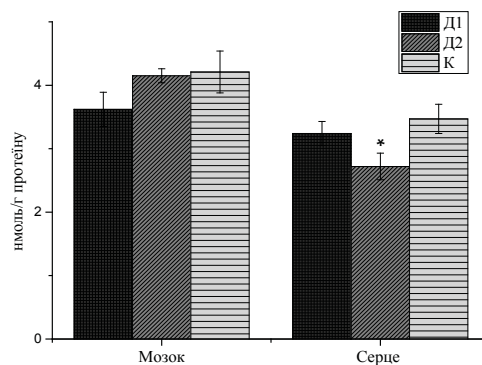


Рис. 5. Вміст ТБК-активних продуктів у тканинах щурів за дії L-Glu.

Аналіз результатів досліджень показав, що додаткове введення до раціону щурів L-Glu призвело до змін активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту й інтенсивності пероксидного окислення ліпідів, а саме зростанню активності ГПО, GSH і зниженню вмісту ТБК-активних продуктів та гідропероксидів ліпідів у тканинах серця. Вагоміші зміни даних показників спостерігались у тварин другої дослідної групи, яка отримувала додатково 25% L-Glu до раціону.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Влізко В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів: СПОЛОМ, 2012. 761 с.
2. Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журнал АМН України. 2007. Т. 13. № 1. С. 3–20.
3. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Обмен глутатиона // Успехи биол. химии. 1990. Т. 31. С. 157–179.
4. Коробейникова Э. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8–10.
5. Мазо В. К. Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочно-кишечного тракта // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 1998. № 1. С. 47–52.
6. Hansen A. M., Caspi R. R. Glutamate joins the ranks of immunomodulators // Nat. Med. 2010. Vol. 16. N 8. P. 856–858.
7. Kirstein C. L., Coopersmith R., Bridges R. J., Leon M. Glutathione levels in olfactory and non-olfactory neural structures of rats // Mol. Aspects. Med. 2009. Vol. 30. N 1–2. P. 99–110.

8. *Newsholme P., Procopio J., Lima M. M. et al.* Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function // *Cell Biochem. Funct.* 2003. Vol. 21. P. 1–9.
9. *Newsholme P., Lima M., Procopio J. et al.* Glutamine and glutamate as vital metabolites // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2003. Vol. 36. P. 153–163.
10. *Platt S. R.* The role of glutamate in central nervous system health and disease // *Vet. J.* 2007. Vol. 173(2). P. 278–286.
11. *Roth E.* Nonnutritive effects of glutamine // *J. Nutr.* 2008. Vol. 138. P. 2025–2031.
12. *Salyha Y.* Biological effects assessment of chlorpyrifos and home aspects of its neurotoxicity // *Visnyk of Lviv University. Biology series.* 2010. № 54. P. 3–14.
13. *Stadtman E. R., Levine R. L.* Free radical-mediated oxidation of free aminoacids and aminoacid residues in proteins // *Amino Acids.* 2003. Vol. 25. P. 207–218.
14. *Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H.* The importance of glutathione in human disease // *Biomed Pharmacother.* 2003. Vol. 57. N 3–4. P. 145–155.
15. *Yuan L., Kaplowitz N.* Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity // *Mol. Aspects. Med.* 2009. Vol. 30. N 1–2. P. 29–41.

*Стаття: надійшла до редакції 04.02.13*

*доопрацьована 08.05.13*

*прийнята до друку 27.05.13*

## **EFFECT OF L-GLUTAMIC ACID ON THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE METABOLISM ENZYMES AND INTENSITY OF PEROXIDATION PROCESSES IN RATS**

**N. Salyha, Yu. Salyha**

*Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: ynosyt@yahoo.com*

The effect of additional (10% and 25% respectively) administration of L-glutamic acid (L-Glu) into the diet of rats on the activity of antioxidant enzymes and intensity of peroxidation processes in tissues of brain and heart was studied. We found that the rat's diet enrichment by L-Glu during 30 days resulted in a change of glutathione part of antioxidant system and intensity of lipid peroxidation processes. It is shown that additional L-Glu levels leads to increasing of glutathione peroxidase activity and the content of reduced glutathione and to reduction of lipid hydroperoxides and TBA-active products in heart tissues compared with the control group of animals. More intensive changes in these indices were observed in animals of the second experimental group which received additional 25% of L-Glu into the diet.

*Keywords:* L-glutamic acid, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione reduced, lipids hydroperoxides, TBA-active products.

---

**ВЛИЯНИЕ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ  
ЭНЗИМОВ МЕТАБОЛИЗМА ГЛУТАТИОНА И ИНТЕНСИВНОСТЬ  
ПЕРОКСИДНЫХ ПРОЦЕССОВ У КРЫС**

**Н. Салыга, Ю. Салыга**

*Институт биологии животных НААН Украины  
ул. Стуса, 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: ynosyt@yahoo.com*

Исследовано влияние дополнительного (10% і 25% соответственно) введения к рациону L-глутаминовой кислоты (L-Glu) на активность антиоксидантных ферментов и интенсивность пероксидных процессов в тканях мозга и сердца крыс. Установлено, что обогащение рациона крыс L-Glu в течение 30 дней приводило к изменениям активности глутатионового звена антиоксидантной защиты и интенсивности перекисного окисления липидов. Показано, что дополнительное введение животным L-Glu приводит к повышению глутатионпероксидазной активности, содержанию восстановленного глутатиона и снижению содержания гидропероксидов липидов и ТБК-активных продуктов в тканях сердца, по сравнению с контрольной группой животных. Более существенные изменения данных показателей наблюдались у животных второй опытной группы, получавших дополнительно 25% L-Glu к рациону.

*Ключевые слова:* L-глутаминовая кислота, восстановленный глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, гидропероксиды, ТБК-активные продукты.

## ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНУ ЗА УМОВ ГАЛЬМУВАННЯ ПУХЛИННОГО РОСТУ

**О. Біленко\*, М. Руденко, І. Леус, С. Бабій, О. Скорік, Н. Штеменко**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: bilenkoelena@mail.ru*

Вивчено вплив нової кластерної сполуки ренію з феруловою кислотою як органічним лігандом та цисплатину на активність глутатіонпероксидази, глутатіон-трансферази і вміст відновленого глутатіону в крові щурів з модельною карциномою Герена. Отримані дані свідчать про певні зміни в глутатіонзалежній системі крові при гальмуванні пухлинного росту досліджуваними сполуками. При канцерогенезі ефект дії змішаної наноліпосомної системи реній-платина виражений більше, ніж при окремому введенні досліджуваних речовин. Показано, що, поряд з ефективною протипухлинною дією, в даній групі відзначається підвищення рівня глутатіону й активності глутатіонпероксидази, при зниженні активності глутатіон-S-трансферази. Зроблено висновок, що, на відміну від одноразового введення цисплатину, введення системи реній-платина сприяло підвищенню антиоксидантного потенціалу організму та стабілізації досліджуваних показників.

*Ключові слова:* глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, цисплатин, система реній-платина.

Онкологічні захворювання займають друге місце серед причин смертності населення після серцево-судинних захворювань. Процес розвитку пухлини супроводжується зміною окисно-відновної рівноваги за участю активних форм кисню, що призводить до активації процесу перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи (АОС) [8, 18]. Антиоксидантні властивості препаратів, у тому числі і протипухлинні, можуть відігравати вирішальну роль у кореляції патологічних станів [8, 19]. Доведено, що активність вільнорадикальних процесів і стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в організмі суттєво змінюються при розвитку пухлини. Тому актуальним є вивчення змін у системі антиоксидантного захисту при канцерогенезі і пошук нових протипухлинних сполук із антиоксидантними властивостями. Ключова роль у захисті клітини від окисного стресу належить системі глутатіону. Глутатіон (GSH), глутатіонпероксидаза (GP), глутатіонтрансфераза (GT) і глутатіонредуктаза (GR) утворюють глутатіонову антиоксидантну систему. При виснаженні цієї системи виникають значні пошкодження клітини і, в результаті, розвиток захворювань [13]. Тому дослідження змін показників системи глутатіону є доволі актуальним для пошуку нових фармакологічних засобів, які могли би корегувати стан окисного стресу при розвитку новоутворень.

Кластерні сполуки ренію мають унікальний реакційний центр –  $Re\equiv Re$  з окисно-відновними властивостями. Ці сполуки виявляють низьку токсичність, антиоксидантні, гепато- і нефропротекторні властивості на моделях гострого токсичного гепатиту й за канцерогенезу [1, 4, 8]. Введення сполук ренію разом із цисплатином у ліпосомній формі супроводжується вірогідним покращенням загального фізичного стану тварин і корекції системи антиоксидантного захисту крові на рівні відомих антиоксидантів [1, 3, 4, 8]. Отже, метою роботи було дослідити систему глутатіону в моделі пухлинного росту при введенні

нової кластерної сполуки ренію з феруловою кислотою як органічного ліганду окремо й у складі реній-платинової (Re-Pt) системи [11, 17], порівняння отриманих результатів з одноразовим введенням цисплатину (сPt).

#### Матеріали та методи

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар масою 100–150 г віком два місяці. Суспензія пухлинних клітин (30% у фізіологічному розчині) карциноми Герена (Т8) перещеплювалася здоровим щурам від пухлиноносців, отриманих у Інституті онкології та радіології ім. Р. О. Кавецького МОЗ України. Цисплатин, ліпосомні форми кластерних сполук ренію і змішані наноліпосоми сполуки ренію та цисплатину готували в Українському державному хіміко-технологічному університеті на кафедрі неорганічної хімії [16]. Досліджували кластерну сполуку ренію з феруловою кислотою як органічний ліганд (рис. 1).

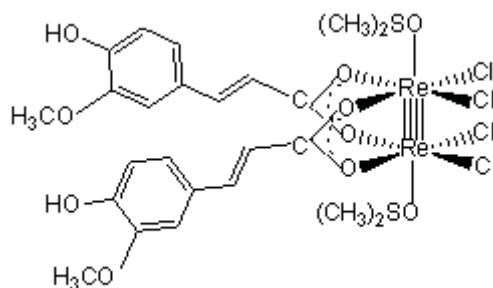


Рис. 1. Структурна форма досліджуваної сполуки  $\text{cis-Re}_2(\text{HO-C}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCOO})_2\text{Cl}_4 \times 2(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  – біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиреній (III) або Referul.

Кластерні сполуки ренію і цисплатин вводили різними способами за схемою антиоксидантної терапії [15]. Дослідні тварини були поділені на 6 груп по 8 щурів у кожній:

- 1 – контроль – здорові інтактні щури;
- 2 – Т8 – щури з карциномою Герена;
- 3 – сPt – щури з карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у дозі 8 мг/кг на 9 добу після трансплантації пухлинних клітин;
- 4 – Referul – щури з карциномою Герена Т8, яким вводили сполуку Ренію у вигляді ліпосом у дозі 7 мкмоль/кг;
- 5 – Referul+сPt – щури з карциномою Герена Т8, яким вводили систему Re-Pt як одноразове введення розчину сPt у дозі 8 мг/кг на 9 добу та сполуку ренію в ліпосомній формі, починаючи з 3 доби після трансплантації ракових клітин з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби, у дозі 7 мкг/кг з кінцевим молярним співвідношенням введених сполук ренію і платини 4:1;
- 6 – [Referul+сPt(4:1)] – щури з карциномою Герена Т8, яким вводили змішані наноліпосоми, навантажені сполукою ренію та цисплатином у молярному співвідношенні 4:1, починаючи з 3-ї доби після трансплантації пухлини із розрахунку 7 мкмоль/кг ренієвої сполуки.

Після декапітації (на 21-шу добу) з використанням анестезії хлороформом, у крові визначали вміст відновленого глутатіону [9], активність глутатіон-S-трансферази [12] та глутатіонпероксидази [5]. Застосовували методи математичної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

### Результати і їхнє обговорення

Глутатіон вносить основний вклад у функціонування системи антиоксидантного захисту [6]. Вміст відновленого глутатіону у крові здорових щурів і щурів із карциномою Герена за умов гальмування пухлинного росту сполукою ренію та цисплатином, представлений на рис. 2.

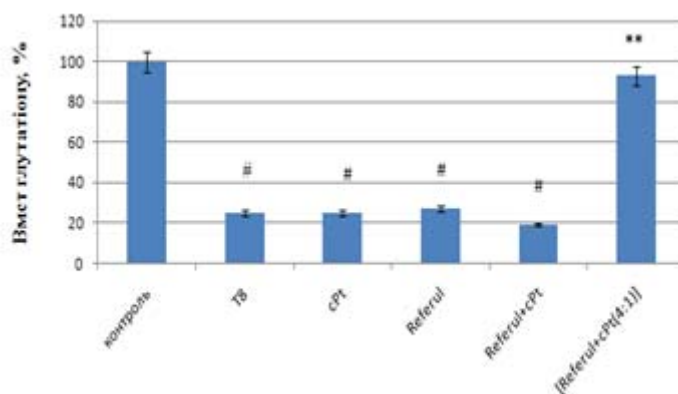


Рис. 2. Вміст глутатіону у крові здорових щурів і щурів із карциномою Герена під впливом досліджуваних сполук, %.\* – достовірна різниця порівняно з групою T8,  $p < 0,01$ ; # – достовірна різниця порівняно з контролем,  $p < 0,05$  ( $n=8$ ).

Зменшення концентрації глутатіону у групі T8 на 75%, порівняно з контролем, свідчить про високу інтенсивність процесу ПОЛ і виснаження глутатіонової системи. Низький рівень GSH крові також може призвести до порушення транспорту глутатіону в інших тканинах. Введення цисплатину не призводило до підвищення концентрації глутатіону, що свідчить про виснаження антиоксидантної системи щурів-пухлиноносіїв [14]. Введення Referul та Referul+cPt також не призвело до зміни досліджуваного параметра. Натомість, введення системи [Referul+cPt(4:1)] сприяло підвищенню вмісту глутатіону на 67,3%, порівняно з групою пухлиноносіїв, і рівень GSH майже досягав значень контрольної групи. Тобто інкапсуляція сполуки ренію разом із цисплатином у наноліпосому призводить до модифікації дії обох сполук. Поряд зі значною протипухлинною активністю такої системи, в даному дослідженні показана інтенсифікація антиоксидантних властивостей сполуки ренію. Відомо, що ферулова кислота виявляє антиоксидантні властивості, тому її можна вважати перспективною як ліганд для сполук ренію. Зафіксоване підвищення рівня глутатіону може свідчити про відновлення доступності субстратів (амінокислот) для GSH, що були порушені при розвитку оксидативного стресу [14] у щурів-пухлиноносіїв.

На рис. 3 показано активність глутатіон-S-трансферази у гемолізаті еритроцитів здорових щурів і щурів із карциномою Герена при введенні досліджуваних сполук.

Із літературних джерел відомо, що активність глутатіонтрансферази підвищується при різних онкологічних захворюваннях, і цей показник вважають потенціальним маркером розвитку пухлинного процесу [2, 10]. Встановлено, що активність GT у групі T8 підвищувалася на 49% порівняно з контролем. Введення cPt щурам-пухлиноносійм не змінювало активність ферменту порівняно з групою T8. Відсутність тенденції до зниження рівня даного маркера пухлинного росту впродовж двох тижнів свідчить про недостатність проведеного лікування і можливу подальшу генералізацією пухлинного процесу [13].

Під впливом кластерної сполуки ренію та системи Re-Pt значення активності ферменту досягало показників контрольної групи. Спостерігалось зниження активності

GT у групі Referul – на 59%, Referul+cPt – на 60% і [Referul+cPt(4:1)] – на 47%, порівняно з групою T8. Отже, зниження у крові щурів-пухлиноносіїв активності глутатіонтрансферази при введенні кластерної сполуки ренію окремо та в системі з цисплатином свідчить про ефективність такого лікування, що зумовлює зниження інтенсивності пухлинного росту і нормалізацію АОС [13].

Було визначено також зміни активності глутатіонпероксидази при застосуванні досліджуваних сполук. Результати показано на рис. 4.

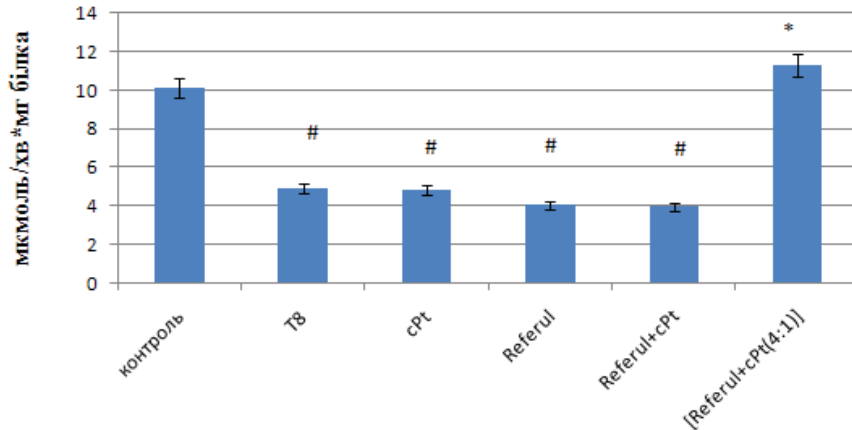


Рис. 3. Активність глутаіон-S-трансферази у гемолізаті еритроцитів здорових щурів і щурів із карциномою Герена під впливом досліджуваних сполук, мкмоль/хв. х гНб; \* – достовірна різниця порівняно з групою T8, # – достовірна різниця порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ,  $n = 8$ .

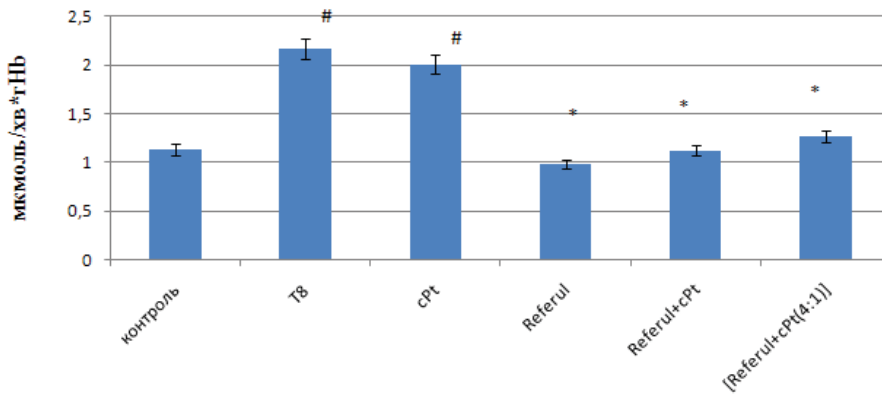


Рис. 4. Активність глутатіонпероксидази у крові здорових щурів і щурів із карциномою Герена під впливом досліджуваних сполук, мкмоль/хв. х мг білка.\* – достовірна різниця порівняно з групою T8, # – достовірна різниця порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ,  $n = 8$ .

Дослідження активності глутатіонпероксидази показало, що її рівень у групі T8 і при введенні цисплатину знижується в середньому на 55%, порівняно з контролем. Подібна тенденція відзначається і в групах Referul та Referul+cPt. Зниження активності GP можна розглядати як нормальну фізіологічну реакцію на інтенсифікацію вільнорадикальних процесів загалом і підвищеної кількості  $H_2O_2$  та/або гідроперекисів в окремих випадках [6]. Глутатіонпероксидаза є одним із найважливіших компонентів антипероксидної ферментної системи клітини, але загалом видаляє невеликі кількості перекису водню, а при його більш



високій концентрації головне навантаження несе каталаза [7]. Під час введення системи [Referul+cPt(4:1)] спостерігалось підвищення активності ферменту на 127% порівняно з групою Т8. Оскільки активність GP безпосередньо залежить від кількості пероксидів у крові, то підвищення її активності свідчить про зниження рівня окисного стресу у крові щурів-пухлиноносців [6].

Отже, встановлено, що ріст пухлини викликає порушення системи АОЗ і призводить до зменшення вмісту глутатіону на 75%, зміни активності ферментів: зниження активності глутатіонпероксидази на 58% та підвищення активності глутатіон-S-трансферази на 49%. Введення цисплатину не призводило до підвищення концентрації глутатіону і нормалізації активності ферментів глутатіонової системи, хоча і зменшувало розміри пухлини. Це свідчить про високу інтенсивність процесу ПОЛ і виснаження глутатіонової системи. Дослідження виявило, що глутатіонова система крові у щурів з модельною карциномою Герена найбільш чутлива до введення змішаних наноліпосом системи Re-Pt. Поряд з ефективною протипухлинною дією, в даній групі відзначається підвищення рівня глутатіону й активності глутатіонпероксидази до показників контрольної групи, а також зниження активності глутатіон-S-трансферази. Отже, можна констатувати, що, на відміну від одноразового введення цисплатину, введення системи [Referul+cPt(4:1)] сприяло підвищенню антиоксидантного потенціалу організму та стабілізації досліджуваних показників.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бабій С. О., Дьомшина О. О.* Вплив протипухлинної системи «реній-платина» на функціональний стан нирок щурів у моделі токсичної нефропатії // Вісн. пробл. біології і медицини. Полтава, 2010. Вип. 3. С. 94–101.
2. *Васильєва І. Г., Розуменко В. Д., Главацький А. Я.* и др. Полиморфизм глутатіон-S-трансферазы в тканях глиом головного мозга человека и связь его со злокачественностью // Журнал АМН України. 2009. Т. 15. С. 780–788.
3. *Івчук В. В., Полішко Т. М.* Стан печінки щурів при розвитку карциноми Герена та гальмуванні її росту сполуками ренію // Мед. хімія. 2009. Т. 11. С. 60–64.
4. *Івчук В. В., Полішко Т. М.* Вплив протипухлинної системи реній-платина на біохімічний стан печінки // Укр. біохім. журнал. 2011. Т. 83. С. 76–84.
5. *Карпищенко А. І., Смирнов В. В., Глушков С. І.* и др. Методика определения показателей системы глутатиона в лимфоцитах человека // Клиническая лабораторная диагностика. 1997. № 12. С. 41–42.
6. *Коржов В. І., Жадан В. Н.* Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журнал академії мед. наук України. 2007. Т. 13. С. 3–19.
7. *Кулинский В. І., Колесниченко Л. С.* Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатіонпероксидазы // Успехи соврем. биологии. 1993. Т. 113. С. 107–122.
8. *Леус І. В., Шамелашвілі К. Л., Скорик О. Д.* Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена // Укр. біохім. журнал. 2012. Т. 84. С. 87–96.
9. *Овсяннікова Л. М.* Методи оцінки вільнорадикального окиснення та стану антиоксидантної системи організму у клінічній практиці. К.: Вища школа, 2007. 24 с.
10. *Севостьянова Н. В., Чойнзонов Е. Л.* Генетический полиморфизм глутатіон-S-трансферазы у больных плоскоклеточным и мелкоклеточным раком легкого // Рос. онколог. журнал. 2008. № 1. С. 28–32.

11. *Скорик О. Д.* Інтенсивність оксидативного стресу та склад вільних амінокислот крові при гальмуванні росту карциноми Герена сполуками ренію: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.04. К., 2009. 20 с.
12. *Яблонська С. В., Філінська О. М.* Оцінка гепатотоксичності нового похідного малеїміду з цитостатичною активністю і його вплив на пероксидне окислення та антиоксидантну систему печінки // Укр. біохім. журнал. 2009. Т. 81. С. 83–92.
13. *Clapper M. L., Szarka C. E.* Glutathione S-transferases--biomarkers of cancer risk and chemopreventive response // *Chem. Biol. Interact.* 1998. P. 111–112. 377–388.
14. *Khynriam D., Prasad S. B.* Hematotoxicity and blood glutathione levels after cisplatin treatment of tumor-bearing mice // *Cell Biol. Toxicol.* 2001. N 17. P. 357–370.
15. *Meerson F. Z., Evstigneeva M. E., Ustinova E. E.* Effect of chronic haemolytic anemia on heart contractile function and increase of its resistance to hypoxia // *Pat. Physiol. and Exp Therap.* 1983. N 5. P. 25–29.
16. *Shtemenko N. I., Berzenina O. V., Yegorova D. E.* et al. Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity // *Chem. Biodiversity.* 2008. N 5. P. 1660–1667.
17. *Shtemenko N. I., Zabitskaya E. D., Berzenina O. V.* et al. Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity // *Chem. Biodiversity.* 2008. N 5. P. 1660–1667.
18. *Valko M.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. N 39. P. 44–84.
19. *Wondrak G.* Redox-directed cancer therapeutics: molecular mechanisms and opportunities // *Antioxid. Redox Signal.* 2009. N 11. P. 3013–3069.

*Стаття: надійшла до редакції 28.01.13*

*доопрацьована 18.03.13*

*прийнята до друку 19.03.13*

## INVESTIGATION OF GLUTATHIONE SYSTEM UNDER INHIBITION OF TUMOR GROWTH

**O. Bilenko, M. Rudenko, I. Leus, S. Babiy, O. Skorik, N. Shtemenko**

*Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: bilenkoelena@mail.ru*

The influence of new cluster rhenium compound with ferulic acid as the organic ligand and cis-platinum on the activity of glutathione peroxidase, glutathione transferase and the content of reduced glutathione in rat blood in experimental carcinoma Guerin have been studied. The obtained data demonstrate certain changes in glutathione dependent system of blood under inhibition of tumor growth by research compounds. The effect of the mixed nanoliposome rhenium-platinum system is more pronounced than a single administration of the test substances in cancer. It is shown (in group [Referul+cPt(4:1)]) the effective antitumor activity marked increasing glutathione levels and glutathione peroxidase activity and reducing glutathione-S-transferase activity. It is concluded that, in contrast to a single injection of cisplatin, the introduction of platinum-rhenium system promoted increasing antioxidant capacity of the body and stabilizing the studied parameters.

*Keywords:* glutathione, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, cisplatin, rhenium-platinum system.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА  
ПРИ ТОРМОЖЕНИИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА****Е. Біленко, М. Руденко, І. Леус, С. Бабий, О. Скорик, Н. Штеменко**

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: bilenkoelena@mail.ru*

Изучено влияние нового кластерного соединения рения с ферруловой кислотой в качестве органического лиганда и цисплатина на активность глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы и содержание восстановленного глутатиона в крови крыс с модельной карциномой Герена. Полученные данные свидетельствуют об определенных изменениях в глутатионзависимой системе крови при торможении опухолевого роста исследуемыми соединениями. При канцерогенезе эффект действия смешанной нанолипосомной системы рений-платина выражен больше, чем при отдельном введении исследуемых веществ. Показано, что наряду с эффективным противоопухолевым действием, в данной группе отмечается повышение уровня глутатиона и активности глутатионпероксидазы, при снижении активности глутатион-S-трансферазы. Сделан вывод, что, в отличие от однократного введения цисплатина, введение системы рений-платина способствовало повышению антиоксидантного потенциала организма и стабилизации исследуемых показателей.

*Ключевые слова:* глутатион, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, цисплатин, система рений-платина.

УДК 582.251.62

**МІСЦЕ В СИСТЕМІ CHLOROPHYTA ОДНОКЛІТИННОЇ  
АВТОСПОРОУТВОРЮЮЧОЇ ВОДОРОСТІ  
*PSEUDOSPONGIOCOCCUM PROTOCCOIDES***

**Е. Челебієва<sup>1\*</sup>, С. Скребовська<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Інститут біології південних морів імені О.О. Ковалевського НАН України  
пр. Нахімова, 2, Севастополь 99011, Україна  
e-mail: elina.chelebieva@gmail.com

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ННЦ «Інститут біології»  
пр. Глушкова, 2, Київ 03022, Україна  
e-mail: Skribovskaya@ukr.net

Уперше встановлено місце автентичного штаму *Pseudospongiococcum protococcoides* (CALU-221) в системі Chlorophyta на основі аналізу нуклеотидної послідовності 18S rDNA. Показано, що *P. protococcoides* належить до родини Scenedesmaeace та входить у молекулярну кладу «Coelastrella».

*Ключові слова:* зелені водорості, таксономія, молекулярна філогенія, кетокаротиноїди.

Зелена одноклітинна мікроскопічна водорість *Pseudospongiococcum protococcoides* Gromov & Mamkaeva була вперше виділена Борисом Васильовичем Громовим у 1962 р. з ґрунтової проби, відібраної поблизу міста Севастополь. Культура за своєю морфологією була подібна до представників роду *Neospongiococcum* Deason, однак клітини *Neospongiococcum* характеризуються утворенням рухомих зооспор [7], яких не спостерігали Б. В. Громов і К. А. Мамкаєва у *P. protococcoides* за різних умов культивування. Водорість відрізнялася і від видів роду *Pseudochlorococcum* Archibald, що також не утворюють зооспор, будовою хлоропласта [4, 11]. У 1974 р. на підставі результатів морфологічних і ультраструктурних досліджень Б. В. Громов і К. А. Мамкаєва запропонували виділити новий рід *Pseudospongiococcum*, номенклатурним типом якого є *Pseudospongiococcum protococcoides* Gromov & Mamkaeva [11].

Кілька десятиліть штам *P. protococcoides* зберігався в колекції водоростей Біологічного інституту Санкт-Петербурзького університету (CALU-221) на агаризованих середовищах і характеризувався вираженою здатністю до накопичення вторинних каротиноїдів (почервоніння старіючих культур). У 2006 р. штам був переданий до Інституту біології південних морів імені О.О. Ковалевського НАН України для проведення експериментальних досліджень із проблеми вторинного каротиногенезу у зелених мікроводоростей різної екологічної спеціалізації й таксономічної приналежності. За результатами попередніх досліджень *P. protococcoides* характеризується високою стійкістю до стрес-впливів, що індукують ВКРГ, і високим відносним вмістом цінних кетокаротиноїдів [3]. Важливою умовою для продовження досліджень даного виду є уточнення його систематичного положення. Приводом для проведення такої роботи стала відсутність *P. protococcoides* у інших світових альгологічних колекціях водоростей і присвячених йому публікацій, за винятком кількох робіт [1, 11].

Отже, з'ясування систематичного положення *Pseudosporoglossum protococcoides* у системі зелених водоростей і визначило мету нашої роботи.

#### Матеріал та методи

Матеріалом досліджень був штам *P. protococcoides* (CALU-221), який вирощували на 2% агаризованому та рідкому середовищах 3N BBM [5] при освітленості 2 кЛк і температурі 18–20°C.

Ідентифікацію морфологічним методом проводили на основі оптичної мікроскопії культур, вік яких становив 2 тижні, 2 місяці і більше, 6 місяців і більше та 12 місяців. Спостереження проводили на оптичному мікроскопі серії Primo Star (Carl Zeiss, Німеччина). Мікрофотографії виконували на цьому ж мікроскопі за допомогою цифрової камери (DCM 520), з'єднаної з ПК. Усі спостереження проводили з обов'язковим використанням імерсійних об'єктивів (100<sup>x</sup>).

Для з'ясування місця в системі зелених водоростей була використана нуклеотидна послідовність ядерного гена 18S rDNA. Тотальну ДНК виділяли у відповідності до протоколу ізоляції ДНК із рослин (DNA Microprep Isolation from Plants, (<http://www.scienceboard.net>)). Ампліфікацію послідовності 18S rDNA проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), з використанням пари універсальних евкаріотичних праймерів для 18S rDNA: прямого праймера (1-F) та оберненого – (1528-R).

Об'єм ампліфікаційної суміші становив 50 μl. Ампліфікацію проводили в термочеклері Techne TC 412. Встановлювали такий температурний профіль реакції: 94°C – 3 хв, (94°C – 45 с, 54°C – 1 хв, 72°C – 3 хв) – 30 циклів, 72°C – 5 хв, 4°C – ∞. [13]. Амплікони, отримані в результаті ПЛР, візуалізували методом горизонтального електрофорезу в 1% агарозному гелі в TBE буфері [6].

Секвенування ампліфікованих послідовностей здійснювали з прямими (1-F), (528-F), (1055-F) та оберненими праймерами (1055-R), (536-R), (1528-R) в лабораторії Masrogen Inc. (Нідерланди) (табл.1).

Таблиця 1

Послідовності праймерів, використаних для ампліфікації та секвенування	
Назва праймера	Послідовність
1-F	5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGTA-3'
1528-R	5'-CTTCTGCAGGTTACCTAC-3'
528-F	5'-GCGGTAATCCAGCTCCAA-3'
1055-R	5'-ACGGCCATGCACCACCACCA-3'
1055-F	5'-GGTGGTGCATGGCCGTCTT-3'
536-R	5'-AATTACCGCKGCTGGCA-3'

Редагування та складання консенсусної послідовності проводили шляхом візуального зіставлення прямого та зворотного хроматограф-сиквенсів за допомогою програм Chromas (version 1.45). Складання матриці та її вирівнювання здійснювали за допомогою редактора BioEdit та програми CLUSTAL W v 1.75 [12]. Отримана послідовність гена 18S rDNA штаму CALU-221 загальною довжиною 1729 п.н., підготовлена до депонування в базу даних у GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Філогенетичні дерева будували за методом максимальної правдоподібності (Maximal Likelihood, ML), методом найближчих сусідів (Neighborhood – Joining, NJ) та методом максимальної парсимонії (Maximum Parsimony, MP) у філогенетичній програмі PHYLIP 3.69 [9]. Статистичну підтримку філогенетичних дерев у NJ та MP аналізах оцінювали методом бутстрепа, використовуючи 100 бутстреп-реплік [9,10]. Послідовність 18S rDNA штаму CALU-221 була додана до матриці послідовностей 18S rDNA вибірки зелених водо-

ростей, депонованих у NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), схожість яких за результатами BLAST-пошуку, з використанням алгоритму megablast становила 99%. Всього матриця складалася зі 17 послідовностей видів зелених водоростей. Зовнішню групу представляли послідовності *Hydrodictyon reticulatum* (Linnaeus) Bory de Saint-Vincent та *Chlamydomonas applanata* Pringsheim. Повний перелік таксонів, включених до матриці вирівнювання, представлений у табл. 2.

Таблиця 2

## Перелік таксонів, включених у матрицю вирівнювання

Таксон (синонім в NCBI*)	Код доступу в NCBI
<i>Graesiella emersonii</i> (Shihira & Krauss) Nozaki ( <i>Chlorella emersonii</i> Shihira & Krauss)	FR865687.1
<i>Graesiella vacuolata</i> (Shihira & Krauss) Kalina & Puncochárová	FR865685.1
<i>Scenedesmus vacuolatus</i> Shihira & Krauss	X56104.1
<i>Chlorella emersonii</i> Shihira & Krauss	FR865661.1
<i>Asterarcys quadricellulare</i> (Behre) Hegewald & Schmidt	AF388375.1
<i>Coelastrum saipanensis</i> Hanagata	AB055800.1
<i>Ettlia texensis</i> (Archibald) Komárek	GU292343.1
<i>Coelastrum morus</i> West & West	AF388374.1
<i>Scenedesmus costatus</i> Schmidle	AB037090.1
<i>Scenedesmus pectinatus</i> Meyen	FR865730.1
<i>Pectinodesmus pectinatus</i> (Meyen) Hegewald, Wolf, Keller, Friedl & Krienitz	AB037092.1
<i>Scenedesmus pectinatus</i> Meyen	FR865723.1
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing ( <i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata)	FR865738.1
<i>Scenedesmus regularis</i> Svirenko	FR865732.1
<i>Chlamydomonas applanata</i> Pringsheim	FR865570.1
<i>Hydrodictyon reticulatum</i> (Linnaeus) Bory de Saint-Vincent	AY779858.1

**Примітка.** \* В дужках наведена назва таксону, під якою послідовність депонована в NCBI у разі розбіжностей назв.

## Результати і їхнє обговорення

**Морфологічний аналіз** штаму CALU-221 показав, що морфотип останнього відповідає першоопису *P. protococcoides*, наведеному Б. В. Громовим і К. А. Мамкаєвою у 1974 р. На агаризованому середовищі 3N BBM клітини утворюють темно-зелені щільно упаковані колонії. Старіючі культури мають помаранчевий колір, унаслідок накопичення вторинних каротиноїдів (рис. 1).

При культивуванні на рідкому середовищі 3N BBM без повітряної продувки культура водорості схильна до агрегації, але при перемішуванні знову стає гомогенною. Молоді клітини еліпсоїдні, з віком набувають сферичної форми. Клітинна оболонка товста, з подвійним контуром. Хлоропласт губчастий або сітчастий (залежно від розмірів і віку клітини). Більшість клітин мають один, рідше два піреноїди, добре помітні у світловому мікроскопі. Розмноження відбувається за допомогою автоспор, які утворюються по 2 або 4. Мінімальний діапазон довжини молодих еліпсоїдних клітин становив 6–8 мкм, ширини – 4–6 мкм, максимальний – 10–12 та 6–8 мкм відповідно. Діаметр автоспор 12–19 мкм (рис. 1).

**Молекулярно-філогенетичний аналіз.** Пошук в GenBank послідовностей, подібних до отриманої нами послідовності 18S rDNA, проведений з використанням megablast алгоритму, показав, що сиквенс *P. protococcoides* (CALU-221) на 100% не збігається з жодним секвенованим видом зелених водоростей, представленим у базі даних NCBI. Проте

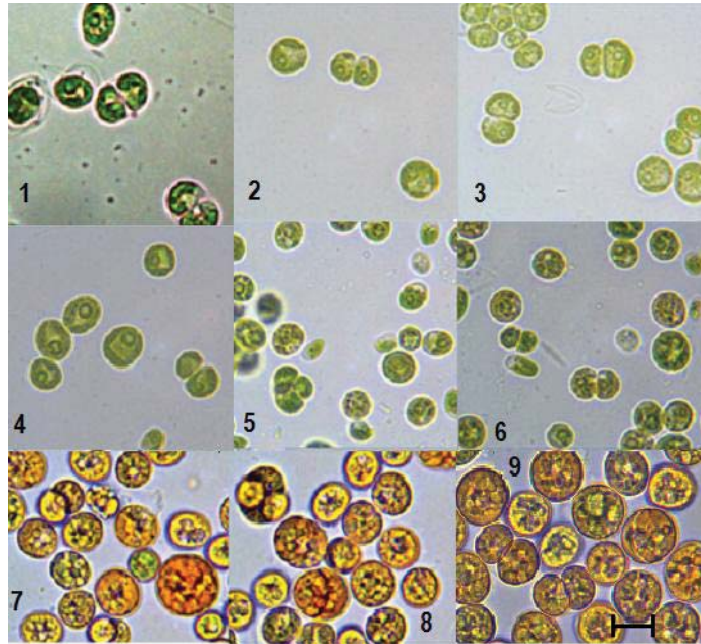


Рис. 1. *P. protococcoides* (штам CALU-221) на рідкому (фото 1-6) й агаризованому (фото 7-9) середовищах 3NBVM: 1-4 – вегетативні клітини, вік 2 тижні; 5-6 – вегетативні клітини, двоспорові спорангії та порожні оболонки материнських клітин після звільнення апланоспор, вік 2 місяці; 7-9 – апланоспори, вік 12 місяців. Шкала 10 мкм.

46 послідовностей були схожі зі штамом CALU-221 на 99–99,99%. Водорості, яким належать ці послідовності, представляють різні молекулярні клади родини Scenedesmaceae. Найвищою є схожість з видами роду *Graesiella* Kalina & Puncochárová та *Scenedesmus* Meyen. На першому місці (99,90%) є схожість зі штамом “CCAP 211/8P”, наведеним як *Graesiella emersonii* (Shihira & Krauss) Nozaki (код доступу FR865687.1), синонім *Chlorella emersonii* Shihira & Krauss. На другому місці (99,80%) розташовуються види: *G. vacuolata* (Shihira & Krauss) Kalina & Puncochárová (штам “CCAP 211/8C”, код доступу FR865685.1), *C. emersonii* Shihira & Krauss (штам “CCAP 211/15”, код доступу FR865661.1), *C. emersonii* Shihira & Krauss (штам “CCAP 211/11M”, код доступу FR865657.1).

Були побудовані філогенетичні дерева NJ, MP та ML методами для матриці, що складалася з 15 послідовностей, зовнішньої групи та включала сиквенс штаму *P. protococcoides* (CALU-221). На всіх варіантах філогенетичних дерев штам CALU-221 потрапляв у надкладу, що відповідає родині Scenedesmaceae, а в її межах – у кладу «Coelastrella». Ця клада об'єднала такі секвенсовані за 18S rDNA операційні таксономічні одиниці (ОТО) як *Graesiella emersonii*, *G. vacuolata*, а також *Scenedesmus vacuolatus*, *Asterarcys quadricellulare* та *C. emersonii* (рис. 2). Ці види за топологією добре узгоджувалися з тими, що наводяться в літературі для родини Scenedesmaceae у її сучасній інтерпретації [2, 8]. Таким чином, штам *P. protococcoides* (CALU-221) виявився представником клади «Coelastrella», спорідненим зі секвенсованими за 18S rDNA видами роду *Graesiella* та з деякими видами родів *Scenedesmus* та *Asterarcys*.

Отже, результати, отримані при молекулярно-філогенетичному аналізі, показали, що генотип *P. protococcoides* є унікальним та не є ідентичним до жодного зі секвенсованих

видів зелених водоростей, та вказали на положення штаму у межах родини Scenedesmaceae, класи «Coelastrella».

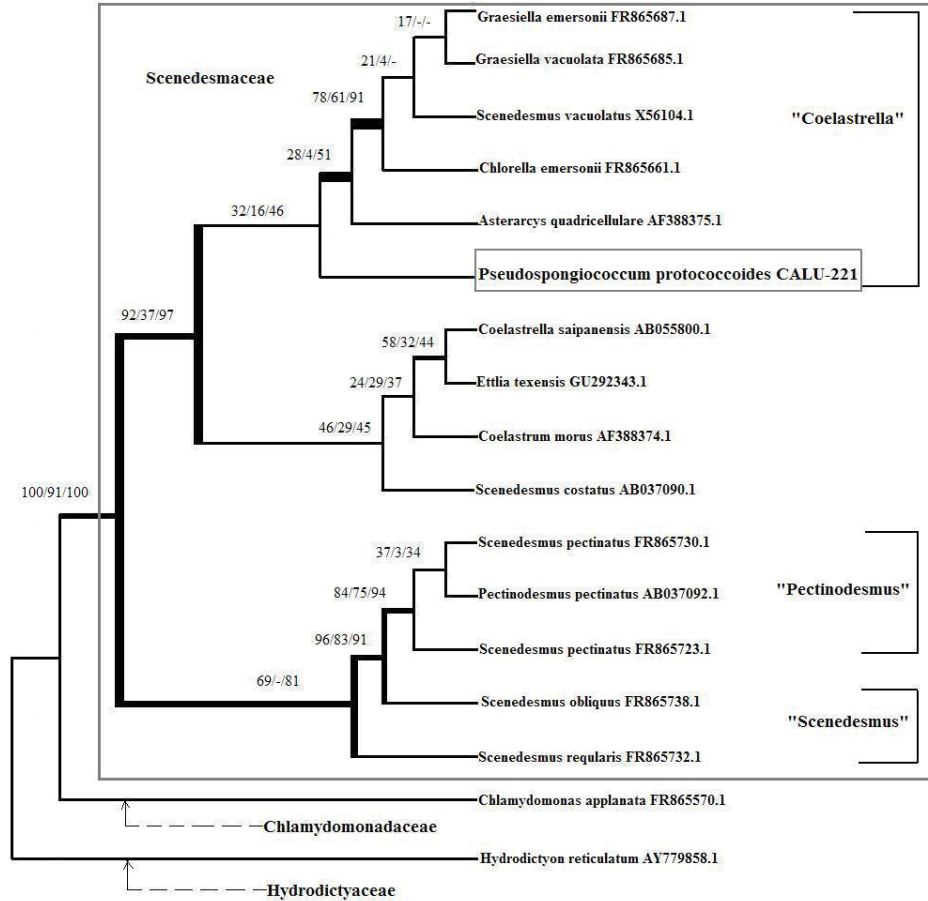


Рис. 2. Місце *Pseudospongiococcum protococcoides* (CALU-221) в системі Scenedesmaceae за результатами аналізу послідовностей 18S rDNA (філогенетичне дерево, що побудоване за методом максимальної правдоподібності; на гілках - значення бутстрепа для ML/MP/NJ дерев. Гілки, які хоча б за одним методом мають підтримку, вищу за 50%, виділені товстими лініями).

Автори щиро вдячні директорові музею культур мікроорганізмів Біологічного НДІ СПБДУ д.б.н., проф. О. В. Піневичу за надання штаму CALU-221, а також завідувачеві кафедри ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка д.б.н., проф. І.Ю. Костікову за поради та рекомендації при підготовці даної статті.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Громов Б. В., Титова Н. Н. Коллекция культур водорослей лаборатории микробиологии Биологического института Ленинградского университета (CALU). «Коллекции микроводорослей в СССР (список культур)». АН СССР, Пушино, 1988. С. 52–91.
2. Скребовська С. В., Костіков І. Ю. *Scotiellopsis levicostata* (Chlorophyta) в системі Scenedesmaceae // Чорноморський ботан. журнал. 2012. Т. 8. № 4. 2012. С. 401–412.



3. Чубчикова И. Н., Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Данцюк Н. В. Хлорококковые микроводоросли как потенциальный источник природных кетокаротиноидов // Экология моря. 2009. № 77. С. 77–83.
4. Archibald P. A. Pseudochlorococcum, a new Chlorococcalean genus // Phycologia. 1970. Vol. 6. N 2. P. 127–132.
5. Bishoff H. W., Bold H. C. Phycological Studies. IV. Some algae from enchanted rock and related algae species // Univ. Texas Publ. 1963. N 6318. P. 1–95.
6. Brody J. R., Kern S. E. History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis // Anal Biochem. 2004. N 333(1). P. 1–13.
7. Deason T. R., Cox E. R. The genera Spongiococcum and Neospongiococcum. II. Species of Neospongiococcum with liable wals // Phycologia. 1971. Vol. 10 (2/3). P. 255–262.
8. Eliás M., Nemcova Y., Skaloud P. et al. Hylodesmus singaporensis gen. et sp. nov., a new autosporic subaerial green alga (Scenedesmaceae, Chlorophyta) from Singapore // International J. Systematic and Evolutionary Microbiol. 2010. Vol. 60. P. 1–12.
9. Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach // Mol Evol. 1981. Vol. 17. P. 368–376.
10. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap // Evolution. 1985. Vol. 39. P. 783–791.
11. Gromov B. M., Mamkaeva K. A. Morphology and ultrastructure of some chlorococcae algae from the collection of algae strain in Leningrad University // Arch. Hydrobiol. Suppl. 46. Algol. stud. 1974. Vol. 10. P. 1–9.
12. Thompson J., Higgins D., Gibson T. Clustal w: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Research. 1994. Vol. 22. P. 4673–4680.
13. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR protocols: a guide to methods and applications / Eds Innis M.A., Geifand D.H., Snisky J.J., White T.J. San Diego (CA). 1990. P. 315–322.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

прийнята до друку 17.05.13

**UNICELLULAR SPORE-FORMING ALGA  
PSEUDOSPONGIOCOCCUM PROTOCOCCOIDES POSITION DETECTION  
IN THE SYSTEM CHLOROPHYTA**

**E. Chelebieva<sup>1</sup>, S. Skrebovskaya<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biology of the Southern Seas behalf of Sciences of the NAS of  
Ukraine*

*2, Nakhimov Ave., Sevastopol 99011, Ukraine  
e-mail: elina.chelebieva@gmail.com*

<sup>2</sup>*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
ESC "Institute of Biology"*

*2, Acad. Glushkov Ave., Kyiv 03022, Ukraine  
e-mail: Skribovskaya@ukr.net*

For first time the place of authentic strain *Pseudospongiococcum protococcoides* (CALU-221) was determined on the basis of nucleic sequence analysis 18S rDNA. It has

been shown that *P. protococcoides* attributes to Scenedesmaceae family and is a part of molecular clade «Coelastrella».

*Keywords:* green algae, taxonomy, molecular phylogeny, ketocarotenoids.

**МЕСТО В СИСТЕМЕ CHLOROPHYTA ОДНОКЛЕТОЧНОЙ  
СПОРООБРАЗУЮЩЕЙ ВОДРОСЛИ  
*PSEUDOSPONGIOCOCCUM PROTOCCOIDES***

**Э. Челебиева<sup>1</sup>, С. Скребовская<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского НАН Украины  
пр. Нахимова, 2, Севастополь 99011, Украина  
e-mail: elina.chelebieva@gmail.com*

<sup>2</sup>*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, УНЦ  
«Институт биологии», пр. Акад. Глушкова, 2, Киев 03022, Украина  
e-mail: Skribovskaya@ukr.net*

Впервые установлено место аутентичного штамма *Pseudospongiococcum protococcoides* (CALU-221) в системе Chlorophyta на основе анализа нуклеотидной последовательности 18S rDNA. Показано, что *P. protococcoides* относится к семейству Scenedesmaceae и входит в молекулярную кладу «Coelastrella».

*Ключевые слова:* зеленые водоросли, таксономия, молекулярная филогения, кетокаротиноиды.

## АНТРОПОГЕННА ТРАНСФОРМАЦІЯ БРІОФЛОРИ ТА МОХОВОГО ПОКРИВУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

С. Гапон

*Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка  
вул. Остроградського, 2, Полтава 36003, Україна  
e-mail: garonsv@mail.ru*

З'ясовані основні напрями трансформації бріофлори та мохового покриву Лісостепу України. У флорі мохоподібних відбувається збіднення видового складу, зникнення низки видів, звуження території поширення мохів у межах регіону дослідження, зменшення частоти їх трапляння, проективного покриття. Відбувається також збагачення флори синантропними бріофітами. Зміни мохового покриву полягають у порушенні його структури, збідненні видового складу асоціацій і перехід їх до безрангових угруповань, від полівидових до моновидових, формування синантропних бріоугруповань.

*Ключові слова:* мохоподібні, Лісостеп України, бріоугруповання, моховий покрив.

Флора і рослинність України в останні десятиріччя зазнають значного антропогенного пресингу. На сьогодні виявлені основні тенденції антропогенних змін рослинності України [30]. Вони полягають, насамперед, у зміні структури фітоценозів лісових, лучних, степових типів рослинності, збідненні їх флористичного складу, зокрема в бік зникнення рідкісних і цінних у науковому плані видів. Тому, якщо до початку 70-х років ХХ ст. [30] основна увага приділялася вивченню природної рослинності, то з цього часу дедалі більше вчених досліджують зміни рослинності, обумовлені антропогенним пресингом. Зміни флори та рослинності в цілому сприяють і появі змін у конкретних групах рослинного світу. Це стосується і мохоподібних [29]. Хоча останні безпосередньо не знищуються людиною, але загальні зміни флори та рослинності ведуть і до змін у бріофлорі й покриві мохоподібних. Одним із шляхів виявлення таких змін є вивчення процесу збіднення флори [8] та порушення складу мохової рослинності. Тому метою нашої роботи є з'ясувати особливості збіднення бріофлори та змін мохового покриву в лісостеповій зоні України.

### Матеріали та методи

Матеріалом для написання роботи слугували оригінальні флористичні збори мохоподібних, гербарні збори інших дослідників, літературні дані, конспект флори Лісостепу України, а також геоботанічні описи бріоценозів регіону дослідження. Збори проводили протягом 1996–2012 рр. у різних ектопах регіону дослідження. Назви видів бріофітів наведені за «Чеклістом мохоподібних України» [5], а назви синтаксонів – за Кодексом міжнародної фітосоціологічної номенклатури [35].

Для Лісостепу України особливості антропогенної трансформації бріофлори та зміни в моховому покриві встановлювали шляхом порівняння результатів флористичних зборів, проведених у кінці ХІХ та на початку і в середині ХХ ст. з результатами сучасних зборів (кінець ХХ, початок ХХІ ст.). Для порівняння були взяті роботи кінця ХІХ ст. [1, 27, 28, 31–33] та початку ХХ ст. [2, 11–25, 34].

### Результати і їхнє обговорення

Аналізуючи сучасний стан бріофлори та порівнюючи її склад за літературними даними (кінець XIX та початку XX століття), можна відзначити основні напрями змін. Вони проявляються у збідненні видового складу мохів, зменшенні площі поширення окремих видів або їх повного зникнення в межах досліджуваного регіону, зниженням їх проективного покриття, частоти трапляння. Спостерігаються також зміни в мохових угрупованнях у бік переходу від полівидових до моновидових, випадіння із них більш вразливих видів, активізація процесів формування синантропних угруповань та ін. Усе це зумовлює порушення покриву мохоподібних регіону в цілому.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що процес збіднення бріофлори Лісостепу України відбувається як у цілому по регіону, так і в конкретних його частинах. У першому випадку спостерігається зростання кількості зниклих і ймовірно зниклих видів. Як зауважує М.Ф. Бойко [3], останні можуть бути в подальшому виявлені, але беручи до уваги дедалі зростаючий ступінь антропогенного пресингу на регіон досліджень, швидше всього це є неможливим. У другому випадку зникають види, їхні популяції в конкретних частинах регіону.

До групи зниклих і ймовірно зниклих видів ми відносимо ті, останні знахідки яких датуються кінцем XIX, початком XX ст. У межах регіону дослідження ця група налічує 19 видів. Серед них печіночники (3 види), сфагнові (2), брієві (14). Використовуючи ці показники, встановлюємо ІАПР (індекс антропогенного пресингу), введений М. Ф. Бойком [3] для бріофлори досліджуваного регіону. ІАПР мохоподібних Лісостепу України 4,9%. Тобто майже 5% усієї бріофлори, ймовірніше всього, зникли з регіону дослідження. Деякі види в межах регіону зменшили площу поширення. Так, у останні роки не спостерігаються знахідки водяного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. Ймовірніше всього, це пов'язано із забрудненням річок.

У другому випадку ми встановлюємо регіональні особливості збіднення бріофлори. Так, порівнюючи сучасні збори зі знахідками М. О. Алексенка [1] на півночі регіону (Харківська та Сумська обл.), ми не виявили 12 видів [8]. Хоча деякі з них були відзначені при дослідженні мохового покриву, але в інших частинах регіону (поодинокі знахідки *Tetraphis pellucida* Hedw., *Neckera complanata* (Hedw.) Huebener у Полтавській обл. [7]). Вважаємо, що територія поширення виду *Homalia trichomanoides* (Hedw.) Brid. на Лівобережжі регіону звузилася, адже М.О. Алексенко подавав цей вид як звичайний. За результатами наших досліджень, він трапляється швидше спорадично і приурочений до природних, найменш антропогенізованих ділянок старовікових широколистяних лісів. Адже знахідки його в межах Лівобережжя регіону стосуються переважно природно-заповідних об'єктів.

На Правобережжі регіону останніми знахідками не підтверджена наявність видів із вапнякових відслонень: *Syntrichia calcicola* J. J. Amanri, *S. montana* Nees, *S. norvegica* F. Weber.

Поряд зі збідненням видового складу мохоподібних Лісостепу України під впливом антропогенного пресингу, відбуваються і зміни мохової рослинності. З метою їх виявлення ми провели всебічне дослідження флори і мохової рослинності п'яти модельних ділянок, розміщених згідно з Геоботанічним районуванням [10] у межах одного Роменсько-Полтавського геоботанічного округу, одного Дикансько-Котелівського геоботанічного р-ну, в долині р. Ворскли. Це кленово-липові та грабові діброви урочища «Парасоцьке» (ландшафтний регіональний парк (РЛП) «Диканський»), кленово-липова діброва ділянки «Яремче» Ковпаківського лісопарку (Котелівський р-н), кленово-липова діброва в околицях с. Розсошенці (Полтавський р-н), залишки природної кленово-липової діброви (Тамарин ліс)

Полтавського міського парку (м. Полтава), штучні деревні насадження понад залізницею, що з'єднує залізничні вокзали в м. Полтава. Всі вони лежать у більш-менш однакових природних ґрунтово-кліматичних умовах і зазнають різного ступеня антропогенного пресингу. Як свідчать результати наших досліджень, дія останнього позначається як на флорі, так і на моховій рослинності. Урочище «Парасоцьке» входить до складу заповідної зони Диканського РЛП. Цей об'єкт зазнає найменшого антропогенного впливу, який полягає у проведенні рубок догляду, екскурсій тощо. Його бріофлора налічує 66 видів із 25 родин, 42 родів [5]. Печіночники репрезентовані 8 видами з 7 родин, 7 родів, мохи – 58 видами з 17 родин, 35 родів. Найбагатшими є родини *Brachytheciaceae* 9 видів, *Amblystegiaceae* – 6, *Dicranaceae*, *Orthotrichaceae*, *Plagiomniaceae* – по 4. Урочище характеризується наявністю неморальної групи видів, яка властива старовіковим природним широколистяним лісам, антропогенне навантаження на котрі є незначним. Це *Dicranum viride* (Sull. & Lesq.) Lindb., *Homalia trichomanoides*, *Pterigynandrum filiforme* Hedw., *Isoetecium alopecuroides* (Lam. ex Dubois) Isov., *Neckera complanata*.

Моховий покрив урочища розвинений добре, особливо епіфітний. Наявність старовікових дерев (більше 150 і вище років) зумовлює розвиток усталених, добре сформованих бріоценозів. У його складі відзначені асоціації *Anomodontetum attenuati* (Barkm. 1958) Pec. 1965, *Anomodontetum longifolii* Waldh. 1944, *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989 та безрангові бріоугруповання *Anomodon viticulosus-Leucodon sciuroides* – comm., *Anomodon viticulosus-Amblystegium subtile* – comm., *Pseudoleskeella nervosa-Amblystegium subtile* – comm., *Pseudoleskeella nervosa-Leucodon sciuroides* – comm., *Pseudoleskeella nervosa-Radula complanata* – comm., *Bryum subelegans-Brachytheciastrum velutinum* – comm., *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. Зрідка трапляються *Madotheco platyphyllae-Leskeelletum nervosae* (Gams 1927) Barkm. 1958, *Plagiomnio cuspidati-Homaliatum trichomanoidis* (Pec. 1965) Marst. 1993, *Orthotrichetum speciosi* Barkm. 1958. У місцях проведення рубок догляду вже переважають бріоценози асоціацій *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941, *Leskeetum polycarpae* Horvat ex Pec. 1965. У епіксільному моховому покриві відзначені асоціації та угруповання: *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989, *Hypno cupressiformis-Xylarietum hypoxyli* Phil. 1965, *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm., *Brachythecium rivulare* – comm. Епігейний моховий покрив урочища розвинений слабо у зв'язку з добре розвиненим трав'яним ярусом. У ньому трапляються асоціації *Plagiothecietum cavifolii* Marst. 1984., *Plagiothecietum neglecti* Ricek 1968 та безрангові угруповання *Atrichum undulatum* – comm., *Oxyrrhynchium hians* – comm., *Tortula subulata* – comm. В урочищі було відзначено наявність одного бріоугруповання асоціації *Anomodonto viticulosi-Leucodontetum sciuroidis* Wiśn. 1930 з наявністю її d.s. *Neckera complanata*. Це єдина знахідка на Лівобережжі регіону. Спорадично трапляється, ймовірно всього, збіднений її варіант, який ми розглядаємо як безрангове угруповання *Anomodon viticulosus-Leucodon sciuroides* – comm.

Дільниця «Яремче» Ковпаківського лісопарку, як і урочище «Парасоцьке», є порівняно віддаленою від населених пунктів. З факторів антропогенного впливу тут відзначаються санітарні рубки деревостану, незначне рекреаційне навантаження. Бріофлора дільниці менш різноманітна, ніж урочища «Парасоцьке», і налічує 47 видів [9]. Із них 4 види печіночників з 4 родин, 4 родів, 43 – мохів з 18 родин, 27 родів. У її складі переважають представники родин *Brachytheciaceae* – 6 видів, *Orthotrichaceae*, *Amblystegiaceae*, *Plagiotheciaceae* – по 4, *Plagiomniaceae*, *Anomodontaceae* – по 3.

Епіфітний моховий покрив розвинений добре, особливо в прикореневій зоні дерев. Він репрезентований асоціаціями *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989, *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941 та безранговими бріоугрупованнями: *Pseudoleskeella nervosa-Leucodon sciuroides* – comm., *Pseudoleskeella nervosa-Radula complanata* – comm., *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. Спорадично відзначені *Orthotrichetum pallentis* Ochn. 1928, *Orthotrichetum speciosi* Barkm. 1958, зрідка *Anomodontetum attenuati* (Barkm. 1958) Pec. 1965.

Епікисільна мохова рослинність представлена асоціацією *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989 та безранговими угрупованнями *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. У наземному покриві виявлені бріоценози *Atrichum undulatum* – comm., *Plagiomnium cuspidatum* – comm., *Oxyrrhynchium hians* – comm.

Розсошанська дібровалежить в околицях м. Полтави і зазнає значного антропогенного впливу. Крім санітарних рубок, спостерігається і значне рекреаційне навантаження у вигляді ущільнення ґрунту, знищення ранньовесняних ефемероїдів тощо. Видовий склад мохоподібних значно бідніший, ніж у попередніх об'єктах, і налічує 30 видів з 17 родин, 21 роду. Із них лише 2 види печіночників з 2 родин, 2 родів та 28 видів мохів з 15 родин, 19 родів. У складі бріофлори переважають родини, що містять по 1–2 види. Найбагатшими є родини *Brachytheciaceae* – 4 види, *Amblystegiaceae*, *Hypnaceae*, *Plagiotheciaceae* – по 3. 3 типових неморальних видів тут відзначені лише *Amblystegium subtile* (Hedw.) Schimp., *Anomodon attenuatus* (Hedw.) Huebener.

Краще розвиненим є епіфітний моховий покрив, переважно на поодиноких старовікових деревах *Fraxinus excelsior* L., *Quercus robur* L., *Acer platanoides* L. Він приурочений до прикореневої зони дерев і лише зрідка відзначений у стовбуровій. Основу його складають асоціації *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989, *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941 та безрангові бріоугруповання *Pseudoleskeella nervosa-Radula complanata* – comm., *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. Спорадично відзначені *Orthotrichetum pallentis* Ochn. 1928, *Orthotrichetum speciosi* Barkm., *Leskeetum polycarpae* Horvat ex Pec. 1965. Епікисільні бріоугруповання належать до асоціації *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989 та безрангових угруповань *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. Епігейний моховий покрив майже не виражений і складається з безрангових угруповань: *Atrichum undulatum* – comm., *Plagiomnium cuspidatum* – comm., *Oxyrrhynchium hians* – comm.

Кленово-липова діброва Полтавського міського парку зазнає значного антропогенного впливу у вигляді рекреаційного навантаження (ущільнення ґрунту, витоптування, знищення ефемероїдів тощо). Це зона відпочинку міського населення, її перетинає автомагістраль і оточує залізниця.

Незважаючи на те, що це залишки природної діброви, флора мохоподібних досить бідна і налічує 23 види з 13 родин, 17 родів. У її складі переважають родини, що містять по одному виду. Лише родини *Brachytheciaceae*, *Orthotrichaceae* містять по 3 види, а *Bryaceae*, *Amblystegiaceae*, *Hypnaceae* – по 2.

Моховий покрив майже не виражений. Лише на старовікових деревах у прикореневій зоні переважають безрангові угруповання *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. Зрідка відзначені *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941, *Leskeetum polycarpae* Horvat ex Pec. 1965 та безрангові бріоугруповання *Pseudoleskeella nervosa-Radula complanata* – comm. Епікисільні бріоценози належать до безрангових угруповань *Platygyrium repens* –

comm., *Hypnum reptile* – comm. На ґрунті виявлені поодинокі бріоугруповання *Oxurrrhynchium hians* – comm.

Останніми у дигресивному ряді модельних ділянок є штучні деревні насадження, що оточують залізницю. У них виявлено лише 13 видів мохів із 10 родин, 11 родів. Печіночники відсутні. Лише родини *Orthotrichaceae*, *Amblystegiaceae*, *Brachytheciaceae* містять по 2 види, решта – по одному. Видове різноманіття досить гетерогенне. Типові неморальні види природних широколистяних лісів відсутні, переважають стійкі, толерантні до антропоічного пресингу мохи. Найвні також рудеральні, широко розповсюджені, космополітні види.

Покрив мохоподібних майже не розвинений. У основі стовбурів дерев зрідка відзначені *Leskeetum polycarpae* Horvat ex Pec. 1965, *Hypnum reptile* – comm. На гнилій деревині відзначено лише окремі плями (бріоагрегації) *Brachythecium salebrosum* (Hoffm. ex F. Weber & Mohr) Schimp., *Amblystegietum serpens* (Hedw.) Schimp. На ґрунті також трапляються лише поодинокі плями з *Amblystegietum serpens*. На місці вогнища відзначений збіднений варіант асоціації *Funarietum hygrometrici* Engel 1949.

Як відомо, особливо чутливими до дії антропоічного пресу є епіфітні мохоподібні. У результаті оригінальних досліджень нами встановлено, що чутливими є також і епіфітні бріоугруповання. Вони можуть слугувати бріоіндикаторами у моніторингових дослідженнях. Різним за ступенем трансформації типам рослинності властиві й різні епіфітні бріоугруповання та ступінь розвитку мохового покриву в цілому. У такому випадку ступінь антропоічної трансформації зональних типів рослинності лісостепової зони – широколистяних лісів – можна відобразити за допомогою дигресивного ряду з епіфітних бріоугруповань, властивих територіям із різним антропогенним навантаженням. Для його побудови ми використали епіфітні бріоценози вищенаведених модельних ділянок, а також як найменш антропогенізовані були взяті заповідник «Медобори» та НПП «Подільські Товтри». Бріоценози розміщені в напрямі зростання антропоічного впливу. Цей дигресивний ряд має такий вигляд: *Pterigynandretum filiformis* Hil. 1925, *Brachythecium populei* Hagel ex Phil. 1972, *Madotheco platyphyllae-Leskeletum nervosae* (Gams 1927) Barkm. 1958, *Plagiomnio cuspidati-Homaliatum trichomanoidis* (Pec. 1965) Marst. 1993 – *Anomodontetum attenuati* (Barkm. 1958) Pec. 1965, *Anomodontetum longifolii* Waldh. 1944, *Anomodon viticulosus-Leucodon sciuroides* – comm. – *Brachythecio salebrosi-Amblystegietum juratzkani* (Sjög. ex Marst. 1987) Marst. 1989, *Anomodon viticulosus-Amblystegium subtile* – comm., *Pseudoleskeella nervosa* – *Radula complanata* – comm., *Pseudoleskeella nervosa* – *Leucodon sciuroides* – comm. – *Orthotrichetum speciosi* Barkm. 1958, *Orthotrichetum fallacis* v. Krus. 1945, – *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941, *Leskeetum polycarpae* Horvat ex Pec. 1965, *Orthotrichetum pallentis* Ochn. 1928, *Platygyrium repens* – comm., *Hypnum reptile* – comm. У дигресивному ряді спостерігається пряма залежність між кількістю асоціацій і бріоугруповань у кожному ранзі та ступенем антропоічного тиску. Чим вищий останній, тим частіше епіфітний моховий покрив репрезентований базальними, дериватними й безранговими бріоугрупованнями, або збідненими варіантами асоціацій. Останнє можна проілюструвати, наприклад, порівнявши бріоценози асоціації *Pylaisietum polyanthae* Felf. 1941 з нагірних і заплавних дібров із нижчим ступенем трансформації з такими ж на територіях із вищим ступенем. У результаті такого порівняння було встановлено, що: 1) середня кількість видів у описі в менш антропогенізованих ценозах вища і дорівнює 4,4 (2,8 у більш антропогенізованих); 2) вищим тут є і проективне покриття d.s. *Pylaisia polyantha* (Hedw.) Schimp.; 3) у бріоценозах більш антропогенізованих територій проективне покриття видів на пробних ділянках нижче, а участь лишайників вища.

Наступним напрямом антропоїчної трансформації бріофлори є її синантропізація. Господарська діяльність людини на сучасному етапі викликала непередбачувані зміни рослинного покриву і призводить до заміни на значних просторах корінної рослинності менш цінними рослинними угрупованнями, частково чи повністю утвореними синантропними видами, які культивуються або є спонтанними [26]. Синантропізація флори, що набула глобальних масштабів, потребує вивчення антропофільного елементу. Поряд із загальними процесами синантропізації флори внаслідок діяльності людини створюються сприятливіші умови для формування сегетальних і рудеральних фітоценозів. Антропогенно перетвореним територіям властивий високий ступінь диференціації екоотопів, обумовлений господарськими і природно-історичними причинами [26]. Серед них – техногенні екотопи, повністю трансформовані; оброблювані землі, екотопи населених пунктів, кар'єри та ін. Вся ця різноманітність екоотопів слугує оселищами для бріофітів. Хоча останні і не витримують конкуренції з боку вищих судинних рослин, вони в силу специфіки своїх життєвих стратегій (здатності рости не лише на ґрунті) здатні освоювати такі місця. Тобто у зв'язку із загальною синантропізацією флори та рослинності маємо явище і бріосинантропізації та формування синантропних бріоугруповань. За даними М.Ф. Бойка [4], синантропна фракція бріофлори України налічує 143 види мохів з 56 родів, 19 родин (аналізувався лише відділ *Bryophyta*). Адвентивні види відсутні, є лише апофіти – синантропні місцеві види.

У результаті наших досліджень, перегляду гербаріїв і аналізу літературних джерел встановлено, що синантропна фракція бріофлори Лісостепу України налічує 111 видів мохоподібних із 23 родин, 51 роду, в тому числі відділ *Marchantiophyta* – 4 з 3 родів, 3 родин; *Bryophyta* – 105 видів з 19 родин 46 родів, *Anthocerotophyta* репрезентований 2 видами з 2 родів, 1 родини. Використовуючи класифікацію Я. Корнася з доповненнями В. В. Протопопової [26], вслід за М. Ф. Бойком [4], ми розподіляємо апофітні види синантропної бріофлори Лісостепу України на геміапофіти й евентапофіти. До першої групи належать мохоподібні, що ростуть як у природних, так і в антропогенізованих екотопах, до евентапофітів – частіше трапляються у природних екотопах, ніж в антропогенізованих. У флорі мохоподібних лісостепової зони України відзначено 50 видів геміапофітів (13,0% від усієї кількості видів зони та 6% України в цілому) та 61 вид евентапофітів (15,9% від усієї кількості видів зони та 7,3% України в цілому).

Це переважно широко розповсюджені, рудеральні, космополітні види, поширення яких пов'язане з господарською діяльністю людини. Необхідно підкреслити, що одним із аспектів синантропізації бріофлори є створення для мохоподібних нових субстратів. Так, своєрідна флора мохів і мохова рослинність формується на дахах і фундаментах будинків, опорах мостів та ін.

Яскравим прикладом синантропної флори та рослинності є урбанобріофлора та моховий покрив міст.

Отже, у бріофлорі Лісостепу України під впливом антропоїчного пресингу відбулися зміни, які полягають, з одного боку, у збідненні її видового складу, скороченні чисельності й частоти трапляння рідкісних і зникаючих видів, зниженні ценотичної ролі ряду мохів, а з іншого – в уніфікації бріофлори, яка зумовлена зміною біоекологічних особливостей видів під впливом високого атмосферного забруднення і значного рекреаційного навантаження та інтенсивним поширенням космополітних і рудеральних видів в урбанізованих місцевостях. Можна окреслити такі основні напрями трансформації бріофлори та мохового покриву Лісостепу України:

1. Збіднення видового складу бріофлори, ймовірно зникнення деяких видів (наприклад, *Scapania nemorea* (L.) Grolle, *Trichocolea tomentella* (Ehrh.) Dumort., *Sphagnum majus* (Russow)



C. Jensen, *S. inundatum* Russow, *Fissidens adianthoides* Hedw., *Dicranoweisia cirrata* (Hedw.) Lindb., *Dicranodontium denudatum* (Brid.) Britton, *Philonotis fontana* (Hedw.) Brid.).

2. Зменшення території поширення ряду неморальних видів у межах регіону: *Homalia trichomanoides*, *Neckera complanata*, *Pterigynandrum filiforme*, *Isothecium alopecuroides* (у зв'язку із вирубкою корінних широколистяних лісів), аридних видів *Acaulon triguetrum*, *Weissia controversa* Hedw., *W. condensata* (Voit) Lindb. (у зв'язку з розорюванням степових ділянок).

3. Порушення структури мохового покриву (випадання з угруповань вразливих видів, наприклад, виду *Neckera complanata* з асоціації *Anomodonto viticulosi-Leucodontetum sciuroidis* Marst. 1998).

4. Збіднення видового складу асоціацій і перетворення їх на безрангові угруповання (наприклад, асоціації *Eurhynchietum swartzii* Waldh. ex Wilm. 1966 в угруповання *Oxurhynchium hians* – comm).

5. Урізноманітнення бріофлори за рахунок синантропних видів мохоподібних.

6. Формування синантропних бріоугруповань зі спрощеною, порівняно із природними, структурою.

7. Збільшенні площ покриву мохоподібних за рахунок його розвитку в урбоекосистемах (на сприятливих для цього новостворених людиною ектопах: дахах, фундаментах будинків, опорах мостів, парканах тощо), штучних екосистемах.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексенко М. А. Лиственные мхи северной части Харьковской губернии и смежных уездов Курской губернии // Труды об-ва испытат. природы при Харьков. ун-те. 1897. 31. С. 3–23.
2. Алексенко М. А. Мхи. По окрестностям Харькова // Изд-во студ. кружка натуралистов, 1916. С. 14–16.
3. Бойко М. Ф. Анализ бриофлоры степной зоны Европы. К.: Фитосоцицентр, 1999. 180 с.
4. Бойко М. Ф. Синантропна бріофлора України // Чорномор. бот. журнал. 2005. Т. 1. № 2. С. 24–32.
5. Бойко М. Ф. Чекліст мохоподібних України. Херсон: Айлант, 2008. 232 с.
6. Гапон С. В. Мохоподібні Диканського регіонального ландшафтного парку та їх участь в утворенні бріоугруповань // Укр. бот. журнал. 2007. Т. 64. № 2. С. 247–257.
7. Гапон С. В. Рідкісні і зникаючі мохоподібні Полтавщини та шляхи їх збереження // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. 2009. 22–24. С. 105–107.
8. Гапон С. В., Лобачевська О. В. Антропогенні зміни бріофлори Лівобережного Лісостепу України за останнє сторіччя // Праці наук. т-ва ім. Тараса Шевченка. Львів, 1999. С. 122–132.
9. Гапон С. В., Нестеренко Н. В., Гапон Ю. В. Бріофлора Ковпаківського лісопарку (Полтавська обл.) // Сьомі Каришинські читання: зб. наук. праць. Полтава, 2000. С. 47–52.
10. Геоботанічне районування Української РСР. К.: Наук. думка, 1977. 303 с.
11. Зеров Д. К. До флори Черкаської округи (кол. Черкаський та Чигиринський повіти Київщини) // Вісн. Київ. ботан. саду. 1924. Вип. 1. С. 1–22.
12. Зеров Д. К. Торфові мохи (*Sphagnales*) околиць м. Києва // Окр. відб. з 2-го т. «Наук. Записок» органу Київ. наук.-досл. катедр. К., 1924. С. 106–118.

13. *Зеров Д. К.* Декілька нових і мало відомих для України видів листяних мохів // Вісн. Київ. ботан. саду. 1925. Вип 3. С. 30–32.
14. *Зеров Д. К.* Торфові мохи України // Труды фіз.-мат. відділу ВУАН, 1928. Т. 10. Вип. 1. С. 1–70.
15. *Зеров Д. К.* Нотатки до мохової флори України // Журнал біоботан. циклу ВУАН. 1932. №3–4. С. 61–67.
16. *Кац Н. Я.* *Sphagnaceae* Харьковской губернии // Журнал русск. бот. об-ва. 1924. Т. 9. С. 69–74.
17. *Лавренко Е. М.* Сфагновые торфяники Харьковской губернии // Дневник I Всерос. съезда русских ботаников в Петрограде в 1921 г. 1921. С. 44–48.
18. *Лавренко Е. М.* Сфагновые торфяники Харьковской губернии // Вестн. торф. дела. 1922. № 1–2. С. 52–56.
19. *Лавренко Е. М.* Опис сфагнових та гіпново-осокових боліт колишньої Харківщини // Окр. відб. зі збірн. «Охорона природи на Україні». Харків, 1927. С. 26–32.
20. *Лазаренко А. С.* Матеріали до флори листяних мохів України // Вісн. Київ. ботан. саду. 1925. Вип. 3. С. 22–26.
21. *Лазаренко А. С.* Нові мохи для флори України // Укр. ботан. журнал. 1926. Вип. 3. С. 11–15.
22. *Лазаренко А. С.* Про новий вид листяного моху з України // Вісн. Київ. ботан. саду. 1926. Вип. 4. С. 34–35.
23. *Лазаренко А. С.* Відомості про найцікавіших представників української бриофлори. К.: Труды фіз.-мат. відділу ВУАН. 1929. Т. 15. Вип. 1. С. 3–35.
24. *Перфильев И. Е.* Интересная находка для Харьковской флоры мхов // Бюл. Харьк. об-ва любителей природы. 1916. Вып. 5. С. 8–9.
25. *Перфильев И. Е.* Весенняя растительность северных сосновых лесов // Бюл. Харьк. об-ва любителей природы. 1916. Вып. 2. С. 10–11.
26. *Протопопова В. В.* Синантропная флора Украины и пути ее развития. К.: Наук. думка, 1991. 204 с.
27. *Плутенко І.* Материалы для флоры мхов и лишайев Полтавской губернии // Зап. Киев. об-ва естествоиспытателей. 1971. Т. 2. Вып. 2. С. 14–19.
28. *Покровский А.* Материалы для флоры мхов окрестностей Киева // Университет. известия. 1892. С. 45–60.
29. *Рыковский Г. Ф.* Изменения бриофлоры как компонента растительного покрова под влиянием антропогенных факторов: материалы VI конф. по споровым растениям Средней Азии и Казахстана (Душанбе, сентябрь 1978 г.). Душанбе, 1978. С. 310–311.
30. *Шеляг-Сосонко Ю. Р., Андриенко Т. Л., Осычнюк В. В.* и др. Основные тенденции антропогенных изменений растительности Украины // Ботан. журнал. 1985. Т. 70. № 4. С. 451–463.
31. *Holtz L.* Zur Flora Sud-Russlands, insbesondere der in Gouvernement Kiewbelegenen Kreiser Umen // Linnaea. 1878–1879. Bd. 47. S. 145–202.
32. *Raciborski M.* przyczynek do znajomości watrobowców (Hepaticae) połudn.–zachodniej. Polski // Spraw. Kom. Fizyjojr. Acad. Umiejtn. w Krakowie, 1888. 22. 165 p.
33. *Rehman A.* przyczynek do bryologii Galicji // Spraw. Komis. Fizjojr. 1879. 13. S. 139–159.
34. *Schafnagel K.* Zapiski bryologiczne // Wilno: TPN. 1908. 1. S. 57–64.
35. *Weber H. E., Moravec J., Theorillat D. P.* International Code of Phytosociological Nomenclature. – 3. ad. // J. Vegetation Sci. 2000. Vol. 11. N 5. P. 739–768.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.13

доопрацьована 20.05.13

прийнята до друку 20.05.13

## ANTHROPOGENIC TRANSFORMATION OF BRYOFLORA AND MOSS COVER OF THE UKRAINIAN FOREST-STEPPE

**S. Gaпон**

*V.G. Korolenko National Pedagogical University of Poltava  
2, Ostrogradskyi St., Poltava 36003, Ukraine  
e-mail: gaponsv@mail.ru*

The basic directions of transformation of bryoflora and moss cover of the Ukrainian Forest-Steppe are defined. There is a depletion of species composition, disappearance of some species, narrowing the area of distribution of mosses in the region of study, reduction their frequency occurrence and projective cover in the bryoflora. There is an enrichment of flora by synanthropic bryophytes. The changes of moss cover is in violation of its structure, depletion of associations and in transition to communities without ranks, from polyspecies to monospecies, formation of synanthropic bryocommunities.

*Keywords:* mosses, Ukrainian Forest-Steppe, bryocommunity, moss cover.

## АНТРОПОГЕННАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ БРИОФЛОРЫ И МОХОВОГО ПОКРОВА ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ

**С. Гапон**

*Полтавский национальный педагогический университет  
имени В. Г. Короленко  
ул. Остроградского, 2, Полтава 36003, Украина  
e-mail: gaponsv@mail.ru*

Выяснены основные направления трансформации бриофлоры и мохового покрова Лесостепи Украины. Во флоре мохообразных происходит обеднение видового состава, исчезновение ряда видов, сужение территории распространения мхов в пределах региона исследований, снижение частоты их встречаемости, проективного покрытия. Происходит также обогащение ее синантропными бриофитами. Изменения мохового покрова заключаются в нарушении его структуры, обеднении видового состава ассоциаций и перехода их к безранговым сообществам, от поливидовых к моновидовым, формирования синантропных бриосообществ.

*Ключевые слова:* мохообразные, Лесостепь Украины, бриосообщества, моховой покров.

**СТРУКТУРА ТА ГЕНЕЗИС ПАРЦІАЛЬНИХ СУЦВІТЬ ВИДІВ  
ПІДСЕКЦІЇ *ISANDRA* FRANCH. EX MURB. СЕКЦІЇ *FASCICULATA*  
MURB. РОДУ *VERBASCUM* L.**

**М. Грицина**

*Львівський національний університет ветеринарної  
медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького  
вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна  
e-mail: hrytsynamr@gmail.com*

За будовою, способом наростання і галуження квітконосних осей парціальні суцвіття видів підсекції *Isandra* Franch. ex Murb. роду *Verbascum* L. можна розділити на три групи: множинний складний дихазій, множинний дихазій із монохазіями та трійчастоскладний монохазій. Вони утворені з різного поєднання двовузлових і одноузлових осей (модулів суцвіття). Еволюція суцвіть відбувалася шляхом спрощення їхньої будови, зумовленого редукцією другого вузла квітконіжок квітконосних осей.

*Ключові слова:* *Verbascum*, *Isandra*, парціальне суцвіття, дихазій, монохазій, модулі суцвіття, одноузлові та двовузлові квітконосні осі.

Вивчення структури суцвіть і можливих шляхів їхньої еволюції в межах певних систематичних груп є одним із актуальних питань як морфології, так і систематики рослин. Особливої уваги заслуговують види роду *Verbascum* L., – для них характерні різні типи складних суцвіть, структура яких до цього часу остаточно не з'ясована. Окрім того, рід *Verbascum* на основі будови суцвіть поділений на дві секції – *Fasciculata* та *Singuliflora* [6, 8]. У видів секції *Fasciculata* квітки зібрані в «пучки», тоді як у видів із другої секції – квітки по одній розташовані в пазусі приквіток. Секція *Fasciculata*, у свою чергу, розділена на дві підсекції: *Heterandra* та *Isandra* з урахуванням будови тичинки та приймочки маточки.

Дослідження будови суцвіть видів секції *Isandra* на рівні синфлоресценцій проводив Н.В. Гриценко (1972) [2]. Проте структура парціальних суцвіть практично залишилася поза його увагою. Окрім того, термін «пучок», який широко вживається у ботанічній літературі [6–8] для назви парціальних суцвіть, є неточним і відображає лише його зовнішню форму.

Розглянемо детально будову та розвиток парціальних суцвіть у видів підсекції *Isandra* Franch. ex Murb. секції *Fasciculata* Murb. роду *Verbascum* L. на рівні парціальних суцвіть і з'ясуємо можливість використання отриманих результатів для встановлення еволюційних зв'язків у межах роду *Verbascum* та уточнення його систематичного положення.

**Матеріали та методи**

Об'єктами досліджень обрано 10 видів підсекції *Isandra* секції *Fasciculata* роду *Verbascum* флори України. *V. lychnitis* L. і *V. nigrum* L., що ростуть на території західних областей, вивчали на живих зразках, всі інші види – *V. speciosum* Schrad., *V. pinnatifidum* Vahl., *V. lanatum* Schrad., *V. laxum* Filar. et Jav., *V. gnaphalodes* Bieb., *V. sinuatum* L. і *V. orientale* Bieb. – на гербарних зразках гербарію Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України (KW). Вибірково, у парціальних суцвіттях нижньої, середньої та верхньої частини головного суцвіття вивчали спосіб і порядок наростання та галуження квітконосних осей квіток, враховуючи фенофазу їхнього розвитку та кількість. Аналіз суцвіть супроводжувався складанням графічних схем.

### Результати і їхнє обговорення

Об'єднане суцвіття або синфлоресценція монокарпічних пагонів у видів секції *Fasciculata* утворене головним суцвіттям головного пагона і суцвіттями бічних пагонів збагачення (паракладіїв). Належать вони до політелічних суцвіть тирсоїдного типу з моноподіальним наростанням головної осі та симподіальним наростанням бічних осей, які є елементарними або парціальними суцвіттями [1, 3, 4, 8]. Структурним компонентом (модулем) таких суцвіть є квітконосні осі – квітка з двовузловою або однузловою квітконіжкою (рис. 1).

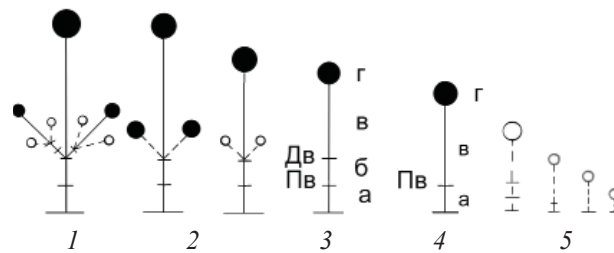


Рис. 1. Структурні елементи парціальних суцвіть: 1 – різновіковий потенційно складний дихазій; 2 – простий дихазій; 3 – двовузловий модуль суцвіття: а – гіпоподій (збільшено); б – мезоподій; в – епіподій квітконіжки (квітконосної осі); г – квітка; Пв – перший; Дв – другий вузли квітконіжки; 4 – однузловий модуль; 5 – квітки у фазі різновікових квіткових бруньок. Чорні кружечки – квітки, які цвітуть і утворюють плоди. Білі кружечки – квітки, що перебувають на стадії різновікових бруньок.

У двовузлових осей квітконіжка поділена на три міжвузля – гіпоподій, мезоподій і епіподій (рис. 1, 1–3). У першому вузлі в пазусі приквітка міститься одна меристема, розташована з зовнішнього (абаксіального) боку квітконіжки. Приквіток і пазушна брунька, розташована з протилежного (адаксіального) боку квітконіжки, не розвиваються зовсім через зростання основи квітконіжки з віссю головного суцвіття пагона [1, 5]. Нормально розвиненими є приквітнички і супротивні пазушні бруньки лише на другому вузлі квітконіжки, які розташовані навхрест супротивно до першого. Брунька першого вузла виконує функцію базисимподіального за моноазіальним типом наростання квітконосної осі зростаючого порядку. Тобто вісь наступного порядку розвивається з першого вузла осі наростання попереднього порядку, тоді як зі супротивних бруньок другого вузла квітконосних осей здійснюється їхнє галуження. Такі осі у структурі суцвіття утворюють прості дихазії, а за умови багаторазового галуження – складні дихазії.

Однузлові осі (рис. 1, 4) є похідними від двовузлових, мають один вузол із діяльною одною зовнішньою (абаксіальною) меристемою, тоді як другий вузол з навхрест супротивними бруньками редукується. Відповідно, з меристеми їхнього першого вузла відбувається лише процес моноазіального наростання осей зростаючих порядків, тоді як галуження у них відсутнє зовсім. Однузлові осі у структурі суцвіття утворюють лише моноазії. Квітконосні осі в суцвітті перебувають на різних стадіях розвитку – від зачаткових до повністю сформованих.

Слід додати, що всі квітконосні осі зростаючих порядків позначені на рис. 2–4 римськими цифрами. Осі наростання зростаючих порядків поруч із цифрою мають буквенний індекс грецького алфавіту, наприклад,  $\Pi\alpha$ ,  $\text{III}\beta$ ,  $\text{IV}\gamma$  порядків. Осі галуження – поруч із римською цифрою мають індекс а, наприклад  $\Pi\alpha$ ,  $\text{III}\alpha$  і т.д. Окрім того, правобічні осі галуження та бічні симподії додатково мають індекс одиницю (1), наприклад,  $\Pi\alpha 1$ ,  $\text{III}\alpha 1$ ,  $\text{IV}\alpha$  та

II $\alpha$ , III $\alpha$ , IV $\alpha$ , відповідно. У лівобічних осей галуження (II $\alpha$ , III $\alpha$ , IV $\alpha$ ) та бічних симподіїв (II $\alpha$ , III $\alpha$ , IV $\alpha$ ) цей індекс відсутній.

Отже, від будови і функцій пазушних меристем двовузлових і одновузлових осей та їхнього співвідношення у структурі суцвіття залежить будова всього парціального суцвіття. За цією ознакою парціальні суцвіття видів підсекції *Isandra* ми розподіляємо на три групи.

До першої групи належать парціальні суцвіття видів *V. lychnitis* та *V. pinnatifidum*, які утворені виключно з двовузлових осей (рис. 1, 1, 2). Процес формування парціального суцвіття *V. lychnitis* починається з бруньки першого вузла осі I порядку, з якої розвивається вісь наростання II $\alpha$  порядку (рис. 2, A). З бруньки першого вузла осі II $\alpha$ , у свою чергу, формується вісь наростання наступного III $\beta$ , а з неї – IV $\gamma$  порядків. Унаслідок процесу наростання розвивається центральний симподій осей наростання зростаючих порядків, ступінь розвитку яких зменшується з часом їх закладання у структурі суцвіття. Так, коли перші дві осі формують плоди, наступна цвіте, четверта вісь перебуває в зачатковому стані.

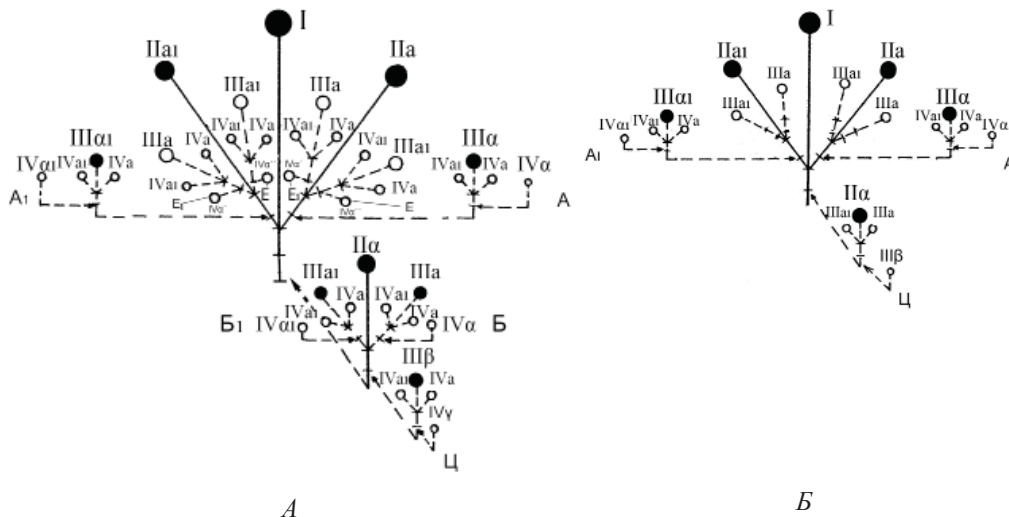


Рис. 2. Схема будови парціальних суцвіть, розділених на окремі структурні елементи *Verbascum lychnitis* (A) та *V. pinnatifidum* (B). Симподії квітконосних осей наростання: Ц – центральний; А, Б – лівобічні і А<sub>1</sub>, Б<sub>1</sub> – правобічні, навхрест супротивні центральному; Е, Е<sub>1</sub> – лівобічні та правобічні симподії, навхрест супротивні бічним. I, II $\alpha$ , III $\beta$ , IV $\gamma$ , V $\delta$ , VI $\epsilon$  – порядки квітконосних осей наростання центрального і III $\alpha$ , III $\alpha$ 1 – VI $\alpha$ , VI $\alpha$ 1 – порядки осей наростання навхрест супротивних бічних симподіїв; II $\alpha$  і II $\alpha$ 1 – VI $\alpha$  і VI $\alpha$ 1 – порядки квітконосних осей галуження. Інші позначення ті ж, що й на рис. 1.

З другого вузла осей наростання центрального симподію здійснюється їх галуження на двовузлові осі. Так, кожна з осей галуження II $\alpha$  і II $\alpha$ 1 осі наростання I порядку центрального симподію двічі зачатково галузиться на осі III $\alpha$  і III $\alpha$ 1 та IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1 порядків. Осі галуження III $\alpha$  і III $\alpha$ 1, що розвиваються з другого вузла осі наростання II $\alpha$  порядку, один раз галузиться на супротивні осі IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1, формуючи, як і на попередній осі I порядку, складний дихазій. Вісь наростання III $\beta$  порядку зачатково галузиться на осі IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1, утворюючи простий дихазій, а вісь IV $\gamma$  порядку перебуває в зачатковому стані.

З першого вузла двовузлових осей галуження центрального симподію розвиваються бічні навхрест супротивні, лівобічні та правобічні симподії А і А<sub>1</sub> та Б і Б<sub>1</sub>. Симподії А і А<sub>1</sub> утворені на основі осей галуження осей II $\alpha$  і II $\alpha$ 1 осі наростання I порядку і складаються

кожен з двох осей наростання. Перші з них, III $\alpha$  і III $\alpha$ 1, завершуються плодом і галузяться на зачаткові осі IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1, утворюючи прості дихазії, а два другі (IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1) перебувають у зачатковому стані. Аналогічні бічні симподії Б і Б1 утворені на осях галуження квітконосної осі II $\alpha$ . Кожен із них один раз галузиться на зачаткові осі IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1.

Осі галуження другого порядку III $\alpha$  і III $\alpha$ 1, що розвиваються на осях галуження II $\alpha$  і II $\alpha$ 1 осей наростання I порядку центрального симподію, також є двовузловими. У їхньому першому вузлі закладаються чотири бічні симподії Е і Е1, топографічно супротивні до бічних і паралельні до центрального симподію.

Отже, парціальне суцвіття *V. lychnitis* – це множинний потенційно складний дихазій [1], утворений з 5 дихазій, із яких 2 є потенційно складними і 3 – потенційно простими. У суцвітті налічується 40 квіток, із яких 9 доходять до стану квіткування й утворення плоду, решта залишаються на різних етапах розвитку.

Суцвіття *V. pinnatifidum* за своїм розвитком є тотожним до парціального суцвіття *V. lychnitis*, однак відрізняється від нього значно простішою будовою (рис. 2, Б). Центральний симподій утворений трьома осями, дві перші з яких утворюють плоди, а остання, III $\beta$  порядку, перебуває в зачатковому стані. Унаслідок подвійного галуження осі наростання I порядку цього симподію на її основі формується суцвіття потенційно складний дихазій. Галуження осі наростання II $\alpha$  є зачатковим, і вона утворює простий дихазій, тоді як галуження осі III $\beta$  відсутнє. З першого вузла супротивних осей галуження осі наростання I порядку формуються бічні лівобічні та правобічні симподії А і А1, утворені з двох квітконосних осей наростання III $\alpha$  і III $\alpha$ 1, які завершуються квітками з зачатковим галуженням і конусами наростання осей IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1 порядку в першому вузлі. Парціальне суцвіття *V. pinnatifidum* утворене зі складного (подвійного) дихазія і трьох простих дихазій. У ньому налічується 19 квіток, із яких шість цвітуть і утворюють плоди, інші – перебувають на різних етапах розвитку.

Отже, парціальне суцвіття *V. lychnitis* і *V. pinnatifidum* є «множинним складним дихазієм», утвореним виключно двовузловими модулями, які формують сукупність складних і простих дихазій, та є таким, як і у видів секції *Fasciculata* [3].

До другої групи належать парціальні суцвіття видів *V. lanatum*, *V. speciosum*, *V. nigrum* і *V. laxum*, які побудовані з двовузлових і одновузлових модулів (рис. 1). Розглянемо будову парціального суцвіття *V. nigrum* (рис. 3, А). Його центральний симподій утворений із двовузлових квітконосних осей, зростаючих від I до VI $\epsilon$  порядків, ступінь розвитку яких зменшується до верхівки суцвіття. Одночасно з процесом наростання квітконосних осей зростаючих порядків відбувається їх галуження зі супротивних бруньок других вузлів, і на кожній із цих осей утворюється простий дихазій.

Характерною особливістю суцвіть цієї групи є те, що осі галуження центрального симподію є одновузловими (рис. 1, 4). Тому бічні супротивні симподії (А і А1, Б і Б1), які розвиваються з першого вузла цих осей унаслідок наростання, є монохазіями. Бічні симподії А і А1, які розвиваються з абаксіальних бруньок першого вузла осей галуження II $\alpha$  і II $\alpha$ 1 осей I порядку, утворені з чотирьох одновузлових осей наростання кожен. Перші з них (III $\alpha$  і III $\alpha$ 1) завершуються плодом, із їхніх бруньок розвиваються такі ж осі IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1 з розгорнутою квіткою, і в такий же спосіб – розвиваються зачаткові осі V $\alpha$  і V $\alpha$ 1 та VI $\alpha$  і VI $\alpha$ 1 порядків. Кожен із бічних супротивних симподіїв Б і Б1 утворений лише з двох осей наростання: IV $\alpha$  і IV $\alpha$ 1 з квітками та зачаткових осей V $\alpha$  і V $\alpha$ 1 порядку. Вісь наростання III $\beta$  й інші осі центрального симподію мають лише зачаткові осі галуження. Кількість квіток у парціальному суцвітті становить 28, із яких 15 цвітуть і утворюють плоди, а решта 13 залишаються у стані квіткових бруньок.

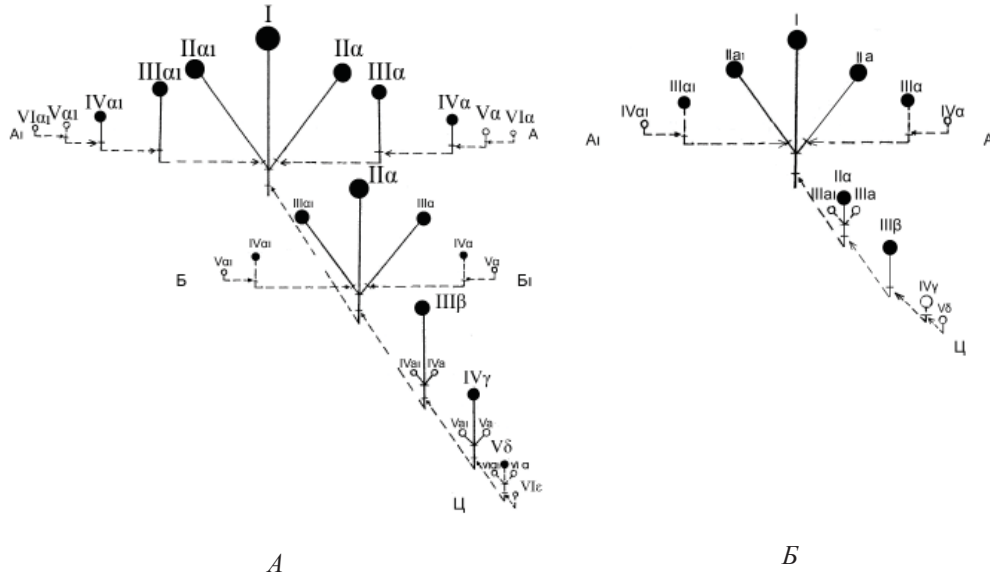


Рис. 3. Схема будови парціальних суцвіть *Verbasicum nigrum* (А), *V. speciosum* (Б), розділених на окремі структурні елементи. Умовні позначення ті ж, що на рис. 2.

Парціальні суцвіття *V. lanatum* за особливостями морфогенезу і структурою тотожні до парціальних суцвіть *V. nigrum*, що підтверджує їхню систематичну близькість.

Парціальне суцвіття *V. speciosum* (рис. 3, Б) суттєво не відрізняється за характером морфогенезу від парціального суцвіття *V. nigrum*, проте має дещо простішу будову. Так, у його структурі простим дихазієм є лише суцвіття, утворене внаслідок галуження осі I і Pa порядків центрального симподію на дві супротивні одновузлові осі. Всі інші осі центрального та бічних симподіїв є монохазіями. У цьому суцвітті налічується загалом 10–13 квіток, із яких лише 4–7 утворюють плоди.

Морфогенез парціального суцвіття *V. laxum* мало відрізняється від суцвіття *V. speciosum*, описаного вище. Його суцвіття має простішу будову, а з 11 закладених у ньому квітконосних осей зацвітають квітки лише у 4–6, інші – залишаються в зачатковому стані.

Парціальні суцвіття *V. nigrum*, *V. speciosum*, *V. lanatum* і *V. laxum* складаються з топографічно розділених блоків відносно самостійних простих дихазіїв (центрального симподіїв) і монохазіїв (бічні супротивні симподії). Суцвіття такої будови ми називаємо «множинний простий дихазій із монохазіями».

Третю групу становлять парціальні суцвіття видів *V. gnaphalodes*, *V. sinuatum* і *V. orientale* (рис. 4). У структурі парціальних суцвіть цих видів двовузловою є лише квітконосна вісь I порядку, усі решта є одновузловими з діяльною лише однією, з абаксального боку меристемою (рис. 1, 4). З меристеми першого вузла осі наростання I порядку розвиваються чотири одновузлові осі, які формують центральний симподій, утворений із монохазіїв.

Одночасно з його розвитком із вузлів одновузлових осей галуження Pa і Pa1 осі наростання I порядку започатковується розвиток супротивних бічних симподіїв А і А1. Кожен із них утворений лише з одновузлових осей наростання Pa і Pa1, IVa, і IVa1, Va і Va1 порядків, що перебувають на різних етапах розвитку, які також є монохазіями. Унаслідок процесів наростання формується суцвіття, утворене з відносно самостійних центрального і двох бічних монохазіїв, сформованих на базі простого дихазія осі I порядку.



Таке суцвіття можна назвати «трійчастоскладним монохазієм». Загальна кількість квіток у ньому становить 13, із яких цвітуть і плодоносять 10.

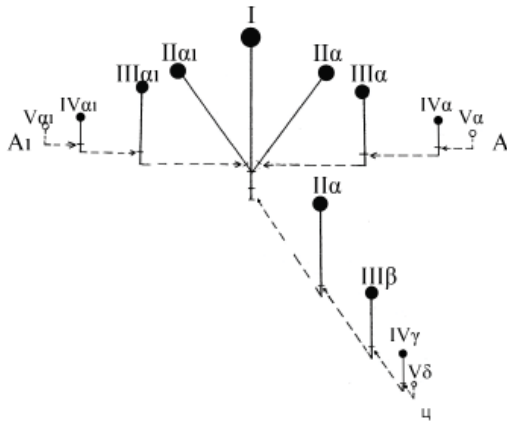


Рис. 4. Схема будови парціального суцвіття *Verbascum gnaphalodes*, розділеного на окремі структурні елементи. Умовні позначення ті ж, що на рис. 2.

Парціальні суцвіття двох інших видів – *V. sinuatum* і *V. orientale* (*V. austriacum*) – за генезисом і будовою аналогічні до *V. gnaphalodes*. Відрізняються вони лише порівняно меншою кількістю квіток і лінійними розмірами модулів.

Залежно від структури і функцій квітконосних осей парціальні суцвіття видів підсекції *Isandra* можна розподілити на три групи. У *V. lychnitis* і *V. pinnatifidum* формуються парціальні суцвіття множинний складний дихазій, утворений лише з двовузлових осей (модулів). У видів *V. speciosum*, *V. nigrum*, *V. lanatum* і *V. laxum* парціальні суцвіття ми назвали множинним простим дихазієм із монохазіями, утвореними з дво- і одновузлових модулів. Для видів *V. gnaphalodes*, *V. sinuatum* і *V. orientale* властиве суцвіття трійчастоскладний монохазій, утворений із одновузлових модулів. Описаний ряд парціальних суцвіть вказує на тенденції їх еволюції, яка відбувалася шляхом спрощення будови квітконосних осей унаслідок редукції їхнього другого вузла. При цьому відбувається поступове домінування процесів наростання над процесами галуження, яке веде до скорочення кількості осей у суцвіттях і спрощення їх будови.

Окрім того, зі збільшенням кількості одновузлових квітконосних осей у структурі суцвіття відбувається не лише зменшення їхньої кількості, а й збільшення відсотка квіток, що утворюють плоди. Так, якщо у парціальних суцвіттях видів першої групи кількість квіток із різним ступенем розвитку в середньому становить 40, із яких 25% утворюють плоди, то у другій групі – це 19 (53% формує плоди), а в третій групі – лише 12, із яких у 80% розвиваються плоди. До зменшення кількості квіток у парціальному суцвітті призвела втрата здатності осей до галуження, яка відбулася внаслідок редукції другого вузла квітконіжки.

Наявність у видів із підсекції *Isandra* трьох різних типів суцвіть, а також розвиток у *V. lychnitis* і *V. pinnatifidum* парціального суцвіття множинний складний дихазій, утворений лише з двовузлових модулів, яке за структурою не відрізняється від описаних раніше нами видів із підсекції *Heterandra* секції *Fasciculata* [1–3], свідчить про значну гетерогенність досліджуваної підсекції та підтверджує її систематичну штучність, на чому наголошує ще Н. В. Гриценко [2]. Дослідивши понад 100 видів підсекції *Isandra* цього роду, автор виділив серед них 9 типів суцвіть і встановив, що їхня еволюція узгоджується з загальним уявленням про примітивність типу складних волотеподібних суцвіть і великому значенні

в цьому процесі редукації. У результаті складні суцвіття типу розлога тирсоїдна волотеподібна китиця поступово трансформувалися у прості суцвіття типу китиці або колоса. Таке припущення було висловлене й іншими морфологами [9].

Отже, суцвіття, виділені у видів підсекції *Isandra*, формують єдиний морфогенетичний ряд. Тому поділ роду *Verbascum* на секції на основі кількості квіток у пучку (секція *Fasciculata*) та поодиноких квіток у пазусі приквітка у видів секції *Singuliflora*, на нашу думку, є штучним і підтверджує припущення, висунуте Н. В. Гриценком, який вважав, що структура суцвіть не може бути покладена в основу поділу роду на секції. Цей поділ доцільно провести на основі будови андроцею і гінецею, а підсекції *Isandra* та *Heterandra* підняти в ранг секцій.

Виділені за будовою і характером морфогенезу три варіанти складних (парціальних) суцвіть видів підсекції *Isandra* секції *Fasciculata* роду *Verbascum* флори України виразно засвідчують еволюційні тенденції цих флоральних утворень монокарпічних пагонів, які відбуваються завдяки олігомеризації їхньої структури шляхом редукації других вузлів квітконосних осей зі супротивними пазушними меристемами, а також інтенсифікації процесів наростання над процесами галуження, які призводять до скорочення чисельності осей, спрощення будови суцвіть і поступового їх перетворення у прості суцвіття, властиві видам секції *Singuliflora*.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Берко Й. М., Грицина М. Р. Розвиток і морфоструктура парціального суцвіття *Verbascum phlomoides* L. (*Scrophulariaceae*) // Укр. ботан. журнал. 2009. Т. 66. № 6. С. 794–804.
2. Гриценко Н. В. Види Коровяка (*Verbascum* L.) секції *Isandra* Franch. в СССР (критический обзор): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1972. 24 с.
3. Грицина М. Р. Особливості морфогенезу та структури парціальних суцвіть видів підсекції *Heterandra* Franch. ex Murb. секції *Fasciculata* Murb. роду *Verbascum* L. флори України // Вісн. Київ. ун-ту. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. 2007. Вип. 13. С. 67–71.
4. Грицина М. Р. Структура та генезис життєвих форм видів роду *Verbascum* L. флори західного регіону України: автореф. дис. ... канд. биол. наук.: 03.00.05. К., 2010. 20 с.
5. Грудзинская И. А. Соцветия видов *Ulmus* L. // Ботан. журнал. 1966. Т. 51. № 1. С. 15–27.
6. Котов М. И. Рід Дивина – *Verbascum* L. // Флора УРСР. К.: Вид. АН УРСР, 1960. Т. 9. С. 407–431.
7. Кузнецова Т. В. О комплементарных подходах в морфологии соцветий // Ботан. журнал. 1992. Т. 77. № 12. С. 7–24.
8. Федоров Ал. А., Артюшенко З. Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Соцветие. Л.: Наука, 1979. 296 с.
9. Тахтаджян А. Л. Основы эволюционной морфологии покрытосеменных. М.; Л.: Наука, 1964. 236 с.

Стаття: надійшла до редакції 25.01.13

доопрацьована 13.05.13

прийнята до друку 14.05.13

**STRUCTURE AND GENESIS OF THE PARTIAL INFLORESCENCES  
OF SUBSECTION *ISANDRA* FRANCH. EX MURB. SECTION  
*FASCICULATA* MURB. GENUS *VERBASCUM* L.**

**М. Hrytsyna**

*Lviv Stepan Hzhyskiy National Academy of Veterinary Medicine  
50, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine  
e-mail: hrytsynamr@gmail.com*

The partial inflorescence types subsection *Isandra* Franch. ex Murb. genus *Verbascum* L. according to the structure, way of growth and branching of the flowering axes are divided into three groups: multiple complex dichasium, multiple dichasium with monochasium and complex monochasium. They are formed from different combinations of two – nodes and one – node axes (inflorescence modules). The evolution of inflorescence proceeds by simplifying their structure, due to the reduction pedicels of the second node of the flowering axes.

*Keywords: Verbascum, Isandra, partial inflorescences, dichasium, monochasium, modules inflorescence, two nodes pedicel and one node pedicel floriferous axes.*

**СТРУКТУРА И ГЕНЕЗИС ПАРЦИАЛЬНЫХ СОЦВЕТИЙ ВИДОВ  
ПОДСЕКЦИИ *ISANDRA* FRANCH. EX MURB. СЕКЦИИ  
*FASCICULATA* MURB. РОДА *VERBASCUM* L.**

**М. Грицина**

*Львовский национальный университет ветеринарной медицины  
и биотехнологий имени С. З. Гжицкого  
ул. Пекарская, 50, Львов 79010, Украина  
e-mail: hrytsynamr@gmail.com*

По строению, способу нарастания и ветвления цветоносных осей парциальные соцветия видов подсекции *Isandra* Franch. ex Murb. рода *Verbascum* L. можно разделить на три группы: множественный сложный дихазий, множественный дихазий с монохазиями и сложный монохазий. Они образованы из различного сочетания двуузловых и одноузловых осей (модулей соцветия). Эволюция парциальных соцветий происходила путем упрощения их строения, обусловленного редукцией второго узла цветоножек цветоносных осей.

*Ключевые слова: Verbascum, Isandra, парциальное соцветие, дихазий, монохазий, модули соцветия, одноузловые и двуузловые цветоносные оси.*

**МОРФОЛОГІЯ ТА ВАСКУЛЯРНА АНАТОМІЯ КВІТКИ  
*SANSEVIERIA HYACINTHOIDES* (L.) DRUCE (ASPARAGACEAE JUSS.)**

**О. Фіщук<sup>1</sup>, А. Одінцева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки  
пр. Волі, 13, Луцьк 43025, Україна  
e-mail: dracaenaok@ukr.net

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: amorpha@ukr.net

Встановлено, що у *Sansevieria hyacinthoides* листочки простої оцвітчини зрослі між собою у квіткову трубку на 2/3 висоти, їхні сліди та сліди тичинок однопучкові. У гінецеї *Sansevieria hyacinthoides* наявні синасцидіатна, гемісинасцидіатна, гемісимплекатна й асимплекатна структурні зони. У зав'язі найдовшою є фертильна гемісинасцидіатна зона, найкоротшою – синасцидіатна зона, як було показано і для *S. suffruticosa*. Слід плодолистка трипучковий, слід медіанного насінного зачатка однопучковий. Висота септального нектарника удвічі більша, ніж висота гнізд зав'язі за рахунок його продовження в потовщені основу та дах зав'язі. Септальний нектарник у нижній частині відповідає внутрішньому, а у верхній частині – зовнішньому типу, причому порожнини нектарника в основі не з'єднуються між собою епідермісами.

*Ключові слова:* *Sansevieria hyacinthoides*, морфологія квітки, васкулярна анатомія, гемісинкарпний гінецей, септальний нектарник.

Представники роду *Sansevieria* Thunb. завдяки своїм декоративним властивостям широко представлені у культурі [6]. Морфологічна будова квітки сансев'єр відповідає типовій для однодольних діаграмі – шість листочків простої оцвітчини, шість тичинок, три зрослих плодолистки [12]. Для представників роду *Sansevieria* та близького роду *Dracaena* Vand. ex L. характерна наявність квіткової трубки із напівзрослих листочків оцвітчини та прирослих до них тичинок [5]. Подібність зовнішньоморфологічної будови квітки не дає змоги чітко диференціювати між собою роди *Sansevieria* та *Dracaena*, а також деякі інші, які широко культивуються, наприклад, *Agave* L., *Yucca* L., *Dasyliirion* Zucc., *Cordyline* Comm. ex R.Br., *Pleomele* Salisb. і які раніше зближували з драценами [3, 13], але, на основі молекулярних даних, віддалили від них [5, 9, 12]. Мета нашого дослідження полягала у вивченні мікроморфологічної та васкулярно-анатомічної будови квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce. у зв'язку із пошуком нових потенційно важливих таксономічних ознак.

**Матеріали та методи**

Квітки *Sansevieria hyacinthoides* збирали в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України (м. Київ) на стадії бутону перед розкриванням і цвітіння та фіксували у 70% етанолі. Препарати серій поперечних зрізів п'яти квіток завтовшки 20 мкм виготовляли згідно зі стандартною методикою [1], зрізи фарбували барвниками астраблау та сафраніном. Будову квітки вивчали за допомогою оптичного мікроскопа марки LABOVAL 4 фірми CARL ZEISS (Jena) та біокуляра марки МБС-10. Рисунки зрізів виготовляли з використанням мікрофотографій, отриманих за допомогою фотокамери марки CANON 1000 D. Висоту зон гінецея обчислювали за кількістю поперечних зрізів, які за-

ймає ця зона. Внутрішню структуру гінецея аналізували згідно з концепцією вертикальної зональності гінецея W. Leinfellner [10] та рекомендацій С. Волгіна і В.Тихомирова [2].

### Результати і їхнє обговорення

#### Морфологія квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce

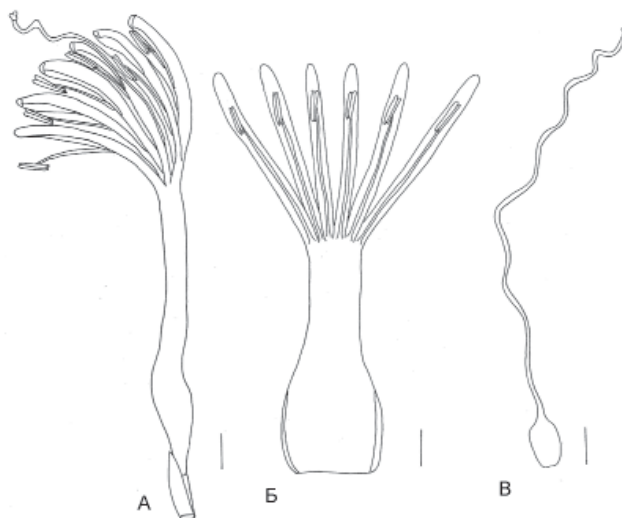


Рис. 1. Морфологія квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce : А – загальний вигляд квітки; Б – розгорнута оцвітину й андроцей; В – маточка. Лінійка: 4 мм.

Квітки до 60 мм завдовжки, злегка зигоморфні (рис. 1, А). Приквітка яйцеподібна, близько 7,5 мм завдовжки, завширшки 3,4 мм в середній частині, шкіряста, світло-коричнева. Квітконіжка до 7 мм завдовжки, близько 1,8 мм в діаметрі, має зчленування на 2/3 довжини. Приквіточка одна, задня, яйцеподібна, до 4 мм завдовжки, 3 мм завширшки при основі, шкіряста. Оцвітину світло-жовта. Листочки простої оцвітини й андроцея формують квіткову трубку 2,6-3,7 мм у діаметрі (рис. 1, Б). Листочки простої оцвітини близько 50 мм завдовжки, на 2/3 довжини зрослі, у вільній частині 1,3 мм завширшки із загнутою верхівкою. Тичинкові нитки довжиною до 9 мм, в діаметрі 0,4 мм. Тичинкові нитки зовнішнього кола кріпляться до пиляків дещо нижче, ніж тичинки внутрішнього кола. Пиляки лінійні, інтрозні, довжиною до 4 мм, завширшки близько 1 мм.

Зав'язь яйцеподібна, гладенька, 2,6 мм у діаметрі, до 5 мм висотою (рис. 1, В). На зав'язі помітні поздовжні септальні борозенки (рис. 2, Д-М). Ці борозенки вистелені незалозистим епідермісом і слугують для стікання нектару з отвору септального нектарника. Стовпчик термінальний, звивистий і зігнутий, довжиною до 51 мм і 0,4–0,7 мм у діаметрі (рис. 1, В, рис. 2, П, Р). Приймочка трилопатева, з напівкруглими лопатями (рис. 2, С). У квітконіжці та всіх частинах квітки наявні клітинні включення – рафіди.

Висота квітколожа у *Sansevieria hyacinthoides* (рис. 2, Б-Г) від рівня розширення квітконіжки до рівня формування зав'язі та квіткової трубки (за серією поперечних зрізів) – 1400 мкм. Зав'язь від основи до висоти близько 680 мкм не містить жодних порожнин. Вище у зав'язі з'являються три окремі порожнини септальних нектарників, епідерміси яких не з'єднані між собою (рис. 2, Д, Е, рис. 3). На 560 мкм вище з'являються три гнізда зав'язі, також обмежені конгеніально замкнутими плодолистками (рис. 2, Ж). На цьому рівні у зав'язі є шість конгеніально замкнутих порожнин – три гнізда і три септальних нектарники. Така структура зав'язі зберігається на висоті 160 мкм, а вище три порожнини

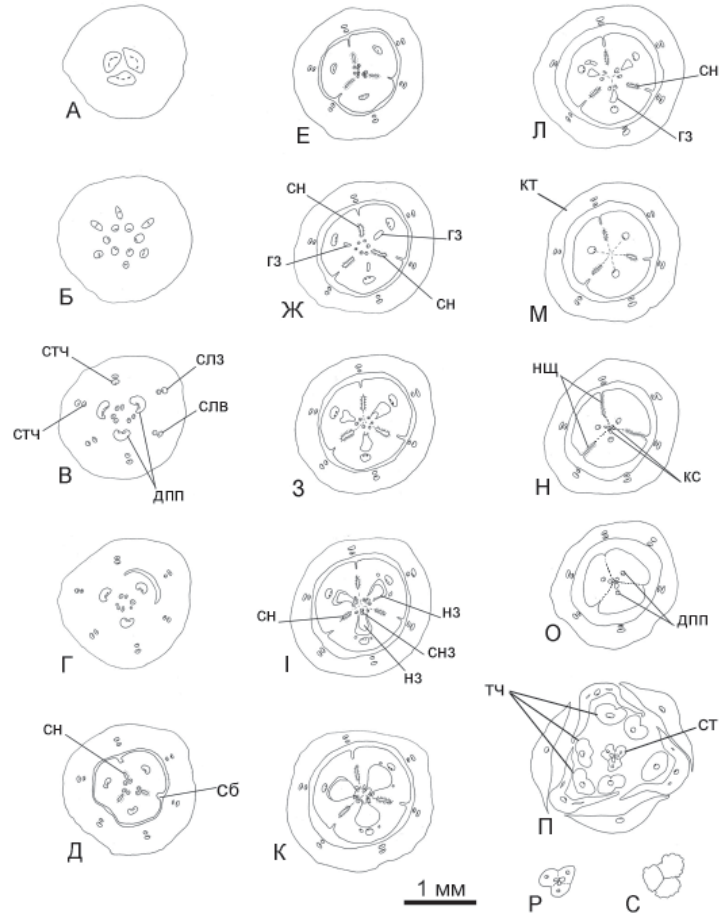


Рис. 2. Серія поперечних зрізів квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce на рівні квітконіжки (А), квітколожа (Б–Г), зав'язі (Д–Н), стовпчика (О–Р) та приймочки (С): впп – вентральний пучок плодолистка, вщ – вентральна щілина, гз – гніздо зав'язі, дпп – дорзальний пучок плодолистка, квп – корені вентральних пучків, кс – канал стовпчика, кт – квіткова трубка, нз – насінний зачаток, нщ – нектарна щілина, нсз – сліди насінних зачатків, сз – сліди насінних зачатків, сн – септальний нектарник, снз – сліди насінних зачатків, ст – стовпчик, стч – сліди тичинки, тч – тичинка.

септальних нектарників з'єднуються між собою трипроменевою щілиною із двох рядів епідермальних клітин, які щільно з'єднані між собою постгенітально (рис. 2, 3). На цьому ж рівні з'являється основа фунікулюса насінного зачатка. У кожному гнізді наявний один насінний зачаток у медіанному положенні, з мікропіле, обернутим донизу. Вище прикріплення фунікулюсів плодолистки роз'єднуються в центрі, формуючи невелику порожнину.

Над насінними зачатками вентральні краї плодолистіків ще 180 мкм залишаються зрослими, а вище вони роз'єднуються з утворенням вентральних щілин, які об'єднують гнізда всіх плодолистіків (рис. 2, Л). Ще вище гнізда зав'язі поступово звужуються у щілини (рис. 2, М), а вище з них формуються вузькі канали стовпчика (рис. 2, Н), заповнені секретією. Висота гнізд зав'язі для п'яти досліджених квіток становила 1140-(1380)-1460 мкм, різниця у висоті гнізд однієї зав'язі – 20–120 мкм, фунікулюс прикріплюється

трохи нижче середини висоти зав'язі.

Отже, гінецей *Sansevieria hyacinthoides* має потовщену основу зав'язі, висотою близько 1240 мкм, в якій відсутні гнізда, але наявні три щілини септального нектарника. Зональність гінецея за W.Leinfellner [10] є такою (рис. 4): в основі гнізд наявна коротка синасцидіатна структурна зона, в якій розміщуються три окремі гнізда зав'язі та три щілини септальних нектарників, не з'єднані між собою епідермісами. Вище наявна гемісинасцидіатна зона, в якій міститься насінний зачаток. Ця зона є найдовшою у зав'язі (близько 900 мкм). Вище розміщуються гемісимплекатна зона, висотою 680 мкм, яка займає верхню частину гнізд і половину даху зав'язі. Дах зав'язі у *Sansevieria hyacinthoides* потовщений до 760 мкм.

Септальні нектарники тягнуться вздовж гнізд зав'язі та вище, в її дах, на 360 мкм, де об'єднуються зі септальною борозенкою, формуючи залозисту нектарну щілину, висотою близько 400 мкм (рис. 2, Н). Нектарні щілини прямі, нерозгалужені, слабо залозисті, до верху поступово вкорочуються, а плодолистки злипаються постгенітально (рис. 2, О). Стовпчик трикутний у перерізі, з трьома зближеними каналами в центрі (рис. 2, Р). Асимплекатна зона починається в даху зав'язі, в місці об'єднання септальних нектарників зі септальними борозенками і продовжується у стовпчику до приймочки.

#### **Васкулярна анатомія квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce**

У квітконіжці проходить провідний циліндр, трикутний у перерізі, який у верхній частині квітконіжки формує кільце із трьох великих провідних пучків на радіусах зовнішніх листочків оцвітини (рис. 2, А) і кілька дрібних, які іноді анастомозують між собою. У квітколожі (рис. 2, Б–Г) центральний циліндр збільшується в діаметрі, набуває трикутної форми і майже на одному рівні від нього відходять шість провідних пучків (рис. 2, Б): три на радіусах зовнішніх листочків оцвітини і три на радіусах внутрішніх листочків оцвітини. Деяко вище, майже на одному рівні ці провідні пучки діляться в радіальній площині на слід листочка оцвітини та слід тичинки (рис. 2, В). Сліди тичинок і листочків оцвітини цілісні, нероздвоєні. Сліди зовнішніх листочків оцвітини не розгалужуються, а сліди внутрішніх листочків оцвітини формують дрібні горизонтальні відгалуження у вільних лопатях оцвітини (рис. 2, П).

Вище відходження стовбурових пучків листочків оцвітини і тичинок (рис. 2, В, Г) із провідного циліндра формуються три дорзальних пучки плодолистків і 6–7 провідних пучків, розміщених одним колом – коренів вентральних пучків плодолистків. Вище ці пучки формують три півмісяцеві групи дрібних пучків на радіусах перегородок, до середини від щілин нектарників, із ксилемою, орієнтованою назовні (рис. 2, Е, рис. 3). Із цих пучків вище формуються парні вентральні пучки плодолистків і кілька дрібних пучків, які сліпо закінчуються (рис. 2, Ж). У насінний зачаток входить один провідний пучок, який виникає при злитті двох відгалужень від обох вентральних пучків одного плодолистка (рис. 2, І). Вище формування сліду насінного зачатка вентральні пучки відхиляються назовні (рис. 2, К, Л) і з'єднуються над гніздами зав'язі з дорзальним пучком (рис. 2, М).

Від дорзального пучка на рівні фертильної ділянки зав'язі відходять дрібні та сліпі бічні відгалуження (рис. 2, І, К). Дорзальний пучок продовжується у стовпчик без розгалужень до самої верхівки (рис. 2, Н–Р).

#### **Анатомо-морфологічна організація квітки *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce**

Наше дослідження показало, що у *Sansevieria hyacinthoides* сліди листочків простої оцвітини й тичинок у спільній квітковій трубці розміщуються окремо і не анастомозують між собою. Сліди членів оцвітини й тичинок формуються ще у квітколожі з коротких спільних стовбурових пучків. Відмінності між листочками оцвітини зовнішнього і

внутрішнього кола полягають у наявності бічних відгалужень від жилок у внутрішніх листочків оцвіттини. Для зовнішніх і внутрішніх тичинок відмінності між колами проявляються у різному рівні прикріплення пиляка до тичинкової нитки.

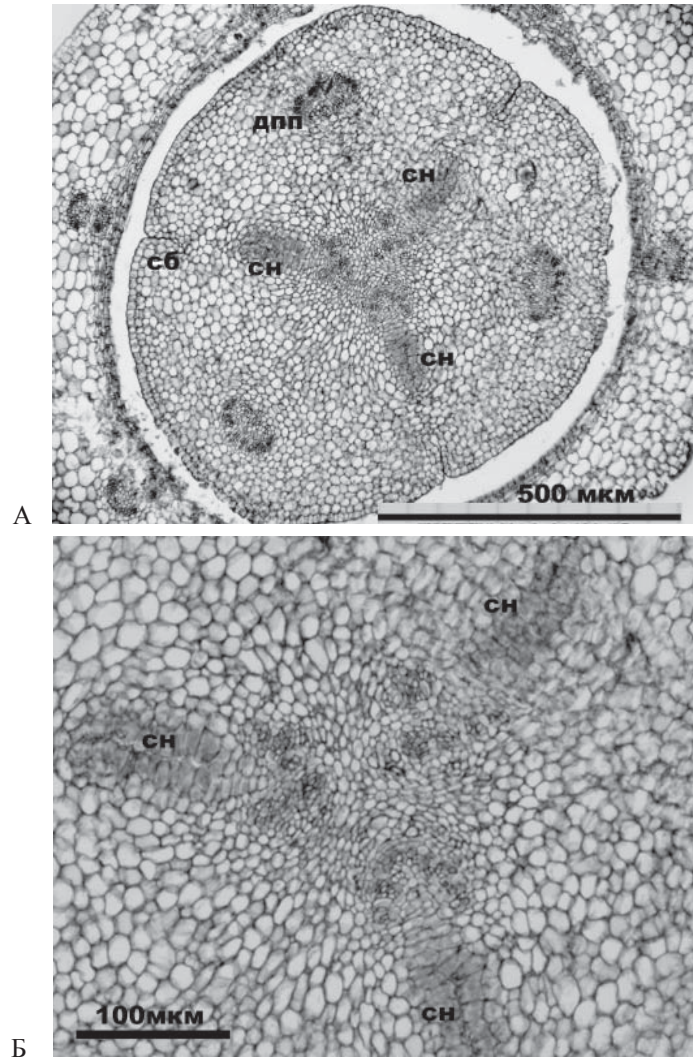


Рис. 3. Основа зав'язі зі септальним нектарником *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce (А), центральна частина зрізу з фото А, збільшено (Б): дпп – дорзальний пучок плодолистка, сб – септальна борозенка, сн – септальний нектарник.

За анатомо-морфологічною будовою оцвіттини й андроцея *Sansevieria hyacinthoides* подібна на інший вид, *Sansevieria suffruticosa* N. E. Br., досліджений нами раніше [4]. Проте у *Sansevieria suffruticosa*, яка має дещо менші розміри квітки, листочки оцвіттини зрослі між собою лише наполовину, а сліди тичинок у нижній частині квіткової трубки представлені подвійним провідним пучком.

Плодолистки *Sansevieria hyacinthoides* злиті між собою конгенітально в нижній частині зав'язі й постгенітально – у верхній частині зав'язі та стовпчику. У середній частині зав'язі вони злиті ззовні конгенітально і всередині – постгенітально. Плодолистки



в цього виду пельтатні, з довгою асцидіатною нижньою частиною (близько 1060 мкм), в якій розміщений насінний зачаток. Гнізда зав'язі займають менше 1/3 її висоти. Провідна система плодолистків незалежна, сліди плодолистків трипучкові, слід насінного зачатка однопучковий.

Внутрішня структура гінцея *Sansevieria hyacinthoides* суттєво подібна до структури гінцея *Sansevieria suffruticosa* [4]. Зокрема, для обох видів характерна наявність високої основи та даху зав'язі, короткої синасцидіатної та довгої фертильної гемісинасцидіатної зони, медіанного насінного зачатка. Висота гемісимплікатної зони має проміжне значення. Цікаво, що висота нектарної щілини в обох видів дорівнює близько 400 мкм, незважаючи на те, що абсолютна висота всіх інших зон гінцея та висота септального нектарника відрізняються. Найбільше у згаданих видів відрізняються значення висоти основи зав'язі, яка у *Sansevieria hyacinthoides* в чотири рази більша, ніж у *Sansevieria suffruticosa*. Насінний зачаток у *Sansevieria hyacinthoides* живиться від вентральних пучків плодолистків, а у *Sansevieria suffruticosa* – від медіанного вентрального пучка.

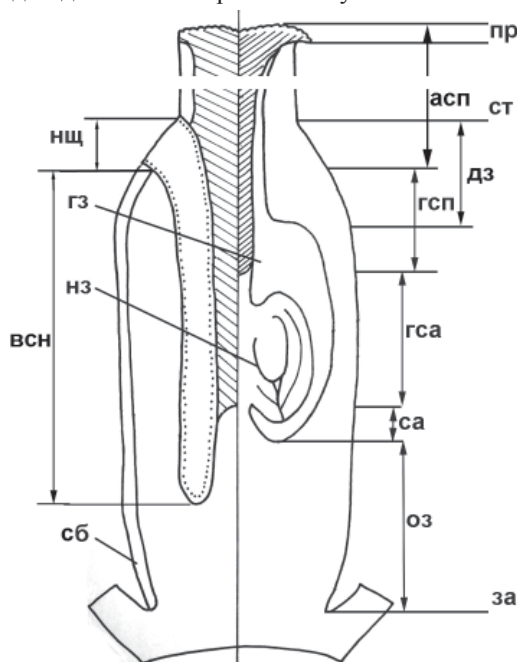


Рис. 4. Схема вертикальної зональності гінцея *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Друсе: асп – асимплікатна зона, всн – внутрішній септальний нектарник, гз – гніздо зав'язі, гса – гемісинасцидіатна зона, гсп – гемісимплікатна зона, дз – дах зав'язі, за – зав'язь, нз – насінний зачаток, нщ – нектарна щілина, оз – основа зав'язі, пр – приймочка, са – синасцидіатна зона, сб – септальна борозенка, ст – стовпчик. Ділянки постгенітального зростання плодолистків заштриховані.

Септальний нектарник *Sansevieria hyacinthoides* відповідає на всій його висоті лілі-оїдному типу за R. Schmid [11] – нелабірентний роздільний нектарник. За класифікацією E. Daumann [7], септальний нектарник відповідає внутрішньому типу до місця об'єднання порожнин нектарника зі септальними борозенками, а вище цього рівня, в місці виведення нектарника назовні у вигляді нектарної щілини, – зовнішньому типу. Таким чином, септальний нектарник *Sansevieria hyacinthoides* складається з внутрішнього септального нектарника на рівні основи зав'язі (560 мкм), гнізд зав'язі (1180–1460 мкм) та даху зав'язі

(360 мкм), а також із зовнішнього септального нектарника – нектарної щілини (400 мкм) (рис. 4). Септальний нектарник розміщений на рівні всіх структурних зон гінцея, а його висота у середньому 2700 мкм, що удвічі більше, ніж середня висота гнізд зав'язі.

За даними W. A. van Heel [8] з розвитку гінцея в *Dracaena surculosa* Lindl. та *Sansevieria zeylanica* Willd. септальний нектарник виникає як структура, що обмежується знизу квітколожем, ззовні – конгенітально зрослими бічними поверхнями плодолистків, а зсередини – постгенітально зімкнутими краями плодолистків. Проте наші дані свідчать, що в *Sansevieria hyacinthoides* основа септального нектарника лежить вище квітколожа, в потовщеній основі зав'язі, а в своїй нижній частині септальний нектарник обмежується і ззовні, і зсередини конгенітально зрослими поверхнями плодолистків (рис. 2, Д, рис. 3, рис. 4). В іншого виду, *Sansevieria suffruticosa*, септальний нектарник в основі представлений трипроменевою щілиною [4]. Очевидно, потовщена основа зав'язі разом із конгенітально замкнутими порожнинами нектарників у *Sansevieria hyacinthoides* виникає на пізніх стадіях розвитку гінцея, шляхом видовження базальної ділянки зав'язі на межі з квітколожем. Це означає, що існуюче різноманіття морфогенезу септальних нектарників у родині Asparagaceae перевищує передбачені W. A. van Heel можливості.

Спеціальні дослідження квітки деяких видів сансев'єр раніше проводили тільки у зв'язку із вивченням структури нектарників [7] і розвитку гінцея [8, 13], тому порівняти всі виявлені нами структурні ознаки квітки у *Sansevieria hyacinthoides* з іншими представниками роду (крім *Sansevieria suffruticosa*) поки що немає можливості.

У *Sansevieria hyacinthoides* сліди листочків простої оцвітини та сліди тичинок однопучкові, сліди плодолистків трипучкові. Насінний зачаток у кожному гнізді зав'язі іннервується від обох вентральних пучків плодолистка. Гінцея *Sansevieria hyacinthoides* ми визначаємо як гемісинкарпний, зі синасцидіатною, гемісинасцидіатною (фертильною), гемісимплекатною й асимплекатною структурними зонами. Від типового гемісинкарпного гінцея його відрізняє наявність синасцидіатної зони, яка характерна для евсинкарпного типу гінцея, та сильно потовщені паренхімні основа і дах зав'язі, в яких розміщується нижня та верхня частини септального нектарника. Вперше були описані такі риси внутрішньої будови гінцея для роду *Sansevieria*: наявність септального нектарника у вигляді трьох не з'єднаних між собою порожнин в основі зав'язі та в синасцидіатній зоні, значна висота септального нектарника, яка удвічі більша, ніж висота гнізд зав'язі.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятков А. Г. и др. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2004. 287 с.
2. Волгин С. А., Тихомиров В. Н. О структурных типах моноциклического синкарпного гинцея покрытосеменных // Бюлл. МОИП. Отд. биол. 1980. 85(6). С. 63–74.
3. Иванова Л. И. Семейство драценовые (*Dracaenaceae*) // Жизнь растений. Т. 6. Цветковые растения / под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1982. С. 169–177.
4. Фіщук О. С., Одінцова А. В. Морфологія та васкулярна анатомія квітки *Sansevieria suffruticosa* N. E. Br. (Asparagaceae Juss.) // Біологічні студії. *Studia biologica*. 2013. Т. 7. № 1. С. 139–148.
5. Bos J. J. *Dracaenaceae* / The families and genera of vascular plants. III. Flowering plants: Monocotyledons: Liliaceae (except Orchidaceae). Vol. ed. K. Kubitzki et al. Springer. 1998. С. 238–241.

6. *Chahinian B. J.* The splendid sansevieria: an account of the species / Buenos Aires: el autor, 2005. 180 p.
7. *Daumann E.* Das Blütennektarium der Monocotyledonen unter besonderer Berücksichtigung seiner systematischen und phylogenetischen Bedeutung // Feddes Repert. 1970. Bd. 80. H. 7–8. S. 463–590.
8. *Heel van W. A.* On the development of some gynoecia with septal nectaries // Blumea. 1988. Vol. 33. P. 477–504.
9. *Kim J. H., Kim D. K., Fores T. F.* et al. Molecular phylogenetics of *Ruscaceae sensu lato* and related families (Asparagales) based on plastid and nuclear DNA sequences // Ann. Bot. 2010. N 106. P. 775–780.
10. *Leinfellner W.* Der Bauplan des synkarpen Gynözeums // Österr. Bot. Zeitschr. 1950. Bd. 97. N 3–5. S. 403–436.
11. *Schmid R.* Functional interpretations of the morphology and anatomy of septal nectaries // Acta Bot. Neerl. 1985. Vol. 34. N 1. P. 125–128.
12. *Takhtajan A.* Flowering Plants. Sec. Ed. Springer. 2009. 871 p.
13. *Wunderlich R.* Die *Agavaceae* Hutchinsons im Lichte ihrer Embryologie ihres Gynoeceum-, Staubblatt- und Blattbaues // Österr. Bot. Zeitschr. 1950. Bd. 97. H. 3–5. S. 437–502.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

доопрацьована 09.04.13

прийнята до друку 24.04.13

#### MORPHOLOGY AND VASCULAR ANATOMY OF THE FLOWER IN *SANSEVIERIA HYACINTHOIDES* (L.) DRUCE (ASPARAGACEAE JUSS.)

O. Fishchuk<sup>1</sup>, A. Odintsova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Lesya Ukrainka Eastern European National University*  
13, Voli Ave., Lutsk 43025, Ukraine  
e-mail: dracaenaok@ukr.net

<sup>2</sup> *Ivan Franko National University of Lviv*  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: amorph@ukr.net

It was showed, that perianthium members of *Sansevieria hyacinthoides* flower are connated up to the 2/3 of their height, each tepal and stamen traces have one bundle. In the gynoecium of *Sansevieria hyacinthoides* the synascidiate, hemisynascidiate, hemisimpli-cate and asymplicate zones are presented. The fertile hemisynascidiate zone is the highest in the ovary, the synascidiate one is the shortest, as it was previously showed for *S. suffruticosa*. Carpel trace has three bundles, ovule trace has one bundle. The height of the septal nectary is twice as locule height due to its prolongation into the thickened ovary base and roof. Septal nectary corresponds to the inner type at its base and to the outer type at its upper part. Besides, there is no epidermal connection between septal nectaries at its base.

*Keywords:* *Sansevieria hyacinthoides*, flower morphology, vascular anatomy, hemisyncarpous gynoecium, septal nectaries.

**МОРФОЛОГИЯ И ВАСКУЛЯРНАЯ АНАТОМИЯ ЦВЕТКА  
*SANSEVIERIA HYACINTHOIDES* (L.) DRUCE (ASPARAGACEAE JUSS.)**

**О. Фищук<sup>1</sup>, А. Одинцова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Восточноевропейский национальный университет имени Леси Украинки  
пр. Воли, 13, Луцк 43025, Украина  
e-mail: dracaenaok@ukr.net*

<sup>2</sup>*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: amorpha@ukr.net*

Установлено, что у *Sansevieria hyacinthoides* листочки простого околоцветника срастаются друг с другом в цветковую трубку на 2/3 высоты; их следы, как и следы тычинок, однопучковые. В гинецее *Sansevieria hyacinthoides* представлены синасцидиатная, гемисинасцидиатная, гемисимпликатная и асимпликатная структурные зоны. Самой высокой зоной в завязи является фертильная гемисинасцидиатная, а самой короткой – синасцидиатная зона, как было показано ранее и для *S. suffruticosa*. След плодолистика трипучковый, след медианного семязачатка однопучковый. Высота септального нектарника вдвое превышает высоту гнезд завязи за счет его продолжения в утолщенные основание и крышу завязи. Септальный нектарник в нижней части соответствует внутреннему, а в верхней части – внешнему типу, причем полости нектарника в основании не соединены друг с другом эпидермисами.

*Ключевые слова:* *Sansevieria hyacinthoides*, морфология цветка, васкулярная анатомия, гемисинкарпный гинецей, септальный нектарник.

ГЕНЕТИКА

УДК 575.224: 577.151.6

**ЧУТЛИВІСТЬ ДО УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ  
ТА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНІ ЗМІНИ В СТРУКТУРІ МОЗКУ У МУТАНТІВ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНАМИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ**

**М. Вітушинська, Н. Матійців, Я. Черник**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

У роботі простежена зміна інтенсивності проходження в організмі процесів перекисного окиснення ліпідів, життєздатності й виникнення дегенеративних змін у структурі мозку імаго *D. melanogaster*, мутантних за генами *Sod1* та *Sod2*, за стандартних умов і за умов оксидативного стресу (ОС). Всі показники свідчать про підвищену чутливість до умов ОС у мутантних мух, а фенотипові прояви залежать від генотипу та віку особин.

*Ключові слова:* дрозофіла, оксидативний стрес, супероксиддисмутаза, тривалість життя, нейродегенерація.

Оксидативний стрес (ОС) проявляється у стійкому зсуві балансу про- й антиоксидантних процесів і зумовлює різні цитотоксичні порушення. Він призводить до пошкодження найважливіших біополімерів клітини: нуклеїнових кислот, білків і ліпідів [1]. Високі концентрації активних форм кисню (АФК) і ліпідних гідропероксидів пошкоджують ДНК, впливають на поділ клітин і можуть активувати апоптоз [3]. Дослідження останніх років показують, що оксидативний стрес часто супроводжує процеси нейродегенеративних розладів у тварин і людини [15]. Його розглядають як важливий чинник патогенезу хвороб Альцгеймера і Паркінсона, аміотрофічного латерального склерозу, епілепсії та розсіяного склерозу [15]. Захист від дії АФК здійснюється ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза), а також низькомолекулярними акцепторами кисневих радикалів (аскорбінова кислота,  $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -каротин, глутатіон) [8, 16]. Пусковим ферментом антиоксидантної системи захисту організму є супероксиддисмутаза (СОД) [10]. Є кілька ізоформ цього ферменту, всі вони є металоензимами і каталізують реакцію дисмутації супероксид-аніона ( $O_2^-$ ) у пероксид водню, який є менше реакційноздатним [14]. Cu/Zn СОД (кодується геном *Sod1*) – чутлива до ціаніду і міститься в ядрі, цитоплазматичному матриксі, перокси-сомах і міжмембранному просторі мітохондрій клітин еукаріот [20, 21]. Невелика фракція Cu/Zn СОД наявна також у внутрішньомембранному просторі мітохондрій [14]. Mn СОД (кодується геном *Sod2*) – ціанідрезистентна форма, локалізована в мітохондріях і матриксі хлоропластів еукаріот [20].

При дослідженні молекулярних і клітинних механізмів нейродегенерацій у живих істот моделювання на дрозофілі має низку переваг [6]. Близько 70% генів людини, причетних до виникнення нейродегенеративних захворювань, мають у дрозофілі щонайменше одного гомолога. Короткий життєвий цикл цієї комахи, велика кількість потомства, добре відома анатомічна будова нервових гангліїв і широкі можливості отримання мутантів є зручними характеристиками дрозофіли як модельного генетичного об'єкта для вивчення

безпосередньої ролі супероксиддисмутази в антиоксидантній системі захисту організму і пов'язаних із нею патологічних процесів [6].

#### Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугували дві мутантні лінії *D. melanogaster*: *Sod[X-39]* – характеризується зниженим синтезом Cu/Zn СОД, отримана унаслідок Р-інсерційного мутагенезу; *Sod2Δ02* – характеризується зниженим синтезом Mn СОД, отримана шляхом впливу γ-випромінювання. Контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon R*. Дослідні лінії одержано з Bloomingthon Stock Center (США, штат Індіана). Культури утримували на стандартному середовищі за температури 25°C [22].

*Тест на стійкість до умов ОС* проводили за методикою Ландера [19]. Прооксидантами були використані 5% розчин пероксиду водню, 10 мМ і 20 мМ розчини метилвіологену; позитивним контролем слугував 10% розчин сахарози. Вибірка становила 200 самців (3-денного віку). Особин, затравлених прооксидантами, використовували для визначення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів дієнових кон'югатів (ДК), продуктів взаємодії тіобарбітурової кислоти із малоновим діальдегідом (ТБК-ПП) та для виготовлення парафінових зрізів мозку.

*Побудова кривих виживання.* Для побудови кривих виживання 160 самців 3-денного віку розсаджували по 20 особин у пробірки на поживне середовище. Пересаджування на свіже поживне середовище та підрахунок живих мух проводили кожних два дні. Будували криві виживання, визначали показники максимальної тривалості життя (МТЖ) і середньої тривалості життя (СТЖ, показник:  $S_{75}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 75% мух,  $S_{50}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 50% мух,  $S_{25}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 25% мух).

*Гістологічні зрізи мозку* виготовляли за методикою Хейзенберга. Виготовлені препарати аналізували в ультрафіолетовому світлі на мікроскопі *Laboval-3 Carl Zeiss Jena* при збільшенні 15x40.

*Приготування гомогенатів* [13]. Готували 10% гомогенат: 50 мг мух розтирали в гомогенізаторі з додаванням 0,5 мл 0,1 М тріс-НСІ гомогенатного буферу, рН=8,6. Гомогенізацію проводили в охолодженому гомогенізаторі при температурі 0–4°C. Гомогенати центрифугували при 4000 об/хв, 10 хв.

*Визначення вмісту дієнових кон'югатів* [11, 17]. Принцип методу полягає в тому, що внаслідок перекисного окиснення ліпідів на стадії утворення вільних радикалів у молекулах ненасичених жирних кислот виникає система спряжених подвійних зв'язків із появою нового максимуму поглинання при  $\lambda=233$  нм. Екстинцію визначали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі  $\lambda=233$  нм проти гептану.

Обчислення проводили за формулою: концентрація дієнових кон'югатів (ДК) =  $E \times V_e / e \times V \times C$  кмоль мг<sup>-1</sup>білка (де  $E$  – різниця екстинцій холостої та дослідної проб,  $e$  – молекулярний коефіцієнт екстинції, 28000 м<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>,  $V_e$  – кінцевий об'єм верхнього гептанового шару,  $V$  – об'єм гомогенату,  $C$  – концентрація білка).

*Визначення вмісту ТБК-позитивних продуктів* [11, 17]. Принцип методу ґрунтується на активації перекисного окиснення ліпідів іонами двовалентного феруму до рівня, який реєструється спектрофотометрично. При високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання при  $\lambda=532$  нм. Екстинцію визначали за допомогою спектрофотометра (фіолетовий фільтр, чутливість – 1, лампа розжарювання) при довжині хвилі  $\lambda=532$  нм проти бутанолу.

Обчислення проводили за формулою [ТБК-позитивні продукти] =  $E \times V_1 \times V_2 / e \times V \times C_6$  [мкМ/мг] (де  $E$  – екстинція проби;  $V_1$  – об'єм бутанолу;  $V_2$  – об'єм лізату;  $e$  – молярний коефіцієнт екстинції,  $156000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ;  $V$  – об'єм надосадової рідини;  $C_6$  – концентрація білка в дослідній пробі).

*Статистична обробка результатів* [5]. Для статистичної обробки використовували пакет аналізу даних прикладної програми MS Excel.

Біохімічні показники представлені у вигляді  $M \pm m$ , де  $m$  – стандартна похибка середнього. Чутливість до умов оксидативного стресу визначали у відсотках виживання особин. Рівні значущості позначали “\*” для  $P \leq 0,05$ , “\*\*” для  $P \leq 0,01$ , “\*\*\*” для  $P \leq 0,001$ .

Для дослідження тривалості життя будували криві виживання, кожна точка на яких відповідала середньому значенню  $M$ . Розраховували стандартну середню похибку  $m$ . Статистичну обробку параметрів тривалості життя проводили з використанням показника “ $t$ ” (критерій Стьюдента). Відмінність між величинами вважали статистично значущою при  $P \leq 0,05$ . Рівні значущості позначали “\*” для  $P \leq 0,05$ , “\*\*” для  $P \leq 0,01$ , “\*\*\*” для  $P \leq 0,001$ .

### Результати і їхнє обговорення

Оскільки з літературних джерел відомо [3, 4, 10], що захист від дії АФК у різних організмів залежить від рівня експресії генів супероксиддисмутази, ми у своїх дослідженнях використали делеційних мутантів *D. melanogaster* за генами *Sod1* та *Sod2*, а саме лінії *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02*. ОС індукували розчинами пероксиду водню та метилвіологену. Отримані результати показали, що виживання за умов оксидативного стресу лінії дикого типу *Oregon* і мутантних ліній знижується за дії всіх використаних прооксидантів: 5% розчину пероксиду водню, 10 мМ та 20 мМ розчинів метилвіологену (рис. 1).

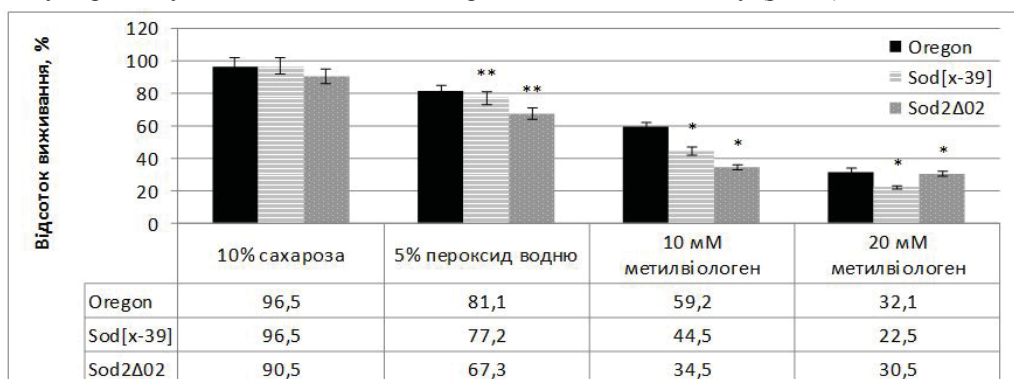


Рис. 1. Виживання ліній *D. melanogaster* за умов оксидативного стресу. Розраховували виживання дослідних особин у %; \*\* – різниця при рівні значущості  $P \leq 0,01$ ; \* –  $P \leq 0,05$ , розрахована на основі критерію Стьюдента.

Виживання особин лінії дикого типу *Oregon* з за дії 5% пероксиду водню та 10 мМ метилвіологену становило 81,10% та 59,20% відповідно, а за умов оксидативного стресу, зумовленого 20 мМ розчином метилвіологену, – 32,10%. Таким чином, зі збільшенням концентрації прооксиданта зростала чутливість до умов оксидативного стресу. Таку ж закономірність спостерігали у разі аналізу виживання мутантних ліній *D. melanogaster*. Усі мутанти виявилися високочутливими до дії прооксидантів (рис. 1). У мух досліджуваних ліній за дії прооксидантів відсоток виживання різко знижувався порівняно з особинами, яких утримували на середовищі з 10% розчином сахарози, що слугував позитивним контролем. У лінії *Sod2Δ02* на середовищах з 10 мМ і 20 мМ розчинами метилвіологену виживало

тільки 34,50% і 30,50% мух відповідно. Для особин лінії *Sod[X-39]* цей показник становив 44,50% за дії 10 мМ метилвіологену та лише 22,5% у разі 20 мМ метилвіологену (рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ , розрахований на основі критерію Стьюдента).

Оскільки мутації в генах *Sod1* та *Sod2* негативно впливали на виживання мутантів *D. melanogaster*, ми вирішили з'ясувати, як впливатимуть створені умови на показники тривалості життя досліджуваних ліній. Результати досліджень представлені в табл. 1 та на рис. 2–4.

Таблиця 1

Тривалість життя ліній *D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів

Середовище культивування	Лінія	СТЖ, доби			МТЖ, доби
		S <sub>75</sub> M±m	S <sub>50</sub> M±m	S <sub>25</sub> M±m	
Стандартне середовище	<i>Oregon</i>	23,9±0,01	35,8±0,01	42,5±0,03	56,0±0,02
	<i>Sod[X-39]</i>	20,6±0,03 *	28,3±0,02 *	29,0±0,04 *	33,0±0,03 *
	<i>Sod2Δ02</i>	11,4±0,01 *	12,0±0,04 *	18,0±0,01 *	30,0±0,02 *
10% розчин сахарози	<i>Oregon</i>	24,3±0,03	33,0±0,02	35,2±0,01	42,0±0,02
	<i>Sod[X-39]</i>	14,7±0,02 *	15,6±0,02 *	16,9±0,02 *	24,00±0,03 *
	<i>Sod2Δ02</i>	13,6±0,02 *	13,9±0,01 *	14,7±0,02 *	21,0±0,021 *
5% розчин пероксиду водню	<i>Oregon</i>	13,0±0,12	16,0±0,02	21,8±0,21	27,0±0,03
	<i>Sod[X-39]</i>	7,6±0,02 *	8,9±0,02 *	11,3±0,02*	15,0±0,02 *
	<i>Sod2Δ02</i>	7,2±0,02 *	8,0±0,02 *	8,7±0,02 *	12,0±0,02 *
10 мМ розчин метилвіологену	<i>Oregon</i>	6,8±0,02	7,4±0,60	7,6±0,12	15,0±0,50
	<i>Sod[X-39]</i>	5,7±0,12 *	6,2±0,41 *	9,5±0,17 *	12,0±0,01 *
	<i>Sod2Δ02</i>	4,9±0,01 *	5,7±0,23 *	5,9±0,19 *	9,0±0,02 *
20 мМ розчин метилвіологену	<i>Oregon</i>	7,2±0,19	7,8±0,21	8,2±0,21	12,0±0,24
	<i>Sod[X-39]</i>	5,8±0,21 *	6,4±0,23 *	7,3±0,19 *	9,0±0,23 *
	<i>Sod2Δ02</i>	4,6±0,24 *	5,1±0,32 *	6,3±0,22 *	9,0±0, 21 *

Примітка. Різниця при рівні значущості \* –  $P \leq 0,05$ .

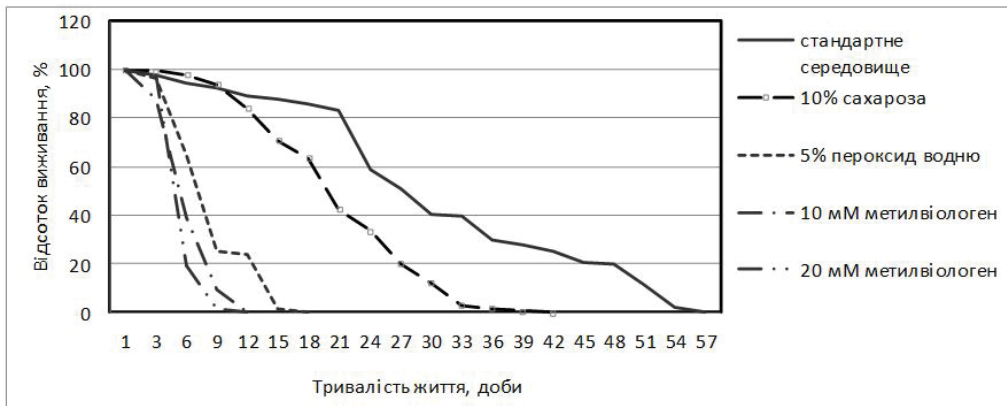
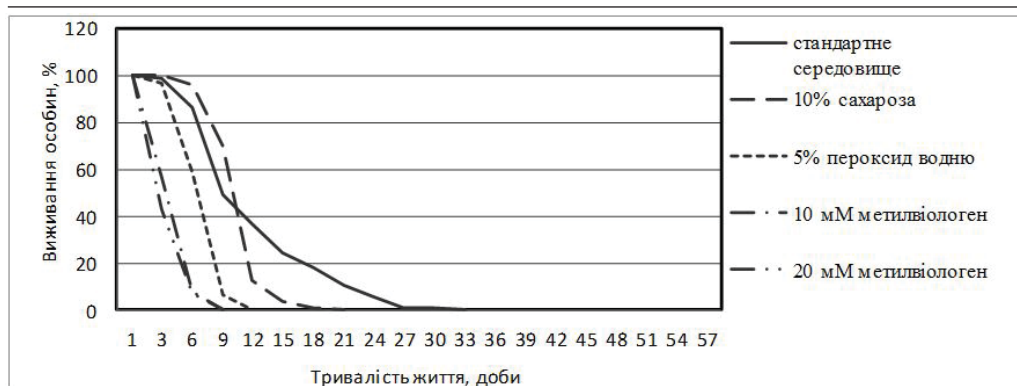
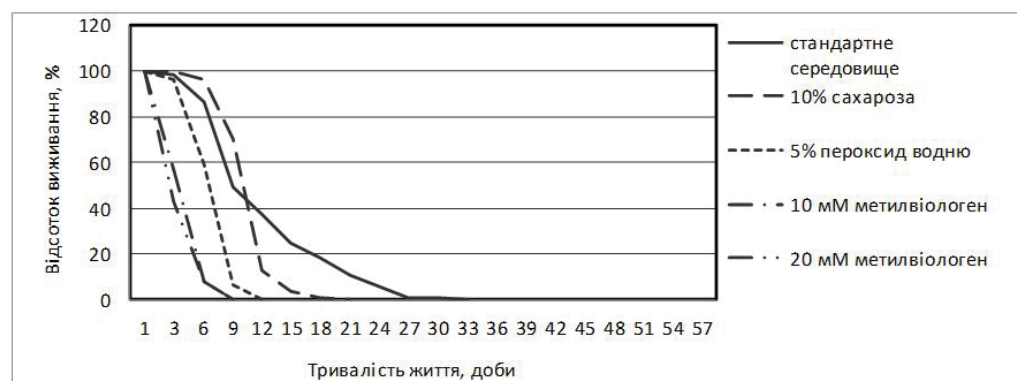


Рис. 2. Криві виживання лінії дикої типу *Oregon D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.

Як видно з представлених результатів (табл. 1, рис. 2), особини лінії *Oregon* характеризувалися такими показниками: максимальна тривалість життя становила 56,0±0,02 днів, показники середньої тривалості життя: S<sub>75</sub> – 23,9±0,01 днів, S<sub>50</sub> – 35,8±0,01 днів, S<sub>25</sub> – 42,5±0,03 днів. Мутантні лінії мали знижені параметри тривалості життя порівняно з лінією дикої типу *Oregon*. У лінії *Sod[X-39]* МТЖ становила 33,0±0,03 днів, а СТЖ: S<sub>75</sub> – 20,6±0,03 днів, S<sub>50</sub> – 28,3±0,02 днів, S<sub>25</sub> – 29,0±0,04 днів. Найнижчими параметрами як СТЖ (S<sub>75</sub> – 11,4±0,01 днів, S<sub>50</sub> – 12,0±0,04 днів, S<sub>25</sub> – 18,0±0,01 днів), так і МТЖ (30,0±0,02 днів) характеризувалася лінія *Sod2Δ02* (рис. 2–4).



Рис. 3. Криві виживання лінії *Sod[X-39] D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.Рис. 4. Криві виживання лінії *Sod2Δ02 D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.

У разі культивування дрозофіли ліній *Oregon*, *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02* на середовищі з 10% розчином сахарози, який слугував позитивним контролем, відбувалося незначне зниження параметрів тривалості життя, порівняно з мухами, які утримувались на стандартному середовищі (табл. 1, рис. 2–4).

Використані нами прооксиданти (5% розчин перексиду водню, 10 мМ і 20 мМ розчини метилвіологену), які індують ОС в організмі, виявили чіткий негативний ефект на тривалість життя досліджуваних ліній дрозофіли.

За дії 5% розчину перексиду водню відбувалося зменшення тривалості життя у всіх досліджуваних ліній (табл. 1, рис. 2–4). Для лінії *Oregon* показники середньої тривалості життя були:  $S_{75}$  –  $13,00 \pm 0,12$  днів,  $S_{50}$  –  $16,0 \pm 0,02$  днів,  $S_{25}$  –  $21,8 \pm 0,21$  днів, МТЖ –  $27,00 \pm 0,03$  днів. Усі вони були достовірно нижчими від отриманих у разі аналізу тривалості життя особин лінії *Oregon*, утримуваних на стандартному середовищі – на 54,3, 44,6, 49,4 і 48,2% відповідно. Для особин лінії *Sod2Δ02* показники тривалості життя були найнижчими: МТЖ –  $12,0 \pm 0,02$  днів,  $S_{50}$  –  $8,0 \pm 0,02$  днів. Щодо лінії *Sod[X-39]*, то МТЖ у неї становила  $15,0 \pm 0,02$  днів, а  $S_{50}$  –  $8,9 \pm 0,02$  днів.

За дії 10 мМ розчину метилвіологену спостерігалось різке зниження показників тривалості життя мух (табл. 1, рис. 2–4). У лінії *Sod2Δ02* МТЖ досягала тільки  $9,0 \pm 0,02$  днів, а у *Sod[X-39]* –  $12,0 \pm 0,01$  днів.

За дії 20 мМ розчину метилвіологену відбувалося різке відмирання особин як лінії дикого типу, так і мутантних ліній (табл. 1, рис. 2–4). Максимальна тривалість життя лінії

*Oregon* становила тільки  $12,0 \pm 0,24$  днів (на стандартному середовищі  $56,0 \pm 0,02$  днів), для ліній *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02* цей показник становив  $9,0 \pm 0,02$  днів. На кривих виживання ми бачимо відсутність плато, що свідчить про низьку життєздатність особин (рис. 3, 4).

Отже, порівняльний аналіз кривих виживання показав, що як мутантні лінії, так і контрольна лінія дикого типу характеризувалися достовірно скороченими показниками тривалості життя за умов ОС, індукованого прооксидантами.

Із літератури відомо [2, 4, 9], що негативним наслідком ОС є перекисне окиснення ліпідів, головним маркером якого є ДК – молекули з двома спряженими подвійними зв'язками. Вони з'являються на стадії утворення вільних радикалів, тому їх наявність у продуктах окиснення підтверджує вільнорадикальний механізм перекисного окиснення ненасичених жирних кислот. Ми дослідили вміст цих продуктів у 3-денних особин і за дії на них перексиду водню.

У всіх досліджуваних ліній *D. melanogaster* спостерігалось зростання вмісту ДК (табл. 2). Найсуттєвішим зростанням характеризувалася лінія *Sod2Δ02*, для якої цей показник зріс до  $5,214 \pm 0,033$  (у 3-денних особин  $1,023 \pm 0,004$ ).

Таблиця 2

Вміст ДК в контролі та за дії 5% перексиду водню у ліній *D. melanogaster*

Лінія	3-денні M±m	8-денні за дії 5% перексиду водню M±m
<i>Oregon</i>	$0,379 \pm 0,002$	$3,569 \pm 0,021$ *
<i>Sod[X-39]</i>	$0,961 \pm 0,001$	$4,987 \pm 0,003$ *
<i>Sod 2Δ02</i>	$1,023 \pm 0,004$	$8,564 \pm 0,004$ *

**Примітка.** \* – рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ .

Ще одним продуктом перекисного окиснення ліпідів є МДА – проміжний продукт окиснення ліпідів, який утворюється внаслідок вільнорадикальної атаки і подальшого окиснення гідрпероксидів. Він утворює кольоровий комплекс з ТБК, що реєструється спектрофотометрично при  $\lambda = 532$  нм. Саме за кількістю утвореного МДА судять про швидкість перекисного окиснення в тканинах.

Серед молодих особин 3-денного віку найвищим вмістом ТБК-ППП характеризувалася лінія *Sod2Δ02*, для якої цей показник становив  $4,125 \pm 0,02$  (контроль  $2,251 \pm 0,02$ ), для лінії *Sod[X-39]* –  $3,956 \pm 0,01$ . Виявлено, що у всіх ліній – і контрольної, і мутантних, вміст ТБК-ППП за дії прооксиданту достовірно зростав (*Sod2Δ02* –  $8,564 \pm 0,04$ , *Sod[X-39]* –  $7,251 \pm 0,02$ ). Результати представлені в табл. 3.

Оскільки відомо [2, 12, 18], що винятково чутливою до оксидативного стресу є центральна нервова система, ми виготовили і проаналізували гістологічні зрізи головного мозку особин ліній дикого типу *Oregon* та мутантів за генами *Sod*.

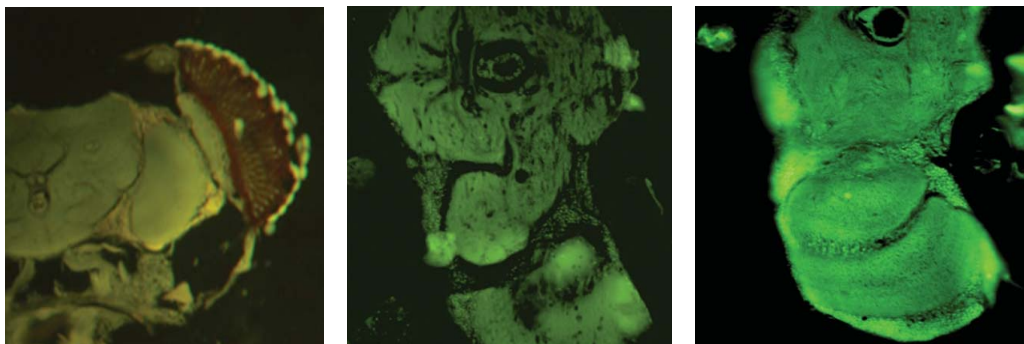
Таблиця 3

Вміст ТБК-ППП в контролі та за дії 5% перексиду водню у ліній *D. melanogaster*

Лінія	3-денні M±m	8-денні за дії 5% перексиду водню M±m
<i>Oregon</i>	$2,251 \pm 0,02$	$4,056 \pm 0,03$ *
<i>Sod[X-39]</i>	$3,956 \pm 0,01$	$7,251 \pm 0,02$ *
<i>Sod 2Δ02</i>	$4,125 \pm 0,02$	$8,564 \pm 0,04$ *

**Примітка.** \* – рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ .

У мутантних особин спостерігались дегенеративні зміни у тканині мозку вже у 3-денному віці імаго (рис. 5, Б, В). У 8-денних мух, які піддавалися впливу прооксиданта, нейродегенеративний фенотип був більше вираженим – збільшувалася кількість відмерлих ділянок тканини мозку та їх розмір (рис. 6, Б, В). У особин дикого типу *Oregon* такі зміни не відбувалися ні у 3-денних контрольних мух, ні за дії прооксиданта (рис. 5, А, рис. 6, А).

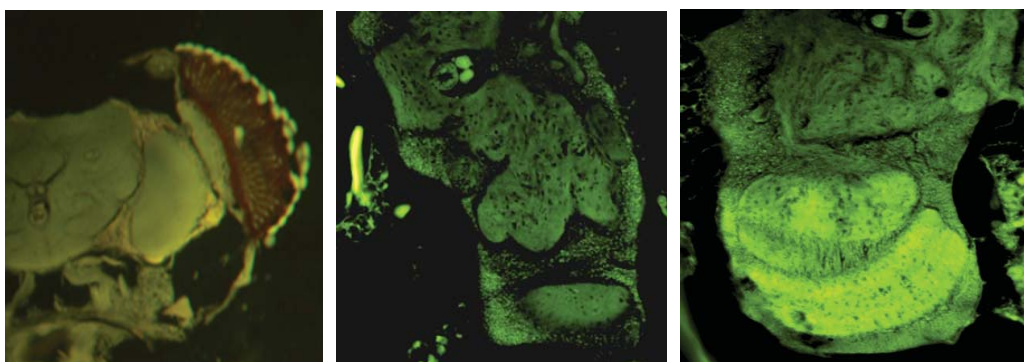


А

Б

В

Рис. 5. Зрізи головного мозку імаго ліній *D. melanogaster* у нормі: А – *Oregon*, Б – *Sod[X-39]*, В – *Sod 2Δ02*.



А

Б

В

Рис. 6. Зрізи головного мозку імаго ліній *D. melanogaster* за дії 5% пероксиду водню: А – *Oregon*, Б – *Sod[X-39]*, В – *Sod 2Δ02*.

Мутації в генах *Sod1* і *Sod2* призводять до зростання чутливості до умов ОС, скорочення тривалості життя у *D. melanogaster* і спричиняють дегенеративні зміни мозку особин дрозофіли вже у молодому віці. За дії усіх використаних прооксидантів спостерігався більш виражений нейродегенеративний фенотип.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. М.: Наука, 2003. 468 с.
2. Болдырев А. А. Окислительный стресс и мозг // Сорос. образов. журнал. 2001. Т. 7. № 4. С. 21–25.
3. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер. биофизика. 1991. Т. 29. С. 3–250.

4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 272 с.
5. Деркач М. П. Курс варіаційної статистики. К.: Вища школа, 1997. 207 с.
6. Дильман В. М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987. С. 66–140.
7. Крутько В. Н. Старение: механизмы и пути преодоления. М.: БлокИнформсервис, 1997. 143 с.
8. Круглякова К. Е., Шишкіна Л. Н. Общие представления о механизме действия антиоксидантов // Сб. научн. статей: Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. М.: Наука, 1992. С. 5–8.
9. Могиляк І. І., Матійців Н. П., Груник Н. І, Черник Я. І. Чутливість нейродегенеративних мутантів *Drosophila melanogaster* групи *Swiss sheese* до умов оксидативного стресу. Біополімери і клітина. 2012. Т. 27. № 6. С. 453–458.
10. Федин А. И. Оксидантный стресс и применение антиоксидантов в неврологии // Атмосфера. Нервные болезни. 2002. № 1. С. 15–18.
11. Чевари С., Андял Т., Штиренгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 9–13.
12. Andersen J. K. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? // J. Nat. Med. 2004. Vol. 10. P. 18–25.
13. Bilokon E. Genetical experiment in *Drosophila* investigations. Lviv: Vyscha Shola, 1979. P. 108.
14. Chang L.-Y.; Slot J. W.; Geuze H. J.; Crapo J. D. Molecular immunocytochemistry of the CuZn superoxide dismutase in rat hepatocytes // J. Cell Biol. 1988. Vol. 107. P. 2169–2179.
15. Castellani R. J., Harris P. L., Sayre L. M. et al. Active glycation in neurofibrillary pathology of Alzheimer disease: N(epsilon)-(carboxymethyl) lysine and hexitol-lysine // Free Radical Biol. Med. 2001. Vol. 31. P. 175–180.
16. Durnyev A., Seredenyn A. Mutagenes. Screening and pharmacological prevention of exposure. M.: Medicine, 1998. P. 220–274.
17. Jazwinski S. M. Longevity, genes, and aging // Sci. 1996. Vol. 273. N 5271. P. 54–59.
18. Kretzschmar D. Neurodegenerative mutants in *Drosophila*: a means to identify genes and mechanisms involved in human diseases? // Invertebrate Neuroscience. 2005. Vol.5. P. 97–109.
19. Sharma S. K., Babitch J. A. Application of Bradford's protein assay to chick brain subcellular fractions // J. Biochem. Biophys. Methods. 1980. Vol. 2. N 4. P. 247–250.
20. Wan X. S., Devalaraja M. N., St. Clair D. K. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene // DNA Cell Biol. 1994. Vol. 13. P. 1127–1136.
21. Lu Miao, Daret K. Regulation of Superoxide Dismutase Genes // J. Free Radie Biol. Med. 2009. N 4. P. 344–356.
22. Medvedyev N. Practical genetics. M.: Nauka, 1966. 244 p.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.13

доопрацьована 26.03.13

прийнята до друку 09.04.13

**SENSITIVITY TO THE OXIDATIVE STRESS CONDITIONS LIFESPAN AND  
NEURODEGENERATIVE CHANGES IN THE BRAIN STRUCTURE  
OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* SUPEROXIDDISMUTASE MUTANTS**

**M. Vitushinska, N. Matiytsiv, Ya. Chernik**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

Have been traced the change in intensity of lipid peroxidation, viability and degenerative changes in the brain structure of adult *D. melanogaster Sod1* and *Sod2* mutants under standard conditions and under conditions of oxidative stress (OS). All the results indicate an increased sensitivity of mutant flies to OS conditions, and phenotype manifestations depend on the genotype and age of individuals.

*Keywords: Drosophila, oxidative stress, superoxidizedismutase, life span, neurodegeneration.*

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К УСЛОВИЯМ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА,  
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ  
ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ МОЗГА МУТАНТОВ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER* ПО ГЕНАМ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ**

**М. Витушинская, Н. Матийцев, Я. Черник**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

В работе прослежено изменение интенсивности прохождения в организме процессов перекисного окисления липидов, жизнеспособности и возникновения дегенеративных изменений в структуре мозга имаго *D. melanogaster* мутантных по генам *Sod1* и *Sod2* при стандартных условиях и в условиях оксидативного стресса (ОС). Все показатели свидетельствуют о повышенной чувствительности к условиям ОС у мутантных мух, а фенотипические проявления зависят от генотипа и возраста особей.

*Ключевые слова: дрозофила, оксидативный стресс, супероксиддисмутаза, продолжительность жизни, нейродегенерация.*

**ВПЛИВ ТКАНИННО-СПЕЦИФІЧНОГО ФУНКЦІОНАЛЬНОГО  
ІНГІБУВАННЯ ГЕНА *SWS* НА ФОРМУВАННЯ СТРУКТУРИ  
СКЛАДНОГО ОКА *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**І. Могиляк\*, Н. Матійців, Я. Черник**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: irynamohyliak@yahoo.com*

З'ясовано вплив функціонального інгібування гена *swiss cheese* на формування і функціонування оптичної частки мозку та ока *D. melanogaster*. Наявність білка SWS має важливе значення для функціонування ламінарної глії, а пригнічення його трансляції в оптичній частині мозку за допомогою *Gal4-UAS* системи призводить до тяжкої дегенерації ділянки ламіни з віком. Функціональне інгібування гена *sws* лише у тканинах ока мало трохи слабший ефект. У разі подальшого звуження ділянки, в якій пригнічується синтез SWS, до кінчних клітин ока і R7 та R8 фосфорорецепторів не вдалося виявити видимих фенотипових змін у дорослих особин. Змінений фенотип ока виникав, імовірно, внаслідок порушення функціонування глії, оскільки не було зафіксовано змін у структурі очних імагінальних дисків лялечки чи «кристалічній» структурі ока дорослих особин досліджуваних ліній.

*Ключові слова:* дрозофіла, нейродегенерація, *sws*, NTE, *Gal4-UAS* трансгенна експресія.

Гени, продукти яких є необхідними для підтримання цілісності ЦНС дрозофіли, були відкриті за допомогою трьох методичних підходів: скринінгу мутацій із втраченою функцією, підбору генів-кандидатів і дослідження випадкових мутацій, отриманих незалежно, які впливали на втрату цілісності мозкових структур [13]. Метод широкого пошуку, або скринінг, класично базується на відборі мутантів із поведінковими дефектами, котрі в подальшому підлягають гістологічній перевірці на наявність нейродегенерації. Альтернативним до нього є метод підбору генів-кандидатів, у якому ідентифікують і характеризують гени дрозофіли, ортологи мишачих або людських генів, причетних до виникнення нейродегенерації.

Нейродегенеративний мутант *swiss cheese (sws)* був отриманий під час скринінгових досліджень із використанням тесту на швидкий фототаксис [4]. Мухи *sws* характеризуються значно коротшою тривалістю життя порівняно з особинами дикого типу. У 5-денних молодих мух розпочинається вакуолізація нейропілю, що швидко прогресує з віком. Апоптичні зміни з'являються у мутантів у віці 3–4 днів, а до 20-го дня життя імаго майже весь кортекс підлягає апоптозу, що підтверджується електронно-мікроскопічними дослідженнями тканин мозку старих особин [12].

Дегенерація поширюється не лише на нейрони, але і на гліальні клітини; так, було показано, що навколо 10% нейронів мозкового кортексу утворюється багатошарове гіперогортання клітинами оточуючої глії [12]. У нормі видовжені гліальні клітини огортають нейрони одним, зрідка двома шарами. У випадку *sws* мутантів частота багатошарових структур у кортексі, а також у нейропілі значно зростає. Такі структури вперше з'являються на стадії пізньої лялечки задовго до формування вакуолей і збільшуються в розмірі з віком імаго. Це свідчить про те, що гіперогортання є наслідком порушень диференціації гліаль-

них клітин, а не відповіддю глії на дегенерацію нейронів. Цей дефект може мати негативний вплив на виживання нейронів і призводити до їхньої масової дегенерації у старих мутантних особин.

Ген *sws* є не лише гомологом, але й функціональним ортологом гена нейропатії індукуючої естерази (NTE) ссавців, і функціонування його білкового продукту має клітинно-автономний ефект [12, 17]. NTE ссавців є нейрональним, трансмембранним білком, який володіє серинестеразною активністю проти неорганічних субстратів [9, 11]. Мутації в гені *PNPLA6*, який кодує NTE у людей, призводять до розвитку спастичної параплегії – спадкового захворювання, яке характеризується дегенерацією мотонейронів. Більш того, NTE ссавців є молекулярною мішенню органофосфатів, які викликають повільну нейропатію у хребетних, котра морфологічно характеризується дегенерацією довгих аксонів центральної та периферичної нервової системи і клінічно проявляється у паралічі нижніх кінцівок [15]. NTE ссавців здатна деградувати EP-асоційований фосфатидилхолін до гліцерофосфохоліну в клітинах дріжджів і культурах клітин ссавців. Мутанти *sws* характеризуються підвищеним рівнем фосфатидилхоліну, та SWS, як і NTE ссавців, бере участь у регуляції гомеостазу ліпідів у мозку [17, 22]. Саме відсутність відповідної кількості білка в мембранах гліальних клітин може спричинити значні uszkodження тканин унаслідок порушення гомеостазу ліпідів.

Згідно з останніми дослідженнями проекту modENCODE [16], ген *sws* активно експресується практично в усьому тілі дрозофіли. Під час онтогенезу рівень експресії гена є найвищим на стадіях раннього ембріона та пізньої лялечки, а також у дорослих особин. Субклітинно SWS дрозофіли локалізується в мембранах ендоплазматичного ретикулу, що збігається з локалізацією NTE в COS клітинах і в культурі мишачих нейронів гіпокампусу [14, 1]. Під час ультраструктурного дослідження нейронів *sws1* мутантів було виявлено чіткі порушення мембранних структур ендоплазматичного ретикулу, що прогресують з віком. Водночас мітохондрії та інші органели клітини залишаються інтактними як у молодих, так і у старих особин. Це є свідченням того, що білок SWS має вирішальне значення для функціонування саме ендоплазматичного ретикулу [17].

Дослідники [12, 17], опираючись на дані *in situ* гібридизації кріозрізів мозку дрозофіли, вважали, що ген *sws* не експресується в оці дрозофіли, а відтак, не є важливим для його формування та функціонування. Проте в ході проекту modENCODE [16] була виявлена експресія гена *sws* в оці.

Метою роботи було дослідити вплив тканинно-специфічного функціонального інгібування гена *sws* на формування оптичної частки мозку та складного фасеткового ока *Drosophila melanogaster*.

#### Матеріали та методи

Матеріалом досліджень слугували лабораторні лінії *D. melanogaster* – Oregon-R (контрольна лінія дикого типу), *sws1* – мутант за геном *sws* (з колекції проф. Д. Кретчмар, США) і драйверні лінії Gal4 з різними тканинно-специфічними промоторами в ділянці енансерної послідовності дріжджового транскрипційного фактора *Gal4* (рис. 1). *1369-Gal4* експресує транскрипційний фактор у оптичній системі личинки і лялечки, та в оці, глії, ламіні й частині медули дорослих особин; *GMR-Gal4* – в клітинах ретини на стадії 3L личинки; *sev-Gal4* – в конічних клітинах і фосфорорецепторах R7 і R8 ока (з колекції проф. К.-Ф. Фішбаха, Німеччина); *5469-UAS-sws-RNAi* (з колекції Блумінгтонського центру, США) і *2212R-1-UAS-sws-RNAi* (з колекції Кіотського центру, Японія) містять після UAS ділянки сенс- і антисенс-кодуючу послідовність гена *sws*, а *UAS-sws* (з колекції проф. Д. Кретчмар, США) після ділянки UAS містить кодуючу послідовність гена *sws*. Усі лінії утримувались

на стандартному середовищі при 25°C [2]. Синхронізацію культури та відбір віргінних самок проводили згідно із загальноприйнятими методиками [3, 18].

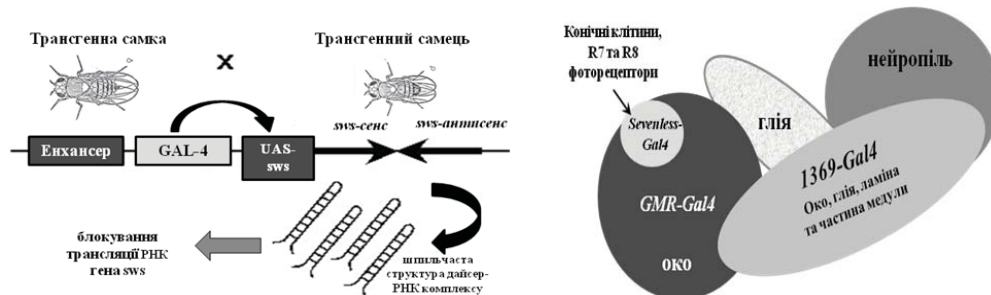


Рис. 1. А – схема функціонування GAL4-UAS бінарної системи контрольованої трансгенної експресії; Б – схематичне зображення патернів експресії використаних GAL-4 драйверних ліній.

Гістологічні зрізи головного мозку проводили за допомогою двох методик. Парафінові 7 мкм зрізи виготовляли за стандартною методикою [10], 1 мкм пластикові зрізи виготовляли за методикою Генделя і Млодзика [8]. Фенотип структури мозку визначали у самців 20-денного віку. Парафінові зрізи аналізували на конфокальному скануючому мікроскопі Nikon LSM A1 Clem Comfocal Microscope, напівтонкі зрізи фарбували толуїдиновим синім і аналізували на мікроскопі Laboval-3 Carl Zeiss Jena.

Western-Blot аналіз. Гомогенати виготовляли зі самців 3-денного та 20-денного віку і розділяли в 10 та 15% поліакриламідному гелі й переносили на PVDF мембрану (Millipore Corporation, Milford, MA, USA). Для блокування неспецифічного зв'язування блот інкубували в 3% розчині молока в PBS протягом 1 год. Для виявлення SWS використовували rabbit anti-SWS (1:500) (отримані від д-р Д. Кретчмар) та вторинні антитіла anti-rabbit HRP (1:1000) (Cell Signaling). Для виявлення  $\alpha$ -тубуліну використовували mouse anti- $\alpha$ tub (1:1000) і вторинні mouse anti-HRP (1:10000) антитіла (Cell Signaling). Інкубацію з первинними антитілами проводили протягом ночі при 4°C, з вторинними – протягом двох годин при кімнатній температурі. Детекцію хемілюмінесценції здійснювали за допомогою ECL системи (GE Healthcare).

Фарбування очних імагінальних дисків мозку лялечки проводили на стадії p25 (25 год стадії розвитку лялечки) та p45 (45 год). Десекцію імагінальних дисків здійснювали методом тотального препарату. Як первинні антитіла використовували mouse anti-Armadillo (1:200), вторинні – anti-mouse Alexa568 (1:200). Препарати аналізували на конфокальному скануючому мікроскопі Nikon LSM A1 Clem Comfocal Microscope, за допомогою програми NIS Elements.

Ультраструктурний аналіз зовнішнього вигляду фасеткових очей проводили за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) згідно зі стандартною методикою [20].

### Результати і їхнє обговорення

Для визначення необхідності білка SWS для формування та функціонування ока дрозофіли нами була застосована бінарна система тканинно-специфічної експресії *Gal4-UAS*. *GAL4* – транскрипційний фактор дріжджів, що з високою ефективністю зв'язується з енхансерною послідовністю *UAS* (upstream activation sequence), запускаючи конститутивну експресію гена, розміщеного за напрямком транскрипції (downstream). Для ефективної експресії в певних тканинах необхідно внести в один генотип трансгенний конструкт із послідовністю кДНК гена під контролем *UAS* послідовності, та послідовність *GAL4*, що перебуває під контролем тканинно-специфічного промотора [5] (рис. 1, А). Також дана



методика дає змогу створювати ефективне функціональне інгібування трансляції, за умови внесення в активний конструкт антисенс-сенсаючої послідовності гена. Після запуску транскрипції такої комбінації з *UAS* промотора внаслідок гібридизації комплементарних послідовностей формується дуже стійкий дайсер-комплекс іРНК, що утворює шпильчасті структури. *Gal-4* запускає високу конститутивну експресію трансгенів, тому цей комплекс молекул РНК утворюється у великій кількості і блокує процеси трансляції даного білка.

Складне око дрозофіли складається приблизно з 800 омаїдів, кожен із яких містить вісім фоторецепторних нейронів, пігментні та конічні клітини. Кожен аксон фоторецепторів термінується у трьох різних шарах оптичної частки, залежно від їх спектральної чутливості. Фоторецептори R1-R6 термінують свої аксони в ламіні, проходячи сортування в дистальній частині ламіни для того, щоб зійтися в одному картриджі разом із іншими R1-R6 аксонами, котрі сигналюють з тієї ж точки візуального простору, згідно з принципом нейрональної суперпозиції [6]. Термінуючи свій ріст, фоторецептори R1-R6 звільняють нейротрансмітер гістамін і тим самим утворюють сигнал для монополярних нейронів ламіни L1-L3 й амакринових клітин. Для оптимізації просторової роздільної здатності картриджі є електрично та хімічно ізольованими через високо розвинену систему гліального бар'єру, що оточує кожен картридж. Клітини, що формують омаїди, розвиваються з клітин очних імагінальних дисків личинки в ході періоду метаморфозу [21]. Ця високоорганізована система є чутливою до порушень, а отже, є зручною тест-системою для з'ясування необхідності продуктів різних генів.

Нами були використані різні драйверні *Gal-4* лінії, патерн експресії яких в оптичній частині частково перекривався і звужувався до окремих популяцій гліальних та нейрональних клітин ока (рис. 1, Б). Так, лінія *1369-Gal4* мала найширше поле експресії, що включало тканини ока, кортексної глії, ламіни та частково медули, *GMR-Gal4* експресувалась у всіх клітинах ока, а *sev-Gal4* – у конічних клітинах та R7 і R8 фоторецепторах. У ході даного дослідження також використовувались дві лінії з антисенс послідовностями гена *sws*: *5469-UAS-sws-RNAi* та *2212R1-UAS-sws-RNAi* (проілюстровано лише для лінії *5469-UAS-sws-RNAi*). Використання різних ліній в експериментах з експресією трансгенних конструктів дає змогу мінімізувати, або і зовсім виключити вплив ефекту положення інсерції трансгенної послідовності.

Для отримання активного конструкту проводили схрещування *Gal-4* та *UAS-sws-RNAi* ліній з подальшим аналізом самців першого покоління. Функціональність *Gal4-UAS* системи було підтверджено за допомогою Western-Blot аналізу білка SWS. Так, білок із молекулярною масою у 160кДа можна чітко побачити у лінії дикого типу, як і у гомозиготних батьківських ліній (рис. 2, А – 1, 2, 3, 5), надекспресія гена *sws* в активному конструкті *1369-Gal4/UAS-sws* відображається значно більшим рівнем сигналу (рис. 2, А – 4), а функціональний нокаут підтверджується фоновим рівнем сигналу, що відображає білок SWS (рис. 2, А – 6).

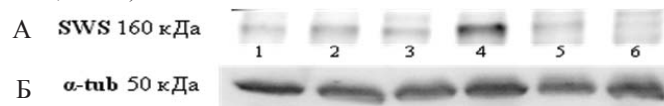


Рис. 2. А – Western-Blot аналіз білка SWS, 6% ПААГ, Б – Western-Blot гібридизація  $\alpha$ -тубуліну; 1 – *Oregon-R*, 2 – *XY; +/+; 1369-Gal4/1369-Gal4*, 3 – *XY; +/+; UAS-sws/UAS-sws*, 4 – *XY; +/+; 1369-Gal4/UAS-sws*, 5 – *XY; +/+; UAS-sws-RNAi/UAS-sws-RNAi*, 6 – *XY; +/+; 1369-Gal4/UAS-sws-RNAi*.

Для аналізу стану тканини мозку досліджуваних особин використовували дві методики, які проводили паралельно. Парафінові та пластикові напівтонкі зрізи

виготовляли з тканини мозку 20-денних особин кожного генотипу. В контрольній лінії *Oregon-R* нейропілль і глія мають регулярну інтактну структуру, як і в гетерозиготних особин батьківських ліній, схрещених з диким типом. Негативним контролем для порівняння стану нейропілля слугувала мутантна лінія *sws1* (рис. 3).

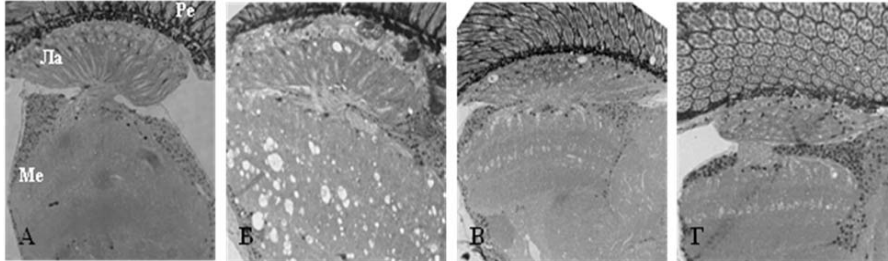


Рис. 3. Напівтонкі пластикові зрізи тканини мозку 20-денних самців *Drosophila melanogaster*: А – самці лінії *Oregon-R*; Б – дегенеративний фенотип аморфних гомозиготних мутантів *sws1*; В – гомозиготні особини *UAS-sws-RNAi*; Г – гетерозиготні особини *UAS-sws-RNAi/Oregon*; Ре – ретина, Ла – ламіна, Ме – медула.

У разі дослідження стану тканин оптичної частки у самців *1369-Gal4/UAS-sws-RNAi* ми побачили несподіваний результат. Ламіна в даних особин була зруйнована, структура ока дуже порушена і нерегулярна. Верхівкова мембрана, яка складається з гліальних клітин і відділяє око від мозку, була витіснена в бік ока, а рабдомери проростали вглиб, захоплюючи територію ламіни. Разом з тим, тканина нейропілля медули і центрального мозку залишалась інтактною, незважаючи на те, що *1369-Gal4* активно експресується в цих районах, тоді як у контрольних гомо- і гетерозиготних особин не спостерігалось відхилень від норми (рис. 4, А–В). Подібний фенотип, названий «фенотипом глибоких рабдомерів», виявлено при порушеннях експресії білка клітинної адгезії *Rst-ct* [7]. При звуженні ділянки експресії лише до ока, використовуючи лінію *GMR-Gal4*, ми спостерігали подібний результат, проте він був дещо слабшим (рис. 4, Г–Є).

Отже, постало питання, для якої саме тканини експресія *SWS* є настільки принциповою, що відсутність даного білка викликає такі тяжкі наслідки? Нами була використана третя лінія із ще вузкою ділянкою експресії – *sev-Gal4*, що є активною лише в конічних клітинах ока та в фоторецепторах R7 та R8. Як видно з рис. 4, Є–З, інгібування гена *sws* лише в цих клітинах не зумовлює сильного фенотипового прояву.

Для підтвердження отриманого фенотипу нами було проведено більш тонке дослідження структури тканин оптичної частки за допомогою методики напівтонких зрізів. На рис. 5 зображено вигляд ламіни і ретини самців *1369-Gal4/UAS-sws-RNAi* та *GMR-Gal4/UAS-sws-RNAi*. На цих препаратах можна чітко простежити вrostання рабдомерів за лінію ізолюючої мембрани (рис. 5, В–Д), а також у випадку лінії *1369-Gal4* – сильну дегенерацію ламіни та ретини.

Цікавим залишається той факт, що нейропілля медули, де експресується *1369-Gal4*, залишався неушкодженим, поряд зі значною дегенерацією в ділянці ламіни. Відсутність нейронального фенотипу під час нокауту гена *sws* також підтверджується іншими нашими дослідженнями із застосуванням панневрального *elav-Gal4* та *ap-Gal4*, що експресується в L4 нейронах ламіни, в медулі та в комплексі лобули. Більше того, дегенерації в зоні ламіни збігаються з розміщенням субпопуляцій ламінарної глії (верхівкової, глії псевдокартриджу, дистальної та проксимальної сателітної, епітеліальної й маргінальної) (рис. 5, А). Отже можна припустити, що наявність білка *SWS* є визначальною передовсім для глії, а не для нейронів чи клітин ока.

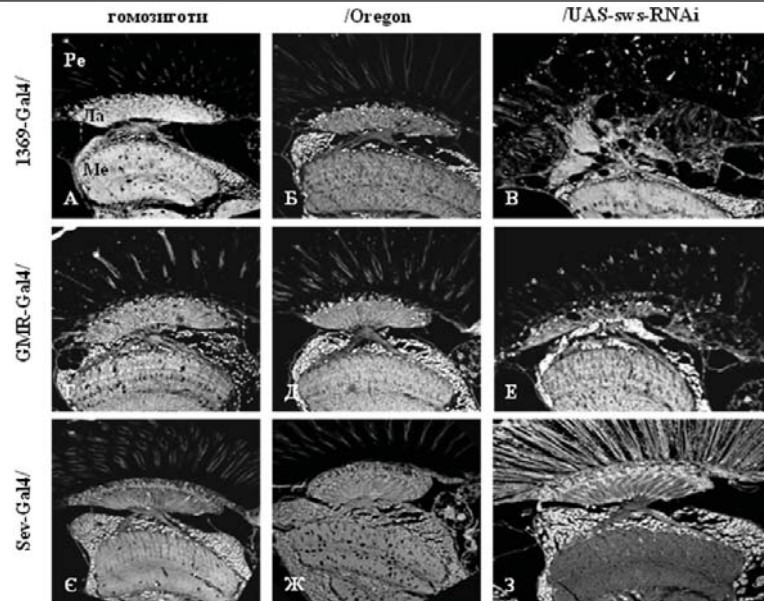


Рис. 4. Гістологічні парафінові зрізи тканини мозку старих самців *Drosophila melanogaster*. А, Г, Є – гомозиготні самці драйверних ліній; Б, Д, Ж – гетерозиготні контрольні самці від схрещування *Gal4* драйверних ліній із диким типом; В, Е, З – експериментальні самці з функціональним нокаутом гена *sws* від схрещування драйверних ліній з *UAS-sws-RNAi* лінією. Ре – ретина, Ла – ламіна.

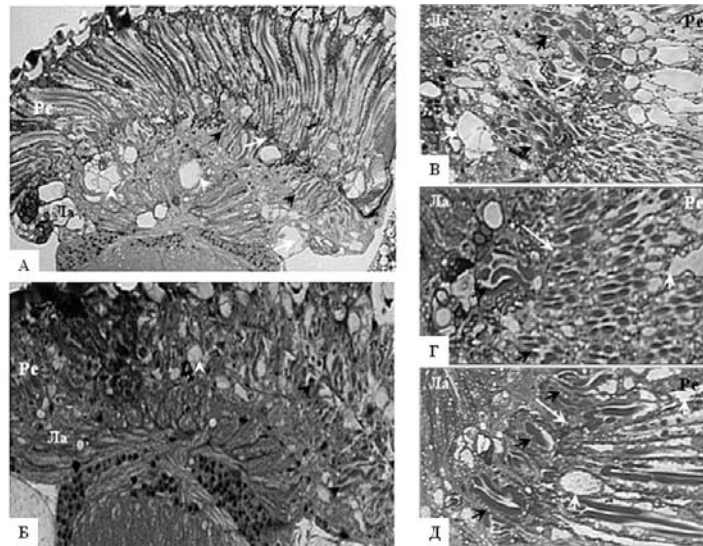


Рис. 5. Гістологічні 1 мкм пластикові зрізи тканин мозку старих самців *D. melanogaster* з функціональним нокаутом гена *sws*, що демонструють фенотип «глибоких рабдомерів». А – *1369-Gal4/UAS-sws-RNAi*, Б – *GMR-Gal4/UAS-sws-RNAi*. В, Г, Д – збільшений вигляд аномально врослих рабдомерів у самців *1369-Gal4/UAS-sws-RNAi*. Ре – ретина, Ла – ламіна. Білими стрілками позначена межа верхівкової мембрани (fenestrated membrane), білими короткими стрілками позначені вакуолі, що утворилися внаслідок дегенерації, чорними короткими стрілками показані рабдомери, що проросли за межі верхівкової мембрани в зону мозку.

При аналізі фенотипу, отриманого від гетерологічної експресії генів за допомогою *UAS-Gal4* системи, слід також зважати на час експресивної активності різних *Gal4* конструктів. *1369-Gal4*, крім тканин дорослих особин, також експресується в оптичній системі личинки і лялечки. *GMR-Gal4* експресується в ретині на стадії 3L личинки, а *sev-Gal4* – на стадіях личинки і лялечки. Використані нами конструкти мають високий рівень експресії впродовж метаморфозу, коли формується складна структура ока. Дослідження очних імагінальних дисків на стадіях активного формування і порівняння їх зі структурою ока дорослих особин може дати відповідь, чи білок SWS є необхідним саме для формування ока дрозофіли, чи дегенеративний фенотип, досліджений нами, є наслідком порушень у нейронах і глії. Очні імагінальні диски досліджували на стадіях p25 та p45 лялечки, детекцію проводили антитілами до структурного білка Armadillo (рис. 6, В, Є, І).

Вивчення структури омаїдіїв під час їх формування у контрольних ліній, а також у ліній із функціональним нокаутом гена *sws*, не показало дефектів розвитку – омаїдії формувалися правильно, згідно з нормою досліджуваних стадій, не втрачаючи регулярної структури «біокристал». Більше того, при вивченні структури омаїдіїв дорослих особин також не було виявлено значних змін, зберігалися регулярна структура ока і порядок розташування очних щетинок (рис. 6), фоторецептори в окремих омаїдіях мали нормальний порядок розташування (рис. 6, Г, Ж, К).

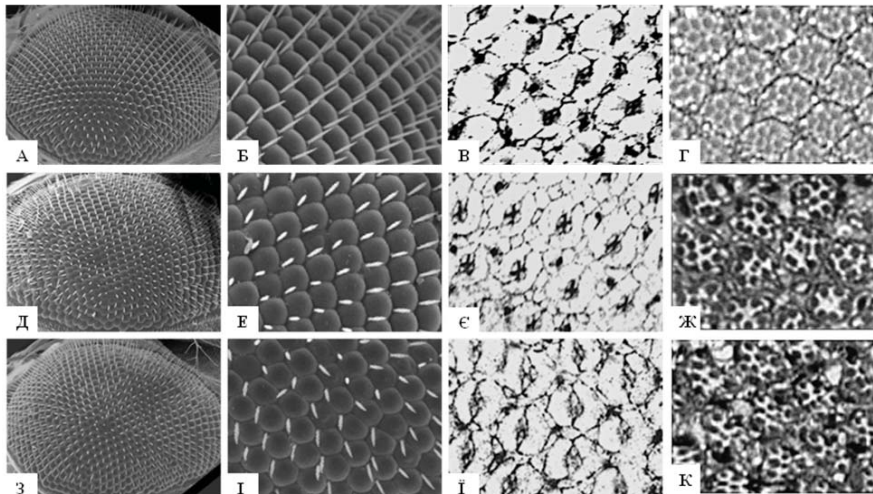


Рис. 6. Формування структури складного ока дрозофіли в нормі та за інгібування експресії гена *sws*. А, Д, З – вигляд фасеткового ока дорослої особини дрозофіли з рядами щетинок; Б, Е, І – збільшений вигляд фасеток (трансмійна електронна мікроскопія); В, Є, Ї – фарбування очних імагінальних дисків лялечки дрозофіли на стадії p25 антитілами mouse anti-Armadillo (1:200), Г, Ж, К – напівтонкі пластикові зрізи ока, фарбовані толуїдиновим синім. А – Г – дикий тип *Oregon-R*; Д – Ж – *1369-Gal4/UAS-sws-RNAi*, З – К – *GMR-Gal4/UAS-sws-RNAi*.

Таким чином, на зрізах оптичних часток, а також очей дорослих досліджуваних особин виявлено ділянки дегенерації в ретині одночасно зі збільшенням помилок у розташуванні щетинок омаїдіїв ока, порівняно з контролем. Імовірно, ці зміни виникають унаслідок ушкодження ламінарної глії, порушення формування бар'єрного шару мозку і коректної термінації росту фоторецепторів, а також дегенеративних процесів у ламіні.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Akassoglou K., Malester B., Xu J. et al. Brain-specific deletion of neuropathy target esterase/swisscheese results in neurodegeneration // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101. P. 5075–5080.
2. Auluck P. K., Chan N. Y., Trojanovski J. Q. et al. Chaperone suppression of alpha-synuclein toxicity in a *Drosophila* model for Parkinson's disease // Scie. 2002. Vol. 295. P. 865–868.
3. Ausubel F. M. Current Protocols in Molecular Biology. New York: Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience, 1990. Vol. 2. 534 p.
4. Benzer S. Behavioral mutants *Drosophila melanogaster* isolated by counteroccurrent distribution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1967. Vol. 8. P. 1112–1119.
5. Brand A., Perrimon N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes // Development. 1993. Vol. 118(2). P. 401–415.
6. Breitenberg V. Patterns of projection in the visual system of the fly // Exp. Brain. Res. 1967. Vol. 3(3). P. 271–298.
7. Fischbach K. A molecular link between programmed cell death and axonal projection defects // from Research Report 1992 of the Fischbach lab. 1992. <http://filab.biologie.uni-freiburg.de/Atlas/Fischbach/reportFiRees.html>. 11
8. Gaengel K., Mlodzik M. Microscopic Analysis of the adult *Drosophila* retina using semithin plastic sections // *Drosophila: Met. and Protoc. Series: Met. In Mol. Biology*. 2007. Vol. 420. P. 277–287.
9. Glynn P., Holton J., Nolan C. et al. Neuropathy target esterase: immunolocalization to neuronal cell bodies and axons // Neurosci. 1998. Vol. 83. P. 295–302.
10. Jager R., Fischbach K. Mass histology of adult heads. In: *Drosophila: a laboratory manual* // Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor. 1989. P. 254–259.
11. Johnson M. The target site for initiation of delayed neurotoxicity by organophosphorus esters: biochemical studies and toxicological applications // Rev. Biochem. Toxicol. 1982. Vol. 4. P. 141–212.
12. Kretzschmar D., Hasan G., Sharma S. et al. The swiss cheese mutant causes glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila* // J. Neurosci. 1997. Vol. 17. P. 7425–7432.
13. Lessing D., Bonini N. Maintaining the brain: Insight into human neurodegeneration from *Drosophila* mutants // Nature Rev. Genet. 2009. Vol. 10. P. 359–370.
14. Li Y., Dinsdale D., Glynn P. Protein domains, catalytic activity and subcellular distribution of neuropathy target esterase in mammalian cells // J. Biol. Chem. 2003. Vol. 278. P. 8820–8825.
15. Lotti M. The pathogenesis of organophosphate polyneuropathy // Crit. Rev. Toxicol. 1992. Vol. 21. P. 465–487.
16. Muehlig-Versen M., da Cruz A., Tscha.pe J. et al. Loss of Swiss cheese/neuropathy target esterase activity causes disruption of phosphatidylcholine homeostasis and neuronal and glial death in adult *Drosophila* // J. Neurosci. 2005. Vol. 25. P. 2865–2873.
17. Nunomura A., Moreira P. I., Lee H. G. Neuronal death and survival under oxidative stress in Alzheimer and Parkinson diseases // CNS Neuronal Disorder Drug Targets. 2007. Vol. 6. P. 411–423.
18. modEncode project of The National Human Genome Research Institute and Model Organism ENCYClopedia Of DNA Elements – <http://flybase.org/reports/FBgn0003656.html>
19. Tscha.pe J., Hammerschmied C., Muhlig-Versen M. et al. The neurodegeneration mutant lochrig interferes with cholesterol homeostasis and Appl processing // EMBO J. 2002. Vol. 21. P. 6367–6376.
20. Wolff T. Preparation of *Drosophila* eye specimens for scanning electron microscopy // Cold Spring Harb. Protoc. 2011. Vol. 11. P. 1383–1385.

21. Wolff T., Ready D. The beginning of pattern formation in the *Drosophila* compound eye: the morphogenetic furrow and the second mitotic wave // *Development*. 1991. Vol. 113(3). P. 841–850.
22. Zaccheo O., Dinsdale D., Meacock P., Glynn P. Neuropathy target esterase and its yeast homologue degrade phosphatidylcholine to glycerophosphocholine in living cells // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 24024–24033.

## THE INFLUENCE OF TISSUE SPECIFIC INHIBITION OF *SWS* GENE EXPRESSION ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMPOUND EYE FORMATION

I. Mohylyak\*, N. Matiytsiv, Ya. Chernyk

*Ivan Franko National University of Lviv*

*4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: irynamohyliak@yahoo.com*

We have determined the influence of tissue specific inhibition of *swiss cheese* gene on formation and functioning of *drosophila melanogaster* compound eye. The presence of functional SWS protein is essential for glia of lamina, and inhibition of SWS translation in optic lobe leads to the strong degeneration phenotype appearance. Comparing to optic lobe, knock out of *sws* only in eye is less deleterious. Further narrowing areas of *sws* inhibition to cone cells of the eye and R7 and R8 photoreceptors, has no visible effect on adult eye and neuropile structure, suggesting that the SWS role in eye is not highly important. This suggestion is also proved by the regular structure of p25 and p45 eye imaginal discs, and intact “biocrystalline” structure of adult flies eyes, with functional inhibition of *sws* gene.

*Keywords: Drosophila, neurodegeneration, sws, NTE, Gal4-UAS transgenic expression.*

## ВЛИЯНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ГЕНА *SWS* НА ФОРМИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ СЛОЖНОГО ГЛАЗА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

И. Могиляк\*, Н. Матийців, Я. Черник

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко*

*ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

*e-mail: irynamohyliak@yahoo.com*

Выяснено влияние функционального ингибирования гена *swiss cheese* на формирование и функционирование оптической доли мозга и глаз *D. melanogaster*. Наличие белка SWS имеет важное значение для функционирования ламинарной глии и подавление его трансляции в оптической доли мозга, с помощью Gal4-UAS системы, приводит к тяжелой дегенерации участка ламины с возрастом. Функциональное ингибирование гена *sws* только в тканях глаз имело слабый эффект. При дальнейшем сужении участка подавления трансляции SWS к коническим клеткам глаз и R7 и R8 фосфорорецепторов не удалось обнаружить видимых фенотипических изменений у взрослых особей. Скорее всего, фенотип в глазах был следствием нарушения функционирования глии, поскольку не было зафиксировано изменений в структуре глазных имажинальных дисков куколки или в «кристаллической» структуре глаза взрослых особей исследуемых линий.

*Ключевые слова:* дрозофила, нейродегенерация, *sws*, NTE, *Gal4-UAS* трансгенная экспрессия.

## ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ У ТКАНИНАХ МИШЕЙ

О. Штапенко

*Інститут біології тварин НААН  
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: o\_shtapenko@mail.ru*

Досліджено вплив теплового шоку на експресію генів у печінці та сім'яниках мишей. За допомогою методу ПЛР зі зворотною транскрипцією у тканинах печінки та сім'яниках мишей за дії теплового шоку проаналізовано зміну активності деяких генів упродовж різних часових періодів. За умов гіпертермії спостерігається експресія генів *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *Hdac4* тільки у сперматоцитах. Тоді як у печінці за дії теплового шоку виявлено експресію генів *Cideb* та *Dnaja*. Разом з тим, наші дослідження показали, що тепловий шок в обох тканинах індукуює експресію генів теплового шоку.

*Ключові слова:* регуляція генів, сім'яники, тепловий шок, сперматогенез, експресія.

У сучасній біології важливе місце займає вивчення проблем патогенезу захворювань чоловічої репродуктивної системи [1, 13]. Безпліддя може бути результатом дії несприятливих екзо- й ендогенних факторів навколишнього середовища. Деякі чинники навколишнього середовища, зокрема, гіпертермія, гіпоксія, випромінювання, іони важких металів, здатні індукувати стан клітинного стресу. Сигнали про зміни параметрів навколишнього середовища сприймаються різними сенсорами клітин і передаються по системах передачі до ДНК, викликаючи зміни експресії генів, відповідальних за адаптацію до нових умов.

Підвищення в останні десятиліття кількості випадків, пов'язаних зі зниженням показників сперматогенезу, є наслідком генетичних порушень у гонадах самців. Розуміння цих механізмів функціонування клітини дасть змогу використовувати більш точні й ефективні підходи в діагностиці захворювань репродуктивної сфери й розробити нові методи їх корекції та лікування.

Наші дослідження спрямовані на виявлення змін у генетичному апараті соматичних і статевих клітин самців мишей за умов теплового шоку методом ДНК-аналізу з метою діагностування генетичних порушень та корекції на первинному молекулярному рівні.

### Матеріали та методи

Дослідження були проведені на самцях мишей лінії FVB/N віком 3–3,5 місяця масою 28 г. Для проведення термічного шоку *in vivo* після анестезії мишей 2,5% розчином Avertin (Sigma) із розрахунку 15–17 мкл/г маси, тварин поміщали у водяну баню Poluyest20 (BIOBLOCK) з температурою води 42°C на 30 хв до рівня грудей, згідно з описаною методикою [12]. Температуру води та положення тварин контролювали впродовж експерименту. Після 2, 4, 6 та 24 год по шоку проводили евтаназію мишей шляхом дислокації шийних хребців для відбору біологічного матеріалу. Для контрольної групи відбирали сім'яники від тварин після анестезії.

Загальну РНК виділяли зі сім'яників та печінки самців мишей за допомогою TRIZOL REAGENT (Sigma) згідно з інструкцією фірми-виробника. Для очищення зразків РНК від контамінацій ДНК використовували набір реагентів RNeasy Mini kit (Qiagen) згідно із про-

понованим протоколом. Якість РНК перевіряли електрофорезом у 1%-му агарозному гелі в присутності броміду етидію. Концентрацію ДНК (в нг/мкл) визначали на спектрофотометрі ND1000 (NanoDrop Technologies) при довжині хвилі 260 нм.

Реакції зворотної транскрипції проводили за допомогою зворотної транскриптази M-MLV (Promega) та random decamer праймерів (Invitrogene) згідно із запропонованими рекомендаціями виробника. Для ампліфікації кДНК використовували праймери, розміщені в різних екзонах гена. Усі праймери підібрані за допомогою програми Primer3 Designer (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/input.htm>). Праймери були синтезовані фірмою Oligo.pl oraz Genomed (Польща).

### Результати і їхнє обговорення

Сперматогенез є одним із найбільш динамічних процесів, пов'язаних з клітинною регенерацією та диференціацією. Відомо, що яєчники та сім'яники, завдяки високій проліферації гермінативних клітин, належать до радіо- та температурозалежних органів, однак відповідь статевих клітин на дію гіпертермії залежить від стадії сперматогенезу [3]. Так, сперматоцити, зокрема, більш резистентні, тоді як сперматозоїди як носії генетичної інформації є чутливішими, і в них частіше виникають мутації [13]. Причини різної генетичної чутливості статевих клітин на різних стадіях гаметогенезу до кінця не з'ясовані, а результати сучасних досліджень вказують на дії комплексу факторів – особливості метаболізму різних типів тканин, ступінь конденсації хромосом, рівень насичення клітин киснем, відносна тривалість стадій клітинного циклу, інтенсивність роботи систем репарації.

Після аналізу результатів проведених досліджень впливу гіпертермії на експресію генів у тканинах сім'яників і печінки самців мишей усі вивчені гени, згідно з транскрипційною активністю були поділені на три групи.

До першої групи входили гени, активність яких була виявлена у сперматоцитах, тоді як у гепатоцитах їхня експресія була незначною або відсутньою. Так, до цієї групи було віднесено найбільшу кількість генів: *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *c-fos*, *Hdac4* (рис. 1). Проте, активність генів цієї групи дещо відрізнялася між собою. Так, висока активність гена відзначена після 4-х та 6-ти год, тоді як експресія генів *mDazl* та *Mdm1* спостерігається вже через 2 год після гіпертермії. Часова залежність зміни активності відзначена також для генів *c-fos* та *Hdac4*.

Отримані нами результати показали тканинспецифічний вплив гіпертермії на активність генів *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *c-foc*, *Hdac4*. Електрофоретичний аналіз продуктів ПЛР сім'яників показав наявність інтенсивних смужок генів *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, що свідчить про посилення експресії цих генів за дії теплового шоку в репродуктивних органах самців. Тоді як у продуктах ПЛР з печінки мишей, яких піддавали впливу гіпертермії, експресія цих генів не відзначено.

Причиною повного або часткового зниження сперматогенезу є деякі генетичні порушення, зокрема, анеуплоїдія та структурні аномалії хромосом. Основним геном, який відповідає за продукцію сперми, є *DAZZ*, розміщений на хромосомі Y (3p24) [14]. Мутації гена *DAZ* у 10–15% призводять до чоловічого безпліддя. Гени даної родини кодують РНК-зв'язуючі білки, які експресуються у пренатальних та постнатальних статевих клітинах самців і самок [8]. Білок, що кодується цим геном, під час мейозу самців переміщується до цитоплазми, де і локалізується у сперматидях і сперматозоїдах. Дослідженнями С. Ferrás [9] встановлено, що білок *DAZ* міститься тільки в зародкових клітинах на пізніх стадіях розвитку – сперматидях і сперматозоїдах.



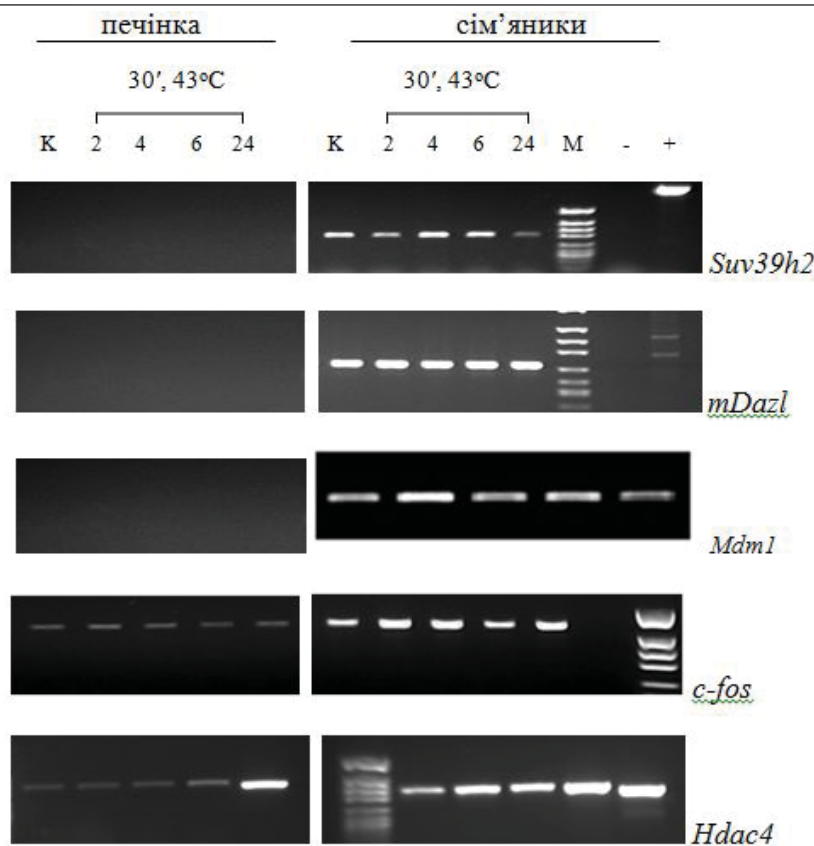


Рис. 1. Експресія генів *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *c-fos*, *Hdac4* у тканинах печінки та сім'яників мишей за дії гіпертермії. Тканини отримували після 2, 4, 6 та 24 год після теплового шоку.

У наших дослідженнях виявлено активність гена *Mdm1* в сперматогенетичних клітинах та її відсутність у гепатоцитах. Очевидно, контроль за експресією гена *Mdm1* в умовах стресу тканиноспецифічний і здійснюється на різних рівнях, можливо, включаючи також функціональну інактивацію білка p53, оскільки відомо, що *Mdm2* контролює рівень експресії *p53* [4]. У відповідь на стрес здійснюється активація *p53* до компетентного стану для сайт-специфічного зв'язування респонсивними генами, до яких належить *Mdm1*, що визначає в подальшому включення програми апоптозу чи зупинку клітинного циклу [7]. При незначному пошкодженні структури ДНК активується *p53*, який, у свою чергу, індукує транскрипцію генів, білкові продукти яких беруть участь у зупинці клітинного циклу, що дає клітині змогу репарувати пошкодження ДНК. У разі значних пошкоджень ДНК білок p53 активує експресію проапоптичних генів, у тому числі *Mdm2*, *Fas*, *bax*, *p53* [5].

У наших дослідженнях було встановлено, що гіпертермія викликає зміну транскрипції деяких генів ранньої відповіді, зокрема, протоонкогена *c-fos*. Так, на відміну від тканини сім'яників, у гепатоцитах експресія гена *fos* репресована і майже не активується за дії теплового шоку, що, очевидно, пов'язане з формуванням компактною структури нуклеосоми в промоторі гена *c-fos*, викликане деацетилюванням гістонів [11].

Гіпертермія супроводжується зміною експресії позитивних і негативних регуляторів клітинного циклу. Нами встановлено, що транскрипція деяких генів ранньої відповіді, зо-

крема, *Hdac4*, в гепатоцитах майже не активується за умов гіпертермії, тоді як у сім'яниках відзначено експресію цього гена. Оскільки статеві клітини є більш чутливими до дії різних факторів, то, очевидно, тепловий шок призводить до активації механізмів, які контролюють компактизацію хроматину сперматозоїдів, чим і зумовлена виявлена нами активність гена *Hdac4*.

До другої групи віднесено гени, експресія яких за дії теплового шоку виявлена в гепатоцитах і відсутня в яєчках (рис. 2). Так, на відміну від сім'яників, у тканинах печінки відзначено активність генів *Cideb* та *Dnaja* за дії гіпертермії.

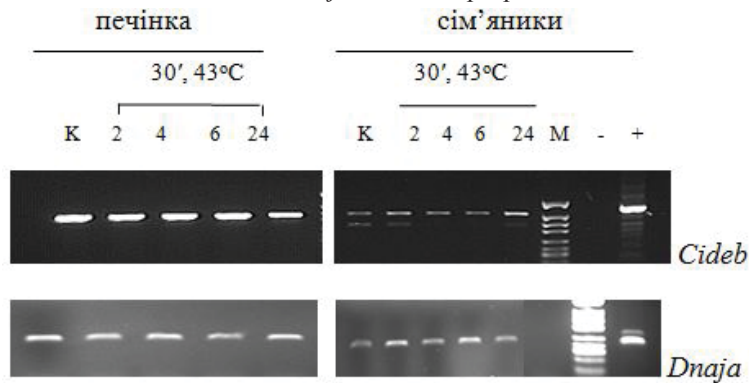


Рис. 2. Експресія *Cideb* та *Dnaja* у тканинах печінки та сім'яників мишей за дії гіпертермії. Тканини отримували після 2, 4, 6 і 24 год після теплового шоку.

До третьої групи входили гени теплового шоку та ген *Ebb1*, під дією гіпертермії в яких відзначена експресія і в яєчках, і в гепатоцитах. За дії теплового шоку в тканинах сім'яників виявлена активність гена *ErbB1* в усіх групах, порівняно з контролем, тоді як у гепатоцитах експресія цього гена була однаковою як у контрольній групі, так і за дії теплового шоку (рис. 3).

Головну роль у захисті клітин від різних шкідливих факторів та підтримці гомеостазу всього організму на всіх стадіях його розвитку відіграє родина білків теплового шоку. Відомо, що гени теплового шоку характеризуються швидкими й інтенсивними процесами активації транскрипції [10]. Отримані нами дані показали, що тепловий стрес індукує перебудову структури хроматину на промоторних і кодуючих ділянках генів теплового шоку, внаслідок чого змінюється активація генів теплового шоку. Ген теплового шоку *Hsp70* експресується на низькому рівні та посилює експресію після дії гіпертермії в обох типах тканин, тоді як гени *Hsp90aa1* та *Hspab1* виявляють високу активність як до теплового шоку, так і у відповідь на підвищення температури. Різна активність генів теплового шоку за дії гіпертермії вказує на те, що регуляція експресії кожного гена має свої особливості. Так, у наших дослідженнях в обох тканинах відзначена вища експресія гена *Hsp90aa1* при температурному шоці, ніж гена *Hsp90ab1*. На нашу думку, різниці в активності генів *Hsp90aa1* та *Hsp90ab1* при гіпертермії вказують на різну їх локалізацію у клітині, а відтак – і на специфіку їх регуляції. Ізоформи Hsp90 характеризуються тканино- та органоспецифічною конститутивною експресією та відрізняються за інтенсивністю відповіді на дію стресу [6].

У стресових умовах, коли в клітині накопичуються білки з порушеною конформацією, Hsp90 частково переключається на їх фолдинг, зв'язуючись з білками та передаючи їх іншим шаперонам (зокрема Hsp70) для денатурації або протеосомам для протеолізу [15]. Тепловий стрес індукує синтез у обох досліджуваних тканинах білків теплового стресу

Hsp70.1, який, як відомо, виконує в клітині функцію молекулярного шаперона, захищаючи її від пошкоджень і, таким чином, підтримуючи стабільність геному в умовах стресу [2].

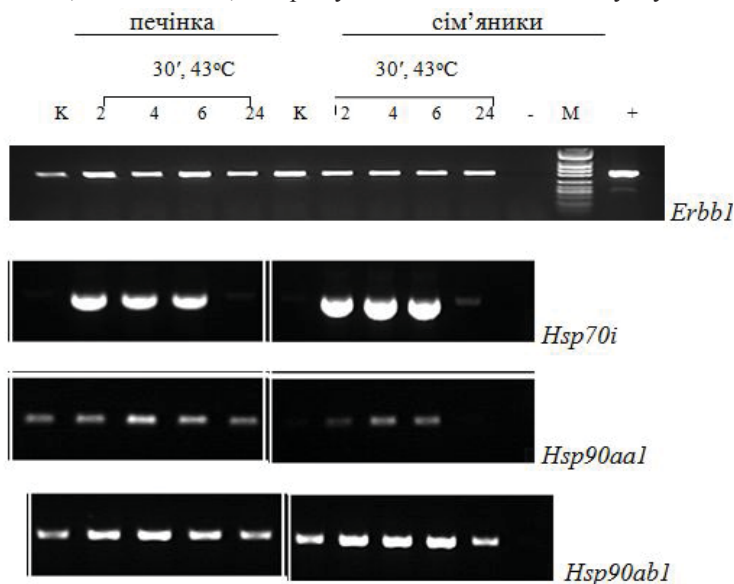


Рис. 3. Експресія *Erbb1*, *Hsp70i*, *Hsp90aa1*, *Hsp90ab1* у тканинах печінки та сім'яників мишей за дії гіпертермії. Тканини отримували після 2, 4, 6 та 24 год після теплового шоку.

Проаналізовано вплив гіпертермії на активність деяких генів у печінці та сім'яниках мишей. Дослідження експресії генів у печінці та сім'яниках самців мишей за дії гіпертермії дало змогу порівняти активність експресії генів у соматичних і репродуктивних тканинах. Встановлено тканиноспецифічні зміни активності генів *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *c-fos*, *Hdac4* після теплового шоку. Гіпертермія призводить до активації транскрипції генів теплового шоку в обох досліджуваних тканинах. Диференціальна експресія генів за умов гіпертермії в різних тканинах зумовлена здатністю різних типів клітин застосовувати одну або кілька систем регуляції певних каскадів генів.

Дана робота виконана в *M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice* за підтримки гранту *National Cancer Institute, NCI, Bethesda (USA)*.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гладкова А. І., Золотухіна В. М. Реактивність чоловічих статевих клітин різних стадій розвитку до стрес-запалення // *Клінічна та експериментальна патологія*. 2004. Т. 3. № 2. С. 126–127.
2. Евдонин А. Л., Медведева Н. Д. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции // *Цитология*. 2009. Т. 51. № 2. С. 130–137.
3. Жабин С. Г., Артифексов С. Б., Нагайцев В. М. та ін. Современные представления о созревании сперматозоидов в придатке яичка // *Проблемы репродукции*. 2010. № 2. С. 66–73.
4. Желтухин А. О., Чумаков П. М. Повседневные и индуцируемые функции гена p53 // *Успехи биологической химии*. 2010. Т. 50. С. 447–516.
5. Чумаков П. М. Белок 353 и его универсальные функции в многоклеточном организме // *Успехи биологической химии*. 2007. Т. 47. С. 3–52.

6. *Amere S. Sreedhar, Eva Kalmar, P. Csermely, Yu-Fei Shen.* Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance // *FEBS letters.* 2004. (562). P. 11–15.
7. *Ashcroft M. A., Vousden K. H.* Regulation of p53 stability // *Oncogene.* 1999. Vol. 18. P. 7637–7643.
8. *Chai N. N., Phillips A., Fernandez A., Yen P. H.* A putative human male infertility gene DAZLA: genomic structure and methylation status // *Mol. Hum. Reprod.* 1997. Vol. 3 (8). P. 705–708.
9. *Ferrás C., Fernandez S., Marques C. J. et al.* AZF and DAZ gene copy-specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome // *Mol. Hum. Reprod.* 2004. Vol. 10 (10). P. 755–761.
10. *Fujimoto M., Nakai A.* The heat shock factor family and adaptation to proteotoxic stress // *FEBS J.* 2010. Vol. 277. P. 4112–4125.
11. *Jolly C., Morimoto R. I.* Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death // *J. National Cancer Institute.* 2000. Vol. 92(19). P. 1564–1572.
12. *Lue Y. H., Hikim A. P., Swerdloff R. S. et al.* Single exposure to heat induce stage-specific germ cell apoptosis in rats: role of intratesticular testosterone on stage specificity // *Endocrinology.* 1999. Vol. 140. P. 1709–1717.
13. *Rockett J. C., Faye L. Map, J. Brian Garges, J. Christopher.* Effects of hyperthermia on spermatogenesis, apoptosis, gene expression and fertility in adult male mice // *Biology of Reproduction.* 2001. Vol. 65. P. 229–239.
14. *Saxena R., de Vries J. W., Repping S., Alagappan R. K. et al.* Four DAZ genes in two clusters found in the AZFc region of the human Y chromosome // *Genomics.* 2000. Vol. 67. P. 256–267.
15. *Wegele H., Müller L., Buchner J.* Hsp70 and Hsp90-a relay team for protein folding // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2004. Vol. 151. P. 1–44.

Стаття: надійшла до редакції 01.03.13

доопрацьована 04.06.13

прийнята до друку 05.06.13

## EFFECTS OF HYPERTHERMIA ON GENE EXPRESSION IN MICE TISSUES

**O. Shtapenko**

*Institute of Animal Biology NAAS  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: o\_shtapenko@mail.ru*

The effect of heat shock on gene expression in mice testes and livers was studied. PCR methods were used to characterize effects of testicular and liver heat shock (43 C for 20 min) at different times posttreatment. Comparing of gene expression in mouse liver and testis was identified genes with different effects of expression depending of hyperthermia. It was shown, that hyperthermia was induced the *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *Hdac4* genes expression only in testes, but not in liver. The high expression levels of genes *Cideb* та *Dnaja* was seen in liver after heat shock. Our studies have shown, that gene expression in

mouse liver and testis are associated with heat shock-induced effects was correlated with the expression of stress-inducible Hsp genes.

*Keywords:* gene regulation, testis, heat shock, spermatogenesis, expression.

## ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ТКАНЯХ МЫШЕЙ

О. Штапенко

*Институт биологии животных НААН*

*ул. В. Стуса, 38, Львов 79034, Украина*

*e-mail: o\_shtapenko@mail.ru*

С помощью ОТ-ПЦР метода оценивали экспрессию некоторых генов в семенниках и печени мышей при тепловом шоке. Сопоставление результатов активности генов в исследуемых тканях после гипертермии позволило идентифицировать гены, экспрессия которых существенно отличалась или не менялась. Выявлена экспрессия генов *Suv39h2*, *mDazl*, *Mdm1*, *Hdac4* только в сперматоцитах, а также генов *Cideb* и *Dnaja* – исключительно в гетацотипах при гипертермии. Наши исследования также показали, что тепловой шок индуцирует экспрессию генов теплового шока в одинаковой степени так в тканях семенника, так и в печени мышей.

*Ключевые слова:* регуляция генов, семенники, тепловой шок, сперматогенез, экспрессия.

УДК 595.44

**ФАУНА ПАВУКІВ (ARANEI) ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМ  
ВЕРХНЬОДНІСТРОВСЬКИХ БЕСКИДІВ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)**

**А. Гірна**

*Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна  
e-mail: ahirna@i.ua*

Наведено результати аранеологічних досліджень 2010–2011 років лісових екосистем Верхньодністровських Бескидів (Українські Карпати). Виявлено 128 видів павуків, що належать до 24 родин. Показані відмінності між аранеофауною екосистем субформації буково-ялицевих і дубово-буково-ялицевих лісів регіону. Проаналізовано основні зміни видового складу павуків під час створення монодомінантних насаджень смереки, ялиці, модрина у межах буково-ялицевих лісів.

*Ключові слова:* фауна, павуки, лісові екосистеми, Верхньодністровські Бескиди, Українські Карпати.

Верхньодністровські Бескиди є однією з найменше досліджених з аранеологічного погляду територій Українських Карпат. Частковими є дані не лише щодо структури угруповань павуків лісових екосистем [3], але й щодо фауни цього регіону. Окремі згадки про шість видів із родини Salticidae з м. Добромилів (г. Радич) і вісім видів зі с. Старяви (долина р. Стрв'яж) знаходимо ще у роботі польського арахнолога В. Кульчинського [7]. У рамках німецько-українського дослідницького BMBF–UNESCO проекту “Трансформаційні процеси у природних комплексах регіону Верхнього Дністра” упродовж 2000–2002 років В. Різуном і А. Колерт зібрано аранеологічний матеріал в околицях с. Розлуч (6 видів) і с. Бусовисько (18 видів; колекція зберігається в Державному природознавчому музеї НАН України). Таким чином, за літературними даними та результатами опрацювання колекції для регіону відомо лише 32 види, що належать до 8 родин.

Верхньодністровські Бескиди – частина Східних Бескидів у межах Львівської області. На пн сх вони межують з Передкарпаттям, на пд сх – зі Сколівськими Бескидами, на пд зх – зі Стрийсько-Сянською Верховиною. Пересічна висота – 750 м н.р.м., максимальна — 1021 м н.р.м. (г. Магура-Лімнянська). Складаються з 7–8 низькогірних хребтів із типовим карпатським простяганням, що мають вигляд ланцюгів-валів із куполоподібними вершинами і широкими поздовжніми долинами [6]. За геоботанічним районуванням територія належить до Турківсько-Старосамбірського геоботанічного району буково-ялицевих лісів [2]. Загальна лісистість Верхньодністровських Бескидів становить 37,9%. Природні деревостани збереглися невеликими фрагментами. Серед насаджень переважають ялинові – понад 74,0% залісеної території, букові та ялицеві – 5,0% і 12,7% відповідно [1].

**Матеріали та методика**

Матеріалом для написання статті слугували колекції павуків, зібрані упродовж 2010–2011 років на території семи дослідних ділянок у межах екосистем субформацій буково-ялицевих (Р-1, Р-2, Р-3, ЯЗ-1) і дубово-буково-ялицевих (Д-1, Д-2, С-1) лісів Верхньодністровських Бескидів: Р-1. – с. Розлуч (Турківський р-н), умовно корінна букова яличина перелісково-папоротева, 663 м н.р.м.; Р-2 – між с. Розлуч – с. Ясениця Замкова

© Гірна А., 2013

(Старосамбірський р-н), яличник мертвопокровний, 660 м н.р.м. (вік близько 50 років); Р-3 – між с. Розлуч – с. Ясениця Замкова; культура модрина, 612 м н.р.м; ЯЗ-1 – околиці с. Ясениця Замкова (Старосамбірський р-н), смеречник мертвопокровний, 592 м н.р.м; Д-1 – околиці м. Доброміль (Старосамбірський р-н), умовно-корінна дубова бучина зубницево-маренкова, 441 м н.р.м; Д-2 – околиці м. Доброміль, умовно-корінна ялицево-дубова бучина осокова, 412 м н.р.м., С-1 – післялісова лука на місці ялицево-дубової бучини, 332 м н.р.м. Відбір зразків із підстилки, трав'яного та чагарникового ярусів проводили за загальноприйнятими в ентомології й арахнології методиками. Номенклатура таксонів прийнята за Н. Платніком [8].

### Результати і їхнє обговорення

У результаті досліджень на території лісових екосистем Верхньодністровських Бескидів виявлено 128 видів павуків, що належать до 24 родин (див. таблицю).

#### Видовий склад павуків лісових екосистем Верхньодністровських Бескидів

Таксон	Р-1	Р-2	Р-3	ЯЗ-1	Д-1	Д-2	С-1
SEGESTRIIDAE							
<i>Segestria senoculata</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+	+		
ULOBORIDAE							
<i>Hyptiotes paradoxus</i> (C.L. Koch, 1834)						+	+
MIMETIDAE							
<i>Ero furcata</i> (Villers, 1789)	+					+	
THERIDIIDAE							
<i>Enoplognatha ovata</i> (Clerck, 1757)	+	+	+	+	+	+	
<i>Neottiura bimaculata</i> (Linnaeus, 1767)	+						+
<i>Parasteatoda lunata</i> (Clerck, 1757)						+	
<i>Parasteatoda simulans</i> (Thorell, 1875)				+	+		
<i>Phylloneta impressa</i> (L. Koch, 1881)			+				+
<i>Platnickina tinctoria</i> (Walckenaer, 1802)		+		+			
<i>Robertus lividus</i> (Blackwall, 1836)			+				
<i>Theridion pinastri</i> L. Koch, 1872	+	+	+				
<i>Theridion varians</i> Hahn, 1833			+			+	
LINYPHIIDAE							
<i>Bathypantes nigrinus</i> (Westring, 1851)	+	+	+		+		
<i>Centromerus sellarius</i> (Simon, 1884)						+	
<i>Centromerus sylvaticus</i> (Blackwall, 1841)			+	+	+	+	+
<i>Ceratinella brevis</i> (Wider, 1834)	+				+		
<i>Dicymbium tibiale</i> (Blackwall, 1836)							
<i>Diplocephalus cristatus</i> (Blackwall, 1833)		+		+			
<i>Diplocephalus latifrons</i> (O. P.-Cambridge, 1863)	+ <sup>1</sup>					+	
<i>Diplocephalus picinus</i> (Blackwall, 1841)		+					
<i>Diplostyla concolor</i> (Wider, 1834)		+	+	+	+		+
<i>Gonatium rubellum</i> (Blackwall 1841)	+ <sup>1</sup>				+		
<i>Kaestneria dorsalis</i> (Wider, 1834)			+				
<i>Kaestneria torrentum</i> (Kulczyński, 1882)	+						
<i>Linyphia hortensis</i> Sundevall, 1830			+		+	+	
<i>Linyphia triangularis</i> (Clerck, 1757)	+	+	+	+	+	+	
<i>Mansuphantes mansuetus</i> (Thorell, 1875)		+					
<i>Maso sundevalli</i> (Westring, 1851)					+		
<i>Meioneta affinis</i> (Kulczyński, 1898)			+				
<i>Meioneta rurestris</i> (C.L. Koch, 1836)	+						+
<i>Minyriolus pusillus</i> (Wider, 1834) ?	+						
<i>Micrargus herbigradus</i> (Blackwall, 1854)			+				
<i>Microneta viaria</i> (Blackwall, 1841)					+	+	
<i>Mughiphantes mughi</i> (Fickert, 1875)	+						
<i>Neriere clathrata</i> (Sundevall, 1830)					+	+	+
<i>Neriere emphana</i> (Walckenaer, 1841)		+					
<i>Neriere peltata</i> (Wider, 1834)	+				+		
<i>Neriere radiata</i> (Walckenaer, 1841)			+				

<i>Oedothorax gibbosus</i> (Blackwall, 1841)	+						
<i>Pallidiphantes pallidis</i> (O. P.-Cambridge, 1871)			+				
<i>Porrhomma pygmaeum</i> (Blackwall, 1834)	+						
<i>Saloca kulczynskii</i> Miller et Kratochvil, 1939							+
<i>Sintula corniger</i> (Blackwall, 1856)	+ <sup>1</sup>		+	+			
<i>Tapinocyba insecta</i> (L. Koch, 1869)	+						
<i>Tenuiphantes alacris</i> (Blackwall, 1853)	+						
<i>Tenuiphantes flavipes</i> (Blackwall, 1854)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Tenuiphantes mengei</i> (Kulczynski, 1887)							+
<i>Tenuiphantes tenebricola</i> (Wider, 1834)	+ <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	+
<i>Walckenaeria alticeps</i> (Denis, 1952)	+		+				+
<i>Walckenaeria atrotibialis</i> (O. P.-Cambridge, 1878)			+				
<i>Walckenaeria kochi</i> (O. P.-Cambridge, 1872)							+
<i>Walckenaeria obtusa</i> Blackwall, 1836				+			+
TETRAGNATHIDAE							
<i>Metellina mengei</i> (Blackwall, 1870)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Metellina segmentata</i> (Clerck, 1757)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pachygnatha clercki</i> Sundevall, 1823							+
<i>Pachygnatha degeeri</i> Sundevall, 1830	+					+	
<i>Tetragnatha obtusa</i> C.L. Koch, 1837				+			
<i>Tetragnatha pinicola</i> L. Koch, 1870				+	+	+	
ARANEIDAE							
<i>Aculepeira ceropegia</i> (Walckenaer, 1802)							+
<i>Agalenatea redii</i> (Scopoli, 1763)							+
<i>Araneus diadematus</i> Clerck, 1757	+		+	+	+	+	+
<i>Araneus marmoreus</i> Clerck, 1757							+
<i>Araneus quadratus</i> Clerck, 1757							+
<i>Araniella alpica</i> (L. Koch, 1869)						+	
<i>Araniella cucurbitina</i> (Clerck, 1757)	+					+	
<i>Argiope bruennichi</i> (Scopoli, 1772)							+
<i>Cercidia prominens</i> (Westring, 1851)							+
<i>Cyclosa conica</i> (Pallas, 1772)	+	+	+	+			+
<i>Hypsosinga heri</i> (Hahn, 1831)							+
<i>Hypsosinga pygmaea</i> (Sundevall, 1831)							+
<i>Larinioides ixobolus</i> (Thorell, 1873)			+				
<i>Mangora acalypha</i> (Walckenaer, 1802)							+
<i>Singa hamata</i> (Clerck, 1757)							+
LYCOSIDAE							
<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)	+						+
<i>Pardosa alacris</i> (C.L. Koch, 1833)	+					+	+
<i>Pardosa amentata</i> (Clerck, 1757)							+
<i>Pardosa pullata</i> (Clerck, 1757)				+			
<i>Pirata hygrophilus</i> Thorell, 1872						+	+
<i>Trochosa terricola</i> Thorell, 1856	+	+	+				
<i>Xerolycosa nemoralis</i> (Westring, 1861)						+	
PISAURIDAE							
<i>Pisaura mirabilis</i> (Clerck, 1757)				+		+	+
ZORIDAE							
<i>Zora nemoralis</i> (Blackwall, 1861)						+	+
<i>Zora spinimana</i> (Sundevall, 1833)							+
AGELENIDAE							
<i>Allagelena gracilens</i> (C. L. Koch, 1841)							+
<i>Cicurina cicur</i> (Fabricius, 1793)						+	+
<i>Coelotes terrestris</i> (Wider, 1834)	+	+	+	+			
<i>Cryphoea silvicola</i> (C.L. Koch, 1834)	+			+			
<i>Histopona torpida</i> (C.L. Koch, 1837)	+	+	+	+	+	+	
<i>Inermocoelotes inermis</i> (L. Koch, 1855)	+ <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	
<i>Malthonica ferruginea</i> (Panzer, 1804)	+						
<i>Malthonica silvestris</i> (L. Koch, 1872)						+	
CYBAEIDAE							
<i>Cybaeus angustiarum</i> L. Koch, 1868	+ <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	+



HAHNIIDAE								
<i>Antistea elegans</i> (Blackwall, 1841)								+
<i>Hahnia nava</i> (Blackwall, 1841)							+	
<i>Hahnia ononidum</i> Simon, 1875								+
<i>Hahnia pusilla</i> C.L. Koch, 1841								+
DICTYNIDAE								
<i>Dictyna</i> sp.					+			
<i>Lathys humilis</i> (Blackwall, 1855)								+
<i>Nigma flavescens</i> (Walckenaer, 1830)		+		+			+	
<i>Nigma walckenaeri</i> (Roewer, 1951)								+
AMAUROBIIDAE								
<i>Callobius claustrarius</i> (Hahn, 1833)		+	+	+	+	+	+	+
ANYPHAENIDAE								
<i>Anyphaena accentuata</i> (Walckenaer, 1802)							+	+
LIOCRANIDAE								
<i>Apostenus fuscus</i> Westring, 1851							+	+
MITURGIDAE								
<i>Cheiracanthium erraticum</i> (Walckenaer, 1802)								+
CLUBIONIDAE								
<i>Clubiona comta</i> C.L. Koch, 1839								+
<i>Clubiona lutescens</i> Westring, 1851		+		+			+	
<i>Clubiona terrestris</i> Westring, 1851								+
GNAPHOSIDAE								
<i>Haplodrassus silvestris</i> (Blackwall, 1833)		+					+	+
<i>Zelotes subterraneus</i> (C.L. Koch, 1833)							+	
SPARASSIDAE								
<i>Micrommata virescens</i> (Clerck, 1757)								+
PHILODROMIDAE								
<i>Philodromus aureolus</i> (Clerck, 1757)							+	+
<i>Philodromus dispar</i> Walckenaer, 1826		+				+		+
<i>Philodromus cespitum</i> (Walckenaer, 1802)			+					
<i>Tibellus oblongus</i> (Walckenaer, 1802)								+
THOMISIDAE								
<i>Diaea dorsata</i> (Fabricius, 1775)							+	+
<i>Ebrechtella tricuspидata</i> (Fabricius, 1775)								+
<i>Misumena vatia</i> (Clerck, 1757)							+	+
<i>Ozyptila trux</i> (Blackwall, 1846)		+						+
<i>Xysticus bifasciatus</i> C.L. Koch, 1837								+
<i>Xysticus cristatus</i> (Clerck, 1757)							+	+
<i>Xysticus kochi</i> Thorell, 1872		+	+	+				+
<i>Xysticus lanio</i> C. L. Koch, 1835							+	
SALTICIDAE								
<i>Ballus chalybeius</i> (Walckenaer, 1802)		+		+	+	+	+	+
<i>Carrhotus xantogramma</i> (Latreille, 1819)							+	
<i>Evarcha arcuata</i> (Clerck, 1757)								+
<i>Evarcha falcata</i> (Clerck, 1757)								+
<i>Neon reticulatus</i> (Blackwall, 1853)						+	+	
<i>Sitticus floricola</i> (C. L. Koch, 1837)								+
РАЗОМ		46	27	41	26	52	44	40

**Примітки:** +<sup>1</sup> – вид, відомий для екосистеми також із колекції Державного природознавчого музею НАН України; ? – одна сильно пошкоджена особина.

Загалом для екосистем у межах буково-ялицевих лісів (P-1, P-2, P-3, ЯЗ-1) виявлено 75, дубово-буково-ялицевих (Д-1, Д-2) – 66 видів павуків. Різниця у кількості таксонів зумовлена, насамперед, кількістю досліджених екосистем у межах субформацій і не може бути використана для порівняння їхнього різноманіття. Однак низьке значення коефіцієнта подібності Серенсена – 52,5% – вказує на значну відмінність фауни павуків буково-ялицевих і дубово-буково-ялицевих лісів регіону.

Кількість видів павуків у окремих лісових екосистемах варіює від 26 до 52 і значною мірою залежить як від структури підстилки, так і від наявності трав'яно-чагарникового ярусу. Найбільше різноманіття властиве умовно-корінним екосистемам. Типовими представниками, що вирізняються великою чисельністю особин у лісових оселищах Верхньодністровських Бескидів, є *Tenuiphantes flavipes*, *Tenuiphantes tenebricola*, *Coelotes terrestris*, *Histopona torpida*, *Inermocoelotes inermis*, *Cybaeus angustiarum* *Callobius claustrarius*. Найменша кількість видів притаманна угрупованням яличника та смеречника мертвопокривних (Р-2, ЯЗ-1). Зменшення видового різноманіття павуків, а також інших груп безхребетних у монодомінантних насадженнях, зокрема смереки, порівняно з умовно-корінними екосистемами, спостерігається у регіоні не лише Верхньодністровських, а й Сколівських Бескидів, Стрийсько-Сянського низькогір'я, Вододільно-Верховинського середньогір'я Карпат [5].

Фауна насадження модрина (Р-3), порівняно з насадженнями ялиці білої (Р-2, ЯЗ-1), значно доповнюється хортобіонтними формами, що заселяють зарості ожини. Її підстилка створює сприятливі умови для домінування евритопних епігеобіонтів, таких як *Centromerus sylvaticus*, *Diplostyla concolor* і *Pardosa lugubris*. Відповідно, тут формуються багатовидові угруповання з домінуванням видів, не властивих екосистемам субформації буково-ялицевих лісів регіону.

Доволі специфічною та загалом багатого за складом є фауна умовно-корінних екосистем субформації дубово-буково-ялицевих лісів регіону (крайня найбільш південна територія Українських Карпат), що збереглися в основному невеликими масивами у прикордонній із Польщею смузі. Її характеризує, насамперед, представленість родини Hahnidae. Рідкісною є знахідка *Carrhotus xantogramma* (Salticidae). З-поміж активних хижаків на гіпсометрично нижче розташованих ділянках (Д-2) частіше трапляються представники родин Lycosidae (*Pardosa alacris*), Gnaphosidae, Liocranidae, тоді як основу угруповань на схилах (Д-1) формують – Cybaeidae та Agelenidae. За своїм складом фауна павуків дубово-буково-ялицевих лісів дещо наближена до фауни лісових екосистем Передкарпаття [4].

Угруповання післялісової луки на місці ялицево-дубової бучини (С-1), порівняно із лісовими екосистемами, закономірно доповнюється світлолюбними видами, зокрема, представниками родин Theridiidae, Araneidae, Agelenidae, Miturgidae, Philodromidae, Thomisidae, Salticidae. У складі фауни зникають стенотопні лісові види, насамперед із родин Linyphiidae і Agelenidae.

Отже, фауна павуків первинних і вторинних екосистем буково-ялицевих і дубово-буково-ялицевих лісів Верхньодністровських Бескидів налічує 128 видів павуків, що належать до 24 родин. Коефіцієнт подібності видового складу в межах досліджених субформацій становить 52,5%. Фауна дубово-буково-ялицевих лісів, за представленістю родин, зокрема на розташованих нижче уздовж схилу ділянках, є подібною до фауни лісів Передкарпаття.

Угруповання павуків окремих екосистем формують 26–52 види. Найменше різноманіття (26–27 видів) притаманне вторинним екосистемам – яличнику та смеречнику мертвопокривним. Формування невластивих для регіону угруповань у межах культури модрина та незначне видове різноманіття павуків, а за літературними даними й інших епігеобіонтних безхребетних у монодомінантних насадженнях смереки та ялиці, що домінують у сучасному лісовому покриві Карпат, вказує на потребу переглянути ведення лісгосподарської діяльності на території Верхньодністровських Бескидів з акцентом на збільшення площ буково-ялицевих насаджень, що є максимально наближеними до корінних. Багатство

і специфічність видового складу павуків у межах екосистем субформації дубово-буково-ялищевих лісів зумовлює потребу їх збереження як осередків різноманіття фауни регіону.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вицєга Р. Р. Вибіркова інвентаризація лісових насаджень Верхньодністровських Бескидів: автореф. дис. ... канд. с-г. наук: 06.03.02. К., 2008. 20 с.
2. Геоботанічне районування Української РСР / за ред. А.І. Барбарича. К.: Наук. думка, 1977. С. 24–27.
3. Гірна А. Я., Канарський Ю. В. Сообщества жуужелиц и пауков (Coleoptera: Carabidae; Arachnida: Aranei) в экосистемах пихтовых лесов Верхнеднестровских Бескид (Украинские Карпаты) // Структурно-функциональные изменения в популяциях и сообществах на территориях с разным уровнем антропогенной нагрузки: матер. XII Междунар. науч.-практ. эколог. конф. (Белгород, 2012). С. 38–40.
4. Гірна А. Я., Леснік В. В. Угруповання павуків грабових дібров Городоцько-Комарнівської височини Передкарпаття // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 29. С. 100–110.
5. Козловський М. П., Гірна А. Я., Канарський Ю. В., Яворницький В. І. Безхребетні тварини // Концептуальні засади сталого розвитку гірського регіону / Голубець М.А., Гнатів П.С. та ін. Львів: Поллі, 2007. С. 133–159.
6. Природа Львівської області / за ред. К.І. Геренчука. Львів: Вища школа. Вид-во при Львів. ун-ті, 1972. 151 с.
7. Kulczyński W. Przegląd krytyczny pająków z rodziny Attoidae, żyjących w Galicyi // Rozprawy i Sprawozdania Wydz. matem.-przyr. Akad. Umiej. Kraków, 1884. T. 12. S. 136–232.
8. Platnick N. I. The world spider catalog, version 12.0 (2011). American Museum of Natural History, online at <http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog>.

Стаття: надійшла до редакції 15.01.13

доопрацьована 11.03.13

прийнята до друку 12.03.13

#### FAUNA OF SPIDERS (ARANEI) FOREST ECOSYSTEMS OF VERKHODNISTROVSKI BESKYDY (UKRAINIAN CARPATHIANS)

A. Hirna

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine  
e-mail: ahirna@i.ua*

The results of araneological studies 2010–2011 years in forest ecosystems of Verkhodnistrovski Beskydy (Ukrainian Carpathians) are presented. Found 128 species of spiders belonging to 24 families. Showing the differences between araneofauna of the ecosystems of subformations beech-fir and oak-beech-fir forests of the region. The main changes of species composition when creating monodominant planting spruce, fir, larch within beech-fir forests are analyzed.

*Keywords:* fauna, spiders, forest ecosystems, Verkhodnistrovski Beskydy, Ukrainian Carpathians.

**ФАУНА ПАУКОВ (ARANEI) ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ  
ВЕРХНЕДНЕСТРОВСКИХ БЕСКИД (УКРАИНСКИЕ КАРПАТЫ)**

**А. Гірна**

*Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина  
e-mail: ahirna@i.ua*

Приведены результаты аранеологических исследований 2010–2011 годов в лесных экосистемах Верхнеднепровских Бескид (Украинские Карпаты). Выявлено 128 видов пауков из 24 семейств. Показаны отличия между аранеофауной экосистем субформации буково-пихтовых и дубово-буково-пихтовых лесов региона. Проанализированы главные изменения видового состава пауков в ходе создания монодоминантных посадок ели, пихты, лиственницы в пределах буково-пихтовых лесов.

*Ключевые слова:* фауна, пауки, лесные экосистемы, Верхнеднепровские Бескиды, Украинские Карпаты.

**ENVIRONMENTAL IMPACT OF EARTHWORM (*LUMBRICIDAE*) EXCRETORY  
ACTIVITY ON PH-BUFFERING CAPACITY OF REMEDIATED SOIL**

**O. Didur, I. Loza\*, Y. Kulbachko, O. Pakhomov, A. Kryuchkova**

*Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: irinaloza23@gmail.com*

The environmental impact of metabolic activity of saprophages specimen on pH-buffering capacity of devastated lands was studied. Earthworms (*Lumbricidae*) for investigations were taken from artificial forest plantations grown on the lands reclaimed from the mining industry. It is shown their positive influence on acid-alkaline buffering capacity of devastated lands. The quantitative assessment of the earthworm impact on pH buffering value of remediated soil is represented. It is experimentally proved that earthworm cast does have higher acid-alkaline buffering capacity compare to buffering of loess loam. It was found that the acid-alkaline buffering capacity of artificial soil as a result of their excretory activity had increased on 17.7%. This is positive for its ecological properties and economic value.

*Keywords:* devastated lands, forest remediation, ecological properties of soil, earthworm excretory activity, soil pH-buffering.

In the South-eastern part of Ukraine degraded areas as a result of mining activities have formed. These lands are an integral part of modern powerful disruptive network in consequence of anthropogenic factor. Agricultural and forest remediation of damaged soil is used to eliminate the consequences of coal mining [13]. Thereby the chemical compounds of mining spoil, toxic for human health and soil biota get into the rehabilitated soil. One of the most important factors of soil remediation is considered to be the forming of special conditions for successful existence of soil biota. Representatives of ground animals are numerous in soil and facilitate improving native and artificial soil properties [14–16].

Ability of soil to keep natural or artificially formed potentials of fertility, and to inhibit (neutralize, counter) an external harmful influences and impacts is called buffering capacity. Buffering capacity of soil is often considered as resistance to changes of actual reaction under influence of different environmental impacts [10, 12]. It is called acid-alkaline buffering or pH-buffering, which neutralizes acidification or alkalizing. Acid or alkali which appears in the soil solution reacts with the soil-absorbing complex, and it reduces the change of pH-reaction.

Soil with high content of  $\text{Ca}^{2+}$  and other alkaline cations in the soil-absorbing complex demonstrates buffering against acidification. High  $\text{H}^+$ -content in the soil-absorbing complex determines buffering capacity against alkalizing. Besides acid-alkaline buffering of soil there exist the other types of one. Functioning of soil buffering systems ensures stability of soil fertility as main soil integral function.

It is known that “live” phase of soil can greatly effect not only its productive properties (fertility), but also participate in quantitative and qualitative changes of other ones [3, 4, 17]. Fossorial, trophical and excretory activities of invertebrates make a significant contribution to transformation of soil properties. It can influence on the mobilization (release) and immobilization (deposit) of fertility elements in the soil [17, 18].

The identification of soil biota involvement (especially earthworms) into the process of optimizing of ecological properties of damaged soil was studied particularly. Earthworms generally live in the upper soil layer. Their excretory activity has promoted to top layer formation from earthworms cast of ground or soil. An earthworm cast is represented with the soil biogenic element. Therefore evaluation of its impact on remediated soil buffering capacity has a scientific and practical value.

### Materials and methods

Investigations were conducted in Steppe zone of Ukraine (Western Donbas, Dnipropetrovsk region) with continental type of climate. Moisture is the main limiting factor for existing of soil biota here. Products of the coal mining (toxic water-soluble salts, compounds of heavy metals) make the negative influence on the environment in the Western Donbas territory [1, 2].

The earthworm (*Lumbricidae*) cast was taken as this research subject. Researches were conducted in 2012. Soil samples and earthworm cast were sampled in the forest remediation area in maple planting on loess loam with porous structure (2nd variant of remediation). Soil samples were selected according to the Soil Science Manual [9] from depth of 0–10 cm. Upper layer of investigated variant was presented by pure loess loam. The representatives of *A. caliginosa* are of endogeic earthworms, saprophages, second-decomposers, nitro liberates and humificators. Fresh cast of *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826) are located onto soil cover [8, 11].

For calculation of buffering areas the numerical quadrature method was used. The goal was achieved with the use of Simpson formula [6, 7]. Measurement of actual acidity (pH) of control and experimental samples was conducted in three replications. Were estimated arithmetic average, its standard error and significant difference of values averages [5].

For determination of acid-alkaline buffering capacity of earthworm cast and loess loam the techniques of Arrhenius and methods of potentiometry were used [10, 12]. Soil buffering capacity determination is based on identifying of pH-value changes after adding acid or alkali. The result is shown in the buffering curves.

### Results and discussion

The obtained results of pH determination of soil samples in the acidic range approved the loess loam has a native conditionally neutral reaction (6.60), and the earthworm cast did it close to neutral (7.16). When even a small amount of acid (3 ml) was added, the loess loam reaction was changed from 6.60 to 5.07 (acidic), while the earthworm cast with initial pH 7.16 had acquired conditionally neutral reaction (6.55), keeping almost on the same neutral level the addition of more volume of acid (Table 1).

Table 1

Results of measurement of buffering in loess loam, earthworm cast and sand (acid range)

№ of sample	Volume of adding reagent, ml		Acidity (pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub> )		
	0,1 M HCl	H <sub>2</sub> O dist.	Sand	Loess loam	Earthworm cast
1	0	25.0	6.95±0.05	6.60±0.05	7.16±0.06
2	1.5	23.5	3.25±0.10	6.09±0.07	6.78±0.08
3	3.0	22.0	2.80±0.05	5.07±0.09	6.55±0.05
4	4.5	20.5	2.52±0.04	4.64±0.07	6.42±0.07
5	6.0	19.0	2.45±0.05	4.43±0.08	6.33±0.11
6	7.5	17.5	2.36±0.06	3.93±0.11	6.24±0.09
7	9.0	16.0	2.29±0.04	3.73±0.08	6.10±0.08

**Note:** in what follows average and standard error are given.

When a small amount of alkali solution (1.5 ml) was added, the loess loam reaction remained conditionally neutral (6.70). In the case of earthworm cast it became slightly alkaline

(7.43) from the initial reaction close to neutral (7.16). If more volume of alkali (6 ml) was added, both loess loam and earthworm cast reactions became alkaline (8.25 and 8.87, accordingly). Adding the maximum volume of alkaline (9 ml) made the alkaline reaction in both samples more developed (Table 2).

Table 2

№ of sample	Volume of adding reagent, ml		Acidity (pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub> )		
	0,1 M NaOH	H <sub>2</sub> O dist.	Sand	Loess loam	Earthworm cast
1	0	25.0	6.95±0.05	6.60±0.05	7.16±0.06
2	1.5	23.5	11.45±0.05	6.78±0.08	7.43±0.07
3	3.0	22.0	11.65±0.10	7.20±0.10	8.01±0.06
4	4.5	20.5	11.72±0.07	7.72±0.07	8.55±0.05
5	6.0	19.0	11.87±0.06	8.25±0.10	8.87±0.07
6	7.5	17.5	12.05±0.05	8.75±0.08	9.01±0.10
7	9.0	16.0	12.05±0.10	9.35±0.07	9.20±0.07

The cast buffering area is located between the sand titration curve and the cast titration curve. The loess loam buffering area is located between the sand and loess loam titration curves. The titration curves arrangement indicates that the buffering area size for cast (32.5±0.52 cm<sup>2</sup>) is more than buffering loess loam one (18.1±0.51 cm<sup>2</sup>) on 79.6% in the acidic range (Fig. 1). The statistical differences between the areas of loess loams and cast buffer capacity with a significance level less than 0.01 (in the acid range) were established after a statistical estimate of a distinction between mean values.

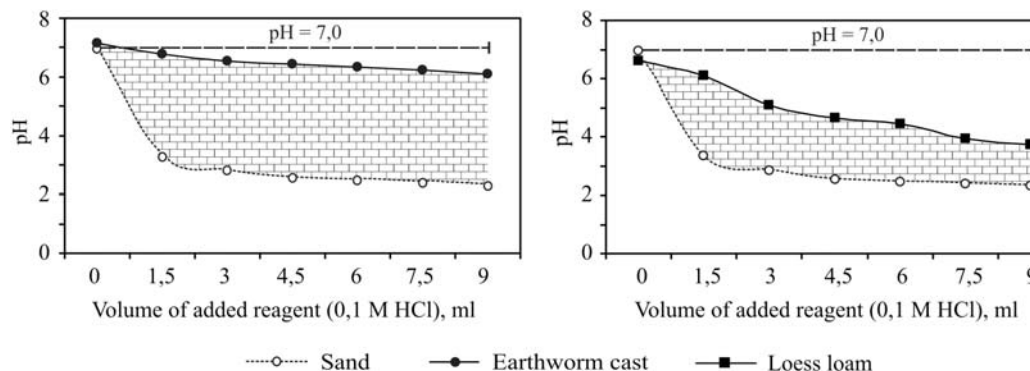


Fig. 1. The buffering curves for earthworm cast and loess loam in the maple planting and sand (unbuffered system) in acidic range.

The arrangement of titration curves in alkaline range indicates that the average cast buffering area size (28.7±0.06\* cm<sup>2</sup>) is less than the loess loam one (33.8±0.43 cm<sup>2</sup>) on 17.8% (Fig. 2). The significant differences between the areas of loess loams and cast buffer capacity with a significance level less than 0.05 (in the alkaline range) were established after a statistical estimate of a distinction between mean values. The total (acid-alkaline) buffering area size of earthworm cast (61.1±0.53\*\*\* cm<sup>2</sup>) was more than the loess loam one (51.9±0.60 cm<sup>2</sup>) on 17.7%. The significant differences between the areas of loess loams and cast buffer capacity with a significance level less than 0.001 were established after a statistical estimate of a distinction between mean values.

### Conclusion

The total buffering area size of earthworm cast was more than loess loam one. The acid-alkaline buffering capacity of native cast was estimated as very high in the acid range and as low

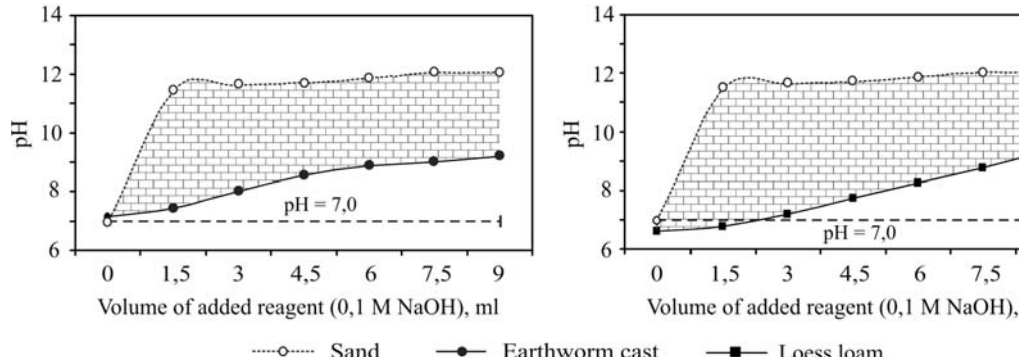


Fig. 2. The buffering curves for earthworm cast and loess loam in the maple planting and sand (unbuffered system) in alkaline range.

in alkaline one. The difference might be explained by the cast chemical composition.

The soil acid-alkaline (total) buffering capacity is raised a bit due to enriching it with the earthworm cast as a result of the excretory activity. As a result the soil became more resistant to the harmful effects of mine spoil acidic solutions. Thus the activity of soil invertebrate saprophages influences positively on the ecological properties of soil during remediation activities.

Results of our experiment suggest that the acid and alkaline earthworm cast buffering capacity is significant more on 17.7% than initial soil. It can promote positive changes of ecological condition of remediated soils.

#### REFERENCES

1. *Балюк С. А., Єтеревська Л. В., Травлєєв А. П. та ін.* Концепція рекультивациі земель, порушених за відкритого та підземного видобутку корисних копалин. Х.: Нац. наук. центр "Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О. Н. Соколовського", 2012. 50 с.
2. *Зверковський В. Н.* Біогеоценологічне обґрунтування лісної рекультивациі земель, порушених угольною промисловістю в степній зоні України: дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ, 1999. 566 с.
3. *Зражевський А. І.* Дощеві черви як фактор плідороддя лісних ґрунтів. К.: АН УРСР, 1957. 272 с.
4. *Кульбачко Ю. Л., Дідур О. А., Лоза І. М.* Оцінка впливу представителів двупарноногих багатоножок (*Diplopoda*) на емісію вуглекислого газу модельними ґрунтовими сумішками при вирішенні проблем рекультивациі порушених земель // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону / Дон. держ. ун-т. 2007. Вип. 7. С. 93–99.
5. *Лакін Г. Ф.* Біометрія. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
6. *Маркушевич А. І.* Площади і логарифми. М.: Наука; Гл. ред. фіз.-мат. лит., 1979. 64 с.
7. *Надточий П. П.* Визначення кислотності-основності буферності ґрунтів // Почвознавство. 1993. № 4. С. 34–39.
8. *Перель Т. С.* Розповсюдження і закономірності розповсюдження дощевих червей фауни СРСР. М.: Наука, 1979. 272 с.
9. *Практикум по ґрунтознавству / під ред. І.С. Кауричева.* М.: Колос, 1980. 272 с.
10. *Соколова Т. А., Толпешта І. І., Трофимов С. Я.* ґрунтова кислотність. Кислотність-основність буферності ґрунтів. Сполуки алюмінію в твердій фазі ґрунту і в ґрунтовій розчині: навч. посіб. Тула: Гриф і К, 2007. 96 с.



11. Стриганова Б. П. Питание почвенных сапрофагов. М.: Наука, 1980. 244 с.
12. Трускавецький Р. С. Буферна здатність ґрунтів та їх основні функції. Х.: Нове слово, 2003. 225 с.
13. Харитонов М. М., Жиленко М. І. Оцінка екологічної безпеки варіантів сільськогосподарської рекультивациі у Західному Донбасі // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. 2006. № 6. С. 210–212.
14. Abrahamsen G., Hovland J., Hågvær S. Effects of artificial acid rain and liming on soil organisms and the decomposition of organic matter // Proc. NATO Adv. Res. Inst. Conf. "Effects of Acid Precipitation on Terrestrial Ecosystems" / T. C. Hutchinson and M. Havas (Eds.) New-York, 1980. P. 341–362.
15. Andren O., Lagerlof J. Soil fauna (*Microarthropods*, *Enchytraeids*, *Nematodes*) in Swedish agricultural cropping systems // Acta Agriculturae Scandinavica. 1983. N 33. P. 33.
16. Kul'bachko Yu., Loza I., Pakhomov O., Didur O. Role of Soil Invertebrates in Biological Optimization of Territories Faulted by Coal Mining // Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution: Proceedings of the 4 International Young Scientists Conf., dedicated to 180 anniversary from the birth of famous physiologist Ivan Sechenov (Odessa. September 16–19. 2009). Odessa: Pechatniy dom, 2009. P. 103–104.
17. Makeshin F. Earthworms (*Lumbricidae*: *Oligochaeta*): important promoters of soil development and soil fertility // Fauna in Soil Ecosystems / G. Benckiser (ed.), Marcel Dekker Inc., New York & Basel. 1997. P. 173–223.
18. Pakhomov O., Kulbachko Y., Didur O., Loza I. Mining Dump Rehabilitation: the Potential Role of Bigeminate-legged Millipeds (*Diplopoda*) and Artificial Mixed-Soil Habitats // Optimization of Disaster Forecasting and Prevention Measures in the Context of Human and Social Dynamics. NATO Science for Peace and Security Series / Ion Apostol et al. (Eds.). Amsterdam – Berlin – Tokyo – Washington, DC: IOS Press, 2009. P. 163–171.

Стаття: надійшла до редакції 06.02.13

доопрацьована 14.03.13

прийнята до друку 21.04.13

## СЕРЕДОВИЩЕПЕРЕТВОРЮВАЛЬНИЙ ВПЛИВ ЕКСКРЕТОРНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ДОЩОВИХ ЧЕРВ'ЯКІВ (*LUMBRICIDAE*) НА pH-БУФЕРНІ ВЛАСТИВОСТІ ВІДНОВЛЕНИХ ҐРУНТІВ

О. Дідур, І. Лоза, Ю. Кульбачко, О. Пахомов, А. Крючкова

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: irinaloza23@gmail.com*

Вивчався екологічний вплив метаболічної активності окремих представників сапрофагів на pH-буферну здатність насипних ґрунтів рекультивованих територій. Як об'єкт досліджень було обрано представників дощових черв'яків (*Lumbricidae*), що населяють штучні лісові насадження рекультивованих ділянок на землях, порушених відходами гірничо-видобувної промисловості. Показано їх позитивну роль у формуванні кислотного-лужної властивості насипних ґрунтів. Наведено кількісну оцінку впливу дощових черв'яків на pH-буферність рекультивованих ґрунтів. Експериментально доведено, що копроліти дощових черв'яків мають вищу кислотно-

основну буферну ємність порівняно з буферністю лесоподібного суглинку. З'ясовано, що в результаті їх екскреторної діяльності підвищувалася кислотно-лужна буферна здатність штучного ґрунту на 17,7%, що позитивно позначалося на його екологічних властивостях і економічній цінності.

*Ключові слова:* штучний ґрунт, лісова рекультивация, екологічні властивості ґрунту, екскреторна діяльність дощових черв'яків, рН-буферність ґрунту.

## СРЕДОПРЕОБРАЗУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭКСКРЕТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ (*LUMBRICIDAE*) НА pH-БУФЕРНЫЕ СВОЙСТВА ВОССТАНОВЛЕННЫХ ПОЧВ

О. Дидур, И. Лоза, Ю. Кульбачко, А. Пахомов, А. Крючкова

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: irinaloza23@gmail.com*

Изучалось экологическое влияние метаболической активности отдельных представителей сапрофагов на рН-буферную способность насыпных почво-грунтов рекультивированных территорий. Объектом исследований являлись представители дождевых червей (*Lumbricidae*), обитающие в искусственных лесных насаждениях рекультивированных участков на землях, нарушенных отходами горнодобывающей промышленности. Показана их позитивная роль в формировании кислотно-основных буферных свойств насыпных почво-грунтов. Приведена количественная оценка влияния дождевых червей на рН-буферность рекультивированных земель. Экспериментально доказано, что копролиты дождевых червей имеют более высокую кислотно-основную буферную емкость по сравнению с буферностью лессовидного суглинка. Установлено, что в результате их экскреторной деятельности кислотнo-щелочная буферная способность искусственной почвы возростала на 17,7%, что положительно сказывалось на ее экологических свойствах и экономической ценности.

*Ключевые слова:* искусственная почва, лесная рекультивация, экологические свойства почвы, экскреторная деятельность дождевых червей, рН-буферность почвы.

**ВПЛИВ УРБАНІЗОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ІНТЕНСИВНІСТЬ  
ПЛОДОНОШЕННЯ ТА МАСУ ВЕГЕТАТИВНИХ І ГЕНЕРАТИВНИХ  
ОРГАНІВ ЛИПИ СЕРЦЕЛИСТОЇ (*TILIA CORDATA* L.)**

**Н. Глібовицька**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ 76008, Україна  
e-mail: nataly.glibovytska@gmail.com*

Виявлено вплив урбанізованого середовища на масу вегетативних і генеративних органів та інтенсивність плодоношення *Tilia cordata* L. Результати дослідження свідчать про зниження маси свіжого та сухого матеріалу листя, плодів, суплідь, крилаток і зменшення кількості плодів у суплідді рослин липи серцелистої в різнофункціональних зонах міста Івано-Франківська щодо контролю. Зона дії промислових комплексів і транспортних шляхів урбоєкосистеми характеризується найбільшим антропогенним пресингом. Обґрунтовано перспективність використання показника маси вегетативних і генеративних органів та інтенсивності плодоношення виду *Tilia cordata* L. як інформативних ознак у здійсненні комплексних біоіндикаційних досліджень територій в умовах техногенного навантаження.

*Ключові слова:* *Tilia cordata* L., урбоєкосистема, маса листків і генеративних органів, інтенсивність плодоношення, біоіндикація.

Зростання антропогенного навантаження в урбоєкосистемах супроводжується техногенним забрудненням навколишнього середовища [9]. Територія міст характеризується наявністю великої кількості джерел забруднення, їх нерівномірним розташуванням і досить складним поширенням поллютантів [12, 14]. Негативний вплив цього процесу виявляється змінами у функціонуванні біотичних угруповань, деградацією природних біотопів і погіршенням здоров'я людей [9].

Рослинні організми є невід'ємною частиною біотичного блоку урболандшафтів. Велика площа контакту й інтенсивний газообмін із довкіллям зумовлюють їхню високу чутливість до дії різноманітних антропогенних факторів [12].

Особливо цінними індикаторами є деревні рослини, які безпосередньо входять до комплексів озеленення підприємств і міських вулиць. В умовах тривалої експозиції вони відчувають на собі комплексний хронічний вплив антропогенно модифікованих факторів середовища [10]. Атмосферні забруднювачі негативно впливають на ріст і розвиток листків. Біомаса листків – один з інформативних показників успішного вегетативного розвитку рослини. Згідно з літературними даними, чим сильніше вражається рослина, тим більше у неї гальмуються процеси росту, а це може бути одним із засобів біоіндикації ступеня забрудненості території [1].

Серед параметрів екологічної рівноваги в екосистемі є успішне проходження процесів її самовідновлення [5]. Цей параметр має суттєве значення для оцінки стійкості деревних насаджень, підбору асортименту рослин, перспективних в озелененні техногенно-трансформованих територій [2, 17]. Крім того, характеристики плодоношення дерев можна використовувати для діагностики забруднення довкілля в моніторингових дослідженнях [3, 15].

Метою даної роботи було дослідити показники плодоношення, масу листя і генеративних органів *Tilia cordata* L. в умовах різнофункціональних зон урбоекосистеми Івано-Франківська.

### Матеріали та методи

Дослідження проводили в Івано-Франківській урбоекосистемі, яка розташована у межиріччі р. Бистриці Солотвинської та р. Бистриці Надвірнянської на межі Західного Лісостепу і Прикарпаття.

За принципом ландшафтно-функціонального зонування територій [11], у межах урбоекосистеми, яку досліджували, виділено зону комплексного озеленення, промислових комплексів, транспортних шляхів міста й житлової забудови. Як фонову обрано умовно екологічно чисту територію – урочище Дем'янів Лаз, розташовану за межами міста.

Назначених моніторингових ділянках здійснено оцінку впливу антропогенних чинників на інтенсивність плодоношення та масу вегетативних і генеративних органів у популяціях липи серцелистої.

Відбір листя, крилаток і плодів рослин *Tilia cordata* здійснювали з гілок одного порядку галузження нижньої частини крони у період завершення повного розвитку асиміляційної системи (серпень-вересень) [10].

Масу свіжого та сухого рослинного матеріалу, масу плодів, суплідь, крилаток і кількість плодів у суплідді в популяціях липи серцелистої визначали за апробованими методиками [5, 13].

Математичну обробку результатів проводили варіаційно-статистичним методом. Достовірність відмінності одержаних експериментальних даних із контрольними оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Нульову гіпотезу відкидали при  $P \leq 0,05$ . Усі розрахунки проводили за допомогою редактора MS Excel 2007.

### Результати і їхнє обговорення

Встановлено достовірне зниження маси свіжозібраного та сухого матеріалу листя рослин липи серцелистої в усіх досліджених зонах урбоекосистеми щодо контролю (табл. 1).

Середнє значення маси свіжозібраного матеріалу листя у промисловій, придорожній і селітебній зонах міста нижче за фоновий показник в 1,7–2,3 рази і сягає мінімуму в зоні транспортних шляхів міста –  $326,69 \pm 27,22$  г. У зоні комплексного озеленення урбоекосистеми маса листків *Tilia cordata* є найбільшою серед усіх досліджених екопів, проте достовірно відрізняється від контролю і становить  $437,25 \pm 47,23$  г.

Таблиця 1

Узагальнені результати маси листя рослин липи серцелистої в різнофункціональних зонах м. Івано-Франківська

№	Зона дослідження	Маса свіжого матеріалу листя в межах зони дослідження, г	Маса сухого матеріалу листя в межах зони дослідження, г
	Контроль	748,9	286,4
1.	Зона промислових комплексів	$357,81 \pm 29,61^{***}$	$155,81 \pm 20,98^{**}$
2.	Зона житлової забудови	$368,72 \pm 21,34^{***}$	$167,74 \pm 14,21^{**}$
3.	Зона транспортних шляхів міста	$326,69 \pm 27,22^{***}$	$132,21 \pm 5,52^{***}$
4.	Зона комплексного озеленення	$437,25 \pm 47,23^{**}$	$186,14 \pm 22,67^*$

**Примітка.** Вірогідні зміни досліджуваних показників порівняно з фоновим значенням: \* –  $P < 0,025$ , \*\* –  $P < 0,005$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ .

Згідно з даними деяких авторів [6, 8], маса листя залежить від інтенсивності випаровування, оскільки волога з поживними елементами, рухаючись по рослині від

кореня до листя, збільшує біомасу не лише листя, але й усєї рослини. Отже, зі збільшенням випаровуваної вологи зростає надходження поживних речовин до рослини, що і є масою її сухої речовини. Відомо, що за інтенсивністю транспірації липа серцелиста належить до сильноотранспірувальних деревних рослин [4, 7].

Значення сухої маси листя в популяціях липи серцелистої у межах різнофункціональних зон м. Івано-Франківська статистично достовірно знижується від 1,5 разу в зоні комплексного озеленення до 2,2 разу в зоні транспортних шляхів міста щодо цього показника на фонівій території (286,4 г). Рослини зони комплексного озеленення найбільше накопичують сухої органічний залишок, де його маса становить  $186,14 \pm 22,67$  г. Маса сухого матеріалу листків *Tilia cordata* у зоні транспортних шляхів міста є найнижчою і становить  $132,21 \pm 5,52$  г.

Встановлено, що в умовах різнофункціональних зон міста у популяціях липи серцелистої спостерігається зниження маси 1000 суплідь, плодів, крилаток і кількості плодів у суплідді щодо контролю (табл. 2).

Серед досліджених зон урбоекосистеми значення маси суплідь *Tilia cordata* найсуттєвіше знижується в зоні транспортних шляхів міста й зоні промислових комплексів – у 1,9 разу щодо контролю і становить  $130,63 \pm 5,63$  та  $131,46 \pm 8,22$  г, відповідно. Слід відзначити, що цей показник найвищий у зоні комплексного озеленення –  $187,85 \pm 14,5$  г.

Згідно з літературними даними, характеристику повноцінності зав'язування плодів під час цвітіння дає показник маси 1000 плодів. Аналізуючи дані табл. 2, слід акцентувати, що маса плодів у популяціях липи серцелистої у зоні комплексного озеленення достовірно не відрізняється від контролю і становить  $41,72 \pm 3,73$  г. Мінімальне значення маси плодів *Tilia cordata* зафіксоване в зоні промислових комплексів і зоні транспортних шляхів міста –  $34,06 \pm 2,12$  г та  $35,74 \pm 2,73$  г, відповідно, що в 1,4 разу нижче фонового показника.

В умовах урбоекосистеми спостерігається статистично достовірне зниження маси крилаток рослин *Tilia cordata* від 1,2 разу в зоні комплексного озеленення до 1,6 разу в зоні промислових комплексів, порівняно з фоною територією ( $68,12$  г).

Показники інтенсивності плодоношення є достовірно нижчими в умовах м. Івано-Франківська. Середня кількість плодів у суплідді липи серцелистої нижча, порівняно з фоною територією, від 1,2 разу в зоні комплексного озеленення до 1,5 разу в зоні транспортних шляхів міста.

Таблиця 2

Маса повітряно-сухих суплідь, плодів, крилаток та інтенсивність плодоношення в популяціях липи серцелистої в межах зон дослідження у м. Івано-Франківську

№	Зона дослідження	Маса 1000 суплідь, г	Маса 1000 плодів, г	Маса 1000 крилаток, г	Кількість плодів у суплідді, шт.
	Контроль	247,5	48,48	68,12	3,7
1.	Зона промислових комплексів	$131,46 \pm 8,22^{***}$	$34,06 \pm 2,12^{**}$	$42,21 \pm 4,19^{**}$	$2,6 \pm 0,08^{***}$
2.	Зона житлової забудови	$150,03 \pm 4,95^{***}$	$38,96 \pm 1,61^{**}$	$44,90 \pm 3,70^{**}$	$2,65 \pm 0,14^{***}$
3.	Зона транспортних шляхів міста	$130,63 \pm 5,63^{***}$	$35,74 \pm 2,73^*$	$44,15 \pm 2,56^{***}$	$2,43 \pm 0,12^{***}$
4.	Зона комплексного озеленення	$187,85 \pm 14,5^*$	$41,72 \pm 3,73$	$59,02 \pm 1,88^*$	$3,08 \pm 0,12^{**}$

**Примітка.** Вірогідні зміни досліджуваних показників порівняно з фоновим значенням: \* –  $P < 0,025$ , \*\* –  $P < 0,005$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ .

Зменшення інтенсивності плодоношення у деревних порід в умовах антропогенного пресингу відзначають також деякі автори [3, 5, 16].

В умовах різнофункціональних зон урбанізованої екосистеми Івано-Франківська спостерігається зниження показників процесу самовідновлення в популяціях липи серцелистої щодо контролю.

Маса листя, суплідь, плодів, крилаток і кількість плодів у суплідді в популяціях *Tilia cordata* в межах м. Івано-Франківська зростає в ряді: зона транспортних шляхів міста → зона промислових комплексів → зона житлової забудови → зона комплексного озеленення.

Враховуючи інформативність показників плодоношення та маси вегетативних і генеративних органів липи серцелистої, їх доцільно рекомендувати використовувати як тест-параметри в моніторингових дослідженнях для оцінки стану довкілля в умовах антропогенного пресингу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексєєва А. А., Вінниченко О. М. Біолого-екологічні особливості представників роду *Tilia* L. в умовах степового Придніпров'я // Вісті Біосферного заповідника «Асканія-Нова». Дніпропетровськ, 2012. Т. 14. С. 322–325.
2. Безсонова В. П. Комплексна проблема «Рослини та урбанізація», актуальні питання, головні задачі // Рослини та урбанізація: Матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпропетровськ, 2007. С. 11–15.
3. Бессонова В. П., Юсупова Т. И. Влияние загрязнения природной среды на плодоношение древесных растений // Лесн. хоз-во. 1998. № 2. С. 39–40.
4. Веретенников А. В. Физиология растений с основами биохимии: учеб. пособие. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1987. 256 с.
5. Грицай З. В., Денисенко О. Г. Насіннева продуктивність деревних рослин в умовах забруднення довкілля викидами металургійного підприємства // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Екологія. 2011. С. 1–5.
6. Лебедев С. И. Физиология растений. М.: Агропромиздат, 1988. 544 с.
7. Либберт Э. Физиология растений. М.: Мир, 1976. 580 с.
8. Лир Х., Польстер Г., Фидлер Г.-И. Физиология древесных растений. М.: Лесн. пром-сть, 1974. 424 с.
9. Парпан В. І., Миленка М. М. Методологічні аспекти оцінки екологічного стану урбанізованих і техногенно змінених територій // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Біологія. Екологія. 2010. Вип. 18. Т. 2. С. 61–68.
10. Парпан В. І., Миленка М. М. Морфофізіологічні особливості *Populus pyramidalis* Roz. в умовах урботехногенного забруднення середовища // Екологія та ноосферологія. 2009. Т. 20. № 3–4. С. 84–90.
11. Руденко С. С., Костишин С. С., Морозова Т. В. Загальна екологія. Практичний курс: навч. посібник для студ. вищ. навч. закл. Ч. 2. Природні наземні екосистеми. Чернівці, 2008. 320 с.
12. Случик І. Й. Біоіндикація стану довкілля на урбанізованій території за допомогою представників роду *Populus* L.: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Чернівці, 2000. 20 с.
13. Собченко В. Ф. Специфіка будови кленових плодів-крилаток та її вплив на поглинальну властивість води // Наук. вісник НЛТУ України. 2008. Вип. 18.4. С. 57–61.
14. Фоменко Н. В. Сучасна екологічна ситуація в м. Івано-Франківську та система забезпечення екологічної безпеки міської території: автореф. дис. ... канд. геогр. наук: 11.00.11. Чернівці, 2006. 19 с.

15. Юсытыва Т. И. Эколого-биологическая оценка репродуктивного развития древесных пород в условиях загрязнения природной среды ингредиентами промышленных выбросов SO<sub>2</sub> и NO<sub>2</sub>; дис. ... канд. биол. наук: 03.00.12. Днепропетровск, 1998. 308 с.
16. Thompson C. R., Kats G. P. Effects of ambient concentrations of peroxyacetylenitrate on navel orange trees // Environ. Sci. Technol. 1975. N 9. P. 35–38.
17. Turner A. P., Dickinson N. M., Lepp N. W. How do trees and other long-lived plants survive in polluted environments // Funct. Ecol. 1991. N 1. P. 5–11.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.13

доопрацьована 17.04.13

прийнята до друку 24.04.13

### THE IMPACT OF URBANIZED ENVIRONMENT ON FRUITING INTENSITY AND VEGETATIVE AND GENERATIVE ORGANS MASS OF THE SMALL-LEAVED LINDEN (*TILIA CORDATA* L.)

N. Glibovytska

*The Precarpathian National University after Vasyl Stefanyk  
201, Galytska St., Ivano-Frankivsk 76008, Ukraine  
e-mail: nataly.glibovytska@gmail.com*

The effect of urban environment on the vegetative and generative organs mass and fruiting intensity of *Tilia cordata* L. was studied. These findings demonstrate that the weight of fresh and dry leaves, fruits, fruit compounds, bracts is declined and the number of fruits in the fruit compound in the small-leaved linden plants in different functional areas of Ivano-Frankivsk is reduced in relation to control. The area of industrial facilities and transportation routes of urboecosystem is characterized by the largest anthropogenic pressure. The perspectives of vegetative and generative organs mass index and fruiting intensity using of *Tilia cordata* L. species as informative features in the implementation of complex bioindication research of areas under anthropogenic stress are reasonable.

*Keywords:* *Tilia cordata* L., urboecosystem, leaves and generative organs weight, fruiting intensity, bioindication.

### ВЛИЯНИЕ УРБАНИЗИРОВАННОЙ СРЕДЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЛОДОНОШЕНИЯ И МАССУ ВЕГЕТАТИВНЫХ И ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ ЛИПЫ СЕРДЦЕЛИСТНОЙ (*TILIA CORDATA* L.)

Н. Глібовицька

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
ул. Галицька, 201, Івано-Франківськ 76008, Україна  
e-mail: nataly.glibovytska@gmail.com*

Обнаружено влияние урбанизированной среды на массу вегетативных и генеративных органов и интенсивность плодоношения *Tilia cordata* L. Результаты исследования свидетельствуют о снижении массы свежего и сухого материала листьев, плодов, соплодий, крылаток и уменьшение количества плодов соплодий у растений липы сердцелистной в разнофункциональных зонах города Ивано-Франковска

---

относительно контроля. Зона действия промышленных комплексов и транспортных путей урбоэкосистемы характеризуется наибольшим антропогенным прессингом. Обоснована перспективность использования показателя массы вегетативных и генеративных органов и интенсивности плодоношения вида *Tilia cordata* L. как информативных признаков в осуществлении комплексных биоиндикационных исследований территорий в условиях техногенной нагрузки.

*Ключевые слова:* *Tilia cordata* L., урбоэкосистема, масса листьев и генеративных органов, интенсивность плодоношения, биоиндикация.



## МЕХАНІЗМИ САМОВІДНОВЛЕННЯ ПОПУЛЯЦІЙ ЗЕМНОВОДНИХ У ВИСОКОГІР'Ї УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ

О. Решетило

*Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна  
Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: reshetylo@yahoo.com*

Найчисленнішим видом земноводних у високогір'ї Українських Карпат є тритон карпатський, а евритопні ропуха сіра та жаба трав'яна трапляються нечасто. Розмірна (вікова) структура популяцій тритона карпатського є нормальною, що свідчить про сприятливі передумови для їх самовідновлення. Екологічна щільність і статева структура популяцій карпатського й альпійського тритонів забезпечують їх самовідновлення за умов різних високогірних оселищ (калюж і озер). Встановлено, що перевага репродуктивних механізмів самовідновлення популяцій типово гірських видів земноводних, порівняно з евритопними, виявляється за настання несприятливого гідроперіоду. Одержані результати вказують на відносно невелику площу території, яка здатна забезпечити основні життєві потреби популяцій хвостатих земноводних у високогір'ї, а наявність передумов і можливостей для безпечного переміщення особин досліджуваних видів земноводних суходолом є вагомим механізмом забезпечення самовідновлення їх популяцій.

*Ключові слова:* земноводні, високогір'я, популяція, самовідновлення, Українські Карпати.

Одним із ключових показників успішного існування популяцій є їх самовідновлення. Самовідновлення популяцій є важливою характеристикою, яка вказує на здатність популяцій до тривалого існування в часі [5]. Одним із важливих чинників для самовідновлення популяцій тварин є їхня здатність до переміщення у просторі. Найбільш характерними переміщеннями тварин у просторі, зокрема хребетних, є сезонні міграції. Саме під час міграцій особини стикаються з багатьма екологічними чинниками – як природними, так і антропогенними, частина з яких може мати вирішальне значення для самовідновлення їх популяцій. Таким чином, пізнання міграційних процесів, чинників загроз існуванню особин і процесів їх відтворення є надзвичайно актуальним завданням екології тварин. Типовими об'єктами для такого пізнання є, перш за все, більшість нижчих хребетних (риби, земноводні), а також деякі вищі хребетні тварини [2, 4, 7–9].

### Матеріали та методи

Одними з оптимальних об'єктів для дослідження процесів самовідновлення популяцій тварин в умовах високогір'я Українських Карпат є земноводні, яких вивчали в різних типах водойм із різним характером і ступенем антропогенної трансформації. Ці водойми, а саме низка тимчасових водойм (калюж) і озер Черногори та Свидівця є популяційними центрами земноводних, тобто центрами відтворення їхніх популяцій. Дослідження популяцій земноводних проводили як на заповідних територіях Карпатського національного природного парку та Карпатського біосферного заповідника, так і на прилеглих до них ділянках, де антропогенний вплив на них виявляється більшою мірою (рис. 1).

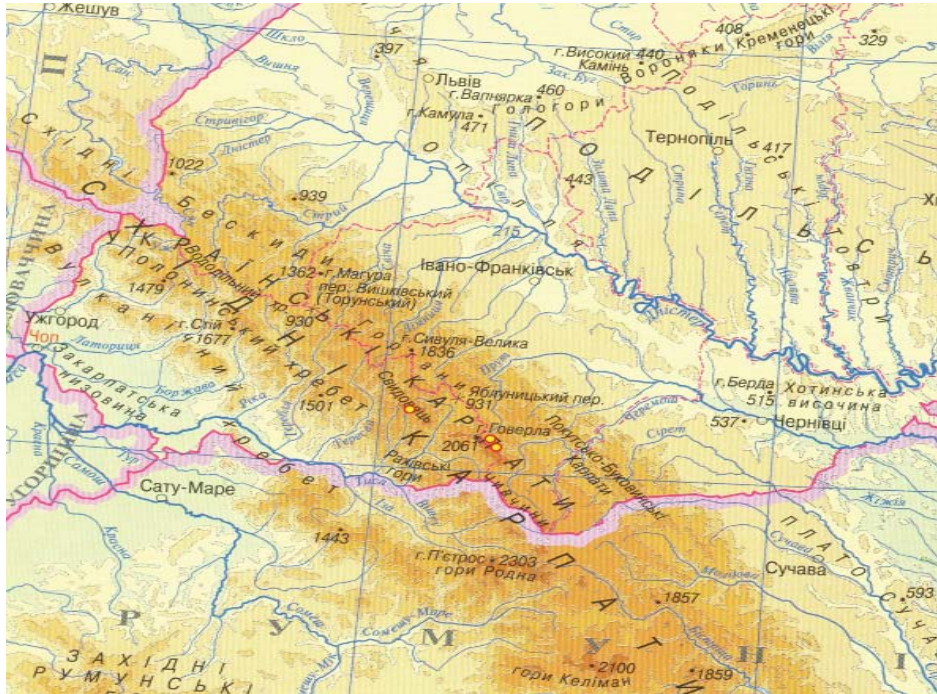


Рис. 1. Розташування досліджуваних ділянок у високогір'ї Українських Карпат.

Збір матеріалу для встановлення якісного і кількісного складу популяцій земноводних здійснювали згідно з загальноприйнятими в герпетології методиками у сезон їхньої активності (травень-серпень) упродовж 2009–11 рр. [1, 3].

### Результати і їхнє обговорення

Загалом у досліджуваному регіоні високогір'я Українських Карпат встановлено наявність п'яти видів земноводних: тритон карпатський (*Lissotriton montandoni* Boulenger, 1880), тритон альпійський (*Ichthyosaura alpestris* Laurenti, 1768), кумка гірська (*Bombina variegata* Linnaeus, 1758), ропуха сіра (*Bufo bufo* Linnaeus, 1758), жаба трав'яна (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758).

Тритон карпатський, тритон альпійський і кумка гірська є видами, занесеними до Червоної книги в Україні [6], проте, незважаючи на червонокнижний статус зазначених представників хвостатих земноводних (карпатського і альпійського тритонів), саме вони, будучи показовими гірськими видами, чисельно домінують у батрахоугрупованнях досліджуваного регіону. Так, під час проведених обліків у досліджуваних водоймах встановлено, що найчисленнішим серед них видом у високогір'ї Чорногори є карпатський тритон, щільність локальних популяцій якого становить 5–6 дорослих ос./м<sup>2</sup> водойм астатичного типу, а статева структура загалом близька до рівного співвідношення самців і самок, хоча нерідко спостерігаються неістотні відхилення в бік переважання самців, що, зрештою, є характерним для земноводних, особливо в час парування. Альпійський тритон також часто трапляється у водоймах такого типу, проте щільність його популяцій є меншою і не перевищує 1–3 ос./м<sup>2</sup>; статева ж структура – ідентична до популяцій тритона карпатського.

Натомість ропуха сіра та жаба трав'яна, будучи фоновими видами не лише в Україні, а й на більшій території своїх значних видових ареалів, трапляються у складі високогірних

угруповань земноводних нечасто. У зв'язку з цим слід відзначити значну пристосованість і невибагливість згаданих гірських видів земноводних до умов існування у високогір'ї, зокрема до водних оселищ, якими найчастіше є невеликі калюжі, тоді як для євритопних видів (ропуха, жаба) такі умови існування можна визнати екстремальними (рис. 2).

У високогірних озерах (Доґяска, Несамовите й інші) також встановлено значну чисельну перевагу особин карпатського тритона, порівняно з альпійським. Проте, на відміну від водойм астатичного типу, екологічна щільність популяцій тритона карпатського є дещо нижчою – 2–3 ос./м<sup>2</sup>, що, на нашу думку, зумовлено відповідним типом цих водойм, їхніми розмірами, глибиною, температурою води та мікрокліматичними умовами в них (рис. 3).



Рис. 2. Тимчасові високогірні водойми – типові оселища гірських видів земноводних.



Рис. 3. Озеро Доґяска – водне оселище популяції тритона карпатського *Lissotriton montandoni* у високогір'ї Свидівця.

Аналіз розмірної (вікової) структури популяцій карпатського тритона з високогірних озер показав її збалансованість, що може свідчити про задовільний стан цих популяцій, а відтак і про сприятливі передумови для їхнього самовідновлення (рис. 4).

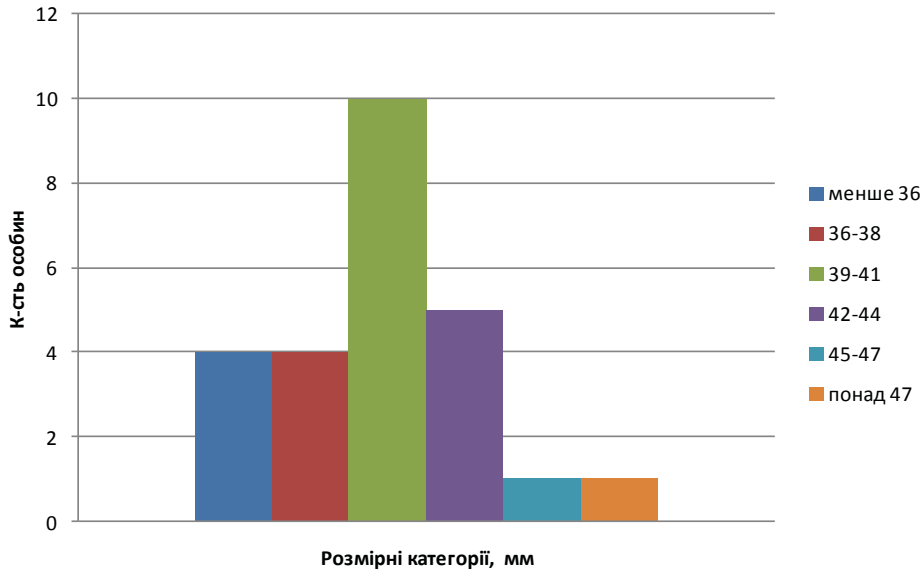


Рис. 4. Розмірна структура популяційної вибірки тритона карпатського з оз. Догяска.

Таким чином, із наших досліджень випливає, що встановлені відповідні значення екологічної щільності популяцій і статевого співвідношення особин карпатського й альпійського тритонів є оптимальними за умов різних високогірних оселищ (калюж і озер), достатньо мірою забезпечуючи самовідновлення локальних популяцій хвостатих земноводних, які, за нашими багатолітніми спостереженнями, щосезону існують і розмножуються у цих водоймах (Решетило, неопубл. дані).

Стосовно видів безхвостих земноводних (*Anura*), які й екологічно, і біологічно, порівняно з хвостатими земноводними (*Caudata*), мають значно більшу прив'язаність до наземних оселищ протягом сезону, можемо говорити лише про їхню відносну щільність у водних оселищах астатичного типу, оскільки значних скупчень дорослих особин, зокрема й під час періоду розмноження, зафіксовано не було. Отже, щільність геміпопуляцій (сукупність особин популяції на личинковій стадії розвитку) кумки гірської становить 60 ос./м<sup>2</sup>, ропухи сірої – бл. 50 ос./м<sup>2</sup>, а жаба трав'яна демонструє проміжні показники щільності – 50–60 ос./м<sup>2</sup>. Таким чином, незважаючи на значні відмінності екологічних особливостей досліджуваних видів земноводних, їхня щільність у водоймах є майже однаковою, що, найімовірніше, зумовлено екологічними умовами, екологічною ємністю середовища їхнього існування, а також адаптивним механізмом уникнення конкуренції поміж потомством на час їхнього метаморфозу, оскільки личинки зазначених видів переважно не трапляються одночасно у тих самих водоймах астатичного типу (рис. 5).

Оскільки найуразливішим етапом онтогенезу земноводних є саме личинкова стадія, яка найбільше потерпає від хижаків (личинки водяних комах, зокрема личинки бабок тощо), біотичний чинник хижацтва має неабияке значення під час встановлення механізмів самовідновлення популяцій земноводних. Одним зі способів протидії тискові хижаків, зокрема у високогірних популяціях тритонів, є перебування дорослих особин (переважно

самок) у нерестовій водоймі протягом усього часу личинкової стадії розвитку потомства аж до моменту закінчення метаморфозу, регулюючи таким чином чисельність хижаків (безхребетних), чого не спостерігаємо в популяціях безхвостих земноводних, плодючість яких, натомість, є значно вищою порівняно з хвостатими земноводними.



Рис. 5. Личинки жаби трав'яної *Rana temporaria* у високогірній водоймі астатичного типу.

Ще однією з вагомих адаптацій земноводних до існування в кліматичних умовах високогір'я є різна видова стратегія у відкладанні ікри. Вона полягає у здатності самок відкладати або всю ікру відразу (сіра ропуха, трав'яна жаба), або ж порціями протягом сезону (тритони карпатський і альпійський, кумка гірська). Такий механізм забезпечує краще пристосування монтанних видів земноводних до гідрокліматичних умов високогір'я і, відповідно, забезпечує краще самовідновлення їх популяцій, адже, володіючи такими фізіологічними особливостями, ці види мають можливість відкладати ікру саме там і саме тоді, де й коли кількість вологи є достатньою для її розвитку. У той же час розвиток ікри безхвостих амфібій, відкладеної відразу і в одному місці, може бути під загрозою, якщо кліматичні умови на час метаморфозу не будуть сприятливими (наприклад, висихання калюж і загибель личинок унаслідок цього). Таким чином, перевага репродуктивних механізмів самовідновлення популяцій типово гірських видів земноводних має здатність виявлятися за умови настання несприятливого гідроперіоду.

Помітне місце в контексті самовідновлення популяцій земноводних займають сезонні переміщення (міграції), адже для повноцінного функціонування популяцій особини мають чергувати репродуктивні, харчові й зимові оселища протягом сезону. Якщо два останні є важливими, перш за все, для самопідтримання самих особин, то репродуктивні оселища, а також міграційні шляхи, пов'язані з ними, мають вагоме значення для

самовідновлення популяцій, адже тільки тут формується приріст популяцій досліджуваних видів земноводних.

На прикладі популяцій найчисленніших видів земноводних високогір'я – тритона карпатського і альпійського – вдалося встановити кілька важливих адаптивних механізмів, пов'язаних із їхнім просторовими переміщеннями. Зокрема, інтенсивність переміщень особин суходелом різко зростає у присмеркову й темну пору доби, особливо влітку, причому серед них кількісно переважають самки, тоді як у світлу пору доби таких переміщень не було зафіксовано взагалі, а з-поміж особин, які на цей час виявились у водоймах активнішими й, відповідно, більш помітними, були самці. Такий механізм зумовлений як фізіологічно (повітря вночі вологіше, що має неабияке значення для земноводних), так і етологічно (особини, що переміщуються суходелом у темну пору доби, є менш помітними для потенційних хижаків). Окрім цього, визначення домінуючих міграційних напрямків, а відтак, точна локалізація кількох місць зимівлі особин тритона карпатського в одному з досліджуваних локалітетів Чорногори вказує на відносно невелику відстань, яку доводиться їм долати, здійснюючи найтриваліші у життєвому циклі амфібій репродуктивні чи гібернаційні (осінні) міграції. Результати наших спостережень свідчать про те, що відстані від репродуктивної водойми до місця зимівлі становлять від 30 до 150 м, а їхній напрямок, перш за все, залежить від придатного сховку (наприклад, нагромадження каміння, порожнини між корінням дерев, щілини у підмурівках будівель, стоси дров тощо). Подібний висновок можемо зробити і стосовно популяції тритона карпатського в оз. Несамовитому, де значна частина особин популяції зимує під камінням на схилах льодовикового кару, в якому розташоване озеро (міграційні відстані особин виду в цьому оселищі не перевищують 50–100 м). Таким чином, одержані результати вказують на відносно невелику площу території, яка здатна забезпечити основні життєві потреби популяції хвостатих земноводних у високогір'ї Українських Карпат.

Беручи до уваги вищу наземну активність і рухливість особин жаби трав'яної та ропухи сірої, які, на відміну від тритонів альпійського й карпатського, значно більше часу протягом сезону проводять поза водоймами, радіуси їхніх міграцій удвічі-втричі перевершують міграційні можливості тритонів. Це теоретично має давати їм кращі шанси для самовідновлення популяцій, адже, будучи більш активними, покриваючи більші території, проводячи більше часу поза водоймами, вони знаходять більш придатні умови й оселища для існування. Це, зрештою, підтверджується їхньою евритопністю і відсутністю будь-яких охоронних статусів практично по всій Європі, проте ця популяційна перевага нівелюється їхньою нечисленністю у високогір'ї Українських Карпат, оскільки, як ми вже вказували, ропуха сіра й жаба трав'яна перебувають тут в екстремальних умовах на межі своїх видових ареалів. Отже, як показують результати наших спостережень, наявність передумов і можливостей для безпечного переміщення особин земноводних суходелом, незалежно від його фактичної дальності, є вагомим механізмом забезпечення самовідновлення їх популяцій.

Підсумовуючи, слід зазначити, що чим більш різномірною (гетерогенною) і численною є популяція земноводних у високогір'ї, тим більший потенціал вона має, а відтак, у неї спостерігаються більш стабільні й різноманітні механізми самопідтримання, що, відповідно, дає вищі шанси на тривале існування за екстремальних умов високогір'я Українських Карпат, яке забезпечується, зокрема, придатними умовами для розмноження і розвитку, достатністю простору та поживи для існування, доступністю й безпечністю місць зимівель, а також незначним ступенем трансформації та фрагментації природних оселищ.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Измерение и мониторинг биологического разнообразия: стандартные методы для земноводных / пер. с англ. М.: Изд-во КМК, 2003. 380 с.
2. *Ищенко В. Г.* Жизненный репродуктивный успех и структура популяции остромордой лягушки (*RANA ARVALIS* NILSS., 1842). Нетрадиционное решение общей задачи // Современная герпетология. 2007. Т. 7. Вып. 1/2. С. 76–87.
3. Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. К.: Наук. думка, 1989. 172 с.
4. *Смірнов Н. А.* Антропічні фактори загибелі земноводних і плазунів у Чернівецькій та суміжних областях України // Молодь і поступ біології: збірник тез IV Міжнар. наук. конф. студентів та аспірантів (7–10 квітня 2008 р., м. Львів). Львів, 2008. С. 225–226.
5. *Царик Й.* Самовідновлення популяцій за різних умов їхнього росту // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 53. С. 94–99.
6. Червона книга України. Тваринний світ / ред. І.А. Акімов. К.: Глобалконсалтинг, 2009. С. 382–383, 385.
7. *Elzanowski A., Ciesiolkiewicz J., Kaczor M.* et al. Amphibian road mortality in Europe: a meta-analysis with new data from Poland // Eur. J. Wildl. Res. 2009. Vol. 55. P. 33–43.
8. *Kusak J., Huber D., Gomercic T.* et al. The permeability of highway in Gorski kotar (Croatia) for large mammals // Eur. J. Wildl. Res. 2009. Vol. 55. P. 7–21.
9. *Orlowski G., Nowak L.* Road mortality of hedgehogs *Erinaceus* spp. In farmland in Lower Silesia (South-Western Poland) // Pol. J. Ecol. 2004. Vol. 52. N 3. P. 377–382.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.13

прийнята до друку 23.04.13

## THE MECHANISMS OF AMPHIBIA POPULATIONS' SELF-RENEWAL IN THE HIGH-MOUNTAINS OF UKRAINIAN CARPATHIANS

O. Reshetylo

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine  
Ivan Franko Lviv National University  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: reshetylo@yahoo.com*

Carpathian Newt is the most numerous amphibian species in the high-mountains of Ukrainian Carpathians while eurytopic Common Toad and Common Frog are rare in occurrence. The size (age) structure of Carpathian Newt populations is normal what is the evidence of favorable prerequisites for their self-renewal. The ecological density and sex structure of Carpathian newt and Alpine newt ensure their self-renewal under the different high-mountain habitat conditions (puddles and lakes). It is ascertained that the advantage of reproductive mechanisms of population self-renewal of the typically mountain species of amphibians in comparison with eurytopic ones is revealed under the unfavorable hydroconditions. The obtained results point out the moderate square territory, which is able to support the main vital needs of the populations of tailed amphibians in the high-mountains. The availability of prerequisites and possibilities for the safe land migrations of individuals of

the investigated amphibian species is a significant mechanism for the ensuring self-renewal of their populations.

*Keywords:* amphibians, high-mountains, population, self-renewal, Ukrainian Carpathians.

## **МЕХАНИЗМЫ САМОВОЗОБНОВЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЗЕМНОВОДНЫХ В ВЫСОКОГОРЬЕ УКРАИНСКИХ КАРПАТ**

**О. Решетило**

*Институт экологии Карпат НАН Украины*

*ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина*

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко*

*ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

*e-mail: reshetylo@yahoo.com*

Самым многочисленным видом земноводных в высокогорье Украинских Карпат является тритон карпатский, а эвритопные жаба серая и лягушка травяная встречаются нечасто. Размерная (возрастная) структура популяций тритона карпатского является нормальной, что свидетельствует о благоприятных предпосылках их самовозобновления. Экологическая плотность и половая структура популяций карпатского и альпийского тритонов обеспечивают их самовозобновление в условиях различных высокогорных местообитаний (луж и озер). Установлено, что преимущество репродуктивных механизмов самовозобновления популяций типично горных видов земноводных, по сравнению с эвритопными, проявляется при наступлении неблагоприятного гидропериода. Полученные результаты указывают на относительно небольшую площадь территории, которая способна обеспечить основные жизненные потребности популяций хвостатых земноводных в высокогорье, а наличие предпосылок и возможностей безопасного перемещения особей исследованных видов земноводных по суше является существенным механизмом обеспечения самовозобновления их популяций.

*Ключевые слова:* земноводные, высокогорье, популяция, самовозобновление, Украинские Карпаты.



## ЗАПАСИ Й ЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД ОПАДУ ТА ПІДСТИЛКИ В ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМАХ СТРИЙСЬКО-СЯНСЬКОЇ ВЕРХОВИНИ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

**В. Рожак, В. Козловський\***

*Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна  
e-mail: vkozlovskyu@gmail.com*

Річний опад (4–8 ц/га) і запаси підстилки (10–25 ц/га) в досліджених деревостанах перебувають у межах, характерних для лісів Європи. Вміст досліджених зольних елементів у опаді та підстилці пропорційний до загальної кількості річного опадів і запасів підстилки, за винятком 30-річного смеречника, де об'єм циклу хімічних елементів виявився відносно вищим. Показники опадопідстилкового коефіцієнта (ОПК) перебувають у межах 2–4, що свідчить про загальмований рівень інтенсивності розкладання підстилки. Для більшості елементів (Na, Ca, Mg, Cu, Sr, Zn, Mg, Co, Pb) значення ОПК коливається в межах, які відповідають загальмованому типу кругообігу; інтенсивність кругообігу К змінюється від інтенсивного до загальмованого, Fe, Mn, Al – від сильнозагальмованого до застійного.

*Ключові слова:* підстилка, опад, інтенсивність кругообігу, зольні елементи.

Формування підстилки і її деструкція – ключова ланка кругообігу в природних екосистемах, що забезпечує переміщення хімічних елементів від живої біомаси до ґрунту. Дослідження темпів кругообігу через опадопідстилкові коефіцієнти (ОПК) є потенційним способом оцінки змін у екосистемах, пріоритетним засобом з точки зору можливості аналізувати хід кругообігу, визначати зміни в окремих ланках, і впливати на його перебіг практичними заходами. Знання про кругообіг елементів між автотрофним блоком і ґрунтом через опад є одним із фундаментальних аспектів для адекватного управління лісовим господарством [30].

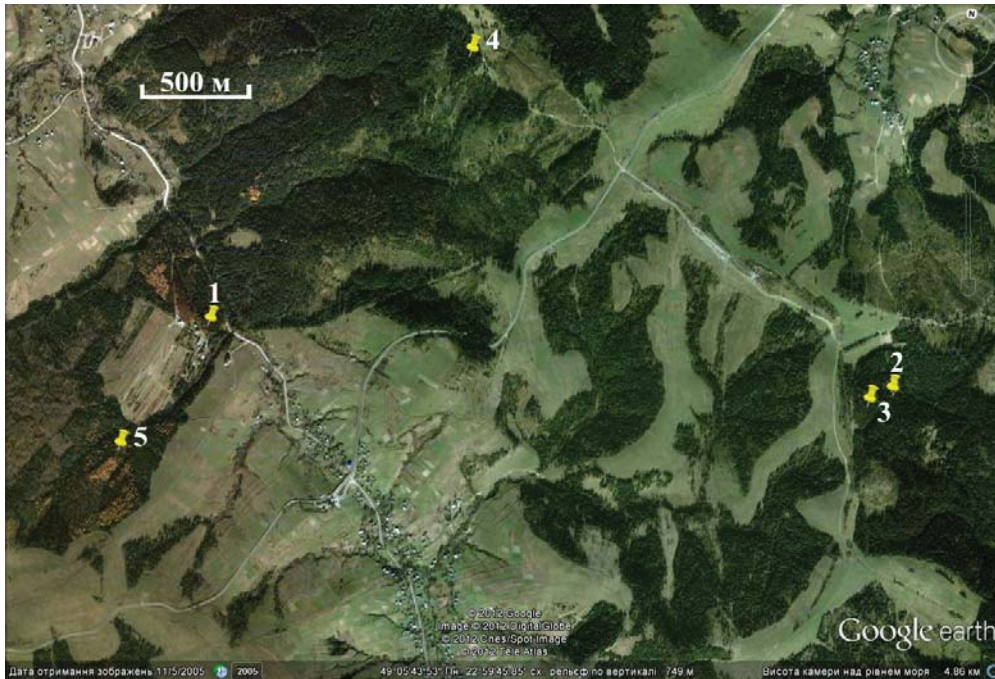
Метою цього дослідження було встановити особливості біогеохімічного кругообігу основних мікро- та макроелементів у типових лісових екосистемах Стрийсько-Сянської верховини через їх накопичення у ґрунті, підстилці й опаді.

### **Об'єкти, матеріали та методи дослідження**

Стрийсько-Сянська верховина Вододільно-Верховинської фізико-географічної області Українських Карпат, відповідно до геоботанічного районування [12], належить до району смереково-букових і ялицево-смереково-букових лісів. Моніторингові ділянки локалізовані в межах двох кварталів (8, 38) підприємства “Боринське ЛГ” Львівського ОУЛМГ і розташовані в межах висот 658–775 м н.р.м. (табл. 1, картосхема). Вибір пробних площ зумовлений їх типовістю для лісів Стрийсько-Сянської верховини. Досліджувані лісостани утворюють ряд від корінних (умовнокорінних) угруповань (площа 2) через смеречники на місці вирубаних корінних лісів (площі 1, 4, 5) до смеречників на землях, які використовувались як орні (площа 3). Площі лежать на ґрунтах зі схожими фізико-хімічними властивостями й елементним складом (табл. 2).

Динаміку рослинного опадів досліджували протягом вегетаційного періоду з травня по листопад 2010 року зі щомісячним відбором зразків. Для визначення надходження опадів на кожній ділянці було закладено по 10 опадовловлювачів площею 1 м<sup>2</sup> кожен. Підстилку

відбирали за допомогою шаблона 25x25 см у 10-кратній повторності [10]. Опад і підстилку розділяли й аналізували за основними фракціями (листя, хвоя, гілки, плоди, детрит).



**Картосхема.** Розташування моніторингових ділянок на території Боринського лісгоспу (1 – буково-дубовий смеречник зеленчуково-шорсткоожининовий, вік – 50 років; 2 – буково-смерековий яличник ліщиново-шорсткоожининово-папоротевий, вік – 110 років; 3 – ялицево-буковий смеречник мертвопокривний, вік – 30 років; 4 – ялицевий смеречник шорсткоожининовий, вік – 70 років; 5 – буковий смеречник папоротево-шорсткоожининовий, вік – 45 років), 2010 рік.

Таблиця 1

Географічне розташування та породний склад лісостанів пробних площ

Угрупування	Формула лісостану, бонітет, повнота	Вік, роки	Експозиція, крутизна схилу, висота н.р.м.	Координати
1. Буково-дубовий смеречник зеленчуково-шорсткоожининовий	См6Д3Бк1 Ia; 0.83	50	Пн.-Сх., 3-5°, 658 м н.р.м.	49°05'40,52" пн. ш. 22°58'34,92" сх.д.
2. Буково-смерековий яличник ліщиново-шорсткоожининово-папоротевий	Ял8См1Бк1 Ia; 0.81	110	Сх., 8-10°, 769 м н.р.м.	49°05'42,26" пн. ш. 23 01' 16,41" сх.д.
3. Ялицево-буковий смеречник мертвопокривний	См4Бк4Яц2 Ia; 0.87	30	Сх., 3-5°, 775 м н.р.м.	49°05'40,13" пн. ш. 23°01'11,53" сх.д.
4. Ялицевий смеречник шорсткоожининовий	См6Ял4 Ia; 0.89	70	0°, 730 м н.р.м.	49°06'26,57" пн. ш. 22°59' 29,87" сх.д.
5. Буковий смеречник папоротево-шорсткоожининовий	См9Бк1 Ia; 0.78	45	Пн.-сх. 2-4° 687 м н.р.м.	49°05'19,36" пн. ш. 22°58'17,61" сх.д.

Із зразків ґрунту, відібраних за генетичними горизонтами відповідно до української номенклатури [1], виділяли дрібнозем (фракція < 1.0 мм), де визначали актуальну кислотність (рН) потенціометрично у водній витяжці, використовуючи співвідношення ґрунт: розчин 1:2,5, гумус – спектрофотометрично за Тюрнім [8]. Підготовку ґрунтових

зразків до аналізу на валовий вміст металів здійснювали обробкою попередньо прожареної за 450°C проби ґрунту сумішшю HCl та HNO<sub>3</sub> у співвідношенні 3:1. Проби повітряно-сухого матеріалу підстилки й опадів озолляли за температури 450°C. Одержану золу розчиняли розведеною 1:1 HNO<sub>3</sub> [7]. Метали визначали атомно-абсорбційним методом у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції. Визначення проводили у трьох повторностях. Відносна похибка визначення за P=95% не перевищувала 7%.

Таблиця 2

Вміст хімічних елементів у ґрунтах лісових екосистем Стрийсько-Сянської верховини (Українські Карпати, 17.08.2010)

Горизонт, см	pH H <sub>2</sub> O/KCl	C %	мкг/г							мг/г				
			Zn	Cd	Co	Pb	Cu	Mn	Sr	Fe	K	Na	Ca	Mg
Бурозем лісовий неглибокий середньосуглинковий (буково-дубовий смеречник зеленчуково-шорсткоожинний, вік – 50 років)														
H (3-16)	3.6/4.4	3.7	61.6	0.28	3.6	19.2	14.5	268	71	12.7	3.1	2.0	1.3	4.9
Hp (16-47)	3.7/4.4	0.8	63.5	0.13	4.3	15.8	18.1	277	81	17.0	3.5	2.4	4.0	4.1
Ph (47-67)	3.9/5.1	0.4	66.3	0.20	4.1	14.2	24.8	299	90	19.5	3.3	4.4	12.0	8.9
Бурозем лісовий неглибокий середньосуглинковий (буково-смеречовий яличник ліщиново-шорсткоожинно-папоротевий, вік – 110 років)														
H (4-17)	3.8/4.5	3.6	59.7	0.17	3.1	20.8	12.2	162	65	13.6	3.9	2.6	1.3	4.1
Hp (7-48)	3.9/4.7	0.7	65.3	0.17	3.3	12.5	15.4	184	77	14.8	3.7	2.5	1.3	4.9
Ph (48-76)	4.2/5.0	0.4	63.5	0.17	3.3	11.7	17.2	190	70	11.9	3.0	2.7	2.7	4.9
Бурозем лісовий неглибокий середньосуглинковий глеюватий (ялицево-буковий смеречник мертвопокровний, вік – 30 років)														
H (3-9)	4.1/4.2	2.3	52.3	0.28	2.4	17.5	8.6	128	53	7.6	3.5	4.6	4.0	4.1
Hp (9-27)	4.2/4.8	0.4	52.3	0.14	2.4	10.8	10.4	118	63	10.7	4.1	6.0	13.4	6.5
Ph (27-40)	4.1/4.5	0.3	51.3	0.14	2.6	10.0	10.4	103	63	11.0	3.8	6.1	10.7	6.5
Ph (40-68)	-	-	53.2	0.28	3.6	10.0	12.6	177	71	13.6	3.5	5.2	1.3	4.9
Бурозем неглибокий середньосуглинковий торфуватий (ялицевий смеречник шорсткоожинний, вік – 70 років)														
Hт (3-8)	3.2/4.2	6.5	44.8	0.16	1.4	20.0	6.8	62	49	9.3	3.7	4.7	1.3	8.1
Hp (8-23)	3.8/4.4	2.3	59.7	0.16	1.9	18.3	11.3	78	68	13.6	3.9	3.1	1.3	5.7
Hp (23-50)	3.9/4.7	0.8	63.5	0.20	3.3	13.3	15.8	233	74	16.5	3.5	4.2	13.4	6.5
Ph (50-71)	4.1/4.8	0.4	37.3	0.17	2.9	12.5	11.3	93	88	9.3	2.9	3.0	16.0	8.9
Бурозем лісовий неглибокий середньосуглинковий (буковий смеречник папоротево-шорсткоожинний, вік – 45 років)														
H (3-17)	4.2/3.5	3.6	46.7	0.11	2.4	20.0	9.5	75	58	11.0	4.7	3.2	1.3	4.1
Hp (17-52)	4.3/3.5	0.9	51.3	0.14	3.1	13.3	13.5	146	67	16.6	3.7	3.3	2.7	3.2
Ph (52-72)	4.6/4.0	0.5	51.3	0.13	3.3	12.5	15.8	140	71	16.1	3.3	3.3	1.3	3.2

#### Результати і їхнє обговорення

Опад і формування підстилки – ключові ланки системи кругообігу речовини в лісовій екосистемі [6, 27]. Кількісна оцінка потоку речовини з опадом, у якому може міститися до половини всієї кількості зольних елементів біомаси хвойного лісу [5], має важливе значення для розуміння динаміки екосистем, стан яких залежить від адекватного мі-

нерального кругообігу, що забезпечує потребу в мінеральних елементах навіть коли їхня кількість у ґрунті є мінімальна. Кількість опаду залежить передусім від фізико-хімічних властивостей ґрунту, видового складу деревостану, бонітету, щільності й зімкненості крон [4]. Очевидно, що в гірських умовах необхідно брати до уваги ще й висоту над рівнем моря та експозицію схилу, де розташована досліджувана площа. Величина опаду змінюється і з віком насадження – максимальний опад (як і приріст) характерний для 40–50-річних насаджень, однак максимум може зсуватися у більш пізні періоди розвитку для низькобонітетних насаджень. Надалі, з віком, величина опаду поступово зменшується [11]. Маса опаду у всіх типах хвойних угруповань зменшується від південних до північних і від рівнинних областей до гірських. Маса листяного опаду смерекових лісів (хвоя, дрібні гілки, насіння) в межах одного й того ж місцезростання порівняно з ялицевими і мішаними деревостанами нижча. Домішка листяних порід у складі хвойних деревостанів та ускладнення структури насаджень сприяє збільшенню маси опаду [9, 11].

Кількість опаду в цілому по всіх угрупованнях лісів помірної зони перебуває в межах 2–10 т/га [11]. Для хвойних лісів кількість опаду становить 2–7 т/га зі середніми значеннями 3–4 т/га. Кількість опаду для букових деревостанів у Європі за даними різних авторів коливається в достатньо широких межах – 3270–3370 кг/га [19], 1570–2860 кг/га [16], 2000–2700 кг/га [17], 2600 кг/га [18], до 2900 кг/га [19], 3106–5366 кг/га [28], 3000–3400 кг/га [22], 3052–3580 кг/га [24], 3197–7990 кг/га [23]. У Чорногірському масиві Українських Карпат встановлена кількість річного опаду становить 3100–3920 кг/га, при цьому маса опаду в похідних деревостанах знижується до 2537–2789 кг/га [15]. За іншими даними, річний опад у поясі смерекових лісів Чорногори становить 2340–5370 кг/га [13]. У поясі букових лісів Східних Карпат загалом – 3600 кг/га [24].

Річний опад у досліджених лісових екосистемах становить від 4 до 8 т/га за рік (рис. 1). Така кількість опаду співставна з величинами для хвойних (1,5–7,0 т/га) і широколистяних лісів Євразії (4,0–10,0 т/га) [11]. Найбільша частка у загальній масі опаду припадає на хвою та листя – 65–80% середньорічного надходження, частка дрібних гілок становить 20–25%, кількість інших фракцій (шишки, насіння та ін.) не перевищує кількох відсотків від загальної маси. Основна частина опаду в досліджуваних фітоценозах утворюється в період від квітня до листопада включно, що становить 65–80% від річного надходження.

Потужність підстилки, швидкість її розкладання та вивільнення хімічних елементів залежить від типу лісу, його віку, повноти деревостану, кліматичних умов, особливостей едафотопу (ґрунтові умови, водний і тепловий режим і т. д.), участі у складі деревостану, крім хвойних, листяних порід, наявності або відсутності трав'яного чи мохового покриву, кількості річного опаду.

Кількість підстилки, як і опаду, в лісових екосистемах змінюється в широких межах. Так, у бореальних лісах запаси підстилки становлять від 15 до 78 т/га [3], у хвойних лісах Євразії – 10–70 т/га [11]. В Українських Карпатах у поясі смерекових лісів Чорногори запаси підстилки становлять 10–30 т/га, в окремих угрупованнях сягаючи 50 т/га і більше [14].

За абсолютними величинами запаси підстилки в досліджених екосистемах перебувають у межах 10–25 т/га, що відповідає встановленим раніше для лісів Євразії показникам (10–70 т/га і більше) [2, 3, 11, 14]. Частка хвої та листя становить 40–60%, дрібних гілок – 30–40%, а насіння, шишки та неідентифіковані рештки (детрит) – 5–10% від загальної маси підстилки. Запаси підстилки, як і кількість річного опаду, є найвищою в угрупованнях 1, 4, 5 і найнижчою в угрупованнях 2, 3 що, очевидно, передусім пов'язано з віком лісостанів, який у першому випадку, на відміну від другого, близький до віку

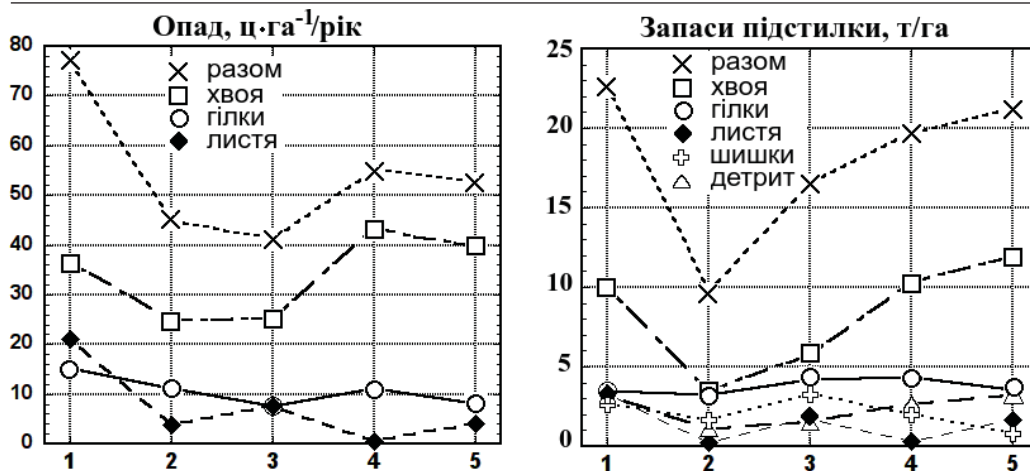


Рис. 1. Річний опад і запаси підстилки в екосистемах Стрийсько-Сянської верховини: 1 – буково-дубовий смеречник зеленуково-шорсткоожинний, вік – 50 років; 2 – буково-смерековий яличник ліщиново-шорсткоожинно-папоротевий, вік – 110 років; 3 – ялицево-буковий смеречник мертвопокровний, вік – 30 років; 4 – ялицевий смеречник шорсткоожинний, вік – 70 років; 5 – буковий смеречник папоротево-шорсткоожинний, вік – 45 років (2010 рік).

найвищої продуктивності, й від відносної участі у деревостані смереки, яка у смеречнику мертвопокровному (площа 3) є найвища (рис. 1). Наявність у деревостані листяних порід дерев також сприяє збільшенню кількості річного опадів і запасів підстилки в угрупованнях 1, 4 (за рахунок чагарникового ярусу), 5. Загалом, встановлено, що, за винятком смеречника ялицевого мертвопокровного (площа 3), запаси підстилки змінюються пропорційно до кількості річного опадів, тобто кількість опадів корелює із запасами підстилки. Закономірно, найнижча кількість річного опадів і запасів підстилки, з огляду на вік лісостану, виявилася у найменш продуктивному умовно корінному угрупованні 110-річного яличника. Сумарна кількість досліджених зольних елементів, депонованих у підстилці й опаді (об'єм циклу) цього угруповання, є також найнижчою для досліджених екосистем. Знижений вміст зольних елементів у високобонітетних повновікових лісостанах відзначали ще Родин та Базилевич (1965). Відносно високим, незважаючи на характерне для смерекових лісів, порівняно з ялицевими та мішаними, низьке надходження зольних елементів з опадом [10], виявився об'єм циклу елементів у 30-річному смеречнику. Особливо це стосується Zn і Cd, маса яких на 30–50% перевищує вміст у підстилці й опаді решти угруповань (рис. 2). Можливо, вирішальним став молодий вік лісостану, що призвело до інтенсивнішого накопичення хімічних елементів у фітомасі. В цілому, на основі отриманих даних про інтенсивність надходження хімічних елементів з опадом можна зробити висновок, що кальцій бере участь у кругообігу в кількості 30–50, калій – 10–20, магній – 3–8, марганець, алюміній, залізо, натрій – 0,2–1,0 кг/га за рік, стронцій, цинк – 50–200, свинець, мідь – 7–20, кадмій, кобальт – 1–8 г/га за рік відповідно. Цікаво, що за абсолютним вмістом кількості зольних елементів (Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd), які надходять у досліджені угруповання з опадом, не поступаються буковим деревостанам Ойцовського Національного Парку (Ojcowski Park Narodowy) на півдні Польщі (передгір'я Карпат) [26]. Однак, як стверджують автори, виявлена там кількість макроелементів (Ca, Mg, K), що повертаються з опадом, є суттєво меншою, ніж потребують для свого розвитку букові деревостани першого бонітету (Ca-59,0 кг/га, Mg-8,5 кг/га, K-47,7 кг/га [21]). Зважаючи на те, що потреба у хімічних елементах, які

залучаються в кругообіг у хвойних і мішаних лісах, порівняно з широколистяними, є меншою [5], дефіциту досліджуваних елементів в екосистемах Стрийсько-Сянської височини, найімовірніше, немає.

Інтенсивність розкладання підстилки є важливим фактором регулювання мас хімічних елементів, що мігрують у системі біологічного кругообігу лісових екосистем. Інтенсивність кругообігу характеризують через опадо-підстилкові коефіцієнти (ОПК = [підстилка ( $\text{г} \cdot \text{га}^{-1}$ )]/[опад ( $\text{г} \cdot \text{га}^{-1}/\text{рік}$ )]). За ОПК оцінюється швидкість розкладання мертвих органічних залишків – чим вище значення цього показника, тим слабша інтенсивність біологічного кругообігу. За Л.Є. Родіним та Н.І. Базилович (1965), якщо ОПК становить 21–50 і більше, то це свідчить про застійний тип кругообігу, 6–21 – сильно загальмований, 1,6–6 – загальмований, 0,3–1,6 – інтенсивний, 0,1–0,3 – дуже інтенсивний.

На основі досліджень, проведених у Чорногорі, в поясі смерекових лісів опадо-підстилкові коефіцієнти відповідають загальмованому типу кругообігу (ОПК=2,6–6,8), однак у чисто смерекових угрупованнях цієї частини Українських Карпат запаси підстилки можуть у більш ніж 12 разів перевищувати масу річного опадів [14, 15], що відповідає сильнозагальмованому типу кругообігу.

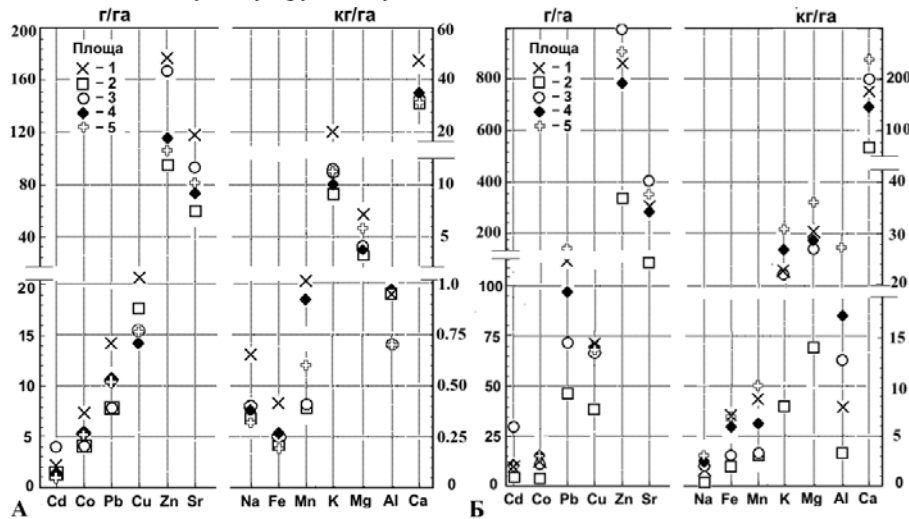


Рис. 2. Інтенсивність надходження хімічних елементів з опадом (А) та їх запаси у підстилці (Б) в екосистемах Стрийсько-Сянської Верховини. Площа: 1 – буково-дубовий смеречник зеленчуково-шорсткоожинний, вік – 50 років; 2 – буково-смерековий ялициново-шорсткоожинно-папоротевий, вік – 110 років; 3 – ялицево-буковий смеречник мертвопокровний, вік – 30 років; 4 – ялицевий смеречник шорсткоожинний, вік – 70 років; 5 – буковий смеречник папоротево-шорсткоожинний, вік – 45 років (2010 рік).

У досліджених угрупованнях показники ОПК перебувають у межах 2–4 і свідчать про загальмований рівень інтенсивності розкладання підстилки (рис. 3,А). При цьому, незважаючи на найнижчі показники річного опадів, найвищий ОПК виявився в 30-річному смеречнику, що, очевидно, зумовлено відсутністю листяних порід у його деревостані та найвищим стосовно інших угруповань розташуванням над рівнем моря. Крім того, відносне переважання в опаді та підстилці хвої також сприяло уповільненню процесів розкладання [29]. З цієї ж причини ОПК у смеречниках із високим відносним вмістом хвої в опаді та підстилці (площа 4, 5) є також вищими. Найнижчий ОПК виявився в умовно корінному ялицинку та в угрупованні буково-дубового смеречника, що, очевидно, на відміну

від трьох попередніх угруповань, пов'язано із нижчим відносним вмістом хвої смереки та наявністю в підстилці опаду дерев листяних порід, який сприяє кращому розкладанню підстилки та пришвидшенню кругообігу.

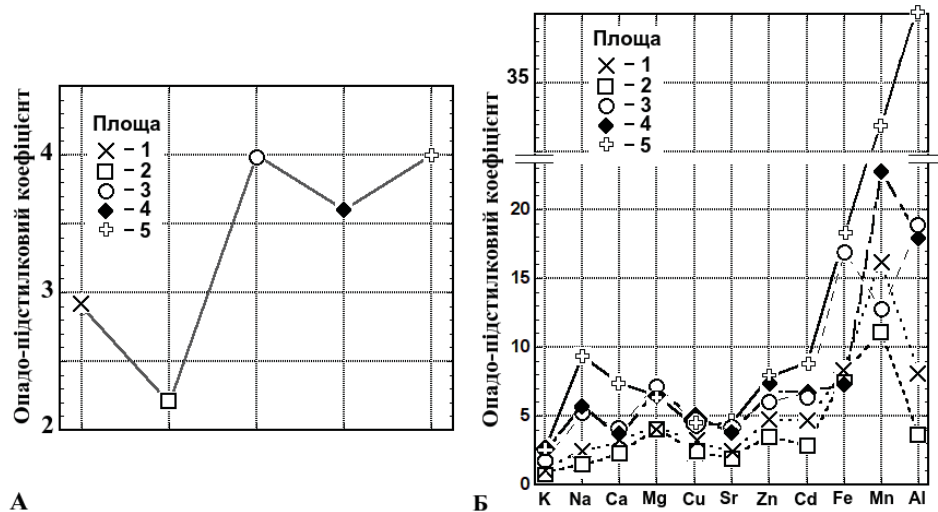


Рис. 3. А) опадо-підстилковий коефіцієнт (ОПК) ( $[\text{підстилка (г}^*\text{га}^{-1})]/[\text{опад (г}^*\text{га}^{-1}/\text{рік})]$ ); Б) ОПК хімічних елементів у екосистемах Стрийсько-Сянської верховини: [запаси елемента у підстилці ( $\text{г}^*\text{га}^{-1}$ )]/[повернення елемента з опадом ( $\text{г}^*\text{га}^{-1}/\text{рік}$ )]; ОПК для Co – <7, для Pb – <10; площа: 1 – буково-дубовий смеречник зеленчуково-шорсткоожинний, вік – 50 років; 2 – буково-смерековий яличник ліщиново-шорсткоожинно-папоротевий, вік – 110 років; 3 – ялицево-буковий смеречник мертвопокровний, вік – 30 років; 4 – ялицевий смеречник шорсткоожинний, вік – 70 років; 5 – буковий смеречник папоротево-шорсткоожинний, вік – 45 років (2010 рік).

Опадо-підстилковий коефіцієнт застосовують також для оцінки швидкості вивільнення з відмерлих рослинних залишків хімічних елементів ( $\text{ОПК} = [\text{запаси елемента у підстилці (г}^*\text{га}^{-1})]/[\text{повернення елемента з опадом (г}^*\text{га}^{-1}/\text{рік})]$ ). Інтенсивність кругообігу хімічних елементів у досліджених угрупованнях, на відміну від інтенсивності розкладання органічної речовини, змінюється в ширших межах (рис. 3,Б). Для більшості елементів (Na, Ca, Mg, Cu, Sr, Zn, Mg, Co, Pb), у всіх досліджених лісових екосистемах значення інтенсивності перебуває в межах, які відповідають загальному типу кругообігу; інтенсивність кругообігу K змінюється від інтенсивного (площа 1, 4, 5) до загального (площа 2, 3). Кругообіг Fe, Mn, Al повільніший і відповідає рівням інтенсивності від сильнозагального до застійного. Така різниця в інтенсивності кругообігу окремих хімічних елементів, очевидно, пов'язана із різною стійкістю й розчинністю новоутворених у процесі розкладання підстилки металорганічних комплексів. Загалом, за винятком умовно корінного яличника, ОПК хімічних елементів корелюють із ОПК органічної речовини – найвищі вони у смеречниках із високим відносним вмістом хвої в опаді та підстилці. У яличнику умовнокорінному, незважаючи на найвищу серед досліджених угруповань інтенсивність розкладання органічної речовини, інтенсивність кругообігу хімічних елементів виявилася відносно низькою. Можливо, це пов'язано з особливостями розкладання відмерлої органіки з відносним переважанням хвої ялиці, а можливо з особливостями функціонального стану блоку організмів деструкторів у корінних екосистемах загалом.

Річний опад у досліджених лісових екосистемах становить від 4 до 8 т/га за рік; частка хвої та листя у загальній масі листяного опаду – 65–80%, частка дрібних гілок – 20–25%, кількість інших фракцій (шишки, насіння та ін.) не перевищує кількох відсотків від загальної маси; основна частина опаду в досліджуваних фітоценозах утворюється в період від квітня до листопада включно, що становить 65–80% від річного надходження.

Запаси підстилки у досліджених лісостанах перебувають у межах 10–25 т/га; частка хвої та листя становить 40–60%, дрібних гілок – 30–40 і 5–10% від загальної маси підстилки – насіння, шишки та неідентифіковані рештки (детрит).

Запаси підстилки та річний опад є найвищими в угрупованнях, які перебувають у віці, близькому до віку найвищої продуктивності й де в деревостанах відносна участь листяних порід є вищою, а участь смереки нижчою (площа 1, 4, 5); найнижча кількість річного опаду і запасів підстилки, з огляду на вік лісостану, виявилася у найменш продуктивному умовно корінному угрупованні 110-річного яличника (площа 2).

Вміст досліджених зольних елементів у опаді та підстилці, за винятком смеречника мертвопокривного, пропорційний до загальної кількості річного опаду і запасів підстилки; відносно високим виявився об'єм циклу хімічних елементів у 30-річному смеречнику, найбільше це стосується Zn і Cd, маса яких на 30–50% перевищує вміст у підстилці й опаді решти угруповань.

У досліджених угрупованнях показники опадопідстилкового коефіцієнта (ОПК) ( $[\text{підстилка (г*га}^{-1})]/[\text{опад (г*га}^{-1}/\text{рік})]$ ) перебувають у межах 2–4, що свідчить про загальмований рівень інтенсивності розкладання органічної речовини підстилки; незважаючи на найнижчі показники річного опаду, найвищий ОПК виявився в 30-річному смеречнику; найвища інтенсивність розкладання підстилки виявлена в 110-річному умовнокорінному яличнику.

Для більшості елементів (Na, Ca, Mg, Cu, Sr, Zn, Mg, Co, Pb) у всіх досліджених екосистемах значення ОПК ( $\text{ОПК} = [\text{запаси елемента у підстилці (г*га}^{-1})]/[\text{повернення елемента з опадом (г*га}^{-1}/\text{рік})]$ ) перебуває в межах, які відповідають загальмованому типу кругообігу; інтенсивність кругообігу К змінюється від інтенсивного (площа 1, 4, 5) до загальмованого (площа 2, 3); кругообіг Fe, Mn, Al відповідає рівням інтенсивності від сильнозагальмованого до застійного; у яличнику умовнокорінному, незважаючи на найвищу серед досліджених угруповань інтенсивність розкладання органічної речовини, інтенсивність кругообігу хімічних елементів виявилася відносно низькою.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Атлас почв Украинской ССР / под ред. Н.К. Крупского, Н.И. Полупана. К.: Урожай, 1979. 159 с.
2. *Базилевич Н. И.* Биологическая продуктивность экосистем Северной Евразии. М.: Наука, 1993. 293 с.
3. *Биенковский П., Титлянова А. А., Шибарева С. В.* Трансформационные процессы в подстилках бореальных лесов // Сиб. экол. журн. 2003. Т. 10. № 6. С. 707–713.
4. *Горшенин Н. М., Швиденко А. И.* Лесоводство. Львов: Вища школа, 1977. 304 с.
5. *Добровольский В. В.* Основы биогеохимии. М.: Изд. центр “Академия”, 2003. 342 с.
6. *Лукина Н. В., Никонов В. В.* Питательный режим лесов северной тайги: природные и техногенные аспекты. Апатиты: КНЦ РАН, 1998. 316 с.
7. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами. М.: Гидрометеиздат, 1981. 70 с.



8. *Никитин Б. А.* Определение содержания гумуса в почве // *Агрохимия*. 1972. Т. 3. С. 123–125.
9. *Протопопов В. В.* Средообразующая роль темнохвойного леса. Новосибирск: Наука, 1975. 327 с.
10. *Родин Л. Е., Ремезов Н. П., Базилевич Н. И.* Методические указания к изучению динамики и биологического круговорота в фитоценозах. М.: Наука, 1967. 145 с.
11. *Родин Л. Е., Базилевич Н. И.* Динамика органического вещества и биологический круговорот зольных элементов и азота в основных типах растительности Земного шара. М.: Наука, 1965. 264 с.
12. *Українські Карпати*. К.: Наукова думка, 1988. 208 с.
13. *Чернобай Ю. Н.* Подстилка и некоторые вопросы ее биогеоэкологической роли в лесах Черногоры (Украинские Карпаты): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Днепропетровск, 1978. 25 с.
14. *Чернобай Ю. М.* Трансформація рослинного детриту в природних екосистемах. Львів: ДПМ НАН України, 2000. 352 с.
15. *Шпильчак М. Б.* Еловые леса Черногоры (Восточные Карпаты), повышение их устойчивости и продуктивности: дисс. ... канд. с. х. наук. Харьков, 1984. 347 с.
16. *Bonnevie-Svedsen C., Gielms D.* Amount and chemical composition of the litter from larch, beech, Norway spruce and Scots pine stands and its effect upon the soil // *Medd. Norske Skogsfors*, 1957. Ves. 48. P. 111–174.
17. *Chalupa V.* Príspevek k poznání listové produkce bukových a dubnových porostu. *Prace Výzk. Ústavu Lesn. CSSR*. 1961. T. 23. S. 35–62.
18. *Donov V.* Über die Menge des Abfalls in den Buchen, Äspen und Heimbuchenbeständen. *Naucni Trud. Vissn Lesotekh. Inst.* 1964. T. 12. P. 33–40.
19. *Myczkowski S.* Skład florystyczny, struktura i produktywność roślinności drzewiastej płatu Fagetum carpaticum. *Zakład Ochrony Przyrody PAN, Kraków*, 1967. S. 61–93.
20. *Ebermayer E.* Die gesamte Lehre von der Waldstreu. Berlin, 1876.
21. *Ehwald E.* Ueber den Nährstoffkreislauf des Waldes // *Deutsch. Akad. Landwirtschaftswissenschaften*. 1961. Vol. 6. S. 1–56.
22. *Heller H.* Estimation of biomass of forests // *Ellenberg H. Integrated Experimental Ecology*. Berlin: Springer, 1971. P. 45–47.
23. *Kowalkowski A., Józwiak M.* Dynamika masy opadu organicznego w latach 1994–2002 w dwóch drzewostanach górskiej kwaśnej buczyny na głównym masywie Lysogór // *Regionalny Monitoring Środowiska Przyrodniczego*, 2003. T 4. S. 79–98.
24. *Kozak I.* Biomass of forest and meadow in the Eastern Carpathians // *Ekologia*, 2000. Vol 19 (1). P. 23–26.
25. *Małek S.* Structura i dynamika opadu organicznego w drzewostanie bukowym na powierzchni monitoringowej w Ojcowskim Parku Narodowym w latach 1995–2000 // *Leśne prace badawcze*, 2006. T 3. S. 71–82.
26. *Małek S., Wężyk P., Nowak W.* Analiza ilościowa i jakościowa opadu organicznego drzewostanów bukowych na powierzchniach doświadczalnych w Ojcowskim Parku Narodowym i Leśnym Zakładzie Doświadczalnym w Krynicy, w latach 1997-1998 // *Małek S., Wężyk P.* Monitorowanie procesów zachodzących w drzewostanach bukowych w zmieniających się warunkach środowiska przyrodniczego, na przykładzie Ojcowskiego Parku Narodowego i Leśnego Zakładu Doświadczalnego w Krynicy. Katedra Ekologii Lasu Akademii Rolniczej w Krakowie oraz Popradzki Park Krajobrazowy, 2000. S. 93–112.
27. *Meentmeyer V., Box E., Thompson R.* World patterns and amounts of terrestrial plant litter production // *BioScience*. 1982. Vol. 32. P. 125–128.
28. *Nielsen B. O.* Seasonal and annual variation in litter fall in a beech stand 1967–75 // *Forst. Forsogsvaesen i Danmark*. 1977. Vol. 35. P. 15–38.

29. Niewinna M. Wielkość opadu i tempo rozkładu ściółki w wybranych drzewostanach Bieszczadów // Roczniki Bieszczadzkie. 2010. T. 18. S. 59–73.
30. Sizer N. C., Tanner E. V. J., Kossman Ferraz I. D. Edge effects on litterfall mass and nutrient concentrations in forest fragments in central Amazonia // J. Tropical Ecol. 2000. T. 16. S. 853–863.

Стаття: надійшла до редакції 25.12.12

доопрацьована 09.04.13

прийнята до друку 24.04.13

## THE AMOUNT AND METALS CONTENT OF LITTER AND LITTERFALL IN FOREST ECOSYSTEMS OF THE STRYY-SIAN EMINENCE (UKRAINIAN CARPATHIANS)

V. Rozhak, V. Kozlovskyy

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine  
e-mail: vkozlovskyy@gmail.com*

The amount of litter (1.0–2.5 t/ha) and litterfall (0.4–0.8 t/ha) of studied forest stands is in the same range as the Europe forests. The litter and litterfall element content is proportional to whole amount of litter and litterfall, except 30 year old spruce stand, where nutrient content is relatively higher. Litter turnover rates of investigated ecosystems are in range 2–4 for organic matter, 2–10 for Na, Ca, Mg, Cu, Sr, Zn, Mg, Co, Pb, 0.9–2.5 for K, 8–18 for Fe, 12–32 for Mn and 4–40 for Al.

*Keywords:* litter, litterfall, litter turnover rate, chemical elements.

## ЗАПАСЫ И ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПОДСТИЛКИ И ОПАДА В ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ СТРЫЙСКО-СЯНСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ (УКРАИНСКИЕ КАРПАТЫ)

В. Рожак, В. Козловский

*Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина  
e-mail: vkozlovskyy@gmail.com*

Годовой опад (4–8 ц/га) и запасы подстилки (10–25 ц/га) в исследованных экосистемах сопоставимы со значениями, характерными для лесов Европы. Содержание зольных элементов в опаде и подстилке пропорционально общему количеству опада и запасов подстилки, за исключением 30-летнего ельника, где объем цикла химических элементов относительно выше. Показатели опадоподстилочного коэффициента (ОПК) находятся в пределах 2–4, что соответствует заторможенному уровню интенсивности разложения подстилки. Для большинства элементов (Na, Ca, Mg, Cu, Sr, Zn, Mg, Co, Pb) значения ОПК находятся в пределах, соответствующих заторможенному типу круговорота; круговорот К меняется от интенсивного до заторможенного, Fe, Mn, Al – от сильнозаторможенного до застойного.

*Ключевые слова:* подстилка, опад, интенсивность круговорота, зольные элементы.

## ФОТОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ МОХІВ НА ДЕВАСТОВАНИХ ТЕРИТОРІЯХ ВИДОБУТКУ СІРКИ

Н. Кияк

*Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Стефаника, 11, Львів 79000, Україна  
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua*

Досліджено зміни кількісного складу пігментів та інтенсивності фотосинтезу мохів *Barbula unguiculata* Hedw. та *Bryum argenteum* L. упродовж вегетаційного сезону на території відвалу сірчаного видобутку. Встановлено залежність між інтенсивністю фотосинтезу та вмістом хлорофілів у пагонах мохів. Показано, що інтенсивність фотосинтезу залежить від екологічних умов оселищ мохів. Сезонні зміни вмісту пігментів і особливості фотосинтезу мохів на території відвалу свідчать про пластичність і пристосування фотосинтетичного апарату мохів у мінливих умовах середовища. Встановлено, що високий хлорофільний індекс мохового покриву на відвалі зумовлений значною площею асимілюючих органів мохів і високим вмістом хлорофілів.

*Ключові слова:* мохи, пігменти, інтенсивність фотосинтезу, сезонні зміни, хлорофільний індекс.

Дослідження процесів функціонування фотосинтетичного апарату рослин у природних умовах є необхідним як для виявлення особливостей, пов'язаних з біорізноманіттям (таксономічний аспект), так і у зв'язку з вивченням впливу різноманітних факторів середовища (екологічний аспект). Порівняння результатів кількісних і якісних змін пігментів пластид та інтенсивності процесу асиміляції вуглекислоти в рослинах у природних умовах при складному поєднанні екологічних факторів середовища розкриває суть пластичності чи консервативності обмінних процесів, виявляє ступінь пристосованості окремих видів до умов існування. Функціонування фотосинтетичного апарату рослин визначає, у кінцевому результаті, продуктивність рослинного покриву в мінливих умовах природного середовища.

Знання про функціонування фотосинтетичного апарату мохів як важливих компонентів рослинних угруповань дасть можливість оцінити їхню роль у збереженні біорізноманіття і внесок у загальну продуктивність рослинного покриву. На сьогодні є багато робіт, присвячених, в основному, систематиці, анатомії та морфології мохів і значно менше – фізіології [21, 24, 28, 32, 35, 36]. Продуктивність і еколого-фізіологічні особливості мохів досліджували на прикладі сфагнових мохів, бріофітів тундрових екосистем, лісових угруповань, крейдяних лук Європи [8, 18, 22, 23, 29]. Роль бріофітів у заселенні та відновленні техногенно порушених територій практично не досліджена. У цьому аспекті унікальним об'єктом є девастовані території Яворівського державного гірничо-хімічного підприємства (ДГХП) „Сірка”, де мохоподібні одними з перших поселяються на субстратах відвалів, утворюючи з часом рясні, багатовидові обростання. Важлива роль мохів як піонерних рослин у рослинних угрупованнях загальновідома [27, 33]. Поступово відмираючи, піонерні види бріофітів готують субстрат для заселення інших мохів та судинних рослин. На девастованих територіях після видобутку сірки мохи утворили потужний покрив із високими показниками біомаси та проективного покриття [15].

Відомо, що накопичення карбону в субстраті визначається здатністю фітоценозів поглинати  $\text{CO}_2$  у процесі фотосинтезу і, відповідно, опосередковано залежить від вмісту хлорофілів у рослинах. Метою роботи було дослідити особливості пігментної системи та фотосинтезу мохів на посттехногенних територіях сірчаного видобутку ДГХП „Сірка”, що дасть змогу визначити рівні пластичності їхнього фотосинтетичного апарату в контрастних кліматичних умовах і оцінити їхню роль у продукційних процесах.

#### Матеріали та методи

На території відвалу № 1 Язівського сірчаного родовища, підпорядкованого ДГХП „Сірка”, для досліджень були відібрані два домінуючі види: *Barbula unguiculata* Hedw. та *Bryum argenteum* L. (рис. 1).

Для аналізу зразки мохів збирали на трьох дослідних трансектах відвалу північної експозиції (основа, схил, вершина) упродовж 2010–2012 рр. У свіжозібраному рослинному матеріалі визначали вміст фотосинтетичних пігментів та інтенсивність фотосинтезу.

Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом і обчислювали у відсотках від маси абсолютно сухої речовини [11].

Вміст хлорофілів *a*, *b* та каротиноїдів визначали у 80% ацетоні за методом Арнона [20]. Вміст пігментів виражали в мг/г маси сухої речовини.

Інтенсивність фотосинтезу визначали безкамерним способом [12]. Для цього наважку свіжозібраного рослинного матеріалу (50 мг) занурювали у пробірки з 0,4 н хромовою сумішшю і кип'ятили на водяній бані протягом 20 хв, щоби проби розчинилися (згоріли). Через 2 год аналіз здійснювали повторно. Після охолодження пробірок вміст аналізували спектрофотометрично ( $\lambda=590$  нм) на спектрофотометрі Specord 210 Plus. Інтенсивність фотосинтезу виражали в мг  $\text{CO}_2$ / г маси сухої речовини/год. Для оцінки добової динаміки інтенсивності фотосинтезу мохів відбір проб рослинного матеріалу на схилі відвалу здійснювали щогодини, починаючи від 7:00 і до 21:00.

Нагромадження надземної фітомаси мохів визначали за методом укисних квадратів ( $0,25 \times 0,25$  м) і виражали у г/м<sup>2</sup> [1]. Для визначення хлорофільного індексу (ХІ) використали показники вмісту хлорофілів *a* та *b* і фітомаси [17].

Отримані результати опрацьовували методами статистичного аналізу [14].



Рис. 1. Дернини мохів *Barbula unguiculata* (а) та *Bryum argenteum* (б).

#### Результати і їхнє обговорення

Завдяки тонко організованій і динамічній структурі фотосинтетичного апарату, рослини ефективно утилізують енергію сонячного світла для фотосинтезу та здатні до реалі-

зації фотосинтетичних процесів у різноманітних екологічних умовах. Багато видів мохоподібних приурочені до відкритих, сухих оселищ. Вони можуть втрачати вологу до рівня 5–10% від маси сухої речовини і легко відновлюватися у процесі регідратації [32]. Листки цих мохів одношарові, у них немає епідермісу, продихів, кутикула тонка або відсутня [24]. Тобто клітини, в яких відбувається процес фотосинтезу, не захищені від підвищеної інсоляції, зневоднення й інших негативних чинників, тому існування мохів у несприятливих умовах може забезпечуватися значною мірою пластичністю фотосинтетичного апарату.

Упродовж 2010–2012 рр. вивчали сезонну динаміку вмісту пігментів фотосинтезу у дернинах мохів *Barbula unguiculata* та *Bryum argenteum* на дослідних трансектах відвалу №1 ДГХП «Сірка». Варто відзначити суттєві відмінності мікрокліматичних умов на цих ділянках відвалу. Наприклад, в основі та на схилі відвалу у літні місяці вологість субстрату становила 26,3–27,5%, інтенсивність світла 65–85 тис. лк, температура на поверхні субстрату +18,4–+25,2°C. На вершині відвалу найменш сприятливі умови для росту рослин (вологість субстрату 4,5–14,8%, інтенсивність світла 100–110 тис. лк, температура субстрату підвищувалася до 35,2–37,5°C).

У досліджуваних видів максимум сумарного вмісту хлорофілів  $a+b$  визначено у квітні-травні, наприкінці серпня й у вересні (табл. 1). Сумарний вміст хлорофілів у цей період був у межах 0,60–1,33 мг/г маси с. р., а каротиноїдів – 0,31–1,21 мг/г маси с. р. Для *Bryum argenteum* визначено більшу кількість хлорофілів (0,60–1,33 мг/г маси с. р.), у *Barbula unguiculata* встановлено дещо нижчий їх вміст (0,56–1,05 мг/г маси с. р.).

Вміст пігментів фотосинтезу в пагонах мохів залежав від місцезнаходження рослин на схилі відвалу. Спостерігалася тенденція до зниження вмісту хлорофілів і каротиноїдів у пагонах від основи до вершини відвалу. Так, для зразків *B. argenteum*, зібраних на вершині відвалу, встановлено зниження вмісту хлорофілів майже на 50%, порівняно з основою відвалу. Тобто напруженість екологічних факторів, зокрема висока інсоляція та зниження вологості субстрату, що є характерним для вершини відвалу, суттєво впливали на вміст фотосинтетичних пігментів. Найнижчу кількість хлорофілів (0,28–0,60 мг/г маси с. р.) визначено у спекотні літні місяці (червень-липень) і наприкінці вегетаційного сезону.

Співвідношення хлорофілів  $a/b$  у пігментному комплексі мохів упродовж вегетаційного періоду коливалося у межах 1,1–2,0, що є близьким до показників рослин тіньового типу [8]. Варто відзначити, що у другій половині жовтня та в листопаді співвідношення  $a/b$  частково зменшувалося до 1,1–1,5 унаслідок зростання частки хлорофілу  $b$ , що забезпечувало рослинам можливість використовувати світло низьких інтенсивностей для фотосинтезу.

Вміст каротиноїдів у пігментному комплексі мохів теж змінювався упродовж вегетаційного сезону. Співвідношення  $X/K$  суттєво залежало від інтенсивності освітлення на дослідних ділянках і від видових особливостей мохів. Наприклад, дернини *B. unguiculata* частіше трапляються на відкритих ділянках з високою інтенсивністю освітлення, що значно впливає на кількісне співвідношення пігментів, оскільки встановлено зменшення відносної частки хлорофілів і зростання вмісту каротиноїдів до 1,2 мг/г маси с. р. у пагонах *B. unguiculata* на окремих ділянках відвалу. Співвідношення кількості хлорофілів до каротиноїдів ( $X/K$ ) у *B. unguiculata* протягом весняних та осінніх місяців становило 0,8–1,7, для *B. argenteum* цей показник був вищий і перебував у межах 1,2–2,7. У червні-липні співвідношення  $X/K$  зменшувалося внаслідок зростання частки каротиноїдів у пігментному комплексі мохів. Відомо, що у складі фотосистем каротиноїди не лише виконують роль додаткових світлозбиральних пігментів, а й захищають молекули хлорофілу від фотоокиснення в умовах високої інсоляції. Крім того, підвищення кількості каротиноїдів пов'язане

з антиоксидантними властивостями цих пігментів, оскільки у хлоропластах вони знешкоджують синглетний кисень та інші вільні радикали [26]. У кінці вегетаційного сезону у досліджуваних видів спостерігали зменшення вмісту каротиноїдів.

Таблиця 1

Сезонні зміни вмісту фотосинтетичних пігментів (мг/г маси сухої речовини)  
у пагонах мохів на території відвалу №1 (2010–2012 рр.)

Місце відбору зразків мохів	хл. <i>a</i>	хл. <i>b</i>	<i>a+b</i>	каротиноїди	X/K	<i>a/b</i>
<b>квітень-травень</b>						
<i>Bryum argenteum</i>						
основа	0,68±0,03	0,53±0,02	1,21±0,09	0,52±0,02	2,3	1,3
схил	0,62±0,01	0,53±0,02	1,15±0,08	0,42±0,03	2,7	1,2
вершина	0,34±0,01	0,26±0,01	0,60±0,02	0,31±0,01	1,9	1,3
<i>Barbula unguiculata</i>						
основа	0,64±0,03	0,41±0,02	1,05±0,09	1,21±0,01	0,8	1,5
схил	0,59±0,02	0,40±0,01	0,99±0,03	1,12±0,03	0,9	1,5
вершина	0,39±0,01	0,24±0,02	0,63±0,02	0,73±0,01	0,8	1,6
<b>червень-липень</b>						
<i>Bryum argenteum</i>						
основа	0,30±0,03	0,22±0,01	0,52±0,03	0,62±0,02	0,9	1,4
схил	0,33±0,02	0,21±0,02	0,53±0,04	0,64±0,04	0,9	1,6
вершина	0,18±0,02	0,11±0,01	0,29±0,01	0,38±0,05	0,7	1,6
<i>Barbula unguiculata</i>						
основа	0,23±0,01	0,14±0,01	0,37±0,02	0,49±0,02	0,8	1,6
схил	0,18±0,02	0,11±0,01	0,29±0,01	0,44±0,03	0,6	1,6
вершина	0,16±0,02	0,13±0,01	0,28±0,01	0,42±0,02	0,7	1,2
<b>серпень-вересень</b>						
<i>Bryum argenteum</i>						
основа	0,86±0,06	0,47±0,03	1,33±0,02	0,65±0,02	2,04	1,8
схил	0,72±0,04	0,41±0,02	1,13±0,01	0,68±0,13	1,66	1,8
вершина	0,65±0,05	0,32±0,02	0,97±0,08	0,80±0,04	1,22	2,0
<i>Barbula unguiculata</i>						
основа	0,43±0,04	0,25±0,03	0,68±0,04	0,39±0,03	1,7	1,7
схил	0,48±0,03	0,26±0,02	0,74±0,06	0,45±0,04	1,7	1,8
вершина	0,36±0,03	0,20±0,02	0,56±0,05	0,41±0,05	1,4	1,8
<b>жовтень-листопад</b>						
<i>Bryum argenteum</i>						
основа	0,32±0,02	0,28±0,02	0,60±0,02	0,25±0,01	2,4	1,1
схил	0,22±0,01	0,16±0,01	0,38±0,02	0,18±0,01	2,1	1,4
вершина	0,22±0,01	0,15±0,01	0,37±0,02	0,15±0,01	2,5	1,5
<i>Barbula unguiculata</i>						
основа	0,24±0,02	0,22±0,02	0,46±0,02	0,22±0,02	2,1	1,1
схил	0,28±0,01	0,19±0,01	0,47±0,03	0,18±0,02	2,6	1,5
вершина	0,20±0,01	0,16±0,01	0,36±0,02	0,24±0,01	1,5	1,3

Важливим процесом, який визначає життєдіяльність усіх зелених рослин, є асиміляція вуглекислоти. Відомо, що у квіткових рослин проявляється чітка сезонна динаміка з максимумом інтенсивності газообміну, який приурочений до репродуктивної фази розвитку. У добовій динаміці максимум припадає на передобідню та післяобідню пори і збігається з максимальною освітленістю й температурою [5]. У зв'язку зі специфікою організації гаметофіту мохів (невеликі розміри, проста провідна система й інші анатомо-морфологічні та фізіологічні особливості), можна припустити, що ця група рослин має інші, відмінні від квіткових рослин особливості функціонування фотосинтетичного апарату, хоча показано, що інтенсивність фотосинтезу мохів за оптимального світлового насичення й оптимального рівня CO<sub>2</sub> в середовищі практично не відрізняється від аналогічного показника асиміляції вуглекислоти судинних рослин [30].

Проаналізовано добову динаміку інтенсивності фотосинтезу мохів *B. argenteum* та *B. unguiculata* і виявлено, що вона має вигляд двовершинної кривої (рис. 2).

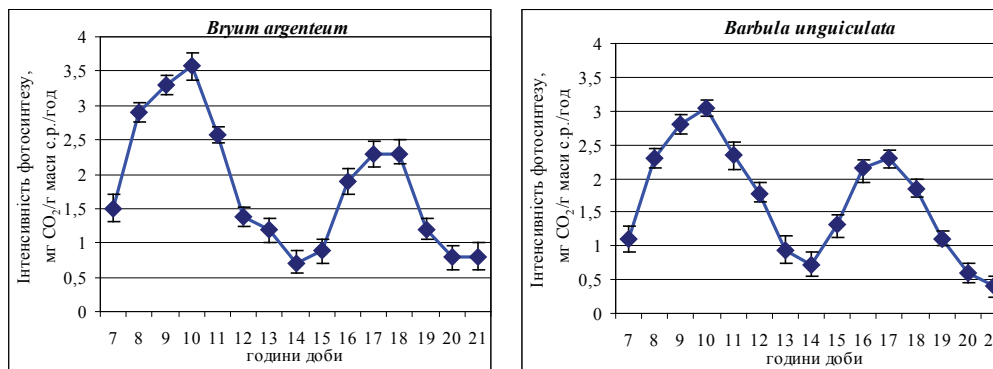


Рис. 2. Добова крива інтенсивності фотосинтезу в пагонах мохів *Bryum argenteum* та *Barbula unguiculata*.

Максимум фотосинтезу у *B. argenteum* та *B. unguiculata* (3,04–3,67 мг CO<sub>2</sub>/г маси с.р./год) припадав на ранкові години (8–10 год), що є характерним для пойкилогідричних видів рослин, для яких лімітаційним чинником фотосинтетичних процесів є вологість. Мохоподібні, які ростуть на сухих відкритих ділянках, для ранкового фотосинтезу використовують росу, яка є достатньою, щоби забезпечити досить високий рівень цього процесу. Другий пік активності фотосинтезу (2,3–2,8 мг CO<sub>2</sub>/г маси с.р./год) припадає на післяобідню пору (17–18 год). В умовах максимальної інтенсивності освітлення (12–14 год) інтенсивність фотосинтезу різко знижувалася, насамперед, унаслідок порушення водного й температурного режиму рослин.

Хід добового фотосинтезу накладається на іншу його періодичність – сезонні зміни інтенсивності фотосинтезу. Серед факторів, які впливають на фотосинтез, важливими є інтенсивність світла, температурний і водний режим. У сезонній динаміці інтенсивності фотосинтезу мохів для обох видів встановлено пряму кореляцію між фотосинтезом і вмістом хлорофілів у листках мохів. Максимум фотосинтетичної активності визначено у квітні-травні, наприкінці серпня й у вересні (рис. 3).

Крім того, встановлено залежність цього показника від видових особливостей рослин з від конкретних екологічних умов на території відвалу. Максимальну інтенсивність фотосинтезу визначено у рослин *B. argenteum*, які росли в основі відвалу (3,16–3,56 мг CO<sub>2</sub>/г маси с. р./год). У пагонах *B. unguiculata* з цієї ділянки відвалу фотосинтетична активність була нижчою – 2,66–3,04 мг CO<sub>2</sub>/г маси с. р./год (рис. 3). Найнижчі показники асиміляції CO<sub>2</sub> визначені у зразках, відібраних з вершини відвалу (2,15–2,23 мг CO<sub>2</sub>/г маси с. р./год). Тобто зниження рівня фотосинтезу відбувалося від основи до вершини відвалу, аналогічно, як і для фотосинтетичних пігментів. Протягом вегетаційного сезону найнижчі величини асиміляції CO<sub>2</sub> (0,80–1,80 мг CO<sub>2</sub>/г с. р./год) визначені у сухі літні місяці.

Вміст хлорофілів є важливим показником потенційної здатності рослинного покриву до зв'язування атмосферного вуглецю. Досить інформативним є його використання для оцінки фотосинтетичної продуктивності рослин [2, 16]. Як показник продуктивності використовують хлорофільний індекс (ХІ), що характеризує валовий вміст хлорофілу в рослинному покриві й може бути параметром для порівняння рослин різної морфології та систематичного положення.

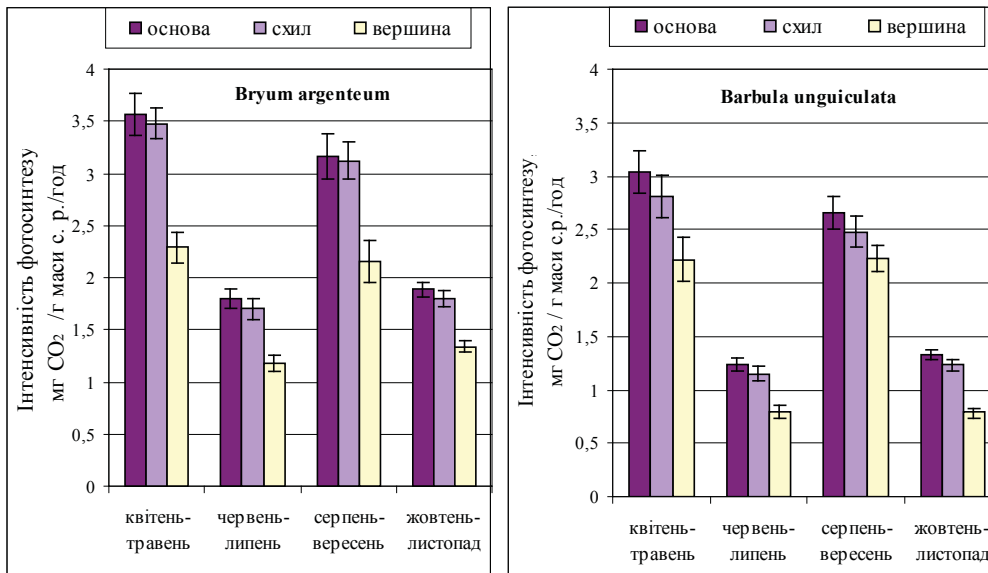


Рис. 3. Сезонні зміни інтенсивності фотосинтезу в пагонах мохів *Bryum argenteum* і *Barbula unguiculata*.

Було визначено хлорофільний індекс для мохового покриву на схилі відвалу, де проєктивне покриття мохів на дослідній ділянці досягало майже 95%. Видовий склад представлений трьома видами листкостеблових мохів (*Bryum caespiticium* Hedw., *B. argenteum* і *Barbula unguiculata*). Надземна фітомаса представлена переважно вегетативними асимілюючими органами мохів і становила ~ 462,6 г/м<sup>2</sup> (табл. 2).

Таблиця 2

Хлорофільний індекс мохового покриву на схилі відвалу (травень 2012 р.)

Вид рослин	Вміст хлорофілів (a+b), мг/г маси с. р.	Надземна фітомаса, г/м <sup>2</sup>	Хлорофільний індекс, г/м <sup>2</sup>
<i>Bryum caespiticium</i> Hedw.	1,231±0,092	223,8±21,1	0,275±0,021
<i>Bryum argenteum</i> L.	1,053±0,097	56,3±3,1	0,059±0,003
<i>Barbula unguiculata</i> Hedw.	0,843±0,056	182,5±16,4	0,153±0,009
<b>Всього</b>		<b>462,6</b>	<b>0,487</b>

Найбільша фітомаса і величина ХІ визначена у щільнодернинного виду *B. caespiticium* за рахунок більшої кількості особин на одиницю площі та, відповідно, більшої площі асиміляційної поверхні [6]. Для видів із життєвою формою пухкої дернини – *B. argenteum* та *B. unguiculata* – величина ХІ була меншою. Порівнюючи величини ХІ, визначені для бріофітів із різних рослинних угруповань [2; 19], варто відзначити, що найвищий хлорофільний індекс властивий для мохів лісових угруповань. Наприклад, для *Dicranum majus* ХІ становив 1,83 г/м<sup>2</sup>, *Polytrichum commune* – 0,536 г/м<sup>2</sup>, *P. piliferum* – 0,463 г/м<sup>2</sup>, *Pleurozium schreberi* – 0,673 г/м<sup>2</sup> [17]. Тобто цей показник суттєво залежить від видових особливостей мохів і екологічних умов середовища. Встановлено, що величина хлорофільного індексу мохового покриву на схилі відвалу є досить високою і цілком зіставною з величинами ХІ, визначеними для рослинних угруповань із домінуванням судинних рослин (наприклад, для чагарничково-мохових угруповань ХІ становив 0,5–0,6 г/м<sup>2</sup>) [17]. Отримані результати засвідчують важливу роль бріофітів у продукційному процесі на посттехногенних територіях сірчаного видобутку, де вони є піонерами заростання.



Отже, на основі результатів аналізу кількісного складу пігментів пластид у пагонах мохів на території відвалу №1 видобутку сірки встановлено, що для бріюфітів характерний високий вміст фотосинтетичних пігментів. Порівняння середніх показників вмісту хлорофілів у пагонах досліджуваних видів мохів з іншими видами вищих рослин свідчить про подібність пігментного складу мохоподібних зі судинними вічнозеленими рослинами [3]. Пігментний склад залежить від видових особливостей мохів і приуроченості до умов середовища, оскільки вміст пігментів фотосинтезу знижувався від основи до вершини відвалу. Очевидно, висока інсоляція та нестабільний режим зволоження на вершині відвалу були основними причинами змін у фотосинтетичному апараті мохів. Для досліджуваних видів встановлена пряма кореляція між інтенсивністю фотосинтезу та вмістом хлорофілів у пагонах мохів.

Добовий перебіг процесу фотосинтезу в мохів на території відвалу сірчаного видобутку має вигляд двовершинної кривої. Максимум фотосинтезу припадає на ранкові години та післяобідню пору. В умовах максимальної інтенсивності освітлення (12–14 год дня) виявлено зниження рівня фотосинтезу.

Аналіз сезонної динаміки фотосинтезу мохів свідчить про пристосованість фотосинтетичного апарату мохів до мінливих кліматичних умов і про здатність підтримувати інтенсивність фотосинтезу при несприятливому гідротермічному режимі та високій інсоляції. Можливо, це пов'язано зі специфікою життєвої форми *B. argenteum* та *B. unguiculata*, оскільки ці види формують низьку дернину, яка добре утримує вологу. Відомо, що мохи з такою життєвою формою характеризуються більшою толерантністю до несприятливих екологічних умов і краще утримують вологу в дернинах у період водного дефіциту [31]. Наприклад, при зниженні вологості повітря до 50% вологість усередині таких мохових дернин становила майже 90% [37].

Бріюфіти адаптовані до широкого діапазону інтенсивності світла, температурного режиму та здатні до репарації фотосинтетичної активності після сухих періодів улітку. Крім того, відомо, що мохи можуть швидко відновлювати фотосинтетичну активність після тривалих зимових морозів [18]. Показано, що при настанні різкого потепління інтенсивність фотосинтезу асиміляційних органів мохів уже через добу досягала рівня, аналогічного літньому сезону. Такі особливості фотосинтетичної активності бріюфітів можуть значно підвищувати первинну продуктивність тих рослинних угруповань, де вони є піонерами заростання. Підтвердженням цього є досить високий показник хлорофільного індексу мохового покриву на схилі відвалу, який зумовлений значною масою асиміляційних органів мохів і високим вмістом у них хлорофілів.

Таким чином, аналіз кількісного складу пігментів та особливості фотосинтезу мохів на території відвалу сірчаного видобутку свідчать про значну пластичність і пристосованість фотосинтетичного апарату мохів до мінливих умов середовища. Дослідження специфіки функціонування рослинних угруповань із домінуванням мохоподібних є важливою ланкою у вивченні їхньої участі у відновленні рослинного покриву на порушених посттехногенних субстратах.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Базилевич Н. И., Титлянова А. А., Смирнов В. В.* и др. Методы изучения биологического круговорота в различных природных зонах. М.: Наука, 1978. 349 с.
2. *Воронин П. Ю., Макеев А. В., Гукасян И. А.* и др. Хлорофильный индекс и ежегодный фотосинтетический сток углерода в сфагновые ассоциации // Физиология растений. 1997. Т. 44. № 1. С. 31–38.

3. Вознесенский В. Л. Об углекислотном газообмене растений // Физиология растений. 1986. Т. 33. № 2. С. 305–312.
4. Дідух О. І., Мальований М. С., Шпаківська І. М. Фізичні властивості ґрунтів у межах посттехногенного ландшафту Яворівського ДГХП “Сірка” // Вісн. Нац. ун-ту “Львівська політехніка”. 2008. Вип. 609. С. 225–233.
5. Зеленский О. В. Фотосинтез растений в естественных условиях // Вопросы ботаники. М.;Л.: Изд-во АН СССР, 1978. Вып. 1. С. 59–87.
6. Кім Н. А. Особливості структури дернин мохів на девастованих територіях сірчаного видобутку // Рекультивация складних техноекосистем у новому тисячолітті: ноосферний аспект: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. Дніпропетровськ: ДДАУ, 2012. С. 306–307.
7. Козловський В. Важкі метали в ґрунтах техногенних ландшафтів родовищ самородної сірки Передкарпаття (Україна) // Ґрунтознавство. 2008. Т. 9. № 3. С. 101–107.
8. Лук'янова Л. М., Локтева Т. Н., Булычева Т. М., Кудрявцева О. В. Газообмен и пигментная система Кольской Субарктики. Апатиты, 1986. 127 с.
9. Марискевич О. Оксидоредуктазна активність ґрунтів техногенних ландшафтів сірчанних родовищ Передкарпаття // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 24. С. 78–82.
10. Марискевич О. Г. Формування ґрунтів у межах техногенного ландшафту Яворівського ДГХП “Сірка” // Наук. вісн. Чернівецьк. ун-ту. Сер. біол. 2005. Вип. 251. С. 175–185.
11. Минеев В. Г. Практикум по агрохимии. М.: Изд-во МГУ, 1989. 304 с.
12. Ніколайчук В. І. Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. Ужгород, 2000. 210 с.
13. Продукционный процесс в сообществах горной тундры Хибин. Апатиты, 1996. 125 с.
14. Плохинский Н. А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
15. Рабик І., Данилків І., Щербаченко О. Структура і динаміка бріофітних угруповань на девастованих землях Львівщини (на прикладі відвалу гірничо-хімічного підприємства „Сірка”) // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 53. С. 58–66.
16. Цельникер Ю. Л., Малкина И. С. Хлорофильный индекс как показатель годичной аккумуляции углерода древостоями леса // Физиология растений. 1994. Т. 41. №3. С. 325–330.
17. Шмакова Н. Ю., Кудрявцева О. В. Сравнительная оценка листового и хлорофильного индексов для определения годичной продукции органического вещества в сообществах горной тундры Хибин // Ботан. журнал. 2002. Т. 87. № 3. С. 85–97.
18. Шмакова Н. Ю., Лукьянова Л. М., Булычева Т. М., Кудрявцева О. В. Продукционный процесс в сообществах горной тундры Хибин. Апатиты, 2006. 125 с.
19. Шпак О. В. Эколого-физиологическая характеристика мхов в Хибинах (Мурманская область) // Эколог. химия. 2007. Т. 16. № 1. С. 40–45.
20. Arnon D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. 1949. 24. P. 1–15.
21. Bryophyte Biology. A. Jonathan Shaw and Bernard Goffinet [eds.]. Cambridge University Press, 2000. 476 p.
22. During H. J. The bryophytes of calcareous grasslands. In: Hillier S.H., Walton D.W.H., and Wells D.A. (eds.) Calcareous Grasslands. Ecology and Management. Proceedings of a Joint British Ecological Society / Nature Conservancy Council Symposium (14–16 September, 1990). University of Sheffield, 1990. P. 35–40.
23. During H. J., Lloret F. Permanent grid studies in bryophyte communities 1. Pattern and dynamics of individual species // J. Hattori Bot. Lab. 1996. Vol. 79. P. 1–41.

24. *Glime J. M.* Bryophyte Ecology. Vol. 1. Physiological Ecology. 2007. – E-book sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Accessed on March 2008 at <<http://www.bryoecol.mtu.edu/>>.
25. *Goffinet B., Shaw A. J.* Bryophyte Biology. Second Edition. Cambridge University Press, 2009. 565 p.
26. *Foyer C. H., Harbinson J.* Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis. The photochemistry of carotenoids. Eds. Frank H. A., Young A. J., Cordell R. J. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1999. P. 305–325.
27. *Longton R. E.* The role of bryophytes in terrestrial ecosystems // *J. Hatt. Bot. Lab.* 1984. Vol. 55. P. 147–163.
28. *Longton R. E.* Biology of Polar Bryophytes and Lichens. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 324 p.
29. *Longton R. E.* The role of bryophytes and lichens in terrestrial ecosystems. In: Bryophytes and Lichens in a Changing Environment / Eds. J.W. Bates and A. M. Farmer. Clarendon Press, Oxford, 1992. P. 32–76.
30. *Martin C. E., Adamson V. J.* Photosynthetic capacity of mosses relative to vascular plants // *J. Bryol.* 2001. Vol. 23. P. 319–323.
31. *Mägdefrau K.* Untersuchungen über die Wasserversorgung des Gametophyten und Sporophyten der Laubmoose // *Zeitschr. Bot.* 1935. Vol. 29. 337–375.
32. *Proctor M. C. F.* Ecophysiological measurements on two pendulous forest mosses from Uganda, *Pilotrichella ampullacea* and *Floribundaria floribunda* // *J. Bryol.* 2002. Vol. 24. P. 223–232.
33. *Rieley J. O., Richards P. W., Bebbington A. D. L.* The ecological role of bryophytes in a north-Wales woodland // *J. Ecol.* 1979. Vol. 67. P. 497–527.
34. *Ringen D.* The role of moss in facilitating natural revegetation of metal-contaminating sites during primary succession [Електронний ресурс] // Режим доступу до журн.: [www.bioed.org/ibscore/](http://www.bioed.org/ibscore/).
35. *Tenhunen J. D., Lange O. L., Hahn S.* et al. The ecosystem role of poikilohydric tundra plants. In: F.S. Chapin et al.: Arctic ecosystems in a changing climate. San Diego Academic Press. 1992. P. 213–237.
36. *Schofield W. B.* Introduction to Bryology. New York, Macmillan Publishing Company, 1985. 248 p.
37. *Zacherl H.* Physiologische und Ökologische Untersuchungen über die innere Wasserleitung bei Laubmoosen // *Z. Bot.* 1956. Vol. 44. P. 409–436.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.13

доопрацьована 23.04.13

прийнята до друку 25.04.13

---

**PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF THE MOSSES ON THE  
DEVASTATED TERRITORIES OF SULPHUR EXTRACTION****N. Kyiak**

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
11, Stefanyk St., Lviv 79000, Ukraine  
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua*

Changes of quantitative composition of the pigments and photosynthesis intensity of the mosses *Barbula unguiculata* Hedw. and *Bryum argenteum* L. during vegetative season on the territory of the dump of sulphur deposits has been investigated. The correlation between photosynthesis intensity and chlorophyll content in mosses shoots has been established. It has been shown, that photosynthesis activity depends on locality conditions. Seasonal changes of the pigments content and peculiarities of moss photosynthesis on the territory of the dump have demonstrated the plasticity and acclimatization of moss photosynthetic apparatus to variables conditions of the environment. It has been shown, that high chlorophyll indexes of moss cover on the dump territory caused by essential mass of assimilating moss organs and high content of chlorophylls in them.

*Keywords:* bryophytes, photosynthesis pigments, intensity of photosynthesis, seasonal changes, chlorophyll indexes.

**ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МХОВ НА  
ДЕВАСТИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ДОБЫЧИ СЕРЫ****Н. Кияк**

*Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Стефаныка, 11, Львов 79000, Украина  
e-mail: morphogenesis@mail.lviv.ua*

Исследованы изменения количественного состава пигментов и интенсивности фотосинтеза мхов *Barbula unguiculata* Hedw. и *Bryum argenteum* L. на протяжении вегетационного сезона на территории отвала добычи серы. Установлена зависимость между интенсивностью фотосинтеза и содержанием хлорофиллов в побегах мхов. Показано, что интенсивность фотосинтеза зависит от условий произрастания мхов. Сезонные изменения содержания пигментов и особенности фотосинтеза мхов на территории отвала свидетельствуют о пластичности и акклиматизации фотосинтетического аппарата мхов к изменчивым климатическим условиям среды. Показано, что высокий хлорофильный индекс мохового покрова на отвале обусловлен значительной массой ассимилирующих органов мхов и высоким содержанием хлорофиллов.

*Ключевые слова:* бриофиты, пигменты фотосинтеза, интенсивность фотосинтеза, сезонные изменения, хлорофильный индекс.

**СЕЗОННІ ЗМІНИ У ПІГМЕНТНОМУ КОМПЛЕКСІ МОХУ  
*CAMPYLOPUS INTROFLEXUS* (HEDW.) BRID. НА ВЕРШИНІ  
ВІДВАЛУ ШАХТИ “НАДІЯ”**

**Р. Соханьчак, О. Лобачевська, С. Бешлей**

*Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Стефаника, 11, Львів 79005, Україна  
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Проаналізовано особливості функціонування пігментної системи моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. залежно від умов місцезростань на вершині відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району Львівської області. Встановлено сезонну динаміку вмісту пластидних пігментів і фотохімічної активності ізольованих хлоропластів моху під впливом несприятливих чинників техногенного середовища. Відзначено, що зменшення співвідношення хлорофілів *a/b*, збільшення вмісту хлорофілів щодо каротиноїдів в умовах пригнічення фотохімічної активності хлорофілу відіграють важливу роль у захисті фотосинтетичної системи *C. introflexus*.

*Ключові слова:* пластидні пігменти, фотохімічна активність хлорофілу, породи ні відвали вугільних шахт, мох *Campylopus introflexus*.

Стан навколишнього середовища у Сокальському районі на Львівщині є досить критичним, що спричинено техногенним впливом вуглевидобувної, вуглезнагачувальної та хімічної галузей промисловості. Велика частина земель району зайнята відходами вуглевидобутку, які сконцентровані у териконах. Такі відвали займають площу 265,9 га землі, в яких на сьогодні закладовано 42,1 млн м<sup>3</sup> породної маси і щорічно її кількість збільшується приблизно на 1,9–2,3 млн т [2, 3, 5]. Основною проблемою самозаселення рослинами відвалів вугільних шахт є чужорідність і здебільшого висока токсичність породи. Окрім того, схили відвалів руйнуються водною та вітровою ерозією, ускладнюючи закріплення рослин і формування рослинного покриву. Мохоподібні – важливі компоненти рослинного покриву антропогенно змінених територій, оскільки представлені піонерними видами, що їх заселяють [24]. До таких видів мохоподібних і належить *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid., який уперше для території України було виявлено на вершині відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР) Львівської області [13]. Цей адвентивний вид моху, що походить із Південної півкулі, надає перевагу кислим ґрунтам і швидко розростається, формуючи потужні щільні дернини [22, 23]. За короткий період *C. introflexus* значно збільшив проективне покриття на породному відвалі, окрім того, вид сприяє нагромадженню органічного вуглецю і формуванню гумусового шару субстрату [15]. Дослідження особливостей пристосування бріофітів до мікрокліматичних і едафічних умов девастрованих територій та їхньої ролі у продукуванні органічної речовини є актуальними не лише для з’ясування природи адаптогенезу рослин в умовах техногенно зміненого середовища, а й для визначення чутливих тест-показників і тест-об’єктів для фітомоніторингу стану довкілля.

Вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів та динаміка їх зміни протягом року є одними із основних показників фізіологічного стану, продукційного процесу й формування пристосувань рослин до несприятливих умов техногенного середовища. Абіоген-

ні фактори, такі як дефіцит вологи, інтенсивність освітлення, температура, склад ґрунту (засоленість, концентрація токсичних сполук, зокрема важких металів) впливають на вміст хлорофілів і каротиноїдів [4, 18]. Однак за наявності важких металів (кадмію, міді, нікелю, кобальту, цинку) кількість хлорофілу *a* та *b* зменшується [19, 25, 26]. В умовах постійної зміни вологості й температури техногенних субстратів істотно змінюється водний баланс у рослинних клітинах, що також спричиняє зниження вмісту хлорофілів [11].

Одним із показників фотохімічної активності хлоропластів є реакція Хілла. Це комплекс початкових стадій фотосинтезу, в яких мобілізовані з води електрони спрямовуються на відновлення введених у реакційну суміш акцепторів електронів [14]. Реакція Хілла є проявом впливу різноманітних чинників на процеси фотосинтезу [9], тому її часто використовують як показник загального стану фотосинтетичного апарату рослин.

Метою роботи було дослідити сезонні зміни вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності хлоропластів моху *C. introflexus* залежно від умов породних відвалів вугільних шахт.

#### Матеріали та методи

Сезонні зміни функціонування пігментної системи *C. introflexus* досліджували в різних мікрокліматичних умовах вершини відвалу шахти “Надія” Червоноградського гірничопромислового району Львівської області. Кількісний вміст хлорофілів й каротиноїдів у гаметофіті моху визначали за методом Арнона [14]. Для цього наважку моху гомогенізували у 80% розчині ацетону. Отриманий екстракт центрифугували, супернатант зливали у мірні пробірки об’ємом 10 мл, доводили до мітки ацетоном. Визначали оптичну густину на спектрофотометрі Specord 210 Plus за довжин хвиль 665 нм (для хлорофілу *a*), 649 нм (для хлорофілу *b*) та 440 нм (для каротиноїдів). Вміст пігментів виражали у мкг/г маси сухої речовини.

Фотохімічну активність хлорофілу ізольованих хлоропластів визначали за реакцією хлорофілу із 2,6-дихлорфеноліндофенолом (2,6-ДХФІФ) [8]. Наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 2 мл 0,1 М трис-НСІ буферу, який містив 0,4 М сахарозу та 0,01 М MgCl<sub>2</sub>, центрифугували, супернатант відбирали у мірні пробірки і гомогенізуючим буфером доводили об’єм суспензії до 5 мл. У три пробірки вносили по 5 мл гомогенізуючого буферу, у дві з них (дослід) додавали по 0,3 мл 0,33 мМ розчину 2,6-ДХФІФ, а в одну – 0,3 мл буферу (контроль). Тоді до кожного розчину додавали по 0,5 мл суспензії хлоропластів і витримували 5 хв за температури 20°C, дві пробірки (контроль і дослід) на світлі, а третю – у темряві. Спектрофотометрично вимірювали оптичну густину розчинів за довжини хвилі 620 нм. Паралельно визначали вміст суми хлорофілів у суспензії хлоропластів. За різницею між вмістом 2,6-ДХФІФ у пробірках, інкубованих у темряві й на світлі, визначали інтенсивність реакції Хілла. Фотохімічну активність хлорофілу виражали у мікромолях 2,6-ДХФІФ, відновленого за годину одним міліграмом хлорофілу. Для оцінки сезонної динаміки зміни вмісту пігментів фотосинтезу та фотохімічної активності хлоропластів проби рослинного матеріалу і субстрату відбирали протягом квітня-листопада 2012 року.

Визначення польової вологості й температури верхнього шару субстрату (0–2 см), а також інтенсивності освітлення здійснювали за методикою С. Аринушкіної [1]. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [10, 12].

#### Результати і їхнє обговорення

Життєдіяльність рослин на будь-якому субстраті насамперед залежить від водноповітряного і температурного режиму середовища, оскільки лише певний рівень вологозабезпечення сприяє їхньому росту і розвитку [16, 17]. Високий ступінь гравійних части-

нок (3–1 мм) у субстратах відвалів вугільних шахт ЧГПР погіршує їх водний режим [6], а переважання порід чорного кольору спричиняє поглинання великої кількості сонячної радіації та збільшення температури субстрату. Нагрівання поверхні відвалів (до 60–65°C) є небезпечним для рослин унаслідок швидкого висушування поверхневих шарів породи, особливо у липні – найспекотнішому місяці з мінімальною часткою опадів [5]. Усі ці фактори й особливості рельєфу шахтних відвалів, аномального для прилеглих ландшафтів, створюють локальний мікроклімат, який негативно впливає на функціональну організацію рослин, насамперед на фотосинтетичну систему. Тому важливо було оцінити мікрокліматичні умови у липні на вершині породного відвалу в локалітетах *C. introflexus*.

Таблиця 1

Показники польової вологості й температури субстрату під дернинами моху *Campylopus introflexus*, а також інтенсивності освітлення на вершині відвалу шахти “Надія” (липень 2012 р.), n=10

Локалітети моху (ділянки)	Освітлення, тис. лк	Польова вологість, %		Температура, °C	
		Субстрат без рослинності	Під моховим покривом	Субстрат без рослинності	Під моховим покривом
Північна	80,0–90,0	3,6–5,8	3,3–18,9	28,8–33,4	28,1–36,7
Північно-західна	85,0–100,0	1,1–4,1	8,4–18,8	29,3–36,8	27,8–37,5
Східна	35,0–55,0	5,4–7,8	14,7–25,4	26,6–32,5	25,5–36,3

**Примітка.** У таблиці наведено діапазон мінливості кожного з показників.

Установлено, що вміст води на вершині відвалу у досліджуваних локалітетах істотно відрізнявся (табл. 1). На дослідних ділянках температура під дернинами моху в липні змінювалася від 25,5 до 37,5°C. На східній ділянці відвалу зафіксовано найбільшу польову вологість субстрату, її максимальне значення становило 25,4% зі середнім показником 19,32±0,85%, а також мінімальну інтенсивність освітлення. Відповідно, мінімальну польову вологість під дернинами моху та більшу інтенсивність освітлення встановлено на північній ділянці вершини відвалу. Однак, незважаючи на значні відмінності мікрокліматичних умов у досліджуваних локалітетах, під дернинами моху відзначено сприятливіший водно-температурний режим, порівняно з оголеним субстратом (табл. 1). Підвищена температура і вологість підстилки забезпечували кращий розвиток мохових дернинок *C. introflexus* [15].

На дослідних ділянках вершини відвалу встановлено, що вміст хлорофілів (*a+b*) у пагонах *C. introflexus* змінювався в діапазоні 427,80–724,80 мкг/г маси сухої речовини, каротиноїдів – 123,53–208,30 мг/г маси сухої речовини, тоді як співвідношення хлорофілів *a/b* було досить низьким (рис. 1). Такий вміст зелених пігментів і їхнє співвідношення у пагонах моху, очевидно, є адаптивною ознакою, оскільки в умовах інтенсивного освітлення для створення маси органічної речовини достатньо невеликої кількості хлорофілів.

Інша причина, можливо, пов’язана з мікрокліматичними умовами та фізико-хімічними характеристиками субстрату під дернинками моху (рН, вмісту важких металів) [15]. Відмінності щодо вмісту каротиноїдів у пагонах *C. introflexus* на різних ділянках вершини відвалу (рис. 1) свідчать про важливу роль каротиноїдів у захисті молекул хлорофілу від фотоокиснення та пошкодження вільними радикалами [7]. Співвідношення суми хлорофілів до каротиноїдів на східній ділянці є найвищим серед усіх досліджуваних локалітетів (табл. 2), що характерно для рослин, які ростуть у затінених місцях, адже ця ділянка характеризується меншою освітленістю, пов’язаною із заростаннями *Robinia pseudoacacia* L. і *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth та наявністю з південного боку валуна із запеченої породи моноліту – клінкеру.

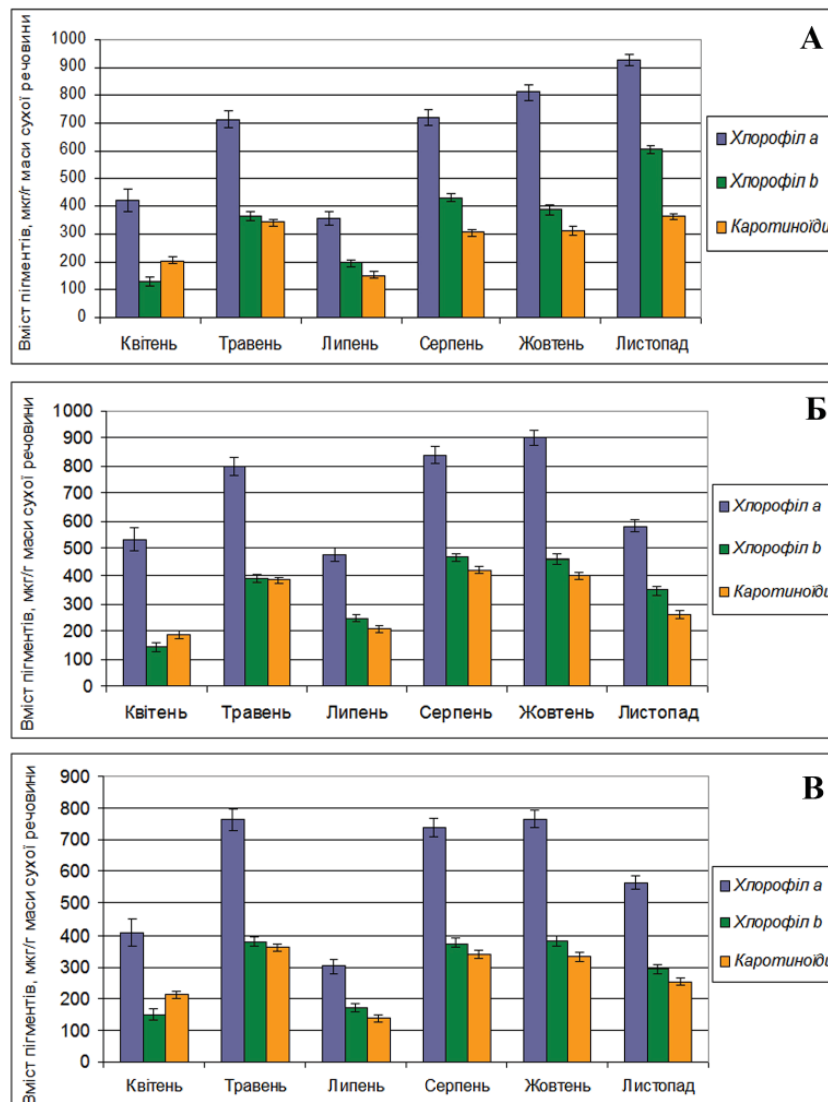


Рис. 1. Сезонна динаміка вмісту пігментів фотосинтезу (мкг/г маси сухої речовини) у пагонах *Campylopus introflexus* із різних ділянок вершини відвалу шахти “Надія”: А – східна, Б – північно-західна, В – північна ділянки.

На основі аналізу результатів визначено, що протягом року відбуваються значні зміни у пігментному комплексі моху *C. introflexus* (рис. 1). Формування фонду зелених пігментів здійснювалося завдяки хлорофілу *a*, який переважав вміст хлорофілу *b* у 1,53–1,92 рази. Вміст хлорофілу *a* змінювався в межах 301,82–929,03 мкг/г маси сухої речовини, а хлорофілу *b* – 131,78–602,57 мкг/г маси сухої речовини. Навесні (у квітні-травні), коли інтенсивно росли й розвивалися пагони *C. introflexus*, вміст зелених пігментів збільшувався, особливо вміст хлорофілу *a*. Істотне збільшення вмісту жовтих пігментів – каротиноїдів – відзначено навесні та восени, коли інсоляція була значно більшою під пологом дерев, ніж у літній період (рис. 1, табл. 2). У спекотний період липня встановлено істотне зменшення



як загального вмісту, так і співвідношення хлорофілів  $a/b$ , що, мабуть, було спричинене деструкцією хлорофілу  $a$  й активацією синтезу хлорофілу  $b$ , який забезпечував вищу стабільність пігмент-білкових комплексів тилакоїдів [7]. Деякі вчені вважають, що зростання вмісту хлорофілу  $b$  та, відповідно, зниження співвідношення хлорофілів  $a/b$ , як і співвідношення суми хлорофілів щодо каротиноїдів, є ознакою стійкості виду [20, 21]. Протягом серпня і жовтня на всіх дослідних ділянках спостерігали значне збільшення вмісту пластидних пігментів, лише на північно-західній і північній ділянках у листопаді їхній вміст зменшувався, що, можливо, пов'язано з недостатньою вологістю та зниженням температури. Збільшення вмісту і співвідношення пігментів в осінній період (табл. 2), можливо, було проявом компенсаторних механізмів, спрямованих на відтворення фотосинтетичної функції після літнього сповільнення та нейтралізації впливу негативних чинників.

Таблиця 2

Сезонні зміни показників співвідношення хлорофілів  $a/b$  та суми хлорофілів до каротиноїдів у пігментному комплексі пагонів *Campylopus introflexus*

Місяці	Північна ділянка		Північно-західна ділянка		Східна ділянка	
	Співвідношення пігментів					
	$a/b$	хл/карот	$a/b$	хл/карот	$a/b$	хл/карот
Квітень	2,70	2,62	3,69	3,61	3,19	2,70
Травень	2,01	3,16	2,03	3,08	1,96	3,15
Липень	1,78	3,46	1,92	3,48	1,81	3,62
Серпень	1,97	3,28	1,79	3,09	1,67	3,77
Жовтень	2,01	3,47	1,95	3,40	2,09	3,83
Листопад	1,93	3,39	1,66	3,54	1,54	4,20

Ще одним важливим показником первинних фотохімічних стадій фотосинтезу, які слугують джерелом енергії для темного відновлення  $\text{CO}_2$ , є фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів (реакція Хілла). Результати аналізу сезонних змін свідчать (рис. 2), що фотохімічна активність хлорофілу в хлоропластах *C. introflexus* протягом весняних місяців зростала у всіх локалітетах: північному (від 15,15 до 30,09  $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$  хлорофілу), північно-західному (26,31–34,54  $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$  хлорофілу) і східному (29,73–42,84  $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$  хлорофілу). Протягом травня-липня цей показник був найбільшим і становив 34,54–42,84  $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$  хлорофілу. Проте упродовж осінніх місяців фотохімічна активність хлорофілу різко знижувалася, а відтак і сповільнювалися первинні процеси фотосинтезу (у листопаді показник фотохімічної активності хлорофілу знижувався до 5,99–8,54  $\mu\text{M}\cdot\text{год}/\text{мг}$  хлорофілу), що, можливо, пов'язано зі зростанням частки хлорофілу  $b$  та зниженням температури й інтенсивності освітлення.

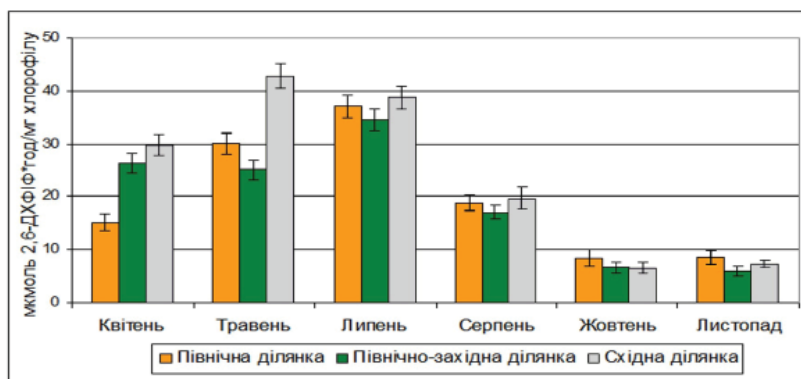


Рис. 2. Фотохімічна активність хлорофілу ізольованих хлоропластів моху *Campylopus introflexus* із різних дослідних ділянок на вершині шахтного відвалу.

Отже, зменшення співвідношення хлорофілів  $a/b$  та збільшення суми хлорофілів щодо каротиноїдів, пригнічення фотохімічної активності хлорофілу ізольованих хлоропластів відіграють важливу роль у захисті фотосинтетичної системи моху від руйнування за дії високої інсоляції та нестабільного гідротермічного режиму субстрату на вершині відвалу. Проте, як свідчать отримані результати, забезпечення оптимальною кількістю вологи підвищувало толерантність *C. introflexus* до несприятливих умов шахтних відвалів, а саме на східній ділянці вершини відвалу у світлолюбного моху в умовах низького освітлення відзначено стабільно високий вміст хлорофілів щодо каротиноїдів як прояв компенсаційного механізму, що призводить до збереження здатності нейтралізувати негативний вплив на фотосинтетичну активність.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ариунушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1961. 491 с.
2. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ «Львівсистеменерго» та їх вплив на проростання насіння // Промислова ботаника: стан та перспективи розвитку: матеріали V Міжнар. наук. конф. Донецьк, 2007. С. 36–37.
3. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
4. Баранов В. І., Бешлей С. В., Соханьчак Р. Р., Козловський М. П. Вміст пігментів і структура хлоропластів куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) за умов росту на відвалах породи вугільних шахт // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2011. Т. 5. № 3. С. 97–102.
5. Башуцька У. Б. Сукцесії рослинності породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району. Львів: РВВ НЛТУ України, 2006. 178 с.
6. Бешлей С. В., Баранов В. І., Микієвич І. М. Зміна субстратів відвалів породи Червоноградського гірничопромислового району при заростанні куничником наземним (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2010. Т. 4. № 2. С. 75–82.
7. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / пер. с англ. М.: Мир, 1986. 422 с., ил.
8. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание: уч. пособие. М.: Высшая школа, 1975. 392 с.
9. Гетко Н. В. Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника, 1989. 208 с.
10. Зайцев Г. Н. Математика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1990. 296 с.
11. Кушниренко М. Д. Реакция хлоропластов растений различной устойчивости к засухе на водный стресс // Проблемы засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1978. С. 72–81.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов, 4-е изд. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
13. Лобачевська О. В., Соханьчак Р. Р. *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. – новий адвентивний вид моху для флори України // Укр. ботан. журнал. 2010. Т. 67. № 3. С. 432–437.
14. Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. С. 49–50.
15. Соханьчак Р. Р., Лобачевська О. В. Особливості впливу моху *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. на відновлення техногенних субстратів шахтних відвалів // Біологічні студії / *Studia Biologica*, 2012. Т. 6. № 1. С. 101–108.

16. Терехова Э. Б., Ланина Р. И. Микроклимат отвалов Соколовско-Сарбайского горно-обогатительного комбината // Растения и пром. среда. Свердловск, 1978. С. 84–92.
17. Трохова О. Н. К вопросу фитотоксичности породы промышленных отвалов Донбасса // Промышленная ботаника: сборник науч. трудов. Вып. 7. Донецк, 2007. С. 80–84.
18. Ясар Ф., Эльальтиглу С., Ильдис К. Действие засоления на антиокислительные защитные системы, перекисное окисление липидов и содержание хлорофилла в листьях фасоли // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 6. С. 869–873.
19. Drązkiewicz M., Baszyński T. Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of *Zea mays* L. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2010. Vol. 73. N 5. P. 982–986.
20. Eckhardt U., Grimm B., Hörtensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants // Plant Mol. Biol. 2004. Vol. 56. P. 1–14.
21. Eggink L. L., Park H., Hooper Y. K. The role of chlorophyll *b* in photosynthesis: hypothesis // BMC Plant Biol. 2001. Vol. 1. P. 11–17.
22. Hasse T. *Campylopus introflexus* invasion in a dune grassland: Succession, disturbance and relevance of existing plant invader concepts // Herzogia. 2007. Vol. 20. P. 305–315.
23. Razgulyaeva L. V., Napreenko M. G., Wolfram Ch., Ignatov M. S. *Campylopus introflexus* (Dicranaceae, Musci) – an addition to the Moss Flora of Russia // Arctoa. 2001. Vol. 10. P. 185–189.
24. Ringen D. The role of moss in facilitating natural revegetation of metal-contaminating sites during primary succession [Електронний ресурс]. Режим доступу до журналу: [www.bioed.org/ibscore/](http://www.bioed.org/ibscore/)
25. Zengin F. K. The effects of  $\text{Co}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on the contents of protein, abscisic acid, proline and chlorophyll in bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Strike) seedlings // J. Environ. Biol. 2006. Vol. 27. N 2. P. 441–448.
26. Zengin F., Kirbag S. Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings // J. Environ. Biol. 2007. Vol. 28. N 3. P. 561–566.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

доопрацьована 13.05.13

прийнята до друку 17.05.13

**SEASONAL CHANGES IN PIGMENT COMPLEX OF MOSS  
CAMPYLOPUS INTROFLEXUS (HEDW.) BRID DEPENDING ON THE  
MINE “NADIIA” DUMP TOP**

**R. Sokhanchak, O. Lobachevska, S. Beshley**

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine,  
11, Stefanyk St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Peculiarities of the pigment system functioning of moss *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. depending on habitat conditions of the mine “Nadiia” dump top in Chervonograd industrial coal mining region of Lviv region were analyzed. Also seasonal dynamics of plastid pigments and photochemical activity of isolated chloroplasts of the moss in adverse conditions of technogenic environment were established. It was noted that the decrease in

the ratio of *a/b* chlorophylls and the increase of chlorophylls to carotenoids in conditions of the suppression of the chlorophyll photochemical activity play an important role in protection of the photosynthetic system of *C. introflexus*.

*Keywords:* plastid pigments, photochemical activity of chlorophyll, rock dumps of coal mines, moss *Campylopus introflexus*.

### **СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПИГМЕНТНОМ КОМПЛЕКСЕ МХА *CAMPYLOPUS INTROFLEXUS* (HEDW.) BRID. НА ВЕРШИНЕ ОТВАЛА ШАХТЫ “НАДИЯ”**

**Р. Соханьчак, О. Лобачевская, С. Бешлей**

*Институт экологии Карпат НАН Украины,  
ул. Стефаныка, 11, Львов 79005, Украина  
e-mail: stentor62@gmail.com, morphogenesis@mail.lviv.ua*

Проанализированы особенности функционирования пигментной системы мха *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. в зависимости от условий местообитания на вершине отвала шахты “Надия” Червоноградского горнопромышленного района Львовской области. Установлена сезонная динамика содержания пластидных пигментов и фотохимической активности изолированных хлоропластов мха под влиянием неблагоприятных факторов техногенной среды. Отмечено, что уменьшение соотношения хлорофиллов *a/b*, увеличение содержания хлорофиллов относительно каротиноидов в условиях подавления фотохимической активности хлорофилла играют важную роль в защите фотосинтетической системы *C. introflexus*.

*Ключевые слова:* пластидные пигменты, фотохимическая активность хлорофилла, породные отвалы угольных шахт, мох *Campylopus introflexus*.

## БІОГЕОХІМІЯ Cu, Zn, Cd, Mn, Fe, Co В ЗЕЛЕНИХ ЗОНАХ МІСТА МЕЛІТОПОЛЯ (ЗАПОРІЗЬКА ОБЛАСТЬ, УКРАЇНА)

К. Дядькова<sup>1</sup>, Н. Романюк<sup>2</sup>, В. Козловський<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Мелітопольський державний педагогічний університет  
імені Богдана Хмельницького  
вул. Леніна, 20, Мелітополь 72300, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua

<sup>3</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна

Абсолютні концентрації хімічних елементів у ґрунтах зелених зон м. Мелітополя не перевищують кларкових значень. Розподіл елементів у ґрунтовому профілі свідчить про існування геохімічних бар'єрів у верхній та в середній частині ґрунтового розрізу, де в гумусовому й ілювіальному горизонтах існують умови для накопичення досліджених елементів. Вміст Zn, Pb, Cu для більшості рослин є близьким, Fe, Mn, Co – нижчим, Cd – у межах від середніх значень до значень у кілька разів вищих за кларкові. Інтенсивність біотичного поглинання Fe, Mn більшістю рослин у кілька разів вища за середні показники для рослинності суші; аналогічні значення для Cu та Cd перевищують кларкові значення на порядок величини і більше; інтенсивність поглинання Pb, Zn і Co відповідає середнім значенням.

*Ключові слова:* ґрунти, рослини, степова зона, важкі метали.

Проблема накопичення і трансформації важких металів (ВМ) у міському середовищі залишається актуальною впродовж уже кількох десятиліть [13]. Відповідно до численних досліджень, основною причиною підвищеної уваги до накопичення металів у містах є безпосередня загроза для здоров'я людей через забруднення ВМ повітря, води і ґрунтів. Не позбавлене техногенного впливу і місто Мелітополь [8]. Однак, окрім вивчення стану забруднення урбоєкосистем у зв'язку з можливим впливом на здоров'я населення, доцільним є вивчення процесів трансформації хімічних елементів у природних рослинних угрупованнях, що лежать у межах міста або в безпосередній близькості до нього. Маючи значно вищу буферність до забруднення, ніж часто позбавлені рослинності міські вулиці, де також існує значно сильніший вплив випадкових факторів, зелені зони міста можуть бути об'єктом екологічного моніторингу. У такому разі виникає ймовірність довгострокового прогнозу забруднення, його поширення і наслідків у тривалій перспективі.

Метою роботи було оцінити рівні та особливості нагромадження й трансформації важких металів у паркових зонах м. Мелітополя та лісових насадженнях приміських територій.

### Матеріали та методи

Об'єкти досліджень – паркові зони міста Мелітополя (парк ім. Горького, заснований у 1926 р.; Садстанція, Лісопарк) та лісові насадження приміських територій (Старобердянське лісництво, засноване у 1864 р.). Місто Мелітополь розташоване в межах Причорноморської низовини на правому березі річки Молочна. Схили долини ріки асиметричні. Правий

берег – стрімкий, високий, лівий – пологий, терасований. На лівобережжі добре помітні три надзаплавні тераси: перша (заплавна) заввишки від 3–4 до 10–12 м, друга (середня) – 8–12 м і завширшки від 100 м до 2 км, третя (верхня) тераса суцільною смугою тягнеться лівим берегом річкової долини, сягаючи ширини 3 км і більше. Старобердянське лісництво розташоване за 18 км на північний схід від Мелітополя між селами Новопилипівка і Вознесенка на лівому березі річки Молочна. Отже, всі досліджувані угруповання, які розташовані в межах міста, лежать на правому березі, а лісостани Старобердянського лісництва – на лівому.

Відповідно до геоботанічного [5] й агрохімічного районування [2] України, територія дослідження лежить у Каховсько-Молочансько-Бердянському геоботанічному окрузі типчакowo-ковилових степів та подових лук степової зони в причорноморській провінції сухостепової зони темно-каштанових і каштанових ґрунтів. У формуванні ґрунтового покриву м. Мелітополя та приміських територій, окрім природних умов степової зони, важливу роль відіграє р. Молочна, завдяки якій тут сформувалися характерні для заплавних територій типи ґрунтів різного механічного складу – від супісків до важких суглинків. Крім цього, важливим фактором процесів ґрунтоутворення території дослідження є тривалий вплив лісових насаджень [3].

Відібрані за генетичними горизонтами зразки ґрунту висушували за кімнатної температури й аналізували просіяний через сито дрібнозем (фракція < 1.0 мм). Актуальну кислотність (рН) визначали потенціометрично у водній витяжці (співвідношення ґрунт : розчин – 1 : 2,5), гумус – за Тюрнімом зі спектрофотометричним завершенням [11]. Підготовку ґрунтових зразків до аналізу на валовий вміст важких металів здійснювали обробкою попередньо спаленої за 450°C проби ґрунту сумішшю HCl:HNO<sub>3</sub> (3:1) [10].

Вміст ВМ у рослинах визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі С115М1 у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції. Середню пробу утворювали, залежно від маси особин, із 3–5 – 10–15 рослин, відібраних на площі 100–200 м<sup>2</sup>. Проби повітряно-сухого рослинного матеріалу озолювали за температури 450°C. Одержану золу розчиняли HNO<sub>3</sub> (1:1) [10]. Визначення проводили у трьох повторностях. Відносна похибка за Р=95% не перевищувала 7%.

### Результати і їхнє обговорення

Диференціація хімічних елементів у ґрунтах степової зони визначається пануванням окислювальної нейтральної та лужної геохімічної обстановки, ослабленим або відсутнім промивним режимом ґрунтового профілю і збільшенням ролі концентрації елементів на випарювальному бар'єрі. Як наслідок, відбувається зниження інтенсивності водної міграції більшості катіоногенних елементів, слабо рухомих у нейтральному та лужному середовищах, що разом із високим вмістом органічної речовини створює умови для концентрування хімічних елементів, насамперед, у верхніх горизонтах ґрунтового розрізу. У степовій зоні важливим чинником формування ґрунтового профілю є лесиваж, у результаті якого відбувається переміщення з верхніх у нижні горизонти мулистих фракцій, збагачених органічною речовиною та залізом, що разом із наявністю карбонатних горизонтів є передумовою для формування геохімічного бар'єру всередині ґрунтового профілю.

Отже, характер розподілу мікро- та макроелементів у ґрунтах досліджених угруповань визначається механічним складом, вмістом органічної речовини, окисно-відновними умовами, кислотністю, лесиважем і водним режимом. Дія цих чинників створює умови для геохімічної диференціації елементів у ґрунтовому профілі, про що свідчать коефіцієнти радіальної диференціації (Крд = вміст елемента у ґрунтовому горизонті / вміст у материнській породі), розраховані на основі отриманих даних (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст хімічних елементів (мкг/г) у ґрунтах зелених зон  
м. Мелітополя (Запорізька обл.), жовтень 2010 р.

Ґрунтовий горизонт і його потужність, см	pH (H <sub>2</sub> O)	C орг, %	Zn	Cd	Fe	Mn	Pb	Cu	Co	
<b>Парк ім. Горького, насадження акації, ґрунт лучний супіщаний</b>										
1.5–0.5	H0L	–	–	18.7	0.02	212.5	148.9	3.7	2.2	0.7
0.5–0	H0F	–	–	22.5	0.14	483.6	104.7	20.2	1.3	1.7
0–20	H	7.60	0.85	4.3	0.11	225.2	45.3	4.1	0.3	1.6
20–30	Hpk	7.70	0.70	4.6	0.04	303.8	38.8	3.7	0.5	1.5
30–50		7.77	0.69	6.4	0.03	408.6	46.6	3.5	0.5	1.6
50–60		7.80	0.62	6.4	0.03	445.2	43.1	3.5	0.6	1.9
60–80		7.85	0.58	5.0	0.03	340.5	36.7	3.3	0.6	1.6
80–90	Phk	7.97	0.49	4.1	0.03	261.9	31.1	2.9	0.3	1.1
<b>Садстанція, насадження каркаса західного, ґрунт дерновий супіщаний</b>										
2–0.5	H0L	–	–	20.4	0.13	142.6	162.8	1.8	2.1	0.1
0.5–0	H0F	–	–	34.2	0.17	372.4	124.6	6.4	3.4	1.1
0–15	H	7.41	4.15	16.0	0.10	356.2	105.7	7.3	2.3	1.3
15–25	Hpe	7.23	0.52	3.7	0.03	209.5	30.2	3.1	0.3	1.0
25–55	Phe	6.95	0.14	1.8	0.03	209.5	17.3	1.8	0.1	0.6
55–70	Phi	6.64	0.29	2.8	0.03	251.4	23.7	1.8	0.1	0.6
70–	P(h)	6.55	0.39	2.3	0.03	235.7	24.6	1.4	0.1	0.6
<b>Лісопарк, насадження акації, ґрунт дерновий лесивований супіщаний</b>										
1–0.5	H0L	–	–	26.9	0.15	87.2	68.5	2.5	1.6	0.6
0.5–0	H0F	–	–	47.8	0.22	444.6	97.0	9.3	3.3	1.1
0–10	H	6.62	1.48	8.7	0.07	330.0	42.3	2.9	0.9	1.6
10–27	E(L)	6.27	0.31	2.8	0.01	330.0	25.9	1.4	0.4	1.0
27–80	Ih	6.46	0.39	2.8	0.01	277.6	23.7	3.9	0.4	1.0
80–95	Pi	6.51	0.18	2.7	0.01	330.0	17.3	2.4	0.2	0.8
95–	P	6.60	0.17	2.8	0.01	261.9	15.1	2.2	0.1	0.8
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 60, дубняк, ґрунт темно-каштановий суглинковий</b>										
2–0.5	H0L	–	–	20.7	0.07	191.0	271.0	1.5	2.0	0.6
0.5–0	H0F	–	–	26.7	0.22	629.7	289.9	4.9	2.1	2.8
0–1	He	6.60	5.62	19.2	0.11	890.5	211.4	6.9	2.5	4.0
1–10			3.25	11.5	0.03	471.4	116.5	6.9	1.1	3.2
10–20			1.48	8.7	0.03	654.8	86.3	5.3	0.7	3.0
20–35	Hpi	6.55	1.14	10.1	0.06	1021.4	82.0	4.3	1.0	2.8
35–60			6.37	0.83	5.0	0.03	523.8	60.4	3.5	0.5
60–70	Phi	6.56	0.64	6.9	0.03	775.2	53.9	4.7	0.7	2.1
90–	P(h)k	7.40	0.47	5.5	0.03	576.2	45.3	2.4	0.3	1.9
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 10, дубняк, ґрунт лучно-чорноземний поверхнево оглешений важкосуглинковий</b>										
2–0.5	H0L	–	–	35.4	0.02	31.9	99.0	1.4	2.4	0.1
0.5–0	H0F	–	–	47.3	0.19	342.4	189.1	4.0	3.8	0.6
0–2	H(gl)	6.98	2.61	10.5	0.08	560.5	120.8	6.3	1.6	3.7
2–20			7.12	1.76	8.7	0.04	665.2	107.8	6.3	1.2
20–40	Hr	7.46	1.78	13.3	0.06	1047.6	118.6	6.1	1.3	3.5
40–50			8.12	1.32	13.8	0.06	1257.1	88.4	6.9	1.1
50–75	Phk	8.10	0.69	11.0	0.04	1204.8	92.7	6.9	1.8	3.2
90–95			8.10	0.59	8.2	0.04	550.0	73.3	5.9	1.1
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 18, сосняк, ґрунт темно-каштановий супіщаний</b>										
2–0.5	H0L	–	–	9.6	0.02	52.9	76.6	1.4	1.5	0.1
0.5–0	H0F	–	–	17.4	0.16	257.2	97.2	3.3	1.9	1.1
0–2	Hed	6.46	3.69	7.2	0.06	471.4	64.7	3.3	1.0	1.6
2–22	H(i)	7.11	0.84	3.2	0.03	288.1	32.4	2.0	0.3	1.2
22–42	Hpi	7.18	0.39	5.5	0.04	628.6	34.5	2.9	0.7	1.4
42–90	Phi	7.38	0.26	4.3	0.04	550.0	30.2	2.9	0.5	1.0
90–	P(h)	7.43	0.16	3.7	0.04	392.9	23.7	2.9	0.3	1.1
<b>Кларки за Виноградовим (1962)</b>										
Кларк у ґрунтах			<b>50</b>	<b>0.50</b>	<b>38000</b>	<b>850</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>8</b>	
Кларк літосфери			<b>83</b>	<b>0.13</b>	<b>46500</b>	<b>1000</b>	<b>16</b>	<b>47</b>	<b>18</b>	

У верхній, переважно незначній за потужністю, але з високим вмістом органічної речовини частині гумусового горизонту, порівняно з материнською породою, накопичуються всі досліджувані елементи (Zn Крд = 1.3–6.9; Cu Крд = 1.5–23; Cd Крд = 1.5–3.7; Pb Крд = 1.1–5.2; Mn Крд = 1.7–4.7; Co Крд = 1.4–2.2; Fe Крд = 1.0–1.5). З глибиною, разом зі зменшенням вмісту органіки, знижується й інтенсивність накопичення хімічних елементів (Zn Крд = 0.9–3.1; Cu Крд = 1.0–9.0; Cd Крд = 0.8–7.0; Pb Крд = 0.7–2.9; Mn Крд = 1.2–2.8; Co Крд = 1.1–1.7; Fe Крд = 0.7–1.3).

Загалом, коефіцієнти радіальної диференціації в гумусовому горизонті, особливо у його верхній частині – достатньо високі. Беручи до уваги концентрації елементів у підстилці, можна припустити, що високі Крд мають, перш за все, біогенне походження. У середній частині ґрунтового профілю, через наявність карбонатів і внаслідок процесів лесиважу, формується геохімічний бар'єр в ілювіальному горизонті (Zn Крд = 1.0–1.6; Cu Крд = 1.0–2.3; Cd Крд = 1.0–1.5; Pb Крд = 1.0–1.7; Mn Крд = 1.0–1.5; Co Крд = 1.0–1.7; Fe Крд = 1.1–2.1).

Абсолютні концентрації досліджуваних елементів у гумусових горизонтах ґрунтів і материнських породах району досліджень суттєво нижчі від кларкових значень: вміст Cu – у 10–70, Pb – у 1.5–5, Zn – у 3–15, Co – у 2–6, Mn – у 10–20, Fe – у 50–150 разів і, відповідно, вміст Cd – у 3–15 рази нижчий за кларкові значення. Однак варто відзначити, що на сьогодні кларк Cd для ґрунтів потребує уточнення [1].

Вміст хімічних елементів у рослинах необхідно розглядати з урахуванням систематичного положення рослини та геохімічних особливостей ландшафту. Тому, порівнюючи вміст металів у рослинах зелених зон м. Мелітополя з кларковими значеннями, можна стверджувати, що лише концентрації Cd є дещо вищими від середніх. Вміст інших елементів для більшості рослин є близьким (Zn, Pb, Cu) або нижчим (Fe, Mn, Co) за кларкові значення (табл. 2).

Важливим показником в оцінці біогенної міграції елементів є коефіцієнт біотичного поглинання ( $K_b = \frac{\text{вміст у золі рослини}}{\text{вміст у материнській породі ґрунту}}$ ) – величина прямо пропорційна до інтенсивності біотичного поглинання елементів [12]. Отримані коефіцієнти біотичного поглинання (табл. 2) порівнювали зі значеннями, розрахованими на основі даних про середній вміст елементів у рослинності суші й літосфері [1, 7, 12]. Загалом, порядки значень  $K_b$  досліджуваних елементів для рослинності суші, розраховані різними авторами, за винятком Cd, збігаються. За В. В. Добровольським [7], значення коефіцієнта біотичного поглинання для Cd принаймі на порядок перевищує аналогічну величину за А. И. Перельманом [12] та В. А. Алексеенком [1].

$K_b$  мікроелементів для рослин території дослідження (розраховані щодо вмісту мікроелементів у материнській породі ґрунтів пробних площ) свідчать, що усі елементи накопичуються у ґрунті біогенним шляхом і коефіцієнти біотичного поглинання утворюють ряд: Cu, Zn, Cd /100n–10n > Mn, Pb /10n–n > Fe, Co /n–0,n. Порівнюючи значення  $K_b$  із кларковими, видно, що для більшості рослин, у т. ч. і видів-ефікаторів, роль яких у кругообігу хімічних елементів в екосистемах найвагоміша (дуб, сосна, каркас, клен), коефіцієнти біотичного поглинання, розраховані для Fe, Mn, є у кілька разів вищими за середні показники (табл. 2). Аналогічні значення для Cu та Cd перевищують кларкові значення на порядок величини і більше. Значення  $K_b$  для Pb, Zn і Co перебувають на рівні середніх значень. Серед видів-ефікаторів лише для акації білої інтенсивність біотичного поглинання досліджених елементів, за винятком Cd, є значно нижчою і перебуває на рівні середніх значень для рослинності суші. Отже, інтенсивність залучення досліджених елементів у біологічний кругообіг в лісових екосистемах м. Мелітополя та прилеглих територій є високою.



Таблиця 2

Вміст хімічних елементів (мкг/г сухої речовини) у надземній частині рослин зелених зон м. Мелітополя (Запорізька обл.), жовтень 2010 р.\*

Назва рослини	Зольність, г/г	Zn	Cd	Fe	Mn	Pb	Cu	Co
<b>Парк ім. Горького, насадження акації</b>								
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. (листки)	0.1158	0.3	0.05	0.2	4.8	0.6	0.1	≤ 0.2
<i>Acer platanoides</i> L. (листки)	0.1125	10.8	0.09	162.0	349.3	1.5	1.9	≤ 0.2
<i>Quercus robur</i> L. (листки)	0.1073	15.5	0.07	79.4	121.0	1.3	2.8	≤ 0.2
<i>Bromus squarrosus</i> L.	0.1038		0.39	3.9	7.1	2.1	9.1	≤ 0.2
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	0.1884	49.5	0.20	27.1	156.5	3.0	5.1	≤ 0.2
<i>Ballota ruderalis</i> Sw.	0.1520	25.7	0.05	20.8	34.7	1.4	6.4	≤ 0.2
<i>Chelidonium majus</i> L.	0.1344	20.9	0.16	44.4	11.3	1.3	4.3	≤ 0.2
<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.1366	31.1	0.08	113.0	19.1	2.1	3.6	≤ 0.2
<i>Geum urbanum</i> L.	0.0951	1.4	0.03	1.4	1.2	2.1	0.03	≤ 0.2
<i>Taraxacum officinale</i> Webb ex Wigg.	0.1649	19.0	0.02	19.4	19.6	2.1	3.5	≤ 0.2
<i>Asperugo procumbens</i> L.	0.1767	38.5	0.06	64.5	23.5	2.4	11.8	≤ 0.2
<b>Садстанція, насадження каркаса західного</b>								
<i>Celtis occidentalis</i> L. (листки)	0.1742	9.0	0.12	104.8	123.4	1.4	2.4	≤ 0.2
<i>Poa bulbosa</i> L.	0.0683	17.8	0.26	17.5	37.3	3.1	6.4	≤ 0.2
<i>Anisantha tectorum</i> (L.) Nevski.	0.0855	6.2	0.08	90.4	12.5	2.2	1.2	≤ 0.2
<i>Taraxacum officinale</i> Webb ex Wigg.	0.2158	29.5	0.07	91.5	82.3	3.0	4.5	≤ 0.2
<i>Dactylis glomerata</i> L.	0.1290	10.4	0.04	117.4	56.4	1.8	9.5	≤ 0.2
<i>Sclerochloa dura</i> (L.) Beauv.	0.0990	9.7	0.04	21.0	21.2	1.0	1.3	≤ 0.2
<i>Asperugo procumbens</i> L.	0.2173	35.2	0.19	21.9	28.8	2.8	9.5	≤ 0.2
<i>Festuca valesiaca</i> Schleich. ex Gaud.	0.1145	39.0	0.13	26.5	28.1	2.2	9.0	≤ 0.2
<b>Лісопарк, насадження акації</b>								
<i>Robinia pseudoacacia</i> L. (листки)	0.1485	0.1	0.08	2.6	0.4	0.6	0.1	≤ 0.2
<i>Bromus squarrosus</i> L.	0.0543	20.2		42.9	12.4	1.6	6.1	≤ 0.2
<i>Ballota ruderalis</i> Saw.	0.0996	27.1		13.3	43.0	1.9	4.2	≤ 0.2
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her.	0.1378	14.0	0.07	1.2	6.0	1.3	1.7	≤ 0.2
<i>Galium aparine</i> L.	0.1321	19.8		3.8	16.2	3.3	6.8	≤ 0.2
<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.1345	44.3		11.7	41.0	2.6	9.0	≤ 0.2
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	0.1728	24.4	0.06	18.3	107.4	1.3	3.3	≤ 0.2
<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	0.1050	46.1		9.3	4.1	2.0	5.8	≤ 0.2
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 18, сосняк</b>								
<i>Pinus sylvestris</i> L. (хвоя)	0.0260	8.6	0.08	27.3	40.0	0.7	1.5	≤ 0.2
<i>Bromus squarrosus</i> L.	0.0679	18.7	0.08	33.6	9.3	1.7	2.1	≤ 0.2
<i>Ballota ruderalis</i> Saw.	0.1324	4.9	0.09	2.6	0.6	2.3	0.5	≤ 0.2
<i>Festuca valesiaca</i> Schleich. ex Gaud.	0.0990	26.3	0.10	53.9	46.8	2.1	9.2	≤ 0.2
<i>Taraxacum officinale</i> Webb ex Wigg.	0.1480	27.0	0.36	8.2	23.2	2.7	6.1	≤ 0.2
<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.1163	23.5	0.05	104.1	24.2	2.0	6.8	≤ 0.2
<i>Galium aparine</i> L.	0.1416	43.2	0.09	66.4	19.4	2.6	15.4	≤ 0.2
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 60, дубняк</b>								
<i>Quercus robur</i> L. (листки)	0.0674	10.6	0.06	25.1	140.4	0.6	2.2	≤ 0.2
<i>Celtis occidentalis</i> L. (листки)	0.2149	6.0	0.08	90.1	68.7	1.2	1.7	≤ 0.2
<i>Taraxacum officinale</i> Webb ex Wigg.	0.2014	52.9	0.12	117.5	14.3	1.6	6.6	≤ 0.2
<i>Festuca valesiaca</i> Schleich. ex Gaud.	0.0997	43.5	0.17	61.6	37.4	2.1	11.1	≤ 0.2
<i>Galium aparine</i> L.	0.1724	14.8	0.09	59.6	10.1	1.8	1.1	≤ 0.2
<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.1474	3.4	0.05	9.1	3.6	0.7	1.1	≤ 0.2
<i>Anisantha tectorum</i> (L.) Nevski.	0.0692	33.4	0.17	65.3	94.8	2.4	6.4	≤ 0.2
<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) D.C.	0.1196	6.8	0.49	13.2	12.1	3.2	11.3	≤ 0.2
<b>Старо-Бердянське лісництво, квартал 10, дубняк</b>								
<i>Quercus robur</i> L. (листки)	0.0750	17.0	0.04	28.6	101.5	0.8	2.8	≤ 0.2
<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	0.0940	7.1	0.05	35.4	11.4	1.2	1.5	≤ 0.2
<i>Galium aparine</i> L.	0.1727	13.8	0.02	11.1	16.8	3.4	5.9	≤ 0.2
<b>Середній вміст у рослинності суші, мкг/г (Добровольський, 1997)</b>								
-		30.0	0.035	200	205	1.25	8.0	0.5
<b>Примітка.</b> Значення коефіцієнта біотичного поглинання, позначені відтинками сірого кольору ( $K_b = \frac{\text{вміст у золі рослини}}{\text{вміст у материнській породі ґрунту}}$ )								
<100	100-10	10-1	1.0-0.1	0.1-0.01			0.01-0.001	

Mn, Cu, Zn, Fe, Co – це елементи-органогени, які виконують важливі фізіологічні функції в живому організмі. Тому деякі відмінності Кб цих елементів у бік збільшення від кларкових величин у досліджених екосистемах є, перш за все, наслідком високої фізіологічної потреби рослин у цих елементах на фоні низьких концентрацій у ґрунтах. Фізіологічна роль Cd і Pb не доведена, ймовірно, для нормальної діяльності організмів необхідна мінімальна кількість цих елементів [9]. Ґрунтовірні породи території дослідження, порівняно з кларком літосфери, збіднені Pb, й незначно збагачені Cd. Отже, на тлі невисокого вмісту у ґрунті й низької фізіологічної потреби рослинних організмів у Cd та Pb встановлено, що коефіцієнти біотичного поглинання для Pb перебувають на верхній межі середніх величин, для Cd – на порядок і вище кларкових значень. Висока інтенсивність поглинання кадмію рослинами зумовлена тим, що Cd – це геохімічний аналог Zn і, відповідно, конкурент цинку під час поглинання рослинами [9].

Беручи до уваги значення коефіцієнтів біотичного поглинання, можна зробити висновок не лише про роль окремих видів рослин і рослинності загалом у кругообігу елементів в екосистемі, а й про здатність екосистеми до самоочищення – включаючись у біогеохімічний цикл, важкі метали фіксуються рослинністю на певний проміжок часу, потрапляють в опад і, після його розкладання, переходять у водорозчинні форми, здатні до виведення водними потоками за межі екосистеми [6]. Високі коефіцієнти біотичного поглинання свідчать про значний потенціал очищення лісових екосистем Мелітополя у разі забруднення важкими металами.

Абсолютні концентрації досліджуваних хімічних елементів у ґрунтах не перевищують кларкових значень.

Розподіл досліджених елементів у ґрунтових розрізах відбувається відповідно до розподілу в профілі продуктів ґрунтоутворення; у підстилці та в гумусовому горизонті основним чинником накопичення елементів є органічна речовина, а в ілювіальному горизонті – карбонати і мулисті частинки, які разом зі сорбованими на них металами внаслідок лесиважу збагачують середню частину ґрунтового профілю.

Суттєвої різниці у рівнях накопичення досліджених хімічних елементів у ґрунтах міської і приміської зони не виявлено, що свідчить про відсутність значного забруднення ґрунтів зелених зон м. Мелітополя Cu, Zn, Pb, Cd, Mn, Fe, Co.

Вміст хімічних елементів, за винятком Cd, для більшості рослин є близьким (Zn, Pb, Cu) або нижчим (Fe, Mn, Co) за кларкові значення; концентрація Cd перебуває в межах від середніх значень до значень у кілька разів вищих за кларкові.

Значення інтенсивності біотичного поглинання Fe, Mn більшістю рослин є у кілька разів вищими за середні показники; аналогічні значення для Cu та Cd перевищують кларкові значення на порядок величини і більше; інтенсивність поглинання Pb, Zn і Co відповідає середнім значенням для рослинності суші.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алексеев В. А.* Экологическая геохимия: учебник. М.: Логос, 2000. 627 с.
2. Атлас почв Украинской ССР / под ред. Н. К. Крупского, Н. И. Полупана. К: Урожай, 1979. С. 119–136.
3. *Белова Н. А., Травлев А. П.* Естественные леса и степные почвы. Днепропетровск: Изд-во ДГУ, 1999. 343 с.
4. *Виноградов А. П.* Среднее содержание химических элементов в главных типах изверженных горных пород земной коры // Геохимия. 1962. № 7. С. 555–572.

5. Геоботаничне районування Української РСР / за ред. А. І. Барбарич. К.: Наук. думка, 1977. 304 с.
6. Геохимия техногенных радионуклидов / под ред. Э.В. Собоновича и Г.Н. Бондаренко. К.: Наук. думка, 2002. 196 с.
7. Добровольский В. В. Биосферные циклы тяжелых металлов и регуляторная роль почвы // Почвоведение. 1997. № 4. С. 431–441.
8. Дядькова К., Романюк Н. Кора *Robinia pseudoacacia* і талом епіфітного лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. як індикатори забруднення атмосфери м. Мелітополя // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Т 56. С. 99–104.
9. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.
10. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами М.: Гидрометеоиздат, 1981. 110 с.
11. Никитин Б. А. Определение содержания гумуса в почве // Агрохимия. 1972. Т. 3. С. 123–125.
12. Перельман А. И. Геохимия ландшафта. М.: Высшая школа, 1989. 361 с.
13. Babula P., Adam V., Opatrilova R. et al. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review // Environmental Chemical Letter. 2008. N 6. P. 189–213.

*Стаття: надійшла до редакції 07.02.13*

*доопрацьована 22.05.13*

*прийнята до друку 28.05.13*

## BIOGEOCHEMISTRY CU, ZN, CD, MN, FE, CO IN GREEN AREAS OF MELITOPOL SITY (ZAPORIZHZHYA REGION, UKRAINE)

K. Dyadkova<sup>1</sup>, N. Romanyuk<sup>2</sup>, V. Kozlovskyy<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Bohdan Khmelnytsky State Pedagogical University of Melitopol  
20, Lenin St., Melitopol 72300, Ukraine*

<sup>2</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

<sup>3</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine*

Total concentrations of chemical elements do not exceed Clarke's values. The distribution of elements in the soil profile reveals the existence of geochemical barriers in the upper (A soil horizon) and middle (B soil horizon) part of the soil profile. The levels of Zn, Pb, Cu for majority of plants was near Clarkes, Fe, Mn, Co – lower, and Cd – ranged from average values to values several times higher than Clarkes. The concentration factor (CF) (metal content in plant ash/metal content in parent material of the soil) for Fe, Mn is several times higher than the average for terrestrial vegetation [average metal content in terrestrial vegetation ash/metal content in lithosphere]; CF values for Cu and Cd exceed the Clarkes values by 10 times or more; CF for Pb, Zn, Co is comparable to average values.

*Keywords:* steppe zone, heavy metals, soils, plants.

**БИОГЕОХИМИЯ CU, ZN, CD, MN, FE, CO В ЗЕЛЕННЫХ ЗОНАХ ГОРОДА  
МЕЛИТОПОЛЯ (ЗАПОРОВСКАЯ ОБЛАСТЬ, УКРАИНА)**

**К. Дядькова<sup>1</sup>, Н. Романюк<sup>2</sup>, В. Козловский<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Мелитопольский государственный педагогический университет имени  
Богдана Хмельницкого ул. Ленина, 20, Мелитополь 72300, Украина*

<sup>2</sup>*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского 4, Львов, 79026, Украина  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

<sup>3</sup>*Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина*

Абсолютные концентрации химических элементов в почвах не превышают кларковых значений. Распределение элементов в почвенном профиле свидетельствует о наличии геохимических барьеров в верхней и средней части почвенного разреза, где в гумусовом и иллювиальном горизонтах существуют условия для накопления исследованных элементов. Содержание Zn, Pb, Cu для большинства растений сопоставимо с кларковыми, Fe, Mn, Co – ниже, Cd – находится в границах от средних значений к значениям в несколько раз выше кларковых. Интенсивность биологического поглощения Fe, Mn большинством растений в несколько раз выше средних показателей для растительности суши; аналогичные значения для Cu и Cd превышают кларковые значения на порядок и более; интенсивность поглощения Pb, Zn, Co сопоставима со средними значениями.

*Ключевые слова:* почвы, степная зона, растения, тяжелые металлы.

## ВПЛИВ ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ЖОВТОГОРЛОЇ МИШИ

С. Задира\*, Д. Лукашов

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
ННЦ «Інститут біології»  
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна  
e-mail: luminary\_SV@ukr.net*

На відстані 500 м на південний схід від Трипільської ТЕС (Київська обл.) виявлено підвищений вміст у ґрунтах рухомих форм Pb, Cd, Cr, Ni та Co, що значно (у 3–5 разів) перевищує рівні, характерні для незабрудненої території (Канівський природний заповідник). В умовах забруднення важкими металами ґрунтового покриву встановлено збільшення концентрації дієвих кон'югатів у 3–7 разів, ТБК-позитивних продуктів – у 2–4 рази в печінці особин жовтогорлої миші. Виявлено сезонну динаміку вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Висловлюється припущення, що зареєстровані зміни біохімічних показників свідчать про стан еколого-біохімічного стресу для організму жовтогорлої миші в районі впливу теплоелектростанції.

*Ключові слова:* важкі метали, перекисне окиснення ліпідів.

Техногенне хімічне забруднення екосистем є актуальною проблемою сучасності. Зосередження промислових підприємств у великих мегаполісах, поруч із невеликими містами та селищами міського типу, робить актуальним питання моніторингу їх негативного впливу на довкілля [6, 10, 12]. Інтенсивне промислове виробництво призводить до вивільнення величезної кількості важких металів, що розсіюються в атмосфері та включаються у кругообіг речовин. Їхні обсяги багатократно перевищують природну кількість металів у різних ланках біосфери. Серед техногенних металів, найпоширеніших нині в біосфері, перш за все слід назвати свинець, ртуть, кадмій, мідь і цинк, які переважно вивільняються при спалюванні мінерального палива. Основними продуктами, що утворюються при згорянні вугілля, є зола, оксиди азоту, сірчистий ангідрид, оксид вуглецю, п'ятиокис ванадію та бензопірен. Зола вугілля збагачена важкими металами, зокрема вміст Cu становить 35 мг/кг, Zn – 85 мг/кг, Pb – 20 мг/кг, Cr – 123 мг/кг, Ni – 62 мг/кг, Cd – 4 мг/кг, Co – 114 мг/кг [4]. Антропогенна емісія настільки потужна, що при спалюванні кам'яного вугілля в атмосфері розсіюється більша кількість металів, ніж їх добуває людина з родовищ [1]. У сніговому покриві навколо великих теплових електростанцій утворюються ділянки забруднення в радіусі 10–20 км. Вітри сприяють утворенню ореолів розсіювання [4]. В екологічному відношенні Київська область – одна з найбільш забруднених в Україні. У ній виявлено 443 промислових підприємств, що є джерелами забруднення атмосферного повітря. Серед регіонів області найбільші забруднювачі розташовані в Обухівському районі, кількість промислових викидів яких становить 83 тис. т/рік. Поміж них найбільш потужним забруднювачем є Трипільська ТЕС – понад 21 тис. т/рік, що становить 84% усіх викидів в атмосферу підприємств Київської області [3].

У зв'язку з цим з'ясування конкретних механізмів і параметрів впливу на довкілля великого підприємства (теплової електростанції), що розташоване у густонаселеному районі, є актуальним. Для подібних досліджень найзручніші об'єкти – дрібні савці, оскільки

це одні з небагатьох тварин, що мешкають у трансформованих екосистемах, безпосередньо поруч із людиною. Мишоподібні гризуни завдяки нетривалому життєвому циклу встигають відбити у своєму організмі вплив навколишнього середовища [1]. Відомо, що одним з проявів токсичного впливу важких металів є активація процесів ПОЛ клітинних мембран [6]. Печінка є одним із основних органів детоксикації. Представлена робота присвячена інтегральній оцінці біохімічних показників природних популяцій гризунів в умовах забруднення довкілля важкими металами.

### Матеріали та методи

Дослідження проводили на природних популяціях жовтогорлої миші (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834), що займають території з різним ступенем антропогенного забруднення. Середовище існування цього виду тісно пов'язане з ґрунтовою підстилкою, саме тому він може бути біомонітором техногенного забруднення довкілля.

Для порівняльного аналізу було обрано три райони з різним ступенем антропогенного навантаження. Територія Канівського природного заповідника (Черкаська область, Україна) – природно-заповідна територія вищого охоронного статусу, була обрана як найменш порушений ландшафт. Територія Національного природного парку (НПП) “Голосіївський” (м. Київ, Україна) є подібною за фітоценотичною структурою ландшафту (грабова діброва), відчуває як опосередкований, так і безпосередній вплив діяльності людини (починаючи від фактора турбування і закінчуючи забрудненням атмосферного повітря викидами міста). Район впливу Трипільської ТЕС (Обухівський район, Київська область), де розташована невелика грабова посадка, впритул прилягає до південно-східного краю проммайданчика теплоелектростанції (приблизно 500 м), що переважно працює на вугіллі, потрапляючи під факел розсіювання [4].

Матеріалом слугували результати контрольних відловів на обраних ділянках, що було проведено згідно із загальноприйнятими методиками навесні, влітку та восени 2012 р. [2]. Загальна кількість проаналізованих особин становить 89 екз. (із них з Канівського природного заповідника – 36 екз.; НПП “Голосіївський” – 23 екз.; район впливу Трипільської ТЕС – 30 екз.). Збір матеріалу проводили на спеціально обраних облікових ділянках площею 3025 м<sup>2</sup> (загальна площа становила 3,63 га) для оцінки щільності розподілу особин.

Вміст важких металів у верхньому 5-см шарі ґрунту і в печінці визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С115-М1 (полум'я ацетилен-повітря) з дейтерієвим коректором фону та комп'ютерно-аналітичним комплексом КАС-120. Аналізували вміст кислоторозчинної фракції металів (1н HNO<sub>3</sub>) і їхню обмінну частку у ґрунті шляхом екстракції ацетатно-аміачним буфером (рН 4,8) згідно зі стандартними методиками [5]. Вміст металів у зразках розраховували у мг/кг маси повітряно-сухих зразків.

Рівень продуктів ПОЛ оцінювали за вмістом первинних (дієнові кон'югати), вторинних (ТБК-позитивні продукти) і кінцевих (шифові основи) метаболітів. Вміст дієнових кон'югатів визначали за методом В. Б. Гаврилова і М. І. Мишкорудної [7]. Під час ПОЛ на стадії утворення вільних радикалів у молекулах поліненасичених вищих жирних кислот виникає система спряжених подвійних зв'язків з утворенням кон'югованих дієнів, що супроводжується появою нового максимуму в спектрі поглинання при хвилі 233 нм. Оскільки кон'юговані дієни відрізняються інтенсивним поглинанням в УФ ділянці спектра, то для визначення дієнових кон'югатів застосовували спектрофотометричний метод. Визначення вмісту ТБК-позитивних продуктів проводили спектрофотометрично за методом Р. А. Тімірбулатова [7]. ТБК-позитивні продукти визначали у реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Вміст дієнових кон'югатів і ТБК-позитивних продуктів розраховували в нмоль/

мг білка. Вміст шифових основ розраховували в умовних одиницях (у.о.) на 1 мл проби, які визначали спектрофлюориметричним методом (довжина хвилі збудження 360 нм, довжина хвилі емісії – 420 нм).

Зразки для визначення вмісту ПОЛ отримували шляхом приготування 10% гомогенату печінки, з розрахунку 1 г тканини печінки на 10 мл 0,9% розчину натрію хлориду (фізіологічний розчин).

У зв'язку з невідповідністю нормальному розподілу деяких вибірових варіативних рядів досліджуваних показників середні величини продуктів ПОЛ і вміст металів представляли як медіану ( $Me$ ). Як показник варіабельності використовували стандартне відхилення медіани ( $SD_{Me}$ ). Для порівняльної характеристики вибірових параметрів застосовували  $U$ -критерій Манна-Уїтні. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакету прикладних програм Statistica 5.5.

### Результати і їхнє обговорення

Ґрунт є специфічним компонентом біосфери, оскільки він не лише геохімічно накопичує компоненти забруднень, але й виступає як природний буфер, що контролює процеси переносу хімічних елементів і сполук зі ґрунту до атмосфери, гідросфери та живих організмів. Тривалість перебування забруднюючих компонентів у ґрунтах набагато довші порівняно з іншими компонентами біосфери, тому забруднення ґрунтів, особливо важкими металами, є практично довічним. Сполуки важких металів, які випадають на земну поверхню разом із атмосферними опадами, накопичуються у ґрунтовій товщі, особливо у верхніх гумусових горизонтах, і повільно видаляються під час визолування, ерозії, дефляції та вилучення рослинами. Період напіввидалення для Pb із ґрунтів становить кілька тисяч років, для Cd – до 1,1 тис. років, для Zn – до 0,5 тис. років [6]. Можна припустити, що за наявності постійного джерела забруднення атмосферного повітря відбудеться поступове збільшення вмісту важких металів у верхньому шарі ґрунту, що може слугувати показником забруднення дослідженої території [4]. Дослідження вмісту важких металів (Pb, Cd, Cr, Ni та Co) у зразках ґрунту показало чіткі відмінності обраних районів за обмінною фракцією (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст обмінної фракції важких металів у зразках верхнього шару ґрунту досліджуваних територій

Територія дослідження	Pb		Cd		Cr		Ni		Co	
	Me	$SD_{Me}$	Me	$SD_{Me}$	Me	$SD_{Me}$	Me	$SD_{Me}$	Me	$SD_{Me}$
Канівський природний заповідник (Черкаська обл.)	< 0,19	–	< 0,002	–	0,07	0,03	0,08	0,07	0,05	0,04
НПП «Голосіївський» (м.Київ)	0,27	0,09	< 0,003	–	0,12	0,02	0,10	0,06	0,11	0,06
Район впливу Трипільської ТЕС (Київська обл.)	0,34	0,05	0,03	0,00	0,17	0,14	0,30	0,05	0,25	0,01

Відмінності ґрунтів досліджених районів за вмістом кислоторозчинної фракції важких металів виявилися статистично незначимими й відповідали величині регіонального кларку, характерного для Лісостепової зони України [8]. Перевищення нормативних показників ГДК для орних ґрунтів не виявлено. Проте аналіз обмінної фракції важких металів показав, що її вміст у ґрунтах Канівського природного заповідника є найнижчим. Ґрунти НПП «Голосіївський» характеризувалися підвищеним вмістом Pb, а в районі впливу Трипільської ТЕС вміст рухомих форм усіх досліджених важких металів у ґрунтах значно (у 3–5 разів,  $P < 0,05$ ) перевищував рівні, характерні для території природного заповідника. Таким чином, можна стверджувати, що спостерігається послідовне збільшення у ґрунтах

частки біологічно доступної фракції досліджених важких металів: Канівський природний заповідник < НПП “Голосіївський” < район впливу Трипільської ТЕС. Збільшення вмісту обмінної фракції важких металів у ґрунтах останніх двох районів скоріше за все зумовлене процесами атмосферного переносу та випадіння забруднювачів (наявність великого мегаполіса поряд із НПП “Голосіївський” і потужної Трипільської теплоелектростанції). Слід зазначити, що в жодному випадку не було виявлено перевищення нормативних величин ГДК важких металів для орних ґрунтів, що може бути інтерпретовано з боку діючого природоохоронного законодавства як цілком задовільна екологічна ситуація в усіх досліджуваних районах.

Подібні результати забруднення важкими металами ґрунтів прилеглої території до Трипільської ТЕС отримані іншими дослідниками [4]. Модельні розрахунки показують, що завдяки нерівномірності розсіювання газодимових викидів станції, у південно-східному напрямку випадає щорічно 26,3–36,0 т/км<sup>2</sup> техногенного пилу. Завдяки цьому ґрунти збагачуються сполуками Cd, Pb, Cr. Отже, можна стверджувати, що район навколо Трипільської ТЕС за вмістом важких металів (Pb, Cd, Cr, Ni, Co) є техногенно забрудненою територією. Територія НПП “Голосіївський” характеризується дещо підвищеним вмістом рухливих форм досліджених важких металів, особливо Pb.

У НПП “Голосіївський” зафіксоване послідовне зростання щільності популяції жовтогорлої миші протягом різних сезонів року: навесні – 5 ос./га, влітку – 6 ос./га, восени – 8 ос./га. У Канівському природному заповіднику та в районі впливу Трипільської ТЕС найвища щільність популяції зафіксована влітку (відповідно 17 ос./га та 12 ос./га). Значення щільності навесні та восени є мінімальними: у Канівському заповіднику – 5 ос./га та 8 ос./га; на території поруч із Трипільською ТЕС – 6 ос./га та 7 ос./га. Таким чином, максимальна щільність на найбільш забрудненій території, що прилягає до потужної теплоелектростанції, відзначених навесні, тоді як мінімальна щільність – восени.

Аналізуючи вміст важких металів у печінці жовтогорлої миші на досліджуваних територіях, ми виявили незначне зростання вмісту Cu, Zn, Cr та Mn у районі впливу Трипільської ТЕС. Так, вміст Cu, Zn, Cr та Mn у печінці в 1,2 разу більший на забрудненій території, ніж на заповідній території. Отже, у печінці жовтогорлої миші з популяції в районі впливу Трипільської ТЕС накопичуються важкі метали, що, ймовірно, може спричинювати фізіологічні порушення в організмі.

Одним із найбільш чітких показників прямої дії важких металів виступають біохімічні зміни в організмі. Для підтвердження наявності змін біохімічних показників в організмі було проаналізовано інтенсивність накопичення продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки природних популяцій жовтогорлої миші. Аналіз вмісту продуктів ПОЛ в організмі тварин з досліджуваних територій показав суттєві відмінності ( $P < 0,05$ ) (табл. 2).

У результаті досліджень вмісту дієнових кон’югатів у гомогенаті печінки встановлено зростання зазначеного показника в особин жовтогорлої миші на забрудненій території протягом різних сезонів 2012 р.: навесні – в 7 разів більше у районі впливу Трипільської ТЕС, на відміну від природно-заповідної території, влітку та восени – у 3 рази відповідно. Варто зазначити, що в Голосіївському парку максимальні значення концентрації дієнових кон’югатів були зареєстровані влітку, тоді як восени вміст первинних метаболітів знизився. Оскільки відомо, що дієнові кон’югати належать до токсичних метаболітів, які справляють пошкоджувальний вплив на ензими та нуклеїнові кислоти [11], то можна зробити припущення, що вміст дієнових кон’югатів залежить від інтенсивності метаболізму в організмі. У наших дослідженнях на території поруч із Трипільською ТЕС в особин жовтогорлої миші зареєстроване збільшення кількості токсичного продукту впродовж року.



Таблиця 2

Вміст продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки природних популяцій тварин із досліджуваних територій

Територія дослідження	Сезон 2012 року	Дієнові кон'югати, нмоль/мг		ТБК-позитивні продукти, нмоль/мг		Шифові основи, у.о.	
		Me	SD	Me	SD	Me	SD
Канівський природний заповідник	весна	0,10	0,08*	0,13	0,01*	0,0017	0,0003
	літо	0,26	0,05	0,21	0,06	0,0019	0,0003
	осінь	0,25	0,04	0,21	0,03	0,0017	0,0002
НПП «Голосіївський»	весна	0,27	0,12	0,16	0,03	0,0017	0,0002
	літо	0,54*	0,03	0,25	0,03	0,0028	0,0002
	осінь	0,49*	0,05	0,27	0,05	0,0026*	0,0003
Район впливу Трипільської ТЕС	весна	0,72*	0,07	0,42*	0,02	0,0030*	0,0004
	літо	0,73*	0,04	0,81*	0,16	0,0035*	0,0001
	осінь	0,72*	0,07	0,43*	0,09	0,0042*	0,0004

**Примітка.** \* – статистично значимі відмінності ( $P < 0,05$ ).

Дослідження вмісту ТБК-позитивних продуктів показало також зростання його концентрації на території поруч із теплоелектростанцією впродовж 2012 р., на противагу заповідній території: навесні відзначено збільшення у 3 рази, влітку – у 4 рази, восени – у 2 рази. Слід відзначити, що зростання ТБК-позитивних продуктів, можливо, тісно пов'язане з харчовим надходженням важких металів, а це призводить до ураження мембран клітин печінки. ТБК-позитивним продуктам належить важлива роль у синтезі простагландинів, прогестерону й інших стероїдів [9]. Негативна роль ТБК-позитивних продуктів полягає у тому, що він зшиває молекули ліпідів і погіршує плинність мембран. Унаслідок цього мембрана стає менш лабільною. Порушуються процеси, пов'язані зі зміною поверхні мембрани: фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція тощо [11].

Кінцевим продуктом ПОЛ є утворення шифових основ унаслідок взаємодії вторинних продуктів ПОЛ із білками та фосфоліпідами, які містять аміногрупи. У результаті дослідження вмісту шифових основ встановлено незначне, але статистично значиме підвищення їх концентрації в печінці мишей у районі впливу Трипільської ТЕС. Причому можна відзначити чітке поступове зростання їхнього вмісту протягом вегетаційного сезону, від 0,0030 у.о. навесні до 0,0042 у.о. восени. На заповідних територіях вміст шифових основ у печінці тварин протягом вегетаційного сезону був практично незмінним. Таку різницю у динаміці вмісту шифових основ на територіях із різним ступенем забруднення ґрунтового покриву можна пояснити тим, що накопичення даного продукту відповідає більш глибоким змінам окисного гомеостазу [11]. Суттєве збільшення цього показника найчастіше є наслідком тяжких уражень тканин.

Відомо, що надходження токсичних речовин в організм теплокровних тварин стимулює генерацію активних форм кисню [1]. При порушенні молекулярних механізмів інактивації цих радикалів можливе підсилення процесів вільнорадикального окиснення і накопичення продуктів ПОЛ. Блокування цих процесів здійснюється за рахунок ендogenous антиоксидантів: жиророзчинні (вітаміни групи Е (токоферолі), убіхінон, вітаміни групи А (ретинолі) і провітаміни групи А ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -каротини), вітаміни групи D (кальциферолі), К (філохіноні і менахінон), ліпоєва кислота, деякі стероїдні гормони, мелатонін та інші) та захисні ферменти (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, а також низько- та високомолекулярні сполуки, що містять тіольні та селеногрупи, зокрема цистеїн, цистин та інші). Накопичення продуктів ПОЛ в умовах токсичного забруднення довкілля пов'язане з виснаженням ресурсів ендogenous протекторів [6]. Наслідком цього є порушення структури біомембран і ферментних систем метаболізму організму, тобто поява ознак інтоксикації.

У результаті досліджень встановлено, що вміст важких металів у ґрунтах і печінці популяції жовтогорлої миші є найвищим у районі впливу Трипільської ТЕС (найзабрудненіша з досліджених територій), на відміну від Канівського природного заповідника, що є фоновою територією. Зафіксовано, що у клітинах печінки гризунів значне накопичення продуктів ПОЛ на території Трипільської ТЕС порівняно із природно-заповідною територією, як навесні (дієнових кон'югатів – у 7 разів; ТБК-позитивних продуктів – у 3 рази), так і влітку та восени (дієнових кон'югатів у 3 рази; ТБК-позитивних продуктів – у 4 та 2 рази). Встановлено незначне підвищення вмісту шифових основ у клітинах печінки гризунів у районі впливу Трипільської ТЕС (у 2 рази навесні та влітку, у 2,5 разу восени).

Таким чином, біохімічні параметри жовтогорлої миші на дослідженій території характеризуються вираженою сезонною динамікою. У районі впливу Трипільської ТЕС виявлено підвищений вміст у ґрунтах рухомих форм Pb, Cd, Cr, Ni та Co, на відміну від Канівського природного заповідника, що може свідчити про техногенне забруднення даної території. Отже, забруднення ґрунтового покриву важкими металами призводить до розвитку ознак еколого-біохімічного стресу в організмі тварин, місце існування яких пов'язано з едафотопом.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Безель В. С.* Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты. Екатеринбург: Голицкий, 2006. 280 с.
2. *Гашев С. Н., Сазонова Н. А., Селюков А. Г.* и др. Методика комплексной оценки состояния сообществ и популяций доминирующих видов или видов-индикаторов мелких млекопитающих, амфибий и рыб. Тюмень: ТюмГУ, 2005. 94 с.
3. Екологічний паспорт Київської області / за ред. О.І. Безкоровайного. К.: Мін-во екол. та прир. ресурсів України, 2011. 93 с.
4. *Красовський Г. Я., Трофимчук О. М., Крета Д. Л.* та ін. Синтез картографічних моделей забруднення земель техногенним пилом з використанням космічних знімків // Екологія і ресурси. 2005. Вип. 12. С. 37–55.
5. *Минеев В. Г., Сычев В. Г., Амелянчик О. А.* и др. Практикум по агрохимии. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
6. *Общая токсикология* / под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. М.: Медицина, 2002. 606 с.
7. *Современные методы в биохимии* / под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. 391 с.
8. *Фатеев А. І., Пащенко Я. В.* Фоновий вміст мікроелементів у ґрунтах України. Харків: ННЦ, 2003. 118 с.
9. *Briganti S., Picardo M.* Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new // European Academy of Dermatology and Venerology JEADV. 2003. Vol. 17. P. 663–669.
10. *Cristald M., Mascaron D.* Small mammals as biological indicators of radioactive contamination of the environment // Sci. Total Envir. 1990. Vol. 99. P. 61.
11. *Christina S. Sander, Hong Chang.* Role of oxidative stress and the on with eczema (atopic/nanotopic) and allergic sensitization // Allerg. 2005. Vol. 60. P. 1014–1020.
12. *Saldiva P. H. N., Bohm G. M.* Animal indicators of adverse effects associated with air pollution // Ecosystem Health. 2002. Vol. 4. N 4. P. 230–235.

## INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL POLLUTION BY HEAVY METALS ON PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION OF CELLS OF LIVER OF NATURAL POPULATIONS OF YELLOW-NECKED MOUSE

S. Zadyra, D. Lukashov

*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
Educational and Scientific Centre "Institute of Biology"  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine  
e-mail: luminary\_SV@ukr.net*

On distance of 500 m to the South-West from Tripolska TPS the raised content in soils of mobile forms Pb, Cd, Cr, Ni and Co was revealed that considerably (3–5 times) exceeds levels for territory of Kaniv natural reserve. Increase of the concentration of dienic conjugates (3–7 times) and malonic dialdehyde (2–4 times) in liver of individuals of the yellow-necked mouse of under pollution by heavy metals has been discovered. Seasonal dynamics of the maintenance of lipid peroxidation has been revealed. The registered changes of biochemical indicators testify about presence ecological-biochemical stress in an organism of the yellow-necked mouse in the district of influence of Tripolska TPS.

*Keywords:* heavy metals, lipid peroxidation.

## ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЖЕЛТОГОРЛОЙ МЫШИ

С. Задыра, Д. Лукашев

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,  
УНЦ «Институт биологии»  
ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина  
e-mail: luminary\_SV@ukr.net*

На расстоянии 500 м к юго-востоку от Трипольской ТЭС (Киевская обл.) обнаружено повышенное содержание в почвах подвижных форм Pb, Cd, Cr, Ni и Co, что значительно (в 3–5 раз) превышает уровни, характерные для незагрязненной территории (Каневский природный заповедник). В печени особой желтогорлой мыши, обитающих в условиях загрязнения тяжелыми металлами, выявлено увеличение концентрации диеновых конъюгатов в 3–7 раз и ТБК-позитивных продуктов – в 2–4 раза. Установлена сезонная динамика содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Высказывается предположение, что зарегистрированные изменения биохимических показателей свидетельствуют о наличии эколого-биохимического стресса в организме желтогорлой мыши в районе влияния теплоэлектростанции.

*Ключевые слова:* тяжелые металлы, перекисное окисление липидов.

## ПОРІВНЯЛЬНА СИНФІТОІНДИКАЦІЙНА ОЦІНКА ОСЕЛИЩ КСЕРОТЕРМНОЇ РОСЛИННОСТІ ПОДІЛЬСЬКОЇ ВИСОЧИНИ ТА ЗАКАРПАТСЬКОЇ НИЗОВИНИ

Г. Лисенко<sup>1</sup>, І. Данилик<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

вул. Кропив'янського, 2, Ніжин 16602, Україна

e-mail: lysenko\_gena@yahoo.com

<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України

вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна

e-mail: idm777@lviv.farlep.net

Використовуючи метод синфітоіндикації, розрахували величини екологічних факторів, що характеризують оселища ксеротермної рослинності в межах Подільської височини та Закарпатської низовини. Отримані результати свідчать, що поширення ксеротермних лучно-степових і степових формацій на досліджуваній території тісно корелює з величинами кліматичних (узагальнений терморежим, континентальність, гумідність і морозність клімату) та деяких едафічних факторів (сольовий режим і вміст мінерального азоту) середовища, середні значення яких для Поділля та Закарпаття майже збігаються. З достатньою імовірністю можна стверджувати, що розподіл східноєвропейського блоку провінцій на Балкано-мезійську (Придунайську) та Східноєвропейську лісостепову базується на відмінностях величин едафічних чинників – зволоження ґрунту, вмісту в ньому сполук кальцію та пов'язаного з ним фактора – кислотності ґрунту.

*Ключові слова:* ксеротермна рослинність, Подільська височина, Закарпатська низовина, екологічні фактори, синфітоіндикація, градієнтний і ординаційний аналізи.

Степова рослинність як на Поділлі, так і в Закарпатті збереглася в невеликих за площею локалітетах, рослинний покрив яких зазвичай представлений вторинними угрупованнями, що утворилися на схилах останцевих гір на місці зведених лісів і виходах кристалічних порід [6–8]. Тут степові фітоценози поширені на схилах південної, південно-західної та південно-східної експозицій, на яких ґрунтотворними породами є вапняки, мергелі та вапнисті пісковики, що подекуди виходять на денну поверхню.

Тривалий час розвитку та геологоморфологічні особливості зумовили екстраординарне поширення степової рослинності в умовах субатлантичного клімату [9]. Згідно з ботаніко-географічним районуванням Східноєвропейського блоку провінцій Причорноморсько-Казхстанської підобласті Степової області Євразії [15], рослинність Закарпатської низовини належить до Балкано-мезійської (Придунайської) лісостепової провінції, тоді як рослинний покрив Подільської височини репрезентує Східноєвропейську лісостепову провінцію. Придунайська лісостепова провінція, на думку низки авторів [9, 10, 20, 21], в основному представлена в Угорщині та Румунії, тоді як в Україні займає порівняно незначні площі на крайньому заході території, а саме південні підгірні рівнини Карпат. Рослинний покрив тут має частково субсередземноморський характер, адже у складі рослинних угруповань досить розповсюдженими є середземноморські та субсередземноморські види. Східноєвропейська лісостепова провінція простягається дещо північніше та східніше від Придунайської. Вплив клімату Середземномор'я слабшає: із деревостанів зникає субсередземноморський вид

*Quercus pubescens* Willd. та східносередземноморський *Q. pedunculiflora* Koch, натомість домінантом виступає *Q. robur* L. та інші середньоєвропейські широколистяні види. Фітоценози лучних степів і остепнених лук характеризуються більшою участю причорноморських (понтичних) видів. Серед едификаторів переважають західнопалеарктичний вид *Stipa pennata* L. s. str., а також західносибірсько-європейський вид *S. tirsia* Stev.

Разом із тим, флористичний склад досліджених рослинних угруповань характеризується низкою особливостей унаслідок свого екотонного положення на межі Центральноєвропейської та Східноєвропейської флористичних провінцій. Крім того, у межах території дослідження збігається межа Центральноєвропейської та Східноєвропейської провінцій Європейської широколистяно-лісової області, північно-західний край Гологоро-Кременецького кряжу розділяє Поліську та Західноукраїнську підпровінції Східноєвропейської провінції, яка на півдні межує з Європейсько-Сибірською лісостеповою областю [5].

Утім, фізіономічно безлісі ксеротермні оселища з домінуючою трав'яною рослинністю на Поділлі та Закарпатті характеризуються низкою спільних і відмінних рис одночасно. У чому ж полягає їхня структурна подібність і екологічна специфіка?

#### Об'єкти і методи досліджень

Для аналізу було сформовано дві вибірки геоботанічних описів стандартних (100 м<sup>2</sup>) ділянок, виконаних нами у липні 2009 та червні 2011 років у межах Подільської височини та Закарпатської низовини. Ділянки досліджень у межах Подільської височини: г. Хоμεць (РЛП «Знесіння»), г. Лиса, г. Біла, г. Свята та Підвисока (НПП «Північне Поділля»), г. Касова (НПП «Галицький»), г. Страдчанська та Королева гора (заповідник «Розточчя»), г. Чортова. Ділянки досліджень у межах Закарпатської низовини: г. Ловачка, Чернеча гора, г. Ардов, Чорна гора (Карпатський БЗ) та г. Клиновецька.

Щоб розрахувати величини низки екологічних чинників (кліматичних: узагальнений терморезим клімату (Тm), континентальність (Кn), гумідність (Om) і морозність клімату (Cr); едафічних: вологість (Hd) ґрунтів, їх кислотний (Rc) і азотний (Nt) режими, вміст карбонатів у ґрунтах (Ca) і загальний сольовий режим ґрунтів (Tr)), – ми використали метод синфітоіндикації екологічних факторів [3]. Параметри екологічних чинників оселищ визначали за уніфікованими шкалами екологічних амплітуд видів, які входять до складу конкретного геоботанічного опису. Отримані величини досліджених параметрів середовища були статистично опрацьовані. Результати обрахунків подано в табл. 1–4. Для визначення положення оселищ ксеротермної рослинності Поділля та Закарпаття, згідно з градієнтами середовища, було проведено градієнтний і ординаційний аналізи [17, 18].

#### Результати і їхнє обговорення

За ботаніко-географічним районуванням [9, 10, 15], у межах Причорноморсько-Казахстанської підобласті виділяють дверегіональних блоків провінцій: Східноєвропейський і Західносибірсько-Казахстанський, для яких характерна зміна провінцій та підпровінцій у широтному напрямку, що корелює зі збільшенням континентальності клімату. Разом із тим, поділ Східноєвропейського блоку провінцій базується не лише на диференціації величин кліматичних чинників, а й на особливостях рельєфу та ґрунтових відмін, що формувалися спільно з розвитком рослинного покриву.

Досліджувані нами об'єкти репрезентують Подільські лучні степи й остепнені луки, розташовані в межах Подільської височини. У недалекому минулому в цьому регіоні великі площі займали дубово-грабові та дубові ліси з домінуванням *Quercus robur*, від яких залишилися тільки незначні за площею ділянки [5, 7, 8, 15]. На вододілах, особливо на крутих

схилах південної та близьких до неї експозицій, на малопотужних дерново-карбонатних ґрунтах, формувалися фітоценози лучних степів. Подільські степи досить своєрідні за флористичним складом, і хоча у складі фітоценозів присутні види, що звичайно трапляються у східноєвропейському лісостепу, проте вони все ж ближчі до центральноєвропейського типу. Так, для них характерна група європейських видів (*Salvia pratensis* L., *Inula ensifolia* L., *Centaurea rhenana* Voreau). Разом із тим, у складі угруповань трапляється велика група т. зв. східних видів (*Polygala sibirica* L., *Gypsophyla altissima* L.), що формують тут ізольовані місцезнаходження на межі ареалу. Крім того, на території Поділля трапляються деякі середземноморські види (*Prunella grandiflora* (L.) School., *Reseda lutea* L., *Stachys recta* L., *Tragopogon major* Jacq.).

Закарпатська низовина є північно-східною частиною Середньо-Дунайської рівнини. Як було зазначено вище, згідно з ботаніко-географічним районуванням [15], рослинність Закарпатської низовини належить до Балкано-мезійської (Придунайської) лісостепової провінції. За геоботанічним районуванням України [2], досліджена територія репрезентує рослинність Надтисянського геоботанічного округу дубових лісів і Закарпатського передгірного геоботанічного округу дубових (із дуба скельного) та дубово-букових лісів, що належать до Центральноєвропейської провінції Європейської широколистянолісової області.

На кліматичні умови Закарпаття великий вплив має Середземномор'я, тому клімат регіону м'який помірно континентальний із достатнім, подекуди надлишковим зволоженням, нестійкою весною, не дуже спекотним літом, теплою осінню та м'якою зимою. Ґрунтовий покрив Закарпаття досить строкатий і являє собою складну мозаїку дернових опідзолених оглеєних на алювії у комплексі з буроземно-опідзоленими на алювії-делювії вулканічних порід із додаванням дернових супіщаних і суглинкових оглеєних на алювії ґрунтів [6].

У зазначених природно-кліматичних умовах навіть на плакорах формуються лісові фітоценоструктури. Значно менше поширені луки, що представлені справжніми, болотними, пустищними та рідше торф'яними комплексами. На тлі рівнинного рельєфу трапляються вулканічного походження невисокі гори типу лаколітів і стратовулканів, схили яких і є оселищами ксеротермної рослинності. Лісистість округу досить низька (10–15%). Корінними лісовими формаціями тут є звичайнодубові ліси з участю *Carpinus betulus* L., *Fraxinus excelsior* L., *F. oxycarpa* Willd., *F. ornus* L., *Ulmus scabra* Mill., рідше *Quercus pubescens*, *Tilia tomentosa* Moench, серед яких мозаїчно трапляються типчаківі та злаково-різнотравні степові формації з участю понтійських і середземноморських видів. Особливо унікальні ділянки рослинності зосереджені на південних схилах деяких горбів, де збереглися одні з найпівнічніших у Центральній Європі осередків розріджених ксеротермофільних дубняків типу балканських шибляків, та реліктові острівці паннонських лучних степів [6]. Специфічними серед видів трав'яної флори тут є: *Carduus collinus* Waldst. et Kit., *Doronicum hungaricum* Rehb. f., *Lathyrus transsilvanicus* (Spreng.) Rehb., *Saxifraga bulbifera* L., *Silene viridiflora* L., *Stipa transcarpatica* Klok., *Dorycnium herbaceum* Vill. тощо.

У результаті статистичного опрацювання отриманих методом синфітоіндикації параметрів середовища були сформовані дві генеральні вибірки даних: 1) сукупність, що характеризує величини досліджуваних екофакторів оселищ ксеротермної рослинності Подільської височини (табл. 1) [11]; 2) сукупність, що характеризує величини досліджуваних екофакторів оселищ ксеротермної рослинності Закарпатської низовини (табл. 2) [13]. Крім того, у межах кожної із зазначених вище генеральних вибірок були сформовані підвибірки для окремих найпоширеніших асоціацій, формацій і груп формацій рослинності, результати статистичної обробки яких представлені у табл. 3–4.

Попри теоретичні очікування, незважаючи на різне географічне положення та приналежність до різних ботаніко-географічних провінцій, за величинами узагальненого терморезиму клімату (Tm) оселища ксеротермів Поділля та Закарпаття характеризуються майже тотожними середніми арифметичними значеннями фактора (8,65 і 8,68 бала відповідно) та його екстремумами (відповідно, min=8,29 та 8,21; max=9,11 та 9,32 бала) (табл. 1 і 2). Загальний діапазон величин радіаційного балансу для досліджуваних типів оселищ не виходить за межі неморальної термозони. Навіть побіжний аналіз розподілу амплітуд і середніх значень величин терморезиму основних формацій і асоціацій рослинності досліджуваних регіонів (рис. 1, F) вказує на відсутність будь-яких закономірностей просторової диференціації угруповань за цим чинником.

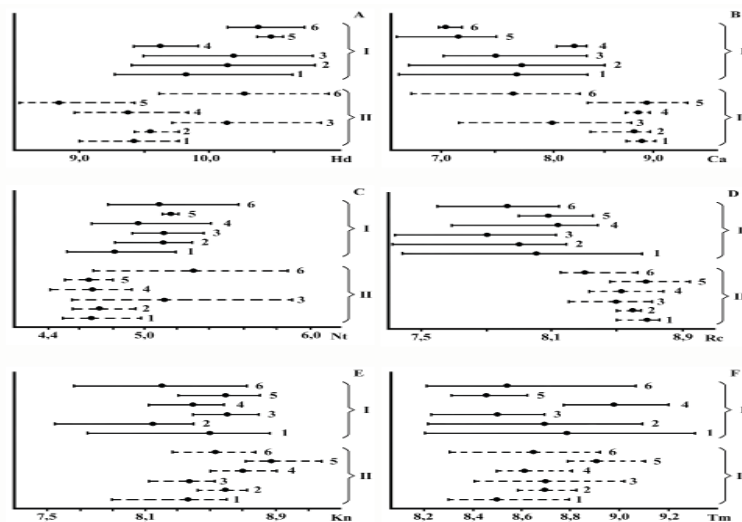


Рис. 1. Розподіл амплітуд і середніх значень основних формацій рослинності Закарпатської низовини (I) та Подільської височини (II) згідно з градієнтами середовища: А – вологості ґрунту (Hd); В – карбонатності ґрунту (Ca); С – вмісту у ґрунті мінерального азоту (Nt); D – кислотності ґрунту (Rc); Е – континентальності клімату (Kn); F – узагальненого терморезиму (Tm). Умовні позначення: I) 1 – формації *Festuceta rupicolae* та *Festuceta pseudodalmatica*; 2 – формація *Brachypodieta pinnatii*; 3 – формація *Calamagrostideta epigeioris*; 4 – формація *Phleeta phleoides*; 5 – формація *Arrhenathereta elatii*; 6 – чагарникові лучно-степові угруповання з домінуванням *Chamaecytisus ruthenicus*, *Rosa canina*, *Rubus plicatus*; II) 1 – асоціація *Brachypodium pinnatum* + *Carex humilis*; 2 – асоціація *Brachypodium pinnatum* + *Festuca rupicola*; 3 – асоціація *Brachypodium pinnatum* + *Carex flacca*; 4 – формація *Festuceta rupicolae*; 5 – формації *Stipeta pennatae* та *Stipeta capillatae*; 6 – кореневищно-злакові мезофітні угруповання з домінуванням *Arrhenatherum elatius*, *Briza media*, *Calamagrostis epigeios* тощо.

Подібними близькими середніми величинами характеризуються також інші досліджені кліматичні показники ксеротермних екоотопів Поділля та Закарпаття – континентальність (Kn) і гумідність (Om) клімату (для обох різниця становить 0,1 бала) та морозність (Cr) клімату ( $\Delta=0,13$  бала), що також свідчить про відсутність кліматичної специфіки оселищ. Однак, щодо екстремумів континентальності клімату порівнюваних територій, можна простежити певну закономірність. Так, мінімальні значення Kn Закарпаття (7,55 бала) дещо ближчі до субокеанічного типу, тоді як для Поділля найменші значення континентальності становлять 7,88 бала. Подібна закономірність характерна і для максимальних значень: 9,21 бала для ксеротермів Поділля (геміконтинентальний тип) і 8,87 бала – для

Закарпаття, що цілком узгоджується з теоретичними розрахунками розподілу величин континентальності клімату для території України [4].

Таблиця 1

Основні статистичні показники величин екологічних факторів  
(у балах фітоіндикаційних шкал) ксеротермних оселищ Поділля

Основні статистичні показники	Екологічні фактори								
	Rc	Tr	Nt	Hd	Tm	Kn	Om	Cr	Ca
X	8,50	7,48	4,91	9,79	8,65	8,52	7,51	8,04	8,32
x	0,04	0,04	0,05	0,08	0,03	0,03	0,03	0,03	0,10
Me	8,54	7,47	4,79	9,72	8,65	8,52	7,50	8,07	8,47
$\sigma$	0,25	0,26	0,37	0,56	0,19	0,22	0,20	0,17	0,67
$\sigma^2$	0,06	0,06	0,13	0,34	0,04	0,05	0,04	0,03	0,45
min	7,60	6,58	4,41	8,52	8,29	7,88	7,07	7,75	6,62
max	8,95	8,06	5,90	10,96	9,11	9,21	7,93	8,48	9,37

**Примітка.** Умовні позначення (тут і для табл. 2–4): Rc – кислотність ґрунту; Tr – загальний сольовий режим ґрунту; Nt – вміст у ґрунтах мінерального азоту; Hd – вологість ґрунту; Tm – узагальнений терморегімі; Kn – континентальність клімату; Om – гумідність клімату; Cr – морозність клімату; Ca – вміст у ґрунтах сполук кальцію.

Таблиця 2

Основні статистичні показники величин екологічних факторів  
(у балах фітоіндикаційних шкал) ксеротермних оселищ Закарпаття

Основні статистичні показники	Екологічні фактори								
	Rc	Tr	Nt	Hd	Tm	Kn	Om	Cr	Ca
X	7,98	7,38	4,97	10,04	8,68	8,42	7,41	8,17	7,59
x	0,05	0,04	0,04	0,07	0,05	0,05	0,04	0,06	0,08
Me	8,00	7,42	5,02	9,99	8,64	8,49	7,43	8,05	7,53
$\sigma$	0,29	0,23	0,25	0,45	0,32	0,31	0,23	0,41	0,53
$\sigma^2$	0,08	0,05	0,06	0,21	0,11	0,10	0,06	0,17	0,28
min	7,32	6,79	4,50	9,29	8,21	7,55	6,85	7,54	6,55
max	8,67	7,85	5,57	10,80	9,32	8,87	7,90	8,97	8,53

Наразі слід зазначити, що серед деяких едафічних чинників (а саме: загальний сольовий (Tr) і азотний (Nt) режими ґрунтів) також спостерігаємо вражаючу близькість середніх значень (табл. 1 і 2). Так, середні значення Nt для ксеротермних оселищ Подільської височини становлять 4,91 бала, тоді як для Закарпатської низовини – 4,97 бала, що лише на 0,06 бала вище. Загалом оселища ксеротермної рослинності характеризуються бідними на мінеральний азот ґрунтами, що пояснюється розвитком ерозійних процесів на крутосхилах, що, у свою чергу, пригнічує ґрунтоутворні процеси. Середні значення Tr різняться дещо більше, ніж у попереднього чинника, втім різниця середніх сягає лише 0,1 бала, що також унеможлиблює диференціацію рослинних угруповань за цим чинником середовища.

Одним із основних екологічних факторів, що прямо впливає на диференціацію рослинних угруповань, є зволоженість ґрунтів (Hd). Для ксеротермних оселищ Поділля середнє значення цього фактора дорівнює 9,79 бала, тоді як для Закарпаття 10,04 бала (проміжний між лучно-степовим і сухолісо-лучним типами вологості ґрунту). Незважаючи на нібито неістотну різницю Hd-фактора (0,23 бала), він здійснює значний вплив на просторовий розподіл видів і їхніх угруповань у межах досліджуваної території. Як і очікувалося, дещо вищими мінімальними значеннями вологості ґрунту характеризуються екотопи Закарпатської низовини (9,29 бала), тоді як ксеротермні оселища Подільської височини –



нижчими (8,52 бала). Проте ксеротермні угруповання Поділля характеризуються ширшою амплітудою Hd, що проявляється у вищих максимальних показниках (10,96 бала) проти 10,80 бала для Закарпаття.

Вміст сполук кальцію у ґрунтах є одним із важливих екологічних чинників, що, за твердженням Д. І. Сакала [14], визначає як поширення, так і формування степової рослинності. Загальний діапазон карбонатності ґрунтів (Ca) для досліджуваних ділянок досить значний і становить 2,82 бала (від 6,55 до 9,37 бала). Більшою різницею мінімальних і максимальних значень характеризуються ксеротермні оселища Поділля ( $\Delta=2,75$  бала), значно меншою ( $\Delta=18$  бала) – Закарпаття. Також слід відзначити істотну різницю середніх арифметичних величин карбонатності ґрунтів (табл. 1 і 2), що свідчить про значний диференціюючий вплив цього фактора на розподіл ксеротермної рослинності досліджуваного регіону, а це, у свою чергу, пояснюється особливостями підстилаючих порід зі значним вмістом карбонатів (вапняки, мергелі та вапнисті пісковики).

Середні арифметичні значення кислотності ґрунтів досліджуваних регіонів тісно корелюють зі середніми показниками карбонатності, адже ці два чинники перебувають у обернено пропорційній залежності. Так, середнє значення Rc-фактора для ґрунтових відмін Подільських степів (табл. 1) становить 8,50 бала, що відповідає ґрунтам із нейтральною реакцією ґрунтового розчину. Загальні межі толерантності досліджуваних лучно-степових ділянок щодо кислотності ґрунтів охоплюють діапазон від 7,60 до 8,95 бала, що відповідає слабокислим (рН 5,5–6,5) і проміжному між нейтральними та слабокислими ґрунтами (рН 6,5–7,2). Діапазон кислотності ґрунтового розчину ксеротермних оселищ Закарпаття майже збігається з відповідним для Поділля (табл. 2), однак середнє значення чинника істотно відрізняється ( $\Delta=0,52$  бала), що дає змогу вважати кислотність ґрунту одним із екологічних факторів, які впливають на диференціацію рослинних угруповань.

Отже, визначальними в диференціації рослинного покриву ксеротермних оселищ Подільської височини та Закарпатської низовини можна вважати насамперед такі варіативні у широких діапазонах екологічні чинники, як зволоженість (Hd), карбонатність (Ca) і кислотність (Rc) ґрунтів, а до слабомілих, які не справляють достатнього впливу на диференціацію рослинних угруповань, слід залучити всі кліматичні параметри (Tm, Kn, Om, Cr) та загальний сольовий (Tr) і азотний (Nt) режими ґрунтів.

Раніше на території Поділля найпоширенішими формаціями степової рослинності були *Cariceta humilis*, *Koelerieta gracilis* і *Festuceta sulcatae* [7, 8]. За результатами наших досліджень, зараз найтипівшими едифікаторами рослинних угруповань є: *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv., *Carex humilis* Leyss., *C. flacca* Schreb., *Festuca rupicola* Heuff., *F. valesiaca* Gaud., *Briza media* L., *Dactylis glomerata* L. Серед різнотрав'я постійними компонентами лучно-степових фітоценозів є: *Anthericum ramosum* L., *Centaurea scabiosa* L., *Coronilla varia* L., *Euphorbia cyparissias* L., *Filipendula vulgaris* Moench, *Galium verum* L., *Knautia arvensis* (L.) Coult., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Medicago romanica* Prod., *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC, *Plantago media* L., *Prunella grandiflora*, *Salvia pratensis*, *Stachys recta*, *Teucrium chamaedrys* L., *Thalictrum minus* L. Слід відзначити, що у складі фітоценозів досліджуваних лучних степів ми виявили низку рідкісних, включених до Червоної книги України [19] видів: *Cypripedium calceolus* L., *Euphorbia volhynica* Besser ex Racib., *Pulsatilla grandis* Wend., *Daphne sneorum* L., *Dracocephalum austriacum* L., *Chamaecytisus albus* (Hacq.) Rothm., *Ch. blockianus* (Pawł.) Klášková, *Carlina cirsioioides* Klok., *C. onopordifolia* Besser ex Szaf., Kulcz. et Pawł., *Stipa pennata* та ін., а також рідкісний релікт – *Coronilla coronata* L. Статистичні розрахунки величин досліджуваних екологічних чинників найпоширеніших формацій Подільської височини подано у табл. 3.

На Закарпатті рослинність субпаннонських лучних степів переважно поширена на південних та південно-західних схилах вулканічного горбогір'я і представлена такими формаціями: *Festuceta rupicola*, *Festuceta pseudodalmatica*, *Brachypodieta pinnatii*, *Phleeta phleoides*, *Calamagrostideta epigeioris*, *Arrhenathereta elatii* та лучно-степовими кореневищно-злаковими і чагарниковими угрупованнями, зазвичай приуроченими до депресій рельєфу (тальвегів балок і улоговин стоку). Результати статистичної обробки демонструє табл. 4.

Для з'ясування положення подільських та субпаннонських лучних степів уздовж градієнтів досліджуваних екологічних факторів ми застосували градієнтний аналіз [17], під яким розуміють сукупність ординаційних підходів, за якими упорядкування угруповань проводиться вздовж конкретних осей екологічних чинників і відображає закономірний характер їхніх змін.

Рис. 1 візуалізує розподіл амплітуд і середніх значень кліматичних (континентальність – рис. 1, Е; узагальнений терморезим клімату – рис. 1, F та едафічних (вологість, карбонатність, кислотність ґрунту і вміст у ньому мінерального азоту) екологічних факторів уздовж градієнтів середовища. Визначальними в диференціації основних формацій Поділля та Закарпаття виступають вологість, карбонатність і кислотність ґрунтів (рис. 1, А, В, D), дещо меншою мірою – азотний режим ґрунту (рис. 1, С), тоді як кліматичні фактори не справляють суттєвого впливу на розподіл рослинних угруповань.

Згідно зі шкалою вологості ґрунту (рис. 1, А), сухіші екотопи характерні для лучних степів Подільської височини, тоді як оселища ксеротермної рослинності Закарпатської низовини виявилися більш забезпечені вологою, що пояснюється географічним положенням досліджуваних ділянок. Взаємне розміщення амплітуд зволоженості ґрунтів, які характеризують основні угруповання рослинності, відзначається лінійною залежністю. Так, найсухіші екотопи займають угруповання формацій *Stipeta pennatae* та *Stipeta capillatae*, поширені на Поділлі, а найвологіші – фітоценози з домінуванням *Arrhenatherum elatius* (L.) J. et C. Presl, які тяжіють до лісових галявин, узлісь, вирубок, лук та інших мезофітних і гігромезофітних екотопів, поширених на Закарпатті. Гідротермічні умови є також вирішальними абіотичними факторами для поширення таких важливих видів-едифікаторів остепнених лук регіону, як *Festuca rupicola* та *F. pseudodalmatica*. У флорі Центральної та Східної Європи вони є одними з провідних видів ксерофітних і ксеромезофітних лук. Екологічний оптимум обох видів істотно перекривається, через це вони досить часто утворюють мішані популяції. Однак, порівняно з *F. pseudodalmatica*, *F. rupicola* є більш мезофітним видом, який росте на багатших ґрунтах, у складі мезофітніших лук зі щільнішим травостоєм, тоді як *F. pseudodalmatica* частіше трапляється на збіднених, часто вкрай теплих і сухих місцях. *Festuca pseudodalmatica* поширена по вулканічному передгір'ю внутрішньої дуги Карпат, і основна частина її ареалу припадає на територію Словаччини та менше на прилеглі території сусідніх держав (Україна, Угорщина, Румунія та найменше – Чехія і Австрія) [1, 22]. Остепнені луки формації *Festuceta pseudodalmatica* репрезентують найтепліші та найсухіші петрофітні ксеротермні луки регіону, що трапляються переважно на схилах південних експозицій вулканічних гір на скельних субстратах, уламках або грубо скелетних ґрунтах.

За шкалою карбонатності ґрунту (рис. 1, В) спостерігаємо досить чітку диференціацію екотопів подільських степів і ксеротермів Закарпаття. Так, рослинні угруповання Поділля, окрім кореневищно-злакових мезофітних угруповань із домінуванням лучних і лучно-степових видів (*Arrhenatherum elatius*, *Briza media*, *Elytrigia intermedia* тощо) й асоціації *Brachypodium pinnatum* + *Carex flacca* характеризуються високими показниками карбонатності ґрунту, тоді як усі без винятку ксеротерми Закарпаття тяжіють до субстратів зі слабо-

кислою та нейтральною реакцією ґрунтового розчину, що визначається низьким вмістом сполук кальцію. Подібні закономірності розподілу найпоширеніших фітоценоструктур уздовж градієнта кислотності ілюструє рис. 1, D. Наразі слід відзначити, що вміст мінерального азоту в ґрунтах досліджуваних регіонів досить слабо впливає на просторовий розподіл фітоценозів із домінуванням трав'янистих екобіоморф (рис. 1, С), що пов'язано з однотипними ґрунотвірними процесами на схилах, де процеси накопичення органічної складової ґрунту тісно корелюють із процесами ерозії.

Таблиця 3

Основні статистичні показники величин екологічних факторів (у балах фітоіндикаційних шкал) основних формацій ксеротермної рослинності Подільської височини

Основні статистичні показники	Екологічні фактори								
	Rc	Tr	Nt	Hd	Tm	Kn	Om	Cr	Ca
Формація <i>Festuceta rupicolae</i>									
X	8,55	7,59	4,68	9,39	8,62	8,66	7,33	7,92	8,84
x	0,096	0,112	0,103	0,206	0,064	0,085	0,088	0,075	0,059
Me	8,54	7,60	4,70	9,39	8,58	8,66	7,32	7,94	8,85
$\sigma$	0,192	0,225	0,205	0,412	0,129	0,170	0,176	0,150	0,117
min	8,33	7,32	4,41	8,95	8,50	8,46	7,15	7,75	8,70
max	8,78	7,84	4,90	9,81	8,80	8,86	7,54	8,07	8,95
Формації <i>Stipeta pennatae</i> та <i>Stipeta capillatae</i>									
X	8,77	7,89	4,64	8,85	8,90	8,86	7,29	8,06	8,89
x	0,096	0,082	0,058	0,174	0,058	0,088	0,082	0,093	0,175
Me	8,85	7,90	4,57	8,74	8,89	8,81	7,26	8,16	8,84
$\sigma$	0,214	0,183	0,130	0,389	0,130	0,198	0,184	0,209	0,392
min	8,46	7,62	4,50	8,52	8,78	8,72	7,07	7,82	8,35
max	8,95	8,06	4,79	9,45	9,11	9,21	7,49	8,25	9,37
Асоціація <i>Brachypodium pinnatum</i> + <i>Carex humilis</i>									
X	8,65	7,52	4,69	9,46	8,53	8,39	7,42	7,98	8,87
x	0,029	0,037	0,049	0,089	0,067	0,096	0,046	0,063	0,035
Me	8,65	7,49	4,68	9,50	8,58	8,49	7,40	8,00	8,84
$\sigma$	0,081	0,106	0,138	0,251	0,190	0,272	0,131	0,179	0,099
min	8,52	7,41	4,48	9,00	8,29	7,88	7,21	7,76	8,73
max	8,76	7,67	4,93	9,76	8,77	8,64	7,64	8,25	9,01
Асоціація <i>Brachypodium pinnatum</i> + <i>Festuca rupicola</i>									
X	8,58	7,42	4,71	9,58	8,70	8,61	7,53	8,07	8,72
x	0,017	0,028	0,053	0,048	0,045	0,048	0,045	0,023	0,086
Me	8,57	7,42	4,70	9,60	8,72	8,64	7,48	8,05	8,78
$\sigma$	0,041	0,069	0,131	0,119	0,109	0,118	0,110	0,056	0,211
min	8,54	7,31	4,55	9,44	8,57	8,44	7,43	8,03	8,36
max	8,65	7,48	4,90	9,73	8,83	8,74	7,68	8,18	8,97
Асоціація <i>Brachypodium pinnatum</i> + <i>Carex flacca</i>									
X	8,52	7,33	5,12	10,16	8,70	8,37	7,62	8,19	7,99
x	0,048	0,037	0,103	0,098	0,047	0,037	0,046	0,039	0,148
Me	8,54	7,34	5,05	10,15	8,70	8,42	7,67	8,19	8,04
$\sigma$	0,166	0,129	0,357	0,340	0,163	0,129	0,159	0,137	0,511
min	8,20	7,12	4,54	9,74	8,41	8,14	7,34	8,00	7,17
max	8,72	7,60	5,90	10,82	9,02	8,53	7,88	8,48	8,75
Кореневищно-злакові мезофітні угруповання									
X	8,30	7,53	5,29	10,27	8,65	8,55	7,53	8,00	7,68
x	0,074	0,092	0,136	0,176	0,081	0,066	0,080	0,066	0,205
Me	8,22	7,58	5,31	10,40	8,70	8,58	7,53	8,07	7,84
$\sigma$	0,196	0,242	0,359	0,466	0,215	0,174	0,213	0,175	0,542
min	8,05	7,08	4,78	9,65	8,34	8,27	7,31	7,75	6,73
max	8,63	7,83	5,86	10,92	8,92	8,76	7,93	8,21	8,28

Таблиця 4

Основні статистичні показники величин екологічних факторів (у балах фітоіндикаційних шкал) основних формацій ксеротермної рослинності Закарпатської низовини

Основні статистичні показники	Екологічні фактори								
	Rc	Tr	Nt	Hd	Tm	Kn	Om	Cr	Ca
Формації <i>Festuceta rupicolae</i> та <i>Festuceta pseudodalmaticae</i>									
X	8,14	7,45	4,76	9,65	8,87	8,52	7,41	8,44	7,84
x	0,058	0,029	0,059	0,058	0,083	0,056	0,025	0,120	0,102
Me	8,07	7,46	4,71	9,63	8,96	8,50	7,45	8,58	7,99
σ	0,209	0,104	0,211	0,208	0,298	0,202	0,091	0,433	0,369
min	7,93	7,27	4,50	9,29	8,45	8,04	7,25	7,61	7,27
max	8,67	7,59	5,09	9,97	9,32	8,87	7,52	8,97	8,38
Формація <i>Brachypodieta pinnatii</i>									
X	7,91	7,31	5,11	10,14	8,69	8,16	7,44	8,04	7,68
x	0,158	0,122	0,061	0,214	0,144	0,141	0,118	0,133	0,265
Me	7,95	7,41	5,12	10,22	8,72	8,29	7,38	8,05	7,74
σ	0,387	0,300	0,149	0,525	0,354	0,346	0,290	0,325	0,650
min	7,32	6,83	4,84	9,46	8,21	7,55	7,14	7,70	6,60
max	8,26	7,67	5,27	10,80	9,09	8,43	7,90	8,44	8,53
Формація <i>Phleeta phleoides</i>									
X	8,14	7,44	4,94	9,65	8,95	8,38	7,02	8,52	8,18
x	0,166	0,064	0,159	0,090	0,094	0,102	0,101	0,147	0,046
Me	8,22	7,45	4,85	9,66	8,93	8,41	6,97	8,39	8,20
σ	0,332	0,128	0,318	0,180	0,187	0,204	0,203	0,293	0,092
min	7,67	7,28	4,66	9,42	8,76	8,13	6,85	8,34	8,06
max	8,44	7,59	5,39	9,85	9,20	8,56	7,28	8,96	8,27
Формація <i>Calamagrostideta epigeioris</i>									
X	7,78	7,45	5,11	10,28	8,51	8,60	7,56	7,93	7,54
x	0,111	0,061	0,061	0,211	0,065	0,057	0,077	0,107	0,180
Me	7,74	7,45	5,08	10,48	8,54	8,59	7,63	8,00	7,45
σ	0,271	0,149	0,149	0,517	0,159	0,140	0,188	0,262	0,442
min	7,40	7,25	4,90	9,46	8,26	8,44	7,24	7,54	7,03
max	8,15	7,69	5,36	10,78	8,72	8,82	7,74	8,27	8,35
Формація <i>Arrhenathereta elatii</i>									
X	8,07	7,58	5,16	10,46	8,46	8,57	7,57	7,81	7,02
x	0,134	0,177	0,021	0,050	0,107	0,134	0,096	0,075	0,062
Me	7,98	7,65	5,16	10,49	8,44	8,59	7,53	7,84	6,96
σ	0,232	0,306	0,036	0,086	0,185	0,232	0,166	0,131	0,107
min	7,90	7,24	5,12	10,37	8,29	8,33	7,42	7,67	6,96
max	8,34	7,85	5,19	10,53	8,66	8,80	7,75	7,92	7,15
Чагарникові лучно-степові угруповання									
X	7,90	7,14	5,08	10,37	8,54	8,21	7,44	8,04	7,16
x	0,075	0,118	0,117	0,091	0,151	0,168	0,115	0,176	0,149
Me	7,93	7,16	5,05	10,28	8,35	8,23	7,44	7,86	7,21
σ	0,184	0,288	0,286	0,222	0,371	0,410	0,282	0,430	0,364
min	7,61	6,79	4,76	10,16	8,21	7,67	7,11	7,59	6,55
max	8,13	7,47	5,57	10,73	9,05	8,74	7,85	8,69	7,51

З метою порівняння екологічної мінливості оселищ ксеротермної рослинності, поширеної в межах досліджуваних регіонів, було застосовано ординаційний аналіз [18], якому були піддані показники узагальненого терморежиму (Tm), вологості ґрунту (Hd), вмісту в ґрунтах сполук кальцію (Ca) та мінерального азоту (Nt), а також кислотності (Rc) ґрунтів (рис. 2). Окресленням меж розсіювання синфітоіндикаційних показників у системі координат досліджуваних параметрів середовища формуються ординаційні поля або екологічні простори, що характеризують оселища ксеротермної рослинності досліджуваних регіонів.

Вологість ґрунту (Hd) в аридних умовах завжди виступає найзначущішим лімітаційним екологічним фактором, що прямо впливає на розподіл видів і їхніх угруповань у просторі. Тому ординація Hd з іншими чинниками середовища може виявляти характер взаємозалежностей між ними, розкриваючи екологічну специфіку локалітетів. Так, діапазон вологості ґрунтових відмін Поділля (від 8,52 до 10,96 бала) виявився більшим, ніж для оселищ ксеротермів Закарпаття (від 9,29 до 10,80 бала) (рис. 2, А). Середні значення Hd-фактора для подільських степів характеризуються дещо нижчими показниками ( $X=9,79$  бала), ніж для Закарпатської низовини ( $X=10,04$  бала), що цілком узгоджується з теоретичними міркуваннями.

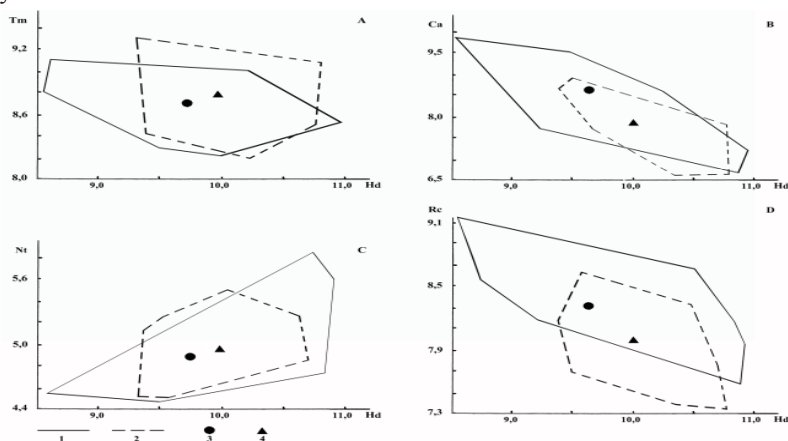


Рис. 2. Ординаційна схема екологічних характеристик досліджуваних ділянок: А – в координатах узагальненого терморезиму (Тм) та вологості ґрунту (Hd); В – в координатах карбонатності ґрунту (Ca) і його вологості (Hd); С – в координатах азотного режиму ґрунту (Nt) і його вологості (Hd); D – в координатах кислотності (Rc) і вологості ґрунтів (Hd). Умовні позначення: 1 – оселища Подільської височини; 2 – оселища Закарпатської низовини; 3 – центр ординаційного поля Подільської височини; 4 – центр ординаційного поля Закарпатської низовини.

Разом із тим, мінімальні (8,21; 8,29 бала), максимальні (9,32; 9,11 бала) та, особливо, середні (8,68; 8,65 бала) значення величин узагальненого терморезиму клімату (Тм) відповідно для Закарпаття і Поділля є дуже близькими, що унеможлиблює диференціацію рослинності за цим чинником середовища.

На ординаційному полі Ca/Hd (рис. 2, В) спостерігаємо чітку лінійну обернено пропорційну залежність між досліджуваними чинниками. Крім того, екологічний простір за цими факторами, що займають оселища ксеротермної рослинності Закарпаття, майже повністю вкладається в екологічний простір лучних степів Поділля. Загалом рослинні угруповання досліджуваного регіону охоплюють значний діапазон: від 6,55 до 9,37 бала. При цьому середні значення карбонатності ґрунтів лучних степів Поділля значно вище ( $X=8,32$  бала), ніж для ксеротермної рослинності Закарпатської низовини ( $X=7,59$  бала), що вказує на тяжіння лучно-степових рослинних угруповань Подільської височини до виходів крейдовмісних гірських порід, тоді як ксеротерми Закарпаття зосереджені головним чином на схилах південних експозицій вулканічних гір – на скельних субстратах, уламках або ґрубоскелетних ґрунтах.

Так, загально визнано, що вміст карбонатів у ґрунтах і їхній кислотний режим тісно пов'язані між собою, тому ординаційна схема Rc/Hd (рис. 2, D) є дзеркальним відобра-

женням попередньої, оскільки кислотність ґрунтів визначається вмістом сполук кальцію у ньому. Вищими показниками карбонатності ґрунтів характеризуються екотопи лучних степів Поділля, тоді як оселища ксеротермної рослинності Закарпаття – дещо нижчими показниками. При цьому слід відзначити, що саме режим кислотності ґрунтів є найвагомим чинником диференціації.

В ординаційній схемі Nt/Hd (рис. 2, С) простежується слабовиражена прямо пропорційна залежність між цими екологічними факторами, адже вміст мінерального азоту в петрофітно-степових екотопах зазвичай варіює у незначних діапазонах. Разом із тим, слід відзначити, що, як і в попередньому випадку, екологічний простір ксеротермної рослинності Закарпаття майже повністю «вкладений» в ординаційне поле подільських лучних степів, а це вказує на близькість екологічних характеристик досліджуваних регіонів за величинами азотного режиму ґрунтів.

Таким чином, використовуючи метод синфітоіндикації, було розраховано величини екологічних факторів, що характеризують оселища ксеротермної рослинності, поширеної в межах Подільської височини та Закарпатської низовини. Отримані результати свідчать, що поширення ксеротермних лучно-степових і степових формацій на досліджуваній території тісно корелює з величинами кліматичних (узагальнений терморезим, континентальність, гумідність і морозність клімату) та деяких едафічних факторів (сольовий режим і вміст мінерального азоту) середовища, середні значення яких для Поділля та Закарпаття майже збігаються. Отримані результати екологічної специфіки оселищ трав'яної рослинності досліджуваних регіонів тісно корелюють як з теоретичними міркуваннями, так і з аналогічними розрахунками величин екологічних факторів, проведених для інших степових ділянок східноєвропейського блоку провінцій [12, 16]. Ми поділяємо думку В.С. Ткаченка [16] щодо визначальної ролі Hd-фактора в організації степових екологічних систем у природно-зональному ряду. Разом із цим, для найзахідніших ексклавів степової області Євразії, розташованих у межах України на території Закарпатської низовини, основними чинниками, що спричиняють диференціацію рослинних угруповань, є карбонатний і пов'язаний із ним обернено пропорційною залежністю кислотний режим ґрунтів. Тому з достатньою ймовірністю можна стверджувати, що розподіл східноєвропейського блоку провінцій на Балкано-мезійську (Придунайську) та Східноєвропейську лісостепову, крім флористичних особливостей, також базується на відмінностях екологічних специфікацій, що визначаються величинами низки едафічних чинників – зволоження ґрунту і його кислотності, а також вмістом сполук кальцію у ґрунтових відмінах досліджуваного регіону.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Беднарская И. А. О проблемах идентификации *Festuca pseudodalmatica* Крајина (*Poaceae*) // IX Междунар. конф. молодых ботаников в С.-Петербурге. СПб: Изд-во ГЭТУ, 2006. С. 22.
2. Геоботаничне районування Української РСР. К.: Наук. думка, 1977. 303 с.
3. Дідух Я. П., Плюта П. Г. Фітоіндикація екологічних факторів. К.: Наук. думка, 1994. 280 с.
4. Екофлора України. Т. 1. Я. П. Дідух, П. Г. Плюта, В. В. Протопопова та ін.; відпов. ред. Я.П. Дідух. К.: Фітосоціоцентр, 2000. 284 с.
5. Заверуха Б. В. Флора Волино-Подолії и ее генезис. К.: Наук. думка, 1985. 192 с.
6. Кіш Р., Андрик Є., Мірутенко В. Біотопи Natura 2000 на Закарпатській низовині. Ужгород: Мистецька лінія, 2006. 64 с.
7. Куковиця Г. С. Найбільша ділянка ковилового степу на Поділлі // Укр. ботан. журнал. 1970. Т. 27. № 1. С. 111–113.

8. Куковица Г. С. Степная растительность Западной Подолии и ее охрана: автореф. дис. ... канд. биол. наук. К., 1984. 16 с.
9. Лавренко Е. М. Провинциальное разделение Причерноморско-Казахстанской подобласти степной области Евразии // Ботан. журнал. 1970. Т. 55. № 5. С. 609–625.
10. Лавренко Е. М. Степи. Растительность Европейской части СССР. Л., 1980. С. 203–273.
11. Лисенко Г., Данилик І., Борсукевич Л. Порівняльна синфітоіндикаційна оцінка Подільських лучних степів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 55. С. 9–18.
12. Лисенко Г. М., Данилик І. М. Подільські лучні степи в екологічному континуумі європейської частини Степової області Євразії // Біологічні студії / *Studia Biologica*. 2010. Т. 4/№ 1. С. 95–108.
13. Лисенко Г., Данилик І., Кіш Р., Беднарська І. Екотопічні особливості осередків ксеротермної рослинності Закарпатської низовини // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 59. С. 52–65.
14. Сакало Д. І. Про кальцефілну природу степової флори Європейської частини СРСР. Ботан. журнал. УРСР. 1955. Т. 12. № 2. С. 83–87.
15. Степи Евразии / Е. М. Лавренко, З. В. Карамышева, Р. И. Никулина. Л.: Наука, 1991. 146 с.
16. Ткаченко В. С. Екотопічна диференціація заповідних степів України за даними синфітоіндикації // Вісті Біосфер. заповідника «Асканія-Нова». 2006. Т. 8. С. 5–14.
17. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. М.: Прогресс, 1980. 328 с.
18. Утехин В. Д., Тишков А. А., Кашкарова В. П. и др. Использование методов ординации для изучения сукцессий заповедной растительности // Экологическая ординация и сообщества. М.: Наука, 1990. С. 151–163.
19. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 912 с.
20. Borza A. Aspecte botanice din R. P. Chineză // *Natura R. P. R.* 1960. Bd. 12, Hf. 1. S. 57–65.
21. Borza A. Über die “mediterrane” Vegetation im Südosten Europas // *Revue roumaine biologique. Ser. Bot.* 1965. Bd. 19, Hf. 1–2. S. 129–134.
22. Dúbravková D., Chytrý M., Willner W. et al. Dry grasslands in the Western Carpathians and the northern Pannonian Basin: a numerical classification // *Preslia*. 2010. 82. P. 165–221.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

доопрацьована 20.05.13

прийнята до друку 24.05.13

**COMPARATIVE SYNPHYTOINDICATIVE EVALUATION OF  
XEROTHERMIC HABITATS VEGETATION OF PODILLIA  
ELEVATION AND TRANSCARPATHIAN LOWLAND**

**G. Lysenko<sup>1</sup>, I. Danylyk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Gogol State University of Nizhyn*

*2, Kropyvyansky St., Nizhyn, Chernihiv Region 16600, Ukraine*

*e-mail: lysenko\_gena@yahoo.com*

<sup>2</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine*

*4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine*

*e-mail: idm777@lviv.farlep.net*

Using synphytoindicative method the magnitude of ecological factors which characterizes habitats of xerothermic vegetation within Podillia elevation and Transcarpathian

lowland was calculated. The results indicate that the distribution of xerothermic meadow-steppe and steppe formations on the examined area is closely correlated with climatic variables (generalized thermal regime, continentality, humidity and climate frigidity) and some edaphic factors (salt regime and the content of mineral nitrogen) of environment, the averages of which are almost the same for Podillia and Transcarpathia. It can be stated with sufficient probability that the division of Eastern European provinces into the Balkan-mezian (Prydnays'ka) and East European steppe is based on values' distinctionsof edaphic factors – soil moisture, calcium content in it and soil acidity.

*Keywords:* xerothermic vegetation, Podilla elevation, Trancarpatian lowland, ecological factors, synphytoindication, gradient and ordient analysis.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ СИНФИТОИНДИКАЦИОННАЯ ОЦЕНКА БИОТОПОВ КСЕРОТЕРМНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ПОДОЛЬСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ И ЗАКАРПАТСКОЙ НИЗМЕННОСТИ**

**Г. Лысенко<sup>1</sup>, И. Данылык<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Нежинский государственный университет имени Николая Гоголя  
ул. Крапивянского, 2, Нежин, Черниговская обл. 16600, Украина  
e-mail: lysenko\_gena@yahoo.com*

*<sup>2</sup>Институт экологии Карпат НАН Украины  
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина  
e-mail: idm777@lviv.farlep.net*

Используя метод синфитоиндикации, рассчитали величины экологических факторов, которые характеризуют биотопы ксеротермной растительности в пределах Подольской возвышенности и Закарпатской низменности. Полученные результаты свидетельствуют, что распространение ксеротермных лугово-степных и степных формаций на исследуемой территории определяется величинами климатических (обобщенный терморегим, континентальность, гумидность и морозность климата) и некоторых эдафических факторов (солевой режим и содержание минерального азота), средние значения которых для Подолья и Закарпатья очень близки. С достаточной вероятностью можно утверждать, что разделение восточноевропейского блока провинций на Балкано-мезийскую (Придунайскую) и Восточноевропейскую лесостепную базируется на отличиях величин эдафических факторов – влажности почвы, содержания в ней кальция и кислотности почвы.

*Ключевые слова:* ксеротермная растительность, Подольская возвышенность, Закарпатская низменность, экологические факторы, синфитоиндикация, градиентный и ординационный анализы.



## ТЕРПЕНОВІ СПОЛУКИ ВИЩИХ ВОДЯНИХ РОСЛИН І ЇХ ВПЛИВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ГІДРОБІОНТІВ

О. Усенко<sup>1</sup>, О. Баланда<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Інститут гідробіології НАН України  
вул. Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210, Україна

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ 03041, Україна  
e-mail: koriza@ukr.net

Вміст терпенових сполук у досліджених вищих водяних рослин невеликий, лише в *Acorus calamus* він становить 4,5% сухої ваги рослини. У водному середовищі їх накопичення залежить від виду рослини й особливостей трансформації цих сполук. Комплекс біологічно активних речовин *Acorus calamus* містить більше активних терпенових сполук, ніж *Oenanthe aquatica*, тому він інтенсивніше пригнічує ріст культур зелених і синьозелених водоростей, а також впливає на структуру фітопланктону й ікру *Cyprinus carpio*.

*Ключові слова:* терпенові сполуки, вищі водяні рослини, культури водоростей, фітопланктон, ікра коропа, ефірні олії.

Терпенові сполуки рослин – метаболіти вторинного походження із загальною формулою  $C_5H_8$ . Це первинно гідрофобні речовини, що входять до складу ефірних олій, формуючи видову специфіку їх запаху. У свою чергу, ефірні олії становлять собою суміш різноманітних за своїм хімічним складом і фізичними властивостями речовин (спиртів, альдегідів, кетонів, простих і складних ефірів, кислот, вуглеводнів, а також гетероциклічних сполук), що виділяються залозами рослин [11]. Найбільш характерними компонентами ефірних олій є монотерпени ( $C_{10}$ ) і сесквітерпени ( $C_{15}$ ). Залежно від виду рослини вони виділяються в 5 різних компартментів: 1) у вакуолі; 2) у лізогенні порожнини, які утворюються в результаті розчинення залозистих клітин; 3) у схизогенні міжклітинники, які утворюються шляхом розходження клітин; 4) під кутикулу, яка пухирчасто підіймається над клітинною стінкою; 5) у повітря. Хоча за допомогою яких механізмів ці нерозчинні у воді речовини виходять із клітини – невідомо [5].

Більшість із терпенових сполук рослин характеризується певними бактерицидними властивостями, а також впливає на ростові процеси у фітоценозах при аллопатичній взаємодії [3]. Вони використовуються в парфумерній, косметичній і фармакологічній промисловості й навіть у сільськогосподарському виробництві. Сировиною виробництва ефірних олій рослин є переважно деякі види наземних рослин: м'ята, лаванда, ромашка, троянда, сосна, кріп, конвалія та інші ефіроноси.

Серед водяних рослин найбільшу кількість ефірних олій синтезує лепеха звичайна (*Acorus calamus* L.), що росте на берегах річок і ставків, а також на заболочених луках. Вміст ефірних олій у кореневищах цього макрофіта становить 4,5–5,0% сухої фітомаси, в наземних органах – 2,0–2,5% [12]. Ці біологічно активні речовини при виділенні у воду різною мірою можуть впливати на життєві процеси вищих водяних рослин і водоростей. Вміст терпенових сполук у вищих водяних рослин мало вивчений, як і аллопатичні взаємозв'язки між ними. Хоча дослідження останніх років, проведені К. А. Петровим [12], показали, що леткі фракції ефірних олій *Acorus calamus* пригнічують ростові процеси та-

кого водяного тест-об'єкта як *Lemna minor* L. Практично не досліджена й роль терпенових метаболітів вищих водяних рослин, які виділяються у водне середовище, у процесі формування альгогруповань.

**Метою досліджень** було вивчити вміст терпенових сполук у фітомасі вищих водяних рослин і водному середовищі в місцях їх зростання, встановити компонентний склад і процентне співвідношення *Acorus calamus* і *Oenanthe aquatica*, а також вплив цих речовин на функціональну активність культур водоростей, склад фітопланктону Канівського водосховища та ікри *Cyprinus carpio*.

#### Матеріали та методики

Об'єктами досліджень були вищі водяні рослини *Acorus calamus* L. і *Oenanthe aquatica* (L.) Poir, відібрані в річці Південний Буг, а також *Trapa natans* L., *Typha angustifolia* L., *Ceratophyllum demersum* L., відібрані у затоці Собаче гирло (м. Київ). Альгологічно чисті культури синьозелених – *Anabaena* sp. PCC H20 France, *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. HPDP-6, *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs шт. FBA 218 Tvebon і зелених водоростей – *Acutodesmus dimorphus* (Turp.) Tsar. IBASU-A251, *Chlorella vulgaris* Beijer. IBASU-A197. Фітопланктон відібраний на Київській ділянці Канівського водосховища (затока Оболонь). У лабораторних умовах відібрані проби води змішували, а потім із загальної ємності розливали в окремі скляні посудини об'ємом 3 дм<sup>3</sup>. У зразки природної води з фітопланктоном додавали шматочки кореневища *Acorus calamus* (5 г/дм<sup>3</sup>), а також ефірні олії, виділені з кореневищ цієї рослини (0,5 і 1,0 мг/дм<sup>3</sup>). Контролем слугував зразок природної води з фітопланктоном без додавання кореневища й ефірних олій. Проби відбирали в день дослідження, а також на 2, 5 і 7 добу. Відбір та обробку проб фітопланктону проводили за загальноприйнятою методикою [18].

Ефірні олії виділяли зі свіжозібраних кореневищ методом перегонки водяною парою з використанням апарата Ківенжера [15]. Виділені біологічно активні речовини являли собою зеленувато-жовту прозору маслянисту рідину. Хроматографію проводили на колонці XTerra MS C18 (Waters), 150 x 2 мм, в режимі водно-ацетонітрильного градієнта, швидкість елюента 0,25 мл/хв. Паралельно використовували газовий хромато-масспектрометр Hewlett Packard GC/MS 5890/5972 (колонка HP 5MS 1 = 25 m, d=0,25 mm). Для ідентифікації використовували бібліотеку мас-спектрів "Wiley", яка містить 229 119 спектрів.

Культури водоростей вирощували при температурі 22–25°C і освітленні 3000 лк лампами денного світла протягом 16 год на середовищі Фітцджеральда в модифікації А. Цендера і П. Горема № 11 [17]. Ефірні олії *Acorus calamus* вносили в культури водоростей у концентрації 0,45 і 0,90 мг/дм<sup>3</sup>. Контролем слугували культури без додавання ефірних олій. Оцінювання експерименту проводили на 14 день. Стадії розвитку *Cyprinus carpio* (L.) визначали за методом А.П. Макеєвої [7].

Відносну швидкість росту біомаси культур водоростей (мг/мг за добу) визначали за формулою:

$$\mu = \frac{1}{x} \times \frac{dx}{dt},$$

де  $x$  – початкова біомаса водоростей;  $dx$  – приріст біомаси водоростей через деякий час;  $dt$  – час росту культур [9].

Отримані результати опрацьовано статистично [4].

#### Результати і їхнє обговорення

Проведені нами дослідження показали, що вміст терпенових сполук у фітомасі вищих водяних рослин значно відрізняється (табл. 1). У свою чергу, хімічна природа терпенових сполук *Trapa natans*, *Typha angustifolia*, *Oenanthe aquatica* і *Ceratophyllum demersum*

не вивчена з тієї причини, що у даних видів водяних рослин вони виявлені лише у слідових концентраціях 0,01–0,05% від сухої маси. Саме тому ефірні олії цих рослин у практиці народного господарства практично не застосовуються.

Таблиця 1

## Кількісний вміст терпенових метаболітів деяких видів водяних рослин

Види рослин	% терпенових сполук у сухій масі водяних рослин
<i>Acorus calamus</i> (лепеха звичайна)	4,5
<i>Typha angustifolia</i> (рогоз вузьколистий)	0,05
<i>Trapa natans</i> (горіх водяний)	0,04
<i>Oenanthe aquatica</i> (омег водяний)	0,02
<i>Ceratophyllum demersum</i> (кушир темно-зелений)	Сліди

Визначено, що найбільша кількість ефірних олій у фітомасі була зареєстрована у *Acorus calamus* і становила відповідно 4,5% від сухої маси. У деяких випадках, а особливо залежно від місця відбору проб, ці величини можуть коливатись у межах 4,0–5,2% від сухої маси. Серед терпенових сполук переважає аристон.

Вміст терпенових метаболітів упродовж вегетаційного періоду може дещо збільшуватися з віком рослин, і, очевидно, змінюватись залежно від гідрологічних режимів водойм та інших екологічних чинників. Ці питання поки що залишаються мало вивченими.

Загалом, на ділянках водойм, зарослих макрофітами, суттєвим чинником впливу на планктонні та перифітонні водорості є вся багатоконпонентна сукупність метаболітів фенольної природи, відомих своєю біологічною активністю. Можливо, саме їх впливом пояснюються і факти істотного негативного взаємовпливу самих макрофітів [21].

Наші дослідження показали, що концентрація терпенових сполук у середовищах росту водяних рослин у природних умовах досить низька (табл. 2). Вона здебільшого коливається в межах 50–200 мкг/дм<sup>3</sup> і досягає найбільших значень у місцях зростання видів зі значним вмістом цих речовин.

Таблиця 2

## Концентрації терпенових сполук у середовищах масового росту деяких видів вищих водяних рослин

Основні види рослин певних ділянок природних водойм	Концентрація терпенів, розчинених у середовищах росту рослин, мкг/дм <sup>3</sup>
<i>Acorus calamus</i>	380±20
<i>Typha angustifolia</i>	205±15
<i>Trapa natans</i>	214±10
<i>Oenanthe aquatica</i>	170±8
<i>Ceratophyllum demersum</i>	180±12

Найбільша кількість терпенових сполук у фітомасі була встановлена нами в *Acorus calamus*, а найменша у *Ceratophyllum demersum* – 4,5% і сліди, відповідно. У той же час найбільша кількість виділених терпенових сполук у воду була також у *Acorus calamus* і найменша у *Oenanthe aquatica* – 380 і 170 мкг/дм<sup>3</sup> відповідно. Хоча вміст у інших видів був майже такий, як у останнього виду.

Деякі види вищих наземних і водяних рослин виділяють у середовище леткі речовини терпенової природи [12]. Кожен вид ефіроносів має свій, характерний лише для нього, набір терпенових сполук.

У складі терпенових сполук у місцях росту досліджених вищих водяних рослин переважають фенолкарбонові кислоти [14], проте очевидно, що інші терпени мають менше екологічне значення внаслідок нижчої біологічної активності. Коливання співвідношення окремих компонентів екзогенних поліфенолів із більшою чи меншою біологічною активністю, які виділяються як прижиттєво, так і посмертно, є причиною відмінностей впливу вищих водяних рослин на функціональну активність водоростей [14, 20].

Для встановлення дії терпенових сполук гідрофітів на планктонні водорості нами був проведений хромато-маспектрофотометричний аналіз на наявність найбільшого і найменшого вмісту цих сполук у *Acorus calamus* і *Oenanthe aquatica*.

У складі ефірних олій *Acorus calamus* було виявлено більше 33 речовин (рис. 1). Із них достовірно встановлено 22 речовини – це 63,37% від загальної маси сполук (табл. 3). За кількістю максимальні величини були визначені у аристоні – 11,12% і β-азарону – 10,18%. При цьому варто відзначити, що більшість представлених речовин у табл. 3 належить до терпенів і їх похідних.

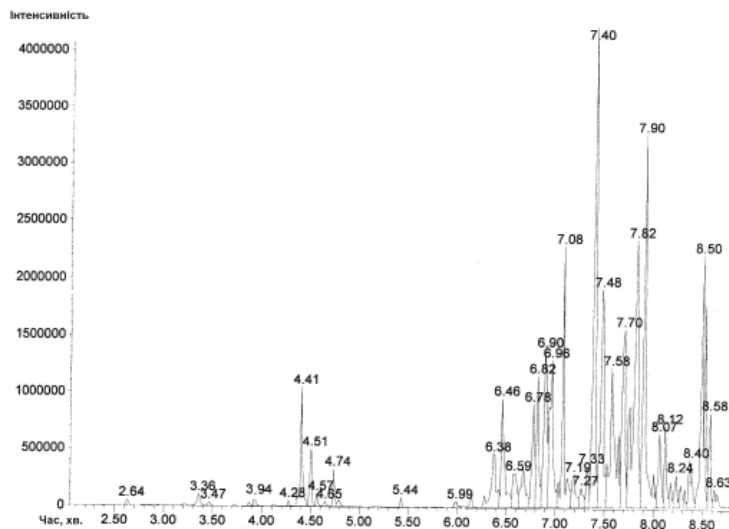


Рис. 1. Хроматограма комплексу терпенових сполук у фітомасі *Acorus calamus*.

Таблиця 3

Компонентний склад терпенових сполук із корневищ *Acorus calamus*

Назва речовин	Час виходу на хроматограмі, хв	Процентний вміст, % від загальної суми речовин
Камфен	2,64	0,13
Транс-оцимен	3,36	0,42
α-терпінолен	3,94	0,30
Терпінен-1-ол	4,28	0,10
α-камфора	4,41	3,33
Ендоборнеол	4,58	0,24
Терпінен-4-ол	4,65	0,10
α-терпінеол	4,74	0,76
Екзоборнілацетат	5,44	0,12
1,2,4-триметоксибензол	5,99	0,19
1Н-3а,7-метаноазулен	6,15	0,26
(-) Аристон	6,38	2,33
Каларен	6,46	3,24
α-гумулен	6,59	1,38
α-гуржунен	6,78	1,67
α-селінен	6,82	2,78
1S,цис-каламенен	6,96	5,95
α-калакорен	7,08	4,94
β-азарон	7,40	10,18
Цис-азарон	7,70	5,25
Аристон	7,82	11,12
1,4-цис-1,7-транс-акоренон	7,90	8,58

Також у складі ефірної олії *Acorus calamus*, крім d-пінену, d-камфену, d-камфору, борнеолу та ряду специфічних циклічних сесквітерпенів і їхніх кисневих похідних [25], нами було знайдено й інші речовини. Серед них  $\alpha$ -терпінеол – спирт, що є продуктом часткової деградації терпіну, він є в природі у вільному стані. Каламенен – циклічний сесквітерпеноїд. Гумулен є основною складовою сесквітерпенової фракції, що належить до моноциклічних вуглеводнів із подвійним циклом. Терпінеол міститься в ефірній олії ягід ялівцю, мускатних горіхів тощо. Терпінолен – моноциклічний терпен. Оцимен – ізомер мірцену; обидві сполуки містяться в ефірній олії багатьох рослин і мають вуглецевий скелет 2,6-диметилотану з трьома подвійними зв'язками [10, 11].

У свою чергу, проведена іншими авторами [8] порівняльна характеристика складу ефірних олій двох видів ялівцю та чотирьох видів кипарису показала, що основним компонентом цих речовин є  $\alpha$ -пінен, масова частка якого перевищує 71%. Вміст  $\beta$ -пінену коливався від 2 до 5%, а концентрація  $\Delta^3$ -карена була високою лише у кипарису вічнозеленого (11%). Кількість сесквітерпенів, дитерпенів і терпеноїдів не перевищувала 4% [8]. Усі ці особливості вказують на те, що для кожного виду характерний свій набір терпенових сполук.

Для встановлення різниці накопичення терпенових сполук за допомогою хромато-маспектрофотометричного аналізу із фітомаси *Oenanthe aquatica* виділений комплекс біологічно активних речовин (рис. 2). В ньому міститься близько 20 основних компонентів: гексодеканова, 9,12-октадекадієнова і декадієнова кислоти, стигмаста – 5,22-дієн-3-ол, 9-борабіцикло[3.3.1]нонан-9-амін та інші (табл. 4).

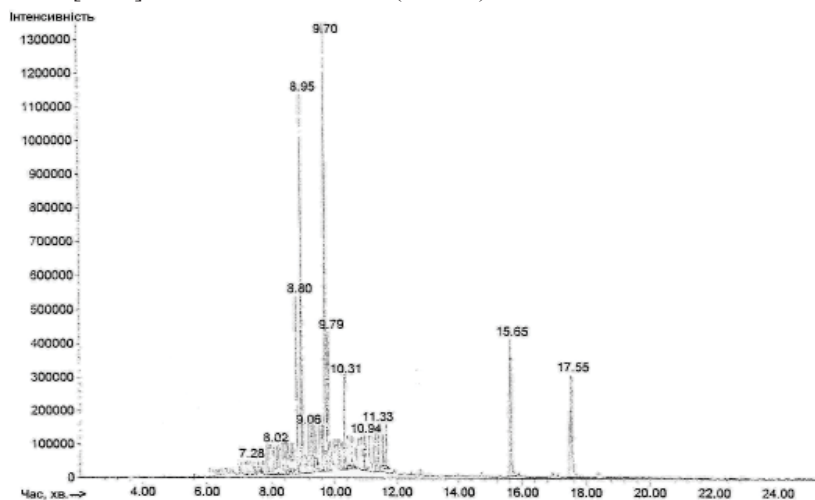


Рис. 2. Хроматограма комплексу біологічно активних речовин у фітомасі *Oenanthe aquatica*.

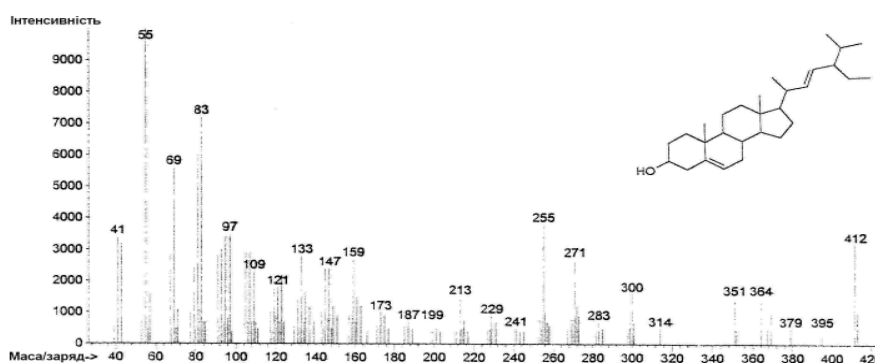
Найбільший вміст у складі речовин *Oenanthe aquatica* був зареєстрований у гексодеканової та 9,12-октадекадієнової кислот, що становило відповідно 19,33 і 20,87%. Вміст терпенових сполук був значно нижчим, ніж у *Acorus calamus*. У свою чергу, в *Oenanthe aquatica* до похідних терпенових сполук належать стигмаста – 5,22-дієн-3-ол (рис. 3) і піперитон семікарбазол, відсотковий вміст яких становить 15,44%, на відміну від *Acorus calamus* – 63,37%. Більшість терпенових сполук *Acorus calamus* належать до біологічно активних речовин, тоді як у *Oenanthe aquatica* вони представлені у вигляді похідних.

Таблиця 4

Компонентний склад речовини, виділеної з *Oenanthe aquatica*

№ п/п	Назва речовини	Час виходу на хроматограмі, хв	Кількість, %
1	Транс-2-фуран	7,28	1,24
2	4-метоксиметилфенол	8,02	4,00
3	Тетрадеканова кислота	8,14	1,01
4	9-октадеканова кислота	8,26	0,86
5	Пентадеканова кислота	8,43	1,04
6	Піперитон семікарбазол	8,78	4,84
7	8-гептадецен	8,82	1,74
8	Гексадеканова кислота	8,95	19,33
9	Стигмаста-5,22-дієн-3-ол	9,06	10,60
10	1-гексадецен	9,25	0,91
11	9,12-октадекадієнова кислота	9,70	20,87
12	Декадієнова кислота	9,79	9,67
13	Нанокс А	10,31	3,52
14	1,2-бенздикарбоксилінова кислота	11,33	1,42
15	9-борабіцикло[3.3.1]нонан-9-амін	15,65	10,92
	Не встановлена речовина	17,55	6,49

Подібні речовини були отримані при проведенні хімічного аналізу екстрактів ефірних олій із квітів і листків *Cleidiocarpon cavaleriei*. Основними компонентами олій із квітів є *n*-гексодеканоєва кислота (59,86%), 9,12-октадеканоєва кислота (13,93%), 9,12,15-октадекатрієн-1-ол (6,58%) і біс(2)-фталат (5,59%). У листках виявлені: діетилфталат (19,64%), бутильований гідрокситолуол (10,56%), *n*-гексодеканоєва кислота (3,70%) і бензойна кислота (3,46%) [24].

Рис. 3. Масспектр сполуки стиґмаста-5, 22-дієн-3-ол, виділеної з *Oenanthe aquatic*.

Експериментальні роботи багатьох дослідників засвідчили, що метаболіти вищих водяних рослин виявляють певну альгіцидну активність. До цих макрофітів належать: їжача голівка, лепешняк, латаття, комиш, осока, айр, рогіз, ряска, сусак, кушир, рдесники, стрілолист [6, 14].

Для встановлення дії терпенових сполук на культури водоростей нами були проведені дослідження на основі ефірних олій *Acorus calamus*. У культуральне середовище додавали 0,45 і 0,90 мг/дм<sup>3</sup> цих біологічно активних речовин. Результати порівнювали з контрольними варіантами на 14 добу експерименту.

Досліди показали, що при додаванні 0,45 мг/дм<sup>3</sup> ефірних олій у культур синьозелених (*Anabaena sp.*, *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae*) і зелених (*Chlorella*

*vulgaris*, *Acutodesmus dimorphus*) водоростей значення відносної швидкості росту не збільшувалось, а значно зменшувалось. Зі збільшенням концентрації діючої речовини пригнічення росту біомаси водоростей посилювалось (рис. 4). Так, при додаванні в культуральне середовище 0,90 мг/дм<sup>3</sup> ефірних олій *Acorus calamus* на 14 день біомаса *Chlorella vulgaris* зменшилась у 12,5 разу щодо контролю, *Acutodesmus dimorphus* – у 22,1, *Anabaena sp.* – у 34,4, *Microcystis aeruginosa* – у 7,7 і *Aphanizomenon flos-aquae* – у 10,3 разу.

Варто відзначити, що пригнічення швидкості росту біомаси у культур синьозелених і зелених водоростей під дією різних концентрацій терпенових сполук дещо відрізнялось. Так, у зелених водоростей зі збільшенням концентрації діючої речовини збільшувалась і відносна швидкість відмирання біомаси. У свою чергу, у синьозелених водоростей при концентрації біологічно активних речовин *Acorus calamus* 0,90 мг/дм<sup>3</sup> відмирання йшло повільніше, ніж при 0,45 мг/дм<sup>3</sup>. Таким чином, терпенові сполуки *Acorus calamus* у концентраціях 0,45 і 0,90 мг/дм<sup>3</sup> суттєво знижують відносну швидкість росту біомаси культур синьозелених і зелених водоростей.

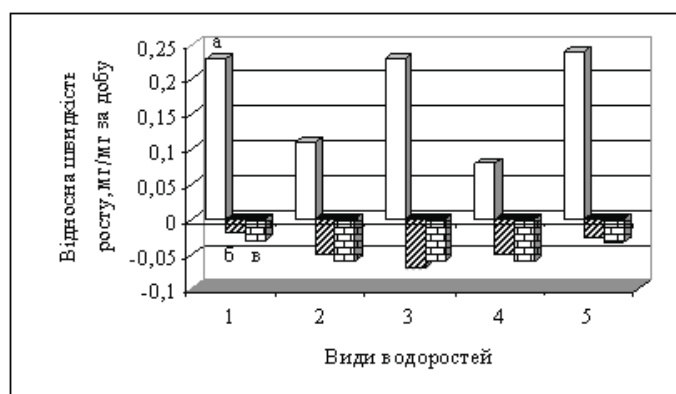


Рис. 4. Вплив біологічно активних речовин *Acorus calamus* на відносну швидкість росту біомаси *Chlorella vulgaris* (1), *Acutodesmus dimorphus* (2), *Anabaena sp.* (3), *Aphanizomenon flos-aquae* (4), *Microcystis aeruginosa* (5): а – контроль; б – 0,45 мг/дм<sup>3</sup>; в – 0,90 мг/дм<sup>3</sup>.

Для підтвердження отриманих результатів на культурах водоростей були проведені модельні дослідження щодо впливу терпенових сполук *Acorus calamus* (екстракти кореневища й ефірні олії) на фітопланктон. На початку дослідження в контрольному варіанті було зареєстровано 18 видів водоростей, серед яких домінували діатомові (10 видів). Загальна чисельність становила 8808 тис. кл/дм<sup>3</sup>, а загальна біомаса – 4,36 мг/дм<sup>3</sup>. За кількістю домінували синьозелені водорості (*Microcystis aeruginosa*), а за біомасою – діатомові (*Melosira varians* і *Aulacoseira granulata*). Протягом експерименту інтенсивність розвитку фітопланктону незначно знизилась. На 8-му добу чисельність становила 7229 тис. кл/дм<sup>3</sup>, біомаса – 4,06 мг/дм<sup>3</sup>, а кількість видів збільшилася до 23. Варто відзначити, що в дослідних зразках з додаванням різної концентрації ефірних олій (0,5 і 1,0 мг/дм<sup>3</sup>) інтенсивність розвитку фітопланктону була нижчою ніж у контролі (рис. 5).

Так, при концентрації ефірних олій 0,5 мг/дм<sup>3</sup> чисельність фітопланктону змінювалася з 6215 до 7040 тис. кл/дм<sup>3</sup>, біомаса – з 3,11 до 3,54 мг/дм<sup>3</sup>, а кількість видів – з 8 до 20. Інтенсивність розвитку фітопланктону при концентрації ефірних олій 1,0 мг/дм<sup>3</sup> була трохи нижчою ніж при нижчих концентраціях цих речовин. Чисельність фітопланктону становила 5560–6860 тис. кл/дм<sup>3</sup>, біомаса – 2,73–3,48 мг/дм<sup>3</sup>, а кількість видів змінювалася з 14 до 21. За чисельністю домінували синьозелені водорості, а за біомасою – діатомові.

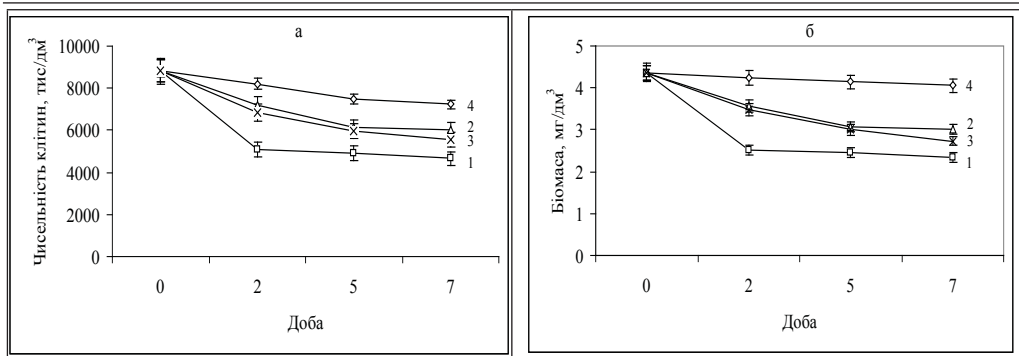


Рис. 5. Динаміка загальної чисельності (а) та біомаси (б) фітопланктону при внесенні у водне середовище кореневища (1 – 5 г/дм<sup>3</sup>) та ефірних олій *Acorus calamus* (2 – 0,5 мг/дм<sup>3</sup>; 3 – 1,0 мг/дм<sup>3</sup>); 4 – контроль.

Найбільший вплив на структуру альгоугруповань фітопланктону було встановлено при додаванні в посудини з водоростями кореневищ *Acorus calamus* (5 г/дм<sup>3</sup>). При цьому чисельність і біомаса зменшилися в 1,5 разу. Чисельність планктонних водоростей становила 4667–5080 тис. кл/дм<sup>3</sup>, біомаса – 2,34–2,52 мг/дм<sup>3</sup>, а кількість видів змінювалася з 9 до 13. Зниження чисельності й біомаси фітопланктону виникло за рахунок зменшення (майже у 2 рази) кількісних показників розвитку синьозелених водоростей, і в першу чергу *Microcystis aeruginosa*. У контролі чисельність і біомаса цього виду становили 4840–6100 тис. кл/дм<sup>3</sup> і 0,29–0,37 мг/дм<sup>3</sup>, відповідно. При додаванні кореневища *Acorus calamus* чисельність *Microcystis aeruginosa* зменшилася до 2300–2800 тис. кл/дм<sup>3</sup>, а його біомаса – до 0,14–0,17 мг/дм<sup>3</sup>.

Усього за період досліджень у фітопланктоні було визначено 57 видів водоростей із чотирьох відділів. Найбільш різноманітним складом характеризувались Bacillariophyta (26 видів), Chlorophyta (24 види). Cyanophyta були представлені 6 видами, а Dinophyta – 1 видом. Знайдені водорості належали до 30 родів [2].

Таким чином, найбільш суттєві зміни у складі й кількісних показниках розвитку водоростей порівняно з контролем відзначені при додаванні у водне середовище кореневища *Acorus calamus* (5 г/дм<sup>3</sup>). Встановлено пригнічення розвитку синьозелених водоростей, особливо *Microcystis aeruginosa*, чисельність і біомаса якого порівняно з контролем зменшилася майже у 2 рази.

Варто відзначити, що пригнічення розвитку синьозелених водоростей у присутності кореневища *Acorus calamus* пов'язано не з дією на ці водорості терпенових сполук, а зі збільшенням концентрації поліфенолів за час експозиції зі 120 до 700 мг/дм<sup>3</sup>. Як відомо з літературних даних, при концентрації фенолів більше 600 мг/дм<sup>3</sup> пригнічується розвиток синьозелених водоростей, не впливаючи на ріст зелених і діатомових водоростей [19].

У свою чергу, одним із основних чинників надходження терпенових сполук у воду є терпенові спирти. Дані процеси пов'язані не тільки з вищими водяними рослинами, але і з розвитком фітопланктону в різні періоди вегетації, особливо в період „цвітіння” води.

За допомогою газової хроматографії нами було встановлено вміст терпенових спиртів у ефірній олії *Microcystis aeruginosa*. Серед них процентний вміст лінолоолу становив 0,8%, неролу – 4,0%, гераніолу – 9,9%, цитронеолу і цитронеліацетату – 46,9%. У свою чергу, компонентний склад ефірних олій був представлений так: складні ефіри – 30–47%, терпенові спирти – 20–35%, леткі органічні кислоти – 7–14%, альдегіди – 1–8%. Відмінності у їхньому складі пов'язані з різним фізіологічним станом виділеної маси сестону [16].



Життєздатні, а не відмираючі клітини водоростей є джерелом надходження у воду ненасичених спиртів. Максимальна їхня концентрація була виявлена там, де чисельність і функціональна активність водоростей сягали максимальних значень. Переважання деструкції над продукцією не сприяло збільшенню концентрації терпенових спиртів у воді.

Попередні наші дослідження показали, що алкалоїдам *Nuphar lutea* властива значна біологічна активність щодо риб [1]. Реакція на ці сполуки проявляється у зниженні частоти дихального ритму зябер, пригніченні активності риб і підвищенні швидкості поглинання кисню, що є ознакою отруєння організму й у більшості випадків призводить до загибелі риб. Найбільші відхилення цих показників від контролю спостерігаються в перші хвилини контакту з речовиною.

Звертаючи увагу на ці особливості біологічно активних речовин, ми провели дослідження дії терпенових сполук *Acorus calamus* на ікру коропа. У результаті встановлено, що комплекс речовин, виділених із кореневищ *Acorus calamus*, виявився щодо ікри коропа значно токсичнішим, ніж хлоргідрати алкалоїдів *Nuphar lutea*. Так, дія терпенових сполук у концентрації 0,005–0,025 мг/дм<sup>3</sup> майже не відрізнялася від контрольних показників. Тоді як збільшення удвічі діючої речовини (0,05–0,10 мг/дм<sup>3</sup>) призводило до 100%-вої загибелі на стадіях 2-добових передличинки і рухливості ембріонів в оболонці, відповідно (табл. 5). На наш погляд, це може бути пов'язано з більш високою біологічною активністю окремих компонентів ефірних олій *Acorus calamus*, порівняно з алкалоїдами *Nuphar lutea*, що і було виявлено нами стосовно як вже згаданих тест-об'єктів водоростей, так і ікри коропа. Також нами було встановлено, що найбільшу кількість серед виділених БАР кореневища *Acorus calamus* становлять терпени та їх похідні (понад 60 %). Механізм дії терпенів не є чітко зрозумілим, однак вважають, що, впливаючи на ліпофільні сполуки, терпени руйнують мембрану [23].

Таблиця 5

Вплив біологічно активних речовин *Acorus calamus* на життєздатність (%) ікри коропа

Стадії розвитку	Контроль	Концентрація БАР, мг/дм <sup>3</sup>			
		0,005	0,025	0,050	0,100
Дрібноклітинна морула	75,72±2,24	78,77±4,19	66,57±4,55	65,73±4,58	67,45±5,21
Утворення очних келихів	69,80±2,29	71,80±3,67	63,13±6,04	63,00±4,44	23,51±6,04
Рухливість ембріонів в оболонці	66,40±4,21	62,90±3,31	65,40±7,56	28,70±9,94	0
2-Добові передличинки	41,20±6,67	42,01±4,31	32,80±2,31	0	0

У свою чергу, терпенові спирти як проміжні продукти окислення більш відновлених метаболітів водоростей і вищих водяних рослин не можуть накопичуватись у їхніх середовищах, оскільки підлягають подальшому окисленню в умовах високої аеробності й активності ферментних систем. Окислення спиртів до альдегідів або кетонів є звичайною хімічною (а також мікробіологічною) реакцією.

У водному середовищі, в місцях зростання рослин кількість терпенових сполук може коливатись у межах 50–200 мкг/дм<sup>3</sup>, у *Acorus calamus* до 480 мкг/дм<sup>3</sup>. У складі біологічно активних речовин *Acorus calamus* домінував аристон (11,12%) і β-азарон (10,18%), у *Oenanthe aquatica* – гексадеканова кислота (19,33%) і 9,12-октадекадієнова кислота (20,87%). Кількість терпенових сполук становить у *Acorus calamus* 63,37%, *Oenanthe aquatica* – 15,44%, при цьому у першого вони більш активні, а у другого представлені лише у вигляді похідних.

Комплекс біологічно активних речовин *Acorus calamus* у концентрації від 0,45 до 0,90 мг/дм<sup>3</sup> пригнічує ріст біомаси культур синьозелених і зелених водоростей, призводячи до зменшення кількості та біомаси природного фітопланктону. Екстракти кореневищ *Acorus calamus* (5 мг/дм<sup>3</sup>) виявляють більшу активність щодо водоростей фітопланктону,

ніж ефірні олії, за рахунок сумарної дії терпенів і поліфенолів. Збільшення концентрації терпенових сполук 0,05–0,10 мг/дм<sup>3</sup> призводить до загибелі ікри *Suprinus carpio* на стадіях 2-добових передличинок і рухливості ембріонів у оболонці.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баланда О. В., Зиньковский О. Г., Потрохов А. И. Влияние алкалоидов *Nuphar lutea* (L.) Smith на икру и сперматозоиды карпа и белого амура // Гидробиол. журнал. 2004. Т. 40. № 5. С. 71–77.
2. Баланда О. В., Шевченко Т. Ф., Новохацкая О. В. Влияние биологически активных веществ *Acorus calamus* L. на рост и развитие водорослей // Гидробиол. журнал. 2006. Т. 42. № 6. С. 72–80.
3. Гродзинський А. М. Основи хімічної взаємодії рослин. К.: Наук. думка, 1973. 206 с.
4. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 423 с.
5. Либберт Э. Физиология растений. М.: Мир, 1976. 586 с.
6. Лукина Л. Ф., Смирнова Н. Н. Физиология высших водных растений. К.: Наука, 1988. 186 с.
7. Макеева А. П. Эмбриология рыб. М.: Изд-во МГУ, 1992. 216 с.
8. Марчук Н. Ю., Палий А. Е., Ежов В. Н., Виноградов Б. А. Характеристика эфирных масел, выделенных из хвои и шишек различных представителей семейства кипарисовых // Физиология и биохимия культ. растений. 2011. Т. 43. № 5. С. 440–445.
9. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 392 с.
10. Неницеску К. Д. Органическая химия. М.: Изд-во иностр. л-ры, 1963. Т. 2. 1048 с.
11. П. де Майо. Терпеноиды / под ред. В.Т. Кучерова. М.: Изд-во иностр. л-ры., 1963. 495 с.
12. Петров К. А. Влияние эфирных масел *Ledum palustre* L., *Acorus calamus* L., *Artemisia jascutica* Drob. на рост биогестов // Растительные ресурсы. 1998. Т. 34. № 1. С. 47–50.
13. Работягов В. Д., Усиков В. П., Овчаренко Н. С. Изменчивость компонентного состава эфирного масла у растений *Artemisia balchanorum* Krasch., инфицированных ржавчинным грибом *Puccinia absinthii* Dc. // Физиология и биохимия культ. растений. 2011. Т. 43. № 5. С. 419–424.
14. Сакевич О. Й., Усенко О. М. Алелопатія в гідроекосистемах. К.: Логос, 2008. 344 с.
15. Сакевич О. Й., Усенко О. М., Баланда О. В. Біохімічний аналіз водяних рослин. К.: Логос, 2009. 372 с.
16. Сакевич О. Й., Усенко О. М. Ефірні олії планктонних синьозелених водоростей // Наук. записки Тернопіль. держ. пед. ун-ту. Сер. біол. Спец. випуск: Гідроекологія. 2010. № 2 (43). С. 434–438.
17. Сиренко Л. А., Сакевич А. И., Осипов Л. Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. К.: Наук. думка, 1975. 247 с.
18. Топачевский А. В., Масюк Н. П. Пресноводные водоросли Украинской ССР. К.: Вища школа, 1984. 333 с.
19. Усенко О. М., Сакевич А. И., Паламарчук В. Д. Влияние фенольных кислот гидрофитов на развитие планктонных водорослей // Альгология. 2003. № 1. С. 26–33.
20. Усенко О. М., Сакевич О. Й., Баланда О. В. Резистентність водоростей до біологічно активних речовин. К.: Логос, 2010. 192 с.
21. Adami M., Waisel G. Inter-relationships between *Najas marina* L. and three other species of aquatic macrophytes // Hydrobiologia. 1985. Vol. 126. N 2. P. 169–173.
22. Capetanos C., Saroglou V., Marin P. Essential oil analysis of two endemic *Eryngium* species from Serbia // J. Serb. Chem. Soc. 2007. Vol. 72. N 10. P. 961–965.
23. Cowan M. M. Plant products as antimicrobial agents // Clinical Microbiol. Rev. 1999. Vol. 12. N 4. P. 564–582.

24. Xiu-Fang, Qiang L., Zhen-Yi. The chemical composition of essential oils from flowers and leaves / *Cleidiocarpon cavaleriei* // Guangxi zhiwu = Guihaia. 2008. Vol. 28. N 3. S. 424–426.
25. Wang Han-Zhang, Chen You-Gen, Fan Cui-Sheng. Review of studies on chemical constituents and pharmacology of genus *Acorus* in China // Yuman zhiwu yanjiu = Acta bot. yunnanica. 1998. Suppl. X. P. 96–100.

Стаття: надійшла до редакції 25.02.13

доопрацьована 20.05.13

прийнята до друку 22.05.13

## TERPENE COMPOUNDS OF HIGHER AQUATIC PLANTS AND THEIR EFFECT ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF AQUATIC SUBSTANCES

O. Usenko<sup>1</sup>, O. Balanda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine*

*12, Heroes of Stalingrad Ave., Kyiv UA- 04210, Ukraine*

<sup>2</sup>*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

*15, Heroyiv Oborony St., Kyiv 03041, Ukraine*

*e-mail: koriza@ukr.net*

The content of terpenic compounds at the studied highest water plants was small, only at *Acorus calamus* it contained 4,5% of dry weight of a plant. It accumulation depends on a species of a plant and features of transformation of these substances in an water invirement. The complex biologically active compounds of *Acorus calamus* contains more active terpenic substensis than in *Oenanthe aquatica* and by that oppresses of culture grow of green and blue-green algas more intensively, and also influences on the structure of a phytoplankton and *Cyprinus carpio* caviar.

*Keywords:* terpenic compounds, highest water plants, algologically pure culture, phytoplankton, *Cyprinus carpio* caviar, essential oils.

## ТЕРПЕНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГИДРОБИОНТОВ

О. Усенко<sup>1</sup>, О. Баланда<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт гидробиологии НАН Украины*

*ул. Героев Сталинграда, 12, Киев 04210, Украина*

<sup>2</sup>*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины*

*ул. Героев Обороны, 15, Киев 03041, Украина*

*e-mail: koriza@ukr.net*

Содержание терпеновых соединений у исследованных высших водных растений небольшое, только у *Acorus calamus* оно составляет 4,5% сухой массы растения. В водной среде их накопление зависит от вида растения и особенностей трансформации этих веществ. Комплекс биологически активных веществ *Acorus calamus* содержит больше активных терпеновых соединений, чем в *Oenanthe aquatica*, и тем самым интенсивнее угнетает рост культур зеленых и синезеленых водорослей, а также влияет на структуру фитопланктона и икру *Cyprinus carpio*.

*Ключевые слова:* терпеновые соединения, высшие водные растения, культуры водорослей, фитопланктон, икра карпа, эфирные масла.

ЗООЛОГІЯ

УДК [594.382.5:575. 2(477)]

**МІНЛИВІСТЬ ВИДІВ РОДУ *LIMAX* (LINNAEUS, 1758)  
(PULMONATA, LIMACIDAE) ФАУНИ УКРАЇНИ**

**Т. Чернишова**

*Житомирський національний агроекологічний університет  
Старий Бульвар, 7, Житомир 10008, Україна  
e-mail: taya21@inbox.ru*

У результаті комплексного аналізу біохіміко-генетичних, морфологічних і анатомічних ознак чотирьох видів роду *Limax* фауни України встановлено чіткі відмінності між ними за алозимними спектрами та морфометричними параметрами. Розподіл популяцій досліджених видів на три чіткі кластери як за генетичними дистанціями, так і за сукупністю морфологічних ознак свідчить про морфологічну неоднорідність *L. cinereoniger* та складну структуру роду *Limax*, яка потребує подальшого вивчення.

*Ключові слова:* слизні, алозимні спектри, електрофорез.

Види роду *Limax*, що трапляються у фауні України, характеризуються чіткими відмінностями за низкою морфологічних ознак (будова дистальних відділів статеві системи; форма і положення органів мантийного комплексу; відмінності в будові радули), тому зазвичай не виникає проблем із їх ідентифікацією. Однак дослідження, проведені в останні десятиліття із застосуванням біохімічних та генетичних методів [2–4], показали, що принаймні деякі види слизнів насправді є видовими комплексами, кожен із членів яких представлений серією амфіміктичних і аутоміктичних ліній (біотипів), що суттєво ускладнює їх ідентифікацію [5, 8–10]. У цих випадках використання традиційних ознак дає змогу ідентифікувати лише видові комплекси, а для розділення видів у межах одного комплексу часто доводиться шукати нові ознаки. Так, виявилось, що види комплексу *Arion fuscus/subfuscus*, виділені на основі генетичних даних, надійно ідентифікуються лише за морфологією гонади [5, 8], а види комплексу *L. cinereoniger* диференціюються лише за пропорціями копулятивного апарату [6, 12]. Слід зазначити, що слизні роду *Limax* фауни України у цьому аспекті залишаються недослідженими.

Враховуючи вищезазначені факти, актуальним є дослідження генетичної структури популяцій видів роду *Limax*, а також проведення комплексного аналізу біохіміко-генетичних, зовнішньоморфологічних і анатомічних ознак видів роду *Limax* з метою уточнення їх діагнозів та систематичного положення.

**Матеріали та методи**

Досліджено 60 вибірок моллюсків роду *Limax*: 22 – *L. maximus*; 7 – *L. cinereoniger*; 16 – *L. flavus*; 5 – *L. ecarinatus*, зібраних з території 21 області України і АР Крим у весняно-осінній період 2008–2010 рр. Моллюски роду *Limax* виявлено на території 14 областей (Вінницької, Житомирської, Запорізької, Київської, Кіровоградської, Львівської, Одеської, Рівненської, Тернопільської, Херсонської, Хмельницької, Черкаської, Чернівецької, Чернігівської) й Автономної Республіки Крим. Збір і дослідження моллюсків проводили за загальноприйнятими методиками [1].

Для біохімічного генного маркування та морфологічних досліджень використано всього 512 екз. слизнів, 364 ідентифікованих як *L. maximus*; 40 – як *L. cinereoniger*; 120 – як *L. flavus* та 12 – як *L. ecarinatus* за визначниковими таблицями [1, 11].

Методом електрофорезу в поліакриламідному гелі з використанням ТРИС-ЕДТА-боратної системи буферів [7] в екстрактах із хвостової частини тіла досліджено електрофоретичну мінливість спектрів ферментів аспартатамінотрансферази (*Aat*), малатдегідрогенази (*Mdh*), лактатдегідрогенази (*Ldh*), неспецифічних естераз (*Es*) і супероксиддисмутази (*Sod*).

На живому матеріалі визначали характер фонового забарвлення, малюнок на мантиї та спині, колір слизу. Подальші дослідження проводили на слизнях, фіксованих у 70%-вому розчині етанолу. Розтин слизнів проводили під мікроскопом МБС-1 у 70%-вому розчині етанолу за загальноприйнятими методиками [1]. Вимірювали довжину тіла молюска (*L*), яйцеводу (*Lov*), сім'яприймача (*Lsp*), резервуара сім'яприймача (*Lrs*), пеніса (*Lp*).

Статистична обробка даних здійснена за допомогою пакету прикладних статистичних програм STATISTICA 6.0.

### Результати і їхнє обговорення

Здійснене генетичне маркування на основі електрофорезу в поліакриламідному гелі свідчить про наявність чітких відмінностей у генетичних маркерах між усіма дослідженими видами (табл. 1).

Таблиця 1

Генетичні відмінності між видами роду *Limax*

Ферменти Вид	<i>Mdh-1</i>	<i>Mdh-2</i>	<i>Mdh-3</i>	<i>Sod</i>	<i>Aat</i>	<i>Es-3</i>
<i>L. maximus</i>	0	bb	aa	bb	bb	ab
<i>L. cinereoniger</i>	0	aa	bb	aa	aa	ab, ac, cc
<i>L. flavus</i>	aa	aa	bb	aa	bb	ab, cc
<i>L. ecarinatus</i>	aa	aa	bb	aa	bb	ad

**Примітка.** *Mdh* – малатдегідрогеназа; *Aat* – аспартатамінотрансфераза; *Es* – неспецифічні естерази; *Sod* – супероксиддисмутази.

Так, за спектрами малатдегідрогенази спостерігається фіксація альтернативних алелей у *L. maximus* та *L. cinereoniger* видів підроду *Limacus* (*L. flavus* та *L. ecarinatus*). Електрофоретичний спектр супероксиддисмутази (*Sod*) є діагностичним для *L. maximus*, а спектр аспартатамінотрансферази (*Aat*) – для *L. cinereoniger*. Представники підроду *Limacus* виявилися дуже подібними за алозимними спектрами, однак у *L. ecarinatus* спостерігається фіксований генотип локусу *Es-3 – Es-3<sup>ad</sup>*, не характерний для *L. flavus* (табл. 1).

Досліджені популяції роду *Limax* на фонограмі, побудованій за генетичними дистанціями Нея [119], утворюють три чіткі кластери (рис. 1). При цьому популяції видів підроду *Limacus* (*L. flavus* та *L. ecarinatus*) об'єднуються на незначній відстані. Однак *L. cinereoniger* за генетичною структурою виявився ближчим до підроду *Limacus*, ніж до *L. maximus*. Популяції останнього виду утворюють окремий кластер, який приєднується на максимальній відстані. Отже, отриманий на фонограмі розподіл досліджених популяцій не відповідає прийнятому у роді *Limax* підродовому поділу.

У табл. 2 подано абсолютні та відносні параметри дистальних відділів статевої системи, за якими відрізняються між собою види роду *Limax*.

Аналіз основних морфологічних параметрів досліджуваних видів свідчить про наявність чітких вірогідних відмінностей між ними (табл. 3).

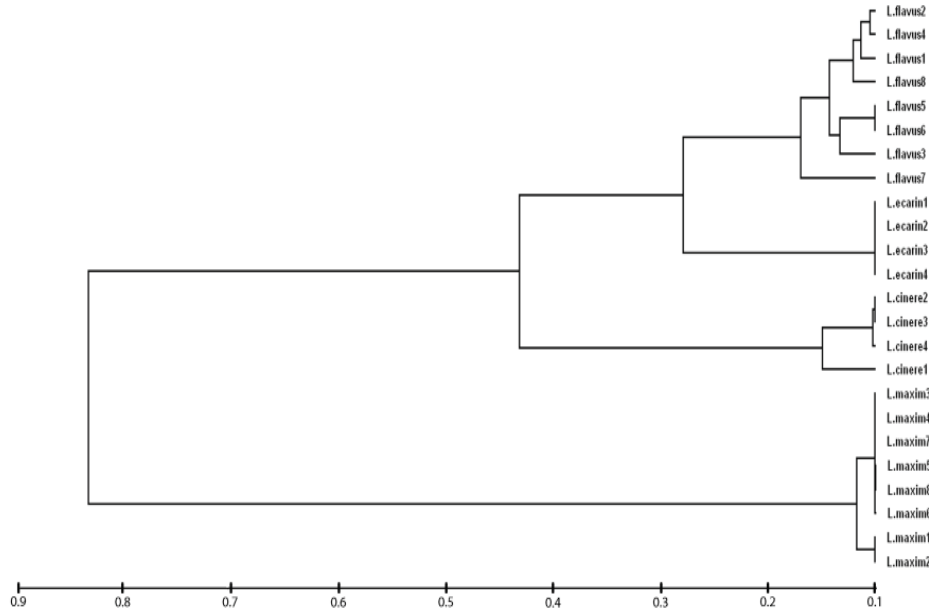


Рис. 1. Фенограма розподілу найбільш масових популяцій роду *Limax* за генетичними дистанціями Нея.

Таблиця 2

Мінливість морфологічних параметрів видів роду *Limax*

Вид	Ознаки	Lsp	Lov	Lov/L	Lp	Lp/L
		M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
<i>L. maximus</i>		4,36±0,11	17,52±0,35	0,31±0,01	28,11±0,74	0,49±0,01
<i>L. cinereoniger</i>		5,93±0,31	14,73±0,82	0,3±0,02	66,12±2,76	1,37±0,06
<i>L. flavus</i>		4,18±0,13	14,17±0,3	0,33±0,01	11,03±0,49	0,26±0,01
<i>L. ecarinatus</i>		3,37±0,46	8,98±1,4	0,21±0,03	8,12±0,79	0,2±0,02

**Примітка.** Lsp – абсолютна довжина резервуара сім’яприймача (mm), Lov – абсолютна довжина овідукта (mm), Lov/L – відносна довжина овідукта, Lp – абсолютна довжина пеніса (mm), Lp/L – відносна довжина пеніса.

Таблиця 3

Вірогідні відмінності за морфологічними ознаками між видами роду *Limax*  
(ANOVA, LSD - test)

Вид	Lsp	Lrs	Lov	Lp	L	Lp/L	Lov/L	Lrs/Lsp
<i>L. maximus</i> - <i>L. cinereoniger</i>	*	***	***	***	***	***	—	—
<i>L. maximus</i> - <i>L. flavus</i>	—	—	***	***	***	***	—	—
<i>L. maximus</i> - <i>L. ecarinatus</i>	—	—	***	***	***	***	**	—
<i>L. cinereoniger</i> - <i>L. flavus</i>	*	***	—	***	***	***	—	—
<i>L. cinereoniger</i> - <i>L. ecarinatus</i>	*	***	***	***	*	***	*	—
<i>L. flavus</i> - <i>L. ecarinatus</i>	—	—	***	—	—	—	***	—

**Примітки.** Умовні позначення див. табл. 2; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; “—” відсутні вірогідні відмінності.

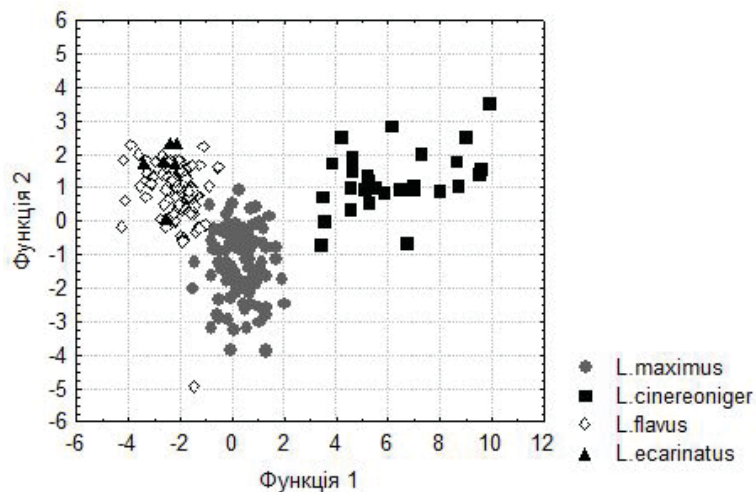
Усі пари видів (за винятком *L. flavus* та *L. ecarinatus*) надійно ідентифікуються за абсолютною та відносною довжиною пеніса. Види підроду *Limacus* – *L. flavus* та *L. ecarinatus* за цими ознаками виявилися подібними, однак вони добре диференціюються за абсолютною та відносною довжиною яйцевода.

Подібні результати дає дискримінантний аналіз видів роду *Limax* (табл. 4, рис. 2). У табл. 4 наведено кількість особин кожного виду, взятого для аналізу, та його рівень дискримінації. Загальний рівень дискримінації високий (96,65%), однак *L. ecarinatus* практично не дискримінується (точність дискримінації 33,33%), і більшість його екземплярів віднесено до *L. flavus*. Найвищий рівень кореляції з канонічними функціями виявляють ознаки, пов'язані з довжиною пеніса й овідукта.

Таблиця 4

Надійність дискримінації видів роду *Limax*

Вид	%	<i>L. maximus</i>	<i>L. cinereoniger</i>	<i>L. flavus</i>	<i>L. ecarinatus</i>
<i>L. maximus</i>	98,89	89	0	1	0
<i>L. cinereoniger</i>	96,43	1	27	0	0
<i>L. flavus</i>	98,82	1	0	84	0
<i>L. ecarinatus</i>	33,33	0	0	4	2
В цілому	96,65	91	27	89	2

Рис. 2. Діаграма розсіяння вибірок видів роду *Limax* у полі перших двох канонічних функцій.

Кластерний аналіз досліджених популяцій видів роду *Limax* (рис. 3) свідчить про їхній чіткий розподіл на три кластери. Всі популяції *L. maximus* утворюють компактний кластер, який на значній відстані об'єднується із кластером, утвореним популяціями видів підроду *Limacus*. Проте два види цього підроду не утворюють окремих кластерів, що свідчить про їхню значну морфологічну подібність. На ще більшій відстані приєднується кластер, утворений популяціями *L. cinereoniger*. При такому дослідженні популяції цього виду на дендрограмі утворюють два чітких кластери, дистанція об'єднання яких навіть перевищує дистанцію між кластерами *L. maximus* та кластерами підроду *Limacus*. Слід зазначити, що характер об'єднання досліджених популяцій за сукупністю морфологічних параметрів на дендрограмі (рис. 3) майже збігається із розподілом цих популяцій за генетичними дистанціями (рис. 1). Цей результат свідчить, з одного боку, про морфологічну неоднорідність *L. cinereoniger*, а з іншого – про невідповідність структури роду *Limax* існуючому поділу

на два підроди. Судячи із дендрограми, доцільним є виділення також у окремий підрід *L. cinereoniger*, що добре узгоджується із останніми даними про збірний характер цього таксону. Однак для остаточних таксономічних висновків із приводу підродової структури роду *Limax* необхідні дослідження інших видів європейської фауни, яких, за сучасними даними, налічується близько 30 видів.

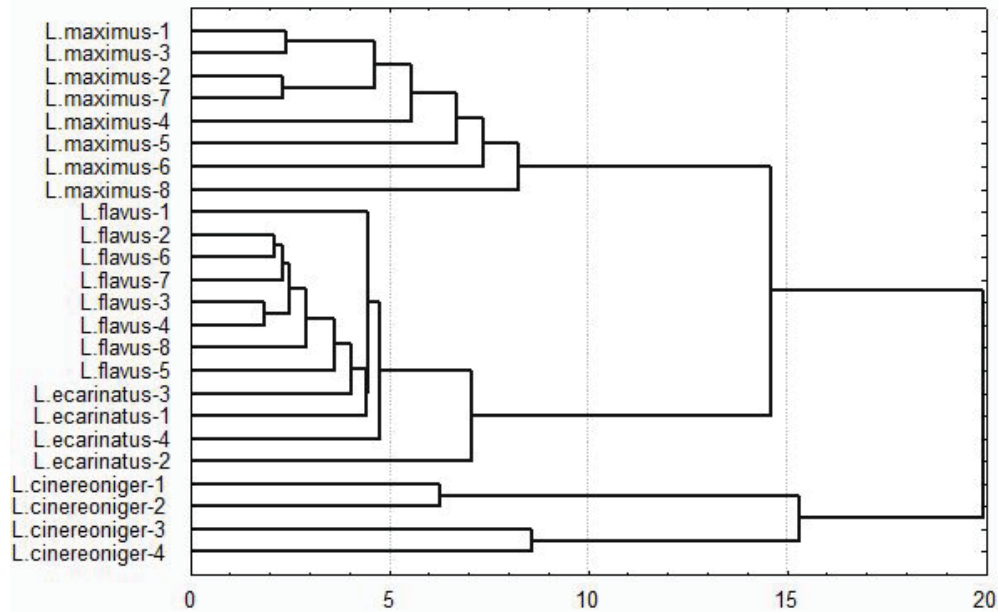


Рис. 3. Дендрограма об'єднання видів роду *Limax* за сукупністю морфологічних параметрів (кластерний аналіз, евклідові дистанції).

Отже, досліджені види роду *Limax* чітко диференціюються за алозимними спектрами та морфометричними параметрами. При цьому всі пари видів надійно ідентифікуються за абсолютною та відносною довжиною пеніса, за винятком *L. flavus* і *L. ecarinatus*, які відрізняються за абсолютною та відносною довжиною яйцевода.

Розподіл популяцій досліджених видів на три чіткі кластери як за генетичними дистанціями, так і за сукупністю морфологічних ознак свідчить про морфологічну неоднорідність *L. Cinereoniger* і складну структуру роду *Limax*, яка потребує подальшого вивчення.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лухарев И. М., Виктор А. Й. Слизни фауны СССР и сопредельных стран (Gastropoda terrestria nuda) // Фауна СССР. Л.: Наука, 1980. Т. 3. Вып. 5. 438 с.
2. Backeljau T., Ahmadyar S. Z., Sekens M. et al. Comparative electrophoretic analyses of three European *Carinarion* species (Mollusca, Pulmonata, Arionidae) // Zool. Scr. 1987. Vol. 16. No. 3. P. 209–222.
3. Backeljau T., Bruyn L., Wolf H. et al. Allozyme diversity in slugs of the *Carinarion* complex (Mollusca, Pulmonata) // Heredity. 1997. N 78. P. 445–451.
4. Jordaens K., Scheirs J., Verhagen R., Backeljau T. Ecogenetic comparison of the selfing terrestrial slugs *Arion silvaticus* and *A. circumscriptus* in Belgium (Mollusca: Pulmonata: Arionidae) // Hereditas. 1998. N 129. P. 27–36.



5. *Jordaens K., Pinceel J., Kriekemans H., Backeljau T.* Accurate identification of cryptic slug taxa of the *Arion subfuscus/fuscus* complex by PCR-RFLP (Pulmonata: Arionidae) // Research notes. 2006. P. 323–325.
6. *Nitz B., Heim R., Schnepf U.* et al. Towards a new standart in slugs species descriptions: the case of *Limax sarnensis* Heim & Nitz n.sp. (Pulmonata: Limacidae) from the western central Alps // J. Molluscan Studies. 2009. N 75. P. 279–294.
7. *Peacock F. C., Bunting S. L., Queen K. G.* Serum protein electrophoresis in acrilamylde gel patterns from normal human subjects // Science. 1965. Vol. 147. P. 1451–1455.
8. *Pinceel J., Jordaens K., Van Houtte N.* et al. Molecular and morphological data reveal cryptic taxonomic diversity in the terrestrial slug complex *Arion subfuscus/fuscus* (Mollusca, Pulmonata, Arionidae) in continental north-west Europe // Biol. J. Linnean Society. 2004. N 83. P. 23–38.
9. *Pinceel J., Jordaens K., Backeljau T.* Extreme mtDNA divergences in a terrestrial slug (Gastropoda, Pulmonata, Arionidae): accelerated evolution, allopatric divergence and secondary contact // J. Evol. Biol. 2005. N 18. P. 1264–1280.
10. *Soroka M., Kozłowski J., Wiktor A., Kałuski T.* Distribution and Genetic Diversity of the Terrestrial Slugs *Arion lusitanicus* Mabilie, 1868 and *Arion rufus* (Linnaeus, 1758) in Poland Based on Mitochondrial DNA // Folia biologica – Kraków 2009. Vol. 57. No 1–2. P. 71–81.
11. *Wiktor A.* Limacoidea et Zonitoidea nuda. Slimaki pomrowickszaltne (Gastropoda: Stylommatophora) // Fauna Polski. T. 12. Warszawa. 1989. 207 s.
12. *Wiktor A., Bossneck U.* *Limax (Limax) seticus n. sp.* From high mountains in Nepal (Gastropoda: Pulmonata: Limacidae) // Folia malacologica. Poznan. 2004. Vol. 12(4). P. 183–187.

Стаття: надійшла до редакції 07.02.13

доопрацьована 06.03.13

прийнята до друку 22.03.13

#### VARIABILITY OF SPECIES OF THE *LIMAX* GENUS (LINNAEUS, 1758) (PULMONATA, LIMACIDAE) MOLLUSCS OF THE FAUNA OF UKRAINE

T. Chernyshova

*Zhytomyr National Agroecological University*  
7, Staryi Blvd, Zhytomyr 10008, Ukraine  
e-mail: taya21@inbox.ru

As a result of the complex analysis biokhimiko-genetic, morphological and anatomic signs of four species of the *Limax* genus of the fauna of Ukraine, accurate differences between them according to allozymic ranges and morphometric parameters were established. On the one hand distribution of populations of the studied types into three accurate clusters both behind genetic distances and behind set of morphological signs testifies to morphological heterogeneity of *L. cinereoniger* about difficult structure of the *Limax* genus which needs further studying.

*Keywords:* slugs, allozymic ranges, electrophoresis.

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИДОВ РОДА *LIMAX* (LINNAEUS, 1758)  
(PULMONATA, LIMACIDAE) ФАУНЫ УКРАИНЫ**

**Т. Чернышова**

*Житомирский национальный агроэкологический университет  
Старый Бульвар, 7, Житомир, 10008, Украина  
e-mail: taya21@inbox.ru*

В результате комплексного анализа биохимико-генетических, морфологических и анатомических признаков четырех видов рода *Limax* фауны Украины установлены четкие отличия между ними по алозимным спектрам и морфометрическим параметрам. Распределение популяций исследованных видов на три четких кластера как по генетическим дистанциям, так и по совокупности морфологических признаков свидетельствует о морфологической неоднородности *L. cinereoniger* и сложной структуре рода *Limax*, которая требует дальнейшего изучения.

*Ключевые слова:* слизни, алозимные спектры, электрофорез.

## ДО ГНІЗДОВОЇ БІОЛОГІЇ СПІВОЧОГО ДРОЗДА (*TURDUS PHILOMELOS* C. L. BREHM, 1831) НА ПРИРОДООХОРОННИХ ТЕРИТОРІЯХ ЗАХІДНОГО УКРАЇНСЬКОГО ПОЛІССЯ

М. Франчук

Рівненський природний заповідник  
Урочище "Розвилка", Сарни 34503, Україна  
e-mail: misha-ek@mail.ru

У статті висвітлено гніздову біологію дрозда співочого (*Turdus philomelos*, C.L. Brehm, 1831) в умовах півночі Рівненської області. Обговорюються особливості розмноження, фенологія гніздування, розташування гнізд і їхні розміри, розміри кладки, постембріональний розвиток пташенят, а також успішність гніздування.

*Ключові слова:* Рівненська область, дрізд співочий, гніздова біологія.

У межах України співочий дрізд (*Turdus philomelos*, C.L. Brehm, 1831) населяє переважно поліську та лісостепову природні зони, заходячи у степову зону по Причорноморській низовині, та фрагментарно гніздиться на півдні Кримського півострова [26]. Поширення, екологія та гніздова біологія *T. philomelos* в межах України вивчені достатньо повно, а саме в межах Західної України [1, 2, 4–6, 14–17, 25, 26], Східній Україні [5, 9, 26–28, 30], Центральній Україні [5, 11, 26,] та Північній Україні [5, 15, 26].

У той же час дуже мало робіт, присвячених вивченню гніздової біології дрозда співочого в межах природоохоронних територій Західної України [1, 31]. Фрагментарний характер мають дослідження постембріонального розвитку цього виду в регіоні та загалом в Україні [8, 14, 28]. Саме тому дослідження в цьому напрямі залишаються достатньо актуальними. Крім вивчення особливостей гніздової біології співочого дрозда в межах природоохоронних територій, такі дослідження сприятимуть накопиченню даних, які в подальшому можуть скласти основу для моніторингових досліджень природних популяцій цього виду.

### Матеріали та методи

Дослідження гніздової біології дрозда співочого ми проводили у квітні-липні 2012 року на територіях природно-заповідного фонду Рівненської області та суміжних територіях, а саме на території заповідного лісового урочища «Розвилка» (околиці м. Сарни), Рівненського природного заповідника («Білозерський» масив, масив «Переброди», масив «Сомине») та в околицях с. Яринівка Сарненського району Рівненської області. Територія дослідження має високий природоохоронний статус і характеризується низьким антропогенним тиском. Територія дослідження входить у зону мішаних лісів Українського Полісся в межах східної частини Західного Полісся.

Загалом досліджено 41 гніздо дрозда співочого, виміряно 88 яєць із 29 кладок. Лінійні вимірювання яєць і пташенят проводили з використанням штангенциркуля з точністю до 0,1 мм. Яйця та пташенят зважували на аптечних вагах з точністю до 0,01 г.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням як загальних, так і орнітологічних методик. З оологічних показників розраховували індекс заокругленості яйця –  $S_{ph} = V \cdot 100 / L$  та його об'єм –  $V = 0,5236 \cdot L \cdot B^2 / 1000$  [18]. Індекс подовженості розраховували за формулою  $W = L - 0,5 \cdot B / 0,5 \cdot L$  [18]. У наведених формулах; L – довжина

яйця;  $V$  – його максимальний діаметр; 0,5236 – константа. Успішність вилуплення пташенят (ефективність вилуплення) –  $n_p/n_e * 100$ , де  $n_p$  – кількість пташенят, які вилупилися,  $n_e$  – кількість яєць [35]. Успішність виведення –  $n_{p2}/n_{p1} * 100$ , де  $n_{p2}$  – кількість пташенят, які оперилися,  $n_{p1}$  – кількість пташенят, які вилупилися [34]. Характеристику типів лісорослинних умов (ТЛУ) взято за В. С. Погребняком [21].

### Результати і їхнє обговорення

**Статус.** Співочий дрізд у Західному Поліссі України представлений номінативним підвидом *T. ph. philomelos*. У межах цієї ділянки видового ареалу він є гніздовим, перелітним, зрідка зимує [24, 26].

**Фенологія гніздового періоду.** З'являється дрізд співочий на гніздуванні у другій декаді березня (19.03.2012 р. – урочище «Розвилка»). У першій декаді квітня самці займають гніздову територію й активно вокалізують. Повністю збудовані гнізда виявлені у другій декаді квітня (12.04.2012 р.). Першу кладку з 4 яйцями знайдено 16.04.2012 р. (урочище «Розвилка»). Пташенята починають вилуплюватись у кінці квітня, перші пташенята вилупились 29.04 (урочище «Розвилка»). Масове вилуплення пташенят припадає на першу (02–10.05) і третю (21–29.05) декаду травня. Останні пташенята вилупилися 02.07 (Білоозерський масив, Рівненський природний заповідник). Масовий виліт зльотків припадає на середину травня та середину червня. Після вильоту з гнізда молоді птахи, разом із дорослими, протягом двох тижнів тримаються біля гнізд.

**Місця гніздування (стації).** Дрізд співочий більше ніж інші види роду *Turdus* тягнє до природних деревостанів. Оселяється в різноманітних лісах (ялицевих, соснових, мішаних, листяних). Перевагу надає ялиновому підросту або узліссям із добре розвинутим підліском [25]. На території дослідження гнізда дрозда співочого виявлено у свіжому грабово-дубовому-сосновому сугрудку ( $n=23$ ), дещо менше в сирому чорновільховому сугрудку ( $n=15$ ) та в сирому дубово-сосновому суборі ( $n=3$ ). Гнізда зазвичай розміщені на узліссях з густим підліском. Так, 80,5% гнізд розташовані на узліссі, що переходить у відкритий простір (поле, луку), 9,8% гнізд – на межі лісових галявин і тільки 4,9% гнізд – у глибині лісу поблизу водойм (меліоративні канали та струмки).

**Розміщення гнізд.** Гнізда дрозда співочого на території дослідження ( $n=41$ ) виявлені на 10 дерево-чагарникових породах. Найбільшу частку гнізд дрозда співочого становили гнізда, розміщені на ялині європейській (*Picea abies*, *Dietr*) (36,5%), що збігається з даними щодо Західної України [1, 25, 31]. Дещо меншу частку становлять гнізда, розміщені на дубі звичайному (*Quercus robur*, *L*) (17,1%), сосні звичайній (*Pinus sylvestris*, *L*), грабові (*Carpinus betulus*, *L*), крушині ламкій (*Frangula alnus*, *Mill*) (по 9,8%) та незначну частку – інші породи дерев і чагарників (17%) (табл. 1). Аналіз даних щодо розміщення гнізд дрозда співочого на території України свідчить про неоднорідний характер їх розташування. Так, найбільша частка розміщених гнізд на підрості ялини європейської характерна для Західної України та Українського Полісся [1, 16, 17, 25, 31], дуб звичайний і сосна звичайна займають другорядне місце, що також збігається з даними щодо центральної та поліської зон Польщі [33, 36]. Натомість дані щодо Східної України [9, 29, 30] та Центральної України [11] свідчать про перевагу дуба звичайного при розміщенні гнізд дрозда співочого, а гнізда, розміщені на ялині європейській, становлять незначну частку, оскільки це дерево є екзотичним інтродуцентом на сході України і характерне для антропогенного ландшафту [30]. Таким чином, вид рослини, місце розташування гнізда і висота його розміщення над землею визначаються, з одного боку, умовами захищеності обраної ділянки та ступенем турбування птахів людьми і хижаками, а з іншої – структурою та віком насаджень, умовами маскуванню [30].

Таблиця 1

## Характер розміщення гнізд дрозда співочого зони мішаних лісів Західного Полісся

№	Порода дерева / чагарника	n	%	Висота розміщення гнізд
1	Ялина європейська ( <i>Picea abies</i> , Dietr)	15	36,5	1,5–2,7
2	Дуб звичайний ( <i>Quercus robur</i> , L)	7	17,1	0,4–4,0
3	Граб ( <i>Carpinus betulus</i> , L)	4	9,8	1,7–4,0
4	Сосна звичайна ( <i>Pinus sylvestris</i> , L)	4	9,8	1,0–3,0
5	Крушина ламка ( <i>Frangula alnus</i> , Mill)	4	9,8	1,7–3,0
6	Вільха чорна ( <i>Alnus glutinosa</i> , (L) Gaerth)	2	4,9	2,3–2,4
7	Яблуня ( <i>Malus sylvestris</i> , Mill)	2	4,9	1,4–2,8
8	Груша ( <i>Pyrus communis</i> , L)	1	2,4	1,9
9	Туя ( <i>Thuja sp.</i> , L)	1	2,4	1,8
10	Черемша звичайна ( <i>Prunus padus</i> , Mill)	1	2,4	3,8

**Характеристика гнізд.** За нашими даними, а також даними інших авторів [7, 19, 20, 23–25] форма гнізда дрозда співочого чашкоподібна, звичайно округла, але інколи буває сплюснута з двох боків або лише з одного, що залежить від місця його розташування. Для будівництва гнізда дрізд співочий використовує різноманітний гніздовий матеріал, а саме: порохно дерев, землю, мох сфагнум, лишайники, злаки та їхні корінці, гілки берези, сосни та кущів, соснову хвою, цвіт липи, листя, поліетилен. Нідологічні показники дрозда співочого наведені в табл. 1.

Таблиця 2

## Нідологічні параметри дрозда співочого зони мішаних лісів Західного Полісся

Показники, мм	n	lim	M±m	Cv %
Діаметр гнізда (D)	41	112–180	139,4±0,71	3,26±0,360
Висота гнізда (H)	41	80,5–192	106,82±0,87	5,21±0,577
Діаметр лотка (d)	41	62–117	92,72±0,55	3,80±0,420
Глибина лотка (h)	41	55–91,6	70,67±0,62	5,61±0,621

Як видно з наведених даних, найбільш мінливою є максимальна глибина лотка (5,61%), найменше варіює максимальний діаметр гнізда (3,26%), різниця статистично достовірна ( $t=3,27$ ;  $P<0,01$ ). Характерно, що висота гнізда більш варіабельна порівняно з максимальним діаметром гнізда ( $t=2,87$ ;  $P<0,01$ ), а максимальна глибина лотка більш варіабельна, ніж максимальний діаметр лотка ( $t=2,41$ ;  $P<0,05$ ). На думку Д.Н. Нанкинова [20], більша варіабельність висоти гнізда і глибини його лотка визначається саме типом розташування гнізда щодо опори. Якщо гнізда розміщені на прямих опорах, але не мають хорошого прикріплення до бокових гілок, то птахи роблять дуже широку основу і невисоке гніздо. І навпаки, коли гніздо прикріплене збоку, а опора знизу – птахи приносять багато матеріалу, чим збільшують розмір гнізда, його висоту.

**Розміри кладок.** Розмір повної кладки на території дослідження варіює від 3 до 5 яєць ( $M=4,0\pm 0,20$ ). Близькі дані для рівнинної частини Західної України наводять А.А. Бокотей [1], В.С. Талпош [20] та В.І. Шкаран [31]. Дещо більший розмір повної кладки в 4–6 яєць характерний для Східної України [28].

**Оологічні показники.** Морфологічні характеристики яєць співочого дрозда наведені в табл. 3.

Як свідчать отримані результати (табл. 3), за діаметром, об'ємом та індексом заокругленості яйця практично не відрізняються від яєць цього ж виду з інших територій Західної України [25]. У той же час, за середньою довжиною яйця співочого дрозда з території дослідження достовірно менші порівняно з даними, отриманими з інших регіонів, зокрема з Карпат і Поділля [25]. Однак ці дані не дають підстави робити висновок про географічну мінливість довжини яєць у співочого дрозда, тому що, за даними В.С. Талпоша [25], ще більше відрізняються яйця, досліджені в популяції з околиць с. Ренів у 1971 та 1976 роках.

Таблиця 3

Статистичні характеристики оологічних показників співочого дрозда зони мішаних лісів Західного Українського Полісся (n=82)

Параметри яйця	Min-max	M±m	CV%
Довжина яйця, мм	21,0–29,9	27,13±0,22	7,34
Середній діаметр яйця, мм	19,2–21,1	20,33±0,46	20,49
Об'єм яйця, мл	5,13–7,04	5,89±0,45	69,18
Індекс заокругленості	69,55–91,09	75,14±0,80	9,64
Індекс подовженості	1,1–1,3	1,20±0,05	37,73

Таблиця 4

Результати порівняння оологічних показників кладок співочого дрозда зони мішаних лісів Західного Українського Полісся з іншими регіонами Західної України (t-Ст'юдента)

Параметри яйця	Карпати [25]	Поділля,		
		м. Кременець [25]	с. Ренів, 1971 [25]	с. Ренів, 1976 [25]
L, мм	-2,51*	-3,66**	-4,79***	-0,15
B, мм	-0,58	-0,75	-1,64	-0,26
V, мл	-0,68	-0,90	-1,66	-0,13
Sph	1,06	1,54	0,91	-0,23

**Примітка.** Рівні статистичної достовірності \* (P<0,05); \*\* (P<0,01); \*\*\* (P<0,001).

Результати порівняння свідчать про те, що яйця в кладках обстежених, на околицях с. Ренів у 1971 р., мають достовірно більшу довжину (t=5,05; P<0,001), середній діаметр (t=5,66; P<0,001) і об'єм (t=7,42; P<0,001), порівняно з яйцями, зібраними в цьому ж місті у 1976 р. Практично незмінним залишається індекс заокругленості яйця (t=1,61; P>0,05). Можна припустити, що в популяції з околиць с. Ренів у 1971 р. чисельно переважали птахи старшого віку, яйця яких крупніші, порівняно з яйцями молодих птахів. Близькі результати відомі і для інших видів птахів [10].

За даними В. С. Талпоша [25], параметри яєць співочого дрозда залежать від часу їх відкладання, рангу яєць і їхньої кількості в повних кладках. Також відомі дані щодо Східної України за А. Б. Чаплигіною [28], встановлено, що розміри яєць збільшуються в 4–6-яйцевих кладках за рахунок достовірного збільшення їх діаметра від початку до кінця періоду розмноження. За нашими даними, розміри яєць і їхня форма не залежать від розміру кладки (r=0,012–0,05).

**Постембріональний розвиток пташенят** у дрозда співочого триває 12–14 діб. Вилуплення пташенят відбувається протягом однієї доби, але може тривати протягом двох і навіть трьох діб, що спостерігається і в інших частинах гніздового ареалу [13, 25]. За нашими даними, 18,0% (n=68) становлять пташенята, які вилупились у першу добу, 11,5% (n=9) – у другу добу та 1,3% (n=1) – у третю добу.

Результати проведеного дослідження вказують на те, що приріст лінійних показників і ваги відбувається за S-подібною логістичною кривою (рис. 1). До 8–9 доби відбувається поступове збільшення ваги тіла та приріст лінійних розмірів. Натомість з 9 по 12 добу у пташенят різко скорочуються приріст ваги та лінійних розмірів тіла (критичний за А.С. Родимцевим [22]), що пов'язано з ростом оперення. Розвиток контурного пір'я у дрозда співочого (8–9 доба) різко знижує темпи приросту пташенят [14]. Усе це потребує енергетичних затрат, тому на цей час уповільнюється лінійний ріст тіла. На 9–10 добу пташенята вже практично оперені та можуть покинути гніздо. На 11 добу пташенята дрозда співочого досягають найвищих значень приросту, а на 12–14 добу приріст падає, оскільки лінійні параметри наближаються до максимальних значень.

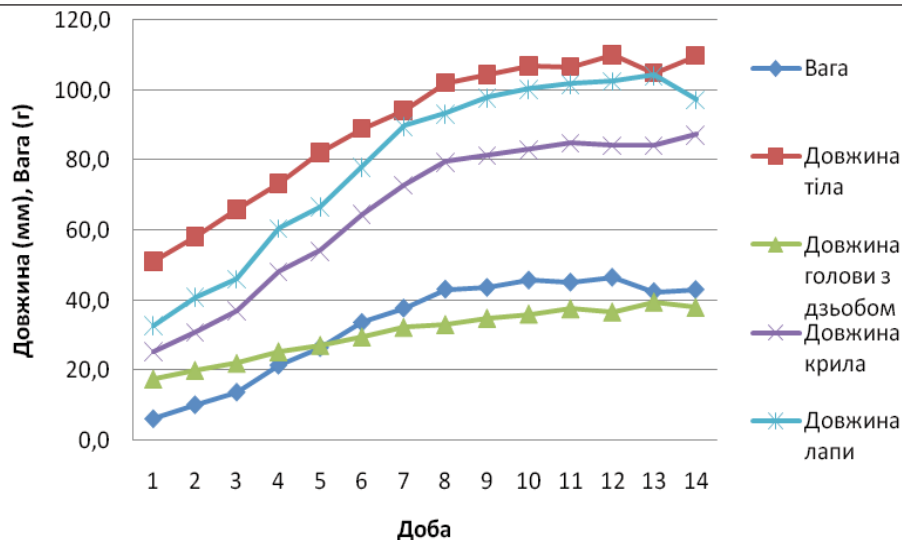


Рис. 1. Приріст ваги та лінійних ознак у пташенят дрозда співочого в постембріональний період.

Більшість пташенят – 55 особин (70,5%) покинули гнізда на 10–12 добу, що пов'язано з фактором турбування, і незначна частка – 23 особини (29,5%) затрималася до 13–14 доби. Це переважно пташенята, які мали затримку в рості, а також ті, що вилупилися пізніше (на другу-третю добу) і повністю не оперилися до моменту вильоту з гнізда. Повноцінно зльотки стають на крило лише на 16–18 добу, а до того вони перебувають у трав'яному ярусі, часто біля покинутих гнізд, де їх активно підготовують батьки.

**Успішність і продуктивність виведення пташенят.** Успішність гніздування дрозда співочого в умовах зони мішаних лісів Західного Українського Полісся є високою. Встановлено, що успішність вилуплення пташенят дрозда співочого (ефективність інкубації) становить 95,1%, що відрізняється від інших територій: Західної України – 42,1% [25] та Східної Європи – 59,5% [4]. Успішність гніздування становить 84,2% (n=78), що практично збігається з даними Пікула [4] – 89,65%. Відхід пташенят за час їх перебування у гнізді становить 15,4% (n=12), що є нижчим за показник у 26,0%, який наводить В. С. Талпош [25]. 78 пташенят, які вилупилися, успішно залишили гнізда 84,6% (n=66). Основна причина загибелі пташенят дрозда співочого в досліджуваному регіоні – це розорення гнізд такими хижаками як куниця (*Martes sp.*) та сойка (*Garrulus glandarius*) – 67,0% (n=8), а також вплив несприятливих погодних умов (сильна злива) – 33,0% (n=4). Продуктивність розмноження є досить високою і становить 3,9 пташенят, що вилупились, та 3,3 пташенят, які вилетіли з гнізда при умові, що середній розмір кладки становить 4 яйця.

Встановлено, що в зоні мішаних лісів Західного Українського Полісся дрізд співочий будує гнізда переважно поблизу узлісь у старих і середньовікових мішаних лісах із густим підростом ялини європейської та крушини ламкої.

Гнізда розміщені на 10 породах дерев і кущів, найбільше на ялині європейській (*Picea abies*) – 36,5% (n 15) та дубі звичайному (*Quercus robur*) – 17,07% (n = 7). Висота розміщення гнізд коливається в межах 0,3–4,0 м. До складу будівельних матеріалів гнізда входить 12 компонентів.

Доведено, що оологічні параметри дрозда співочого на території дослідження практично не відрізняються від таких цього ж виду з інших територій Західної України.

Низький антропогенний тиск і значний природоохоронний режим території дослідження сприяє високій успішності (84,61%) та продуктивності (3,3 пташенят / пару, що вилетіли з гнізда) гніздування дрозда співочого.

Автор висловлює подяку Журавчаку Ростиславу Орестовичу, Добринському Олександровичу за допомогу в організації досліджень, Пескову Володимирі Миколайовичу за методичну допомогу та наукову підтримку.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бокотей А. А. К биологии певчего дрозда на Западной Украине // Материалы 10-й Всесоюз. орнит. конф. Минск: Наука и техника, 1991. С. 67–68.
2. Владышевский Д. В., Марисова И. В. Устройство гнезд представителями рода *Turdus* в разных экологических условиях // Тез. доп. конф. по вивченню флори та фауни Карпат і прилеглих територій. (Київ, 1960). С. 242–245.
3. Головань В. И. Продуктивность и успешность размножения трех видов дроздов рода *Turdus* на юго-западе Псковской области // Рус. орнит. журнал. 2006. Т. 15. Экспресс-выпуск № 313. С. 255–263.
4. Горбань І. М. Різноманіття птахів пасовищних екосистем // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 37. С. 169–175.
5. Горобець Л. В. Розповсюдження птахів роду *Turdus* на гніздуванні в Україні // Сучасні проблеми зоологічної науки: матеріали Всеукр. наук. конф. К., 2004. С. 31–33.
6. Гузій А. І. Просторово-типологічна організація населення птахів лісостанів західного регіону України. Житомир: Волинь, 2006. 448 с.
7. Дементьев Г. П., Гладков Н. А. Птицы Советского Союза. М.: Советская наука, 1954. Т. 6. С. 429–433.
8. Денисова М. Н., Подураева В. И., Давыдова А. С., Артаманова З. В. Скорость роста дроздовых на разных участках ареала // Тез. докл. 1-го съезда Всес. орнит. общ. IX Всес. орнит. конф. (Л., 1986). С. 193–195.
9. Животков А. А. К экологии гнездования певчего и черного дроздов в долине Северского Донца // Изучение и охрана птиц бассейна Северского Донца: материалы конф. Донецк, 1993. С. 81–83.
10. Кныш Н. П. Биологические особенности сорокопута-жулана как фонового вида лесостепной полосы УССР: автореф. дис. ... канд. биол. наук. К., 1987. 15 с.
11. Коцюбура В. В., Кротовская Т. С. Некоторые особенности гнездовой биологии певчего и черного дроздов в лесничествах Степной зоны Украины // Материалы II конф. молодых орнитологов Украины. Чернівці, 1996. С. 90–91.
12. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293 с.
13. Мальчевский А. С. Гнездовая жизнь певчих птиц. Размножение и постэмбриональное развитие лесных воробьиных птиц Европейской части СССР. Л., 1959. 281 с.
14. Марисова И. В. О постэмбриональном развитии певчего и черного дрозда // Орнитология. 1968. В. 8. С. 372–373.
15. Марисова И. В. Фенология миграции дроздов рода *Turdus* на Черниговщине // Нежин. 1987. С. 1–6.
16. Марисова И. В. Хозяйственное значение, биология и распространение дроздовых УССР: автореф. дис. ... канд. биол. наук. К., 1955. 11 с.
17. Марисова І. В. Матеріали до вивчення живлення та практичного значення дроздових України // Вивчення природних ресурсів Поділля: матеріали конф. Тернопіль, 1963. С. 152–157.
18. Мяндр Р. Внутрипопуляционная изменчивость птичьих яиц. Таллин, 1988. 195 с.



19. Никифоров Н. Е., Яминский Б. В., Шкляров Л. К. Птицы Белоруссии. Минск: Вышэйшая школа, 1989. С. 383–384.
20. Нанкинов Д. Н. Исследование по экологии гнездования певчего дрозда *Turdus philomelos*, Brehm // Larus. 1977. В. XXIX–XXX. С. 159–170.
21. Погребняк П. С. Основы лесной типологии. К.: Изд-во АН УССР, 2-е изд., испр. и доп., 1955. 456 с.
22. Родимцев А. С. Этапность и критические периоды раннего онтогенеза птенцовых птиц // Орнитологические исследования в Северной Евразии: тезисы междунар. орнитол. конф. (Ставрополь, 2006). С. 438–439.
23. Рябицев В. К. Птицы Урала, Предуралья и Западной Сибири. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2001. С. 509.
24. Степанян Л. С. Конспект орнитологической фауны СССР. М.: Наука, 1990. 332 с.
25. Талнош В. С. Співочий дрізд на Західній Україні // Беркут. 1999. Т. 8. Вип. 1. С. 78–88.
26. Фесенко Г. В., Бокотей А. А. Птахи фауни України: польовий визначник. К.: ТОВ «Новий друк», 2002. 416 с.
27. Чаплыгина А. Б., Кривицкий И. А., Фурсова Н. Л., Зиоменко С. К. Влияние экологической структуры биогеоценозов на характер гнездования певчего дрозда // Материалы юбилейной конф., посвященной 80-летию основания исследования на Северо-Донецкой станции Гайдары Научные. Харьков, 1995. С. 64–66.
28. Чаплыгина А. Б. Изменчивость оологических параметров у певчего дрозда как показатель условий гнездования // Актуальные проблемы оологии: Материалы II Междунар. конф. стран СНГ. Липецк, 1998. С. 44–47.
29. Чаплыгина А. Б. Отражение действия антропогенного пресса на успешность размножения птиц рода *Turdus* в трансформированных ландшафтах // Екологічний стрес і адаптація в біологічних системах: матеріали I Міжнар. конф. Тернопіль, 1998. С. 37–39.
30. Чаплыгина А. Б. Особливості розташування гнізд дроздів роду *Turdus* у трансформованих ландшафтах північно-східної України // Беркут. 2009. Т. 18. Вип. 1–2. С. 135–142.
31. Шкаран В. І. Особливості гніздової біології дроздів чорного і співочого на території Західного Полісся // Стан і біорізноманіття Шацького національного парку: матеріали наук. конф. Львів, 2010. С. 111–114.
32. Шмальгаузен И. И. Рост и общие размеры тела в связи с их биологическим значением: Рост животных. М.: Биомедгиз, 1935. С. 61–73.
33. Dyrce A. Ecology of the song-thrush (*Turdus philomelos*) and blackbird (*Turdus merula*) during the breeding season in an area of their occurrence // Ekologia Polska – seria A. 1969. T. XVII. N 39. P. 735–793.
34. Olborska P. Breeding biology of the Great Grey Shrike (*Lanius excubitor*) an analysis of nest record cards // Biological Lett. 2004. Vol. 41. N 2. P. 147–154.
35. Olson V. The effects of habitat change on the distribution and population trends of the Great Grey Shrike and Red-backed Shrike in Sweden // Proc. West. Found. Vert. Zool. 1995. Vol. 6. N 1. P. 108–111.
36. Wesołowski T., Crapulak A. Biologia rozrodu kosa (*Turdus merula*) I drozda spivaka (*Turdus philomelos*) w Polsce – wstępna analiza kart gniazdowych // Notatki Ornitologiczne. 1986. T. 27. Zeszyt 1–2. P. 32–60.

Стаття: надійшла до редакції 26.02.13

доопрацьована 04.04.13

прийнята до друку 05.04.13

**TO BREEDING BIOLOGY OF SONG THRUSH (*TURDUS PHILOMELOS* C. L. BREHM, 1831) ON PROTECTED AREAS WESTERN UKRAINIAN POLISSYA**

**M. Franchuk**

*Nature Reserve "Rivnenskyi"  
Tract «Rozvylka», Sarny 34503, Ukraine  
e-mail: misha-ek@mail.ru*

The article highlights the nesting of biology song thrush (*Turdus philomelos*) in the north of Rivne region. The peculiarities of reproduction, nesting phenology, nest location and size, the clutch size, postembryonic development and success of nesting are discussed.

*Keywords:* Rivne region, song thrush, nest biology.

**К ГНЕЗДОВОЙ БИОЛОГИИ ПЕВЧЕГО ДРОЗДА (*TURDUS PHILOMELOS* C. L. BREHM, 1831) НА ПРИРОДООХРАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ЗАПАДНОГО УКРАИНСКОГО ПОЛЕСЬЯ**

**М. Франчук**

*Ривненский природный заповедник  
Урочище «Развилка», Сарны 34503, Украина  
e-mail: misha-ek@mail.ru*

В статье освещены гнездовая биология дрозда певчего (*Turdus philomelos*) в условиях севера Ривненской области. Обсуждаются особенности размножения, фенология гнездования, расположение гнезд и их размеры, размеры кладки, постэмбриональное развитие и успешность гнездования.

*Ключевые слова:* Ривненская область, дрозд певчий, гнездовая биология.

МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 636.598.619: 616

**КОНТРОЛЬ МІКОТОКСИНІВ У КОРМАХ І ЇХ ЗНЕШКОДЖЕННЯ**

**О. Брезвин<sup>1</sup>, В. Отчич<sup>2</sup>, І. Коцюмбас<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, Львів 79019, Україна  
e-mail: brezvun@gmail.com

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: viraotchych@gmail.com

У статті проаналізовано результати мікотоксикологічних досліджень кормів за 5 років (2008–2012), які виявили, що 35–45% зернових кормів були уражені потенційно небезпечними мікроскопічними грибами родів *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Rhizopus* Ehrenb., *Mucor* Fresen., *Aspergillus* P. Micheli ex Link та *Penicillium* Link. Найпоширеніші методи дезінтоксикації мікотоксинів у тваринництві засновані на використанні з ураженим кормом сорбентів. Вивчено *in vitro* рівень сорбуючої здатності сорбентів щодо різних мікотоксинів. Встановлено, що ефективний сорбент має бути комплексний, здатний нейтралізувати комбінацію різних мікотоксинів, а найважливішим критерієм його оцінки є безпечність для тварин.

*Ключові слова:* мікотоксикологічні дослідження, мікроскопічні гриби, мікотоксини, кормова сировина, сорбенти.

Сучасне законодавство України та Європейського Союзу піднімає рівень вимог щодо якості й безпечності кормів і кормової сировини. Одне із чільних місць у комплексі контролю санітарної безпеки кормів і діагностики отруєнь тварин займає фізико-хімічний аналіз, у тому числі методи визначення мікотоксинів у кормах.

Літературні дані свідчать, що проблема поширення мікотоксинів у світі, їх негативний вплив на якість кормів і розробка ефективної системи боротьби з мікотоксикозами є надзвичайно актуальною та не вирішеною і досі. Успіх боротьби з мікотоксикозами на практиці багато в чому залежить від своєчасного системного дослідження кормової сировини. Саме тому вирішення проблем розробки сучасних експрес-методів дослідження кормів, інформованість про рівень вмісту мікотоксинів у кормах допоможе прийняти рішення про подальше використання корму та доцільність застосування різних засобів дезінтоксикації [6].

Оскільки повністю виключити утворення цих токсичних сполук у кормовій продукції неможливо, то для їх регламентування встановлюють максимально допустимі рівні. Основою цієї системи є гігієнічне нормування, покликане запобігти реалізації продукції, небезпечної для здоров'я людей і тварин. Гігієнічні нормативи мають не тільки санітарне значення, а й відіграють важливу роль у міжнародній торгівлі. У зв'язку з цим виникає потреба гармонізації вітчизняного законодавства в галузі гігієнічного нормування з аналогічними міжнародними правовими актами, в першу чергу, з актами Європейського Союзу [9].

Найменш дослідженою, але доволі розповсюдженою групою небезпечних мікотоксинів є фумонізени.

Фумонізини – токсичні продукти життєдіяльності грибів роду *Fusarium* Link [3]. Уперше виділені в 1988 р., на сьогодні відомо понад 28 аналогів, їх розділяють на чотири групи: А, В, С, D, з яких найтоксичнішою є група В. Ці токсини впливають на синтез ліпідів у нервових клітинах. Токсичність фумонізинів заснована на структурній подібності зі сфінгоосновами сфінгозином і сфінганіном. Вони є інгібіторами ключового фермента в ліпідному метаболізмі, викликають апоптоз у клітині, а також володіють мутагенними та канцерогенними властивостями. При цьому національні максимально допустимі рівні (МДР) для цих токсинів не встановлені [8].

Метою наших досліджень було вивчити розповсюдженість мікроміцетів у зерновій сировині та кормах західного регіону України й охарактеризувати фізико-хімічні властивості сорбентів щодо різних мікотоксинів.

#### Матеріали та методи

Експериментальні роботи виконувалися згідно з методичними рекомендаціями «Токсикологічний контроль кормів і кормових добавок», затвердженими Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України (1997) та згідно з методиками, викладеними у монографії «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (2006) [11, 5]. Мікологічні дослідження кормів проводили згідно з методичними вказівками «Санітарно-мікологічна оцінка та поліпшення якості кормів», затвердженими Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України № 15-14/73 від 6 березня 1998 р. [1, 7].

У роботі використовували мікотоксини патулін, афлатоксин, фумонізини, зеараленон, ДОН та Т-2 токсин, отримані від фірми Sigma, США. В експериментах для моделювання Т-2 токсикозу застосовували кристалічний Т-2 токсин, отриманий у лабораторії мікотоксикології Інституту птахівництва НААН України з культури гриба *Fusarium sporotrichioides* Sherb. [10, 11].

Кормову сировину для моніторингу відбирали в господарствах Львівської, Рівненської, Волинської, Тернопільської, Чернівецької та Івано-Франківської областей.

Для інструментальних методів досліджень використовували систему ВЕРХ, імуноафінні колонки Fumoniprep® USING HPLC (R-Biopharm, Німеччина); ТШХ проводили на пластинках «Merck» [5].

Вивчення сорбційної здатності [2] сорбентів різних груп *in vitro* здійснювали на препаратах вітчизняного виробництва (альфасорб, кормосан, вугілля активоване) та іноземного (чек-о-токс, клінофід, bagacid, toxidex-premix, екосорб). Початкову кількість сорбенту брали відповідно до рекомендованої виробником дози та змішували її з максимально допустимою дозою мікотоксинів, а саме: афлатоксину В<sub>1</sub> (0,1 мг); патуліну (0,5 мг); стеригматоцистину (0,6 мг); Т-2 токсину (0,2 мг); зеараленону (3 мг) та ДОНу (1 мг) при постійному перемішуванні за температури 37°C. При цьому враховували термін перебування корму в шлунку і значення рН середовища. Після цього методом декантації відокремлювали надосадову рідину і визначали величину сорбції – загальну кількість токсинів, сорбованих за час перебування корму в шлунку, що дорівнювала різниці між кількістю токсину у вихідній пробі корму та кількістю токсину в надосадовій рідині, відокремленою після інкубації в кислому середовищі. В подальшому до осаду додавали рідину, що імітувала сік кишечника (буфер PBS з рН=7,4). При цьому, постійно помішуючи за температури 37°C (моделювали час перебування корму в кишечнику і значення рН середовища), надосадову рідину досліджували на вміст мікотоксинів методом ТШХ та ІФА.

**Результати і їхнє обговорення**

Проведений моніторинг охопив незначну частку всього виробітку кормової сировини, але яскраво продемонстрував нагальність і актуальність проблеми.

У процесі мікотоксикологічного контролю протягом 2008–2012 рр. було досліджено 1730 зразків кормів (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість досліджуваних зразків кормів упродовж 2008–2012 років у західному регіоні України, n

Корми	Роки				
	2008	2009	2010	2011	2012
Комбікорм	58	78	83	75	60
Висівки	18	21	31	36	28
Кукурудза	24	40	38	53	44
Пшениця	42	38	58	47	86
Ячмінь	28	41	34	39	53
Тритикале	–	3	–	–	3
Глютен кукурудзяний	2	5	–	2	6
Шрот соєвий	32	28	41	36	56
Макуха соняшникова	37	14	18	24	42
Усього зразків (1730)	241	265	293	312	378
Виявлено токсини (418)	62	103	91	84	78

Систематизація отриманих результатів показала, що понад 35–45% зернових кормів були уражені потенційно небезпечними мікроскопічними грибами (рис. 1).

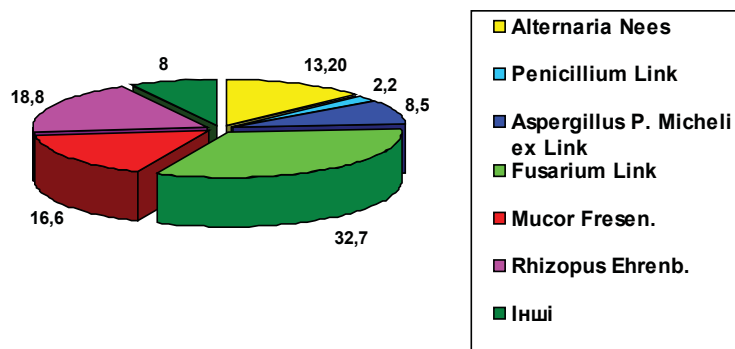


Рис. 1. Основні представники мікобіоти досліджуваних зразків кормів.

Мікобіота кормів, в основному, була представлена мікроміцетами таких родин: *Alternaria Nees* – 13,2%; *Rhizopus Ehrenb.* – 18,8%; *Mucor Fresen.* – 16,6%; *Aspergillus P. Micheli ex Link* – 14,5%; *Penicillium Link* – 4,2%; *Fusarium Link* – 32,7%. Зернова група кормів і комбікорми значною мірою контаміновані фузаріями, а в першу чергу *F. moniliforme* J. Sheld. або його підвидами. Із 271 зразка фуражного зерна 84 були уражені грибами роду *Aspergillus*: *A. fumigatus* Fresen. 42 – зразки виявилися слаботоксичні, 22 – нетоксичні, *A. flavus* Link 26 – токсичні. Потенційно небезпечними були зерновідходи, які склалися зі щуплого, битого і травмованого шкідниками зерна. При зберіганні таких кормів за певних умов (температура, вологість) відбуваються розвиток і розмноження різних видів мікроміцетів, серед яких значна кількість має здатність продукувати мікотоксини.

Основну небезпеку для тваринництва становлять гриби, які є продуцентами мікотоксинів. У комплекс санітарно-мікологічного контролю кормів, крім мікологічних досліджень, входять і фізико-хімічні дослідження з метою виявлення продуктів

життєдіяльності плісневих грибів-мікотоксинів. У складі контамінантів найчастіше були виявлені фузаріотоксини Т-2, ДОН, зеараленон, фумонізини, а також охратоксини й афлатоксини (табл. 2).

Таблиця 2

Частота виявлення мікотоксинів у відібраних зразках кормів  
за період 2008–2012 рр., %

Мікотоксини	Роки				
	2008	2009	2010	2011	2012
ДОН	6	26	27	14	23
Т-2 токсин	25	28	14	15	8
Фумонізини	13	26	27	34	28
Зеараленон	14	13	17	14	15
Афлатоксин	0	5	0	2	0
Охратоксин	4	5	6	5	4

Протягом періоду дослідження ДОН був виявлений у зразках комбікормів (45%) та в зерні кукурудзи і пшениці (34 та 28%). Середня частота виявлення зеараленону становила 51%. Протягом 5 років моніторингу середньорічна концентрація варіювала в межах 34–88%, проте жодих закономірностей за даний період часу у зміні цього показника встановити не вдалося. Середня концентрація зеараленону в кормах становила 14,6 мкг/кг.

Рівень забруднення досліджуваних зразків, що містили фумонізини, де концентрація їх була вищою, ніж решти мікотоксинів, був значним. Частота виявлення фумонізинів у 2008, 2009 і 2010 роках у середньому становила 71,8%, порівняно з іншими мікотоксинами. Понад 25% зразків містили фумонізини  $700 \pm 131$  мкг/кг і більше. Максимальна концентрація фумонізинів була зареєстрована в 2011 р. у кукурудзі 830 мкг/кг, а у комбікормі понад 600 мкг/кг, середня концентрація в зерні пшениці, ячменю, висівках, соняшниковому та соєвому шроті становила від 33 до 131 мкг/кг. В інші роки ці показники були приблизно на порядок нижчі.

Вміст Т-2 токсину у 34 досліджуваних зразках перевищував максимально допустимий рівень, але протягом останніх років спостережень відзначена виражена тенденція до зниження як середніх значень концентрації, так і частоти виявлення його в зерні та кормах.

За весь період дослідження охратоксин і афлатоксин становив лише 6,4%. Забрудненість цими токсинами була слабо виражена, середні рівні контамінації по вибірках становили, відповідно, 57,9 і 6,4 мкг/кг.

На основі аналізу літературних джерел щодо токсичності фумонізинів і проведених власних досліджень щодо їх розповсюдженості було обґрунтовано та затверджено національні МДР у комбікормах і кормосумішах для тварин (0,005 мкг/кг) та у комбікормах для риби (0,01 мкг/кг) при вологості корму 12% (Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України № 131 від 19. 03. 2012 р. «Про затвердження Переліку максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин». Зареєстрований в Міністерстві юстиції України 05 квітня 2012 року за № 503/20816).

Проведені дослідження підтвердили необхідність мікотоксикологічного контролю кормів у промисловому тваринництві. Серед великого асортименту кормової сировини варто відзначити пріоритетні об'єкти мікотоксикологічного контролю. У першу чергу – це зернові культури та продукти їх переробки. Аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок, що популяція мікроскопічних грибів зернової сировини тваринницьких господарств західного регіону України представлена, в основному, грибами родів *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Rhizopus* Ehrenb., *Mucor* Fresen., *Aspergillus* P.Micheli ex Link та *Penicillium*

Link. Зрозуміло, що ідеальних умов зберігання для таких кормів не створити, і певна їхня частина виявиться чудовим субстратом для проростання спор та утворення мікотоксинів. Оскільки корми, що використовуються для годівлі тварин і птиці, уражені токсичними видами грибів та контаміновані мікотоксинами (а саме зеараленоном, ДОН, фумонізинами та Т-2 токсином) і в окремих випадках їхні кількості перевищують максимально допустимі рівні, то ситуація у регіоні стосовно розповсюдження мікотоксинів є дуже складною.

Поряд із висвітленням питань контролю мікотоксинів не менш важливим є питання профілактики та лікування мікотоксикозів тварин. Арсенал антитоксичних засобів невеликий. Застосування сорбентів у цьому випадку є одним з ефективних підходів до вирішення проблеми [1].

Аналіз ринку поширення та різноманіття дезінтоксикуючих засобів показав, що їх умовно можна розподілити на три групи: неорганічні, органічні й комбіновані. Структура активно діючих компонентів, що входять у склад дезінтоксикантів, наведена на рис. 2.

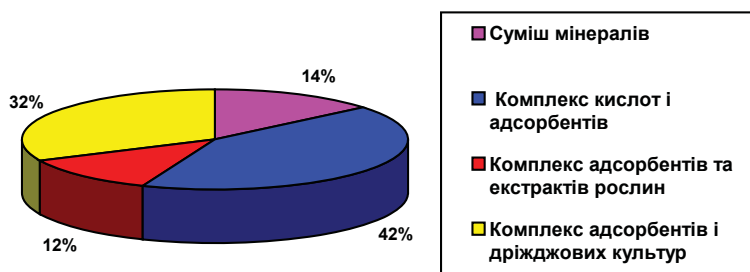


Рис. 2. Кількість сорбентів мікотоксинів залежно від складу активно діючих компонентів.

Як видно з рис. 2, на сьогоднішній день майже половину (42%) зареєстрованих сорбентів становлять дезінтоксиканти на основі органічних кислот. На другому місці 32% – комплекс мінеральних сорбентів і дріжджових культур. Незначну частку становлять суміші та комплекси мінералів і екстрактів із рослин – 14 і 12% відповідно.

Хоча всі сорбенти, так чи інакше, є пасивними поглиначами мікотоксинів, ефективність їхньої дії на сьогодні залишається предметом гострих наукових дискусій. Ефективність сорбентів стосовно різних мікотоксинів наведена у табл. 3.

Таблиця 3

Ефективність сорбентів стосовно різних мікотоксинів, %						
Назва сорбенту	Афлатоксин В <sub>1</sub>	Пагулін	Стеригма-тоцистин	Зеараленон	Т-2 токсин	ДОН
Альфасорб	100	100	75	100	55	40
Чек-о-токс	100	100	60	50	35	32
Клінофід	100	100	60	55	45	100
Varacid	100	100	45	100	35	30
Toxidex-premix	35	40	100	45	40	15
Кормосан	100	100	100	100	30	30
Екосорб	100	100	100	45	45	100
Вугілля активоване	100	100	100	35	50	40

Так, при вивченні у модельних дослідах *in vitro* сорбційної активності найбільш поширених сорбентів вітчизняного й іноземного виробництва було встановлено час, необхідний для сорбції, та їхню ефективність. Визначаючи термін сорбції, встановили, що через 30 хв після внесення сорбента до токсину, ефективність сорбції була однаковою через 1, 12 і 24 години від початку дослідження. Проведені нами дослідження свідчать,

що сорбуючі засоби в концентраціях, які мали би вводити виробники в корми при мікотоксикозах, не здатні зменшити рівень більшості мікотоксинів. Низька сорбційна здатність Т-2 токсину, порівняно з іншими мікотоксинами, повністю пояснюється його структурними особливостями. Зеараленон має здатність до утворення комплексів із низкою катіонів металів: алюмінію, заліза, міді та перехідних металів. Хоча точний склад кормових сумішей сорбентів невідомий, але алюміній у окремих досліджених сорбентах був наявний (алюмосилікати, бентоніти тощо). Іноді виявляли мідь і залізо, а це свідчить про необоротну сорбцію афлатоксину В<sub>1</sub>, зеараленону, патуліну, що може бути пов'язана з комплексоутворенням.

У подальших дослідженнях запропоновані дози сорбентів ми вирішили збільшити удвічі. Сорбційний ефект досліджень наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Ефективність подвоєної дози сорбентів стосовно різних мікотоксинів, %

Назва сорбента	Афлатоксин В <sub>1</sub>	Патулін	Стеригма-тоцистин	Зеара-ленон	Т-2 токсин	ДОН
Альфасорб	100	100	80	100	90	72
Чек-о-токс	100	100	70	65	75	60
Клінофід	100	100	75	70	80	100
Вагасід	100	100	70	100	50	45
Toxidex-premix	55	60	100	63	100	25
Кормосан	100	100	100	100	80	50
Екосорб	100	100	100	75	70	100
Вугілля активоване	100	100	100	55	80	70

У цьому випадку відбувалось істотне зниження не тільки афлатоксину, патуліну, а й зеараленону, ДОН і Т-2 токсину. Як видно з табл. 4, експерименти *in vitro* показали, що всі досліджувані сорбенти при збільшенні їхньої дози покращували свою сорбуючу дію приблизно в 1,5–2 рази.

Як маркер детоксикаційної дії сорбентів було взято вугілля активоване, яке мало високу сорбуючу здатність до Т-2 токсину, – 80%. Проведені дослідження показали, що найскладніше сорбувати Т-2 токсин і тільки Toxidex-premix виявив 100% сорбцію його в рекомендованій виробником дозі. Необхідно відзначити, що вітчизняний сорбент альфасорб сорбував 5 мікотоксинів і показав високий результат при сорбції Т-2 токсину (90%). Задовільний результат виявлений і при використанні кормосану (сорбція Т-2 токсину – 80%) й екосорбу (сорбція Т-2 токсину – 70%).

Отже, ефективний сорбент має бути комплексний, здатний нейтралізувати комбінацію мікотоксинів з абсолютно різними хімічними властивостями, молекулярними структурами та полярністю.

Оскільки сорбенти можуть бути причиною механічного пошкодження епітелію кишечника, то важливим критерієм при їх вивченні є безпечність для тварин. Процеси розробки цих засобів мають включати такі етапи: дослідження адсорбційної активності щодо мікотоксинів і поживних речовин *in vitro*; вивчення їх профілактичного ефекту при введенні в корм певного мікотоксину в різних концентраціях; вивчення профілактичних властивостей при згодовуванні тваринам корму, природно контамінованого мікотоксинами.

Проведені дослідження кормової сировини та кормів у промисловому тваринництві відзначили пріоритетні об'єкти мікотоксикологічного контролю, в першу чергу це зернові культури та продукти їх переробки.

Проведені дослідження *in vitro* показують, що Т-2 токсин найменше піддається сорбуванню і тільки Toxidex-premix (Польща) виявляє 100% сорбцію цього токсину в подвоєній дозі. Вітчизняні сорбенти засвідчили високий результат сорбції Т-2 токсину:



альфасорб – 90%, кормосан – 80% і екосорб – 70%. Ефективний сорбент має бути комплексним, здатним нейтралізувати комбінацію різних мікотоксинів, а найважливішим критерієм при їх вивченні є безпечність для тварин.

Отже, проведення постійного мікотоксикологічного контролю якості кормів і застосування адсорбентів вітчизняних виробників з урахуванням складу активно діючих компонентів дасть змогу значно покращити економічні показники у тваринництві.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначник грибів України / С. Ф. Морочковський, М. Я. Зерова, З. Г. Лавітська, М. Ф. Сміцька / за ред. Д. К. Зерова. К.: Наук. думка, 1969. Т. 2. 516 с.
2. Використання та оцінка кормових добавок, сорбентів при мікотоксикозах: методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас, А. Ф. Ображей, О. М. Брезвин, О. М. Васянович та ін. Львів, 2011. 29 с.
3. *Гарибова Л. В., Лекомцева С. Н.* Основы микологии: Морфология и систематика грибоподобных организмов. М.: Т-во науч. изданий КМК, 2005. 280 с.
4. *Коцюмбас І. Я., Брезвин О. М., Кушнір Р. О.* Використання сорбентів у практиці ветеринарної медицини // Наук.-тех. бюлетень Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. 2009. Вип. 10. № 4. С. 584–588.
5. *Коцюмбас І. Я., Малик О. Г., Патерега І. П.* Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. Львів: Тріада плюс, 2006. 365 с.
6. *Малинин О. А., Хмельницький Г. А., Куцан А. Т.* Ветеринарная токсикология. Корсунь-Шевченковский: ЧП Майдаченко, 2002. 464 с.
7. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів / А. Ф. Ображей, Л. І. Погребняк, О. Ф. Корзуненко: метод. вказівки, затверджені Держ. департаментом вет. медицини Міністерства АПК України № 15-14/73 від 06 березня 1998 р. Київ, 1998. 107 с.
8. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика) / Иванов А. В., Тремасов М. Я., Папуниди К. Х., Чулков А. К. / под ред. А. В. Иванова. М.: Колос, 2008. 140 с.
9. Профилактика микотоксикозов у животных / Б. Н. Хмелевский, З. И. Пилипец, Л. С. Малиновская и др. М.: Агропромиздат, 1985. 271 с.
10. *Саркисов А. Х.* Диагностика грибных болезней (микозов и микотоксикозов животных) М.: Колос, 1971. 144 с.
11. Токсикологічний контроль кормів та кормових добавок / М. В. Косенко, І. Я. Коцюмбас, О. В. Величко та ін.: метод. рекомендації, затверджені Держ. департаментом вет. медицини з держ. вет. інспекцією Міністерства АПК України, протокол № 2 від 17–18 грудня 1998 р. К., 1999. 29 с.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.13

доопрацьована 01.04.13

прийнята до друку 24.04.13

## CONTROL OF MYCOTOXINS IN FEEDS AND THEIR ELIMINATION

**O. Brezvyn<sup>1</sup>, V. Otchych<sup>2</sup>, I. Kotsyumbas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*State Scientific Research Control Institute  
of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives  
11, Donetska St., Lviv 79019, Ukraine  
e-mail: brezvun@gmail.com*

<sup>2</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: viraotchych@gmail.com*

The article presents the results of mycotoxicological tests of feeds for the period of 5 years (2008–2012) that detected that 35–45% of grain feeds were infected by potentially dangerous microscopic fungi of *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Rhizopus* Ehrenb., *Mucor* Fresen., *Aspergillus* P. Micheli ex Link and *Penicillium* Link species. The most widespread methods of disintoxication of mycotoxins in the sphere of animal husbandry are based on application of sorbents with infected feed. The level of sorptive capacity of sorbents was studied. It was determined that effective sorbent should be complex and should be able to neutralize the combination of different mycotoxins, the most important criterion of its assessment is the safety for animals.

*Keywords:* mycotoxicological tests, microscopic fungi, mycotoxins, food stuff, sorbents.

## КОНТРОЛЬ МИКОТОКСИНОВ В КОРМАХ И ИХ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ

**О. Брезвин<sup>1</sup>, В. Отчич<sup>2</sup>, И. Коцюмбас<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Государственный научно-исследовательский контрольный институт  
ветеринарных препаратов и кормовых добавок  
ул. Донецкая, 11, Львов 79019, Украина  
e-mail: brezvun@gmail.com*

<sup>2</sup>*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: viraotchych@gmail.com*

В статье проанализированы результаты микотоксикологических исследований кормов за 5 лет (2008–2012), которые обнаружили, что 35–45% зерновых кормов были поражены потенциально опасными микроскопическими грибами родов *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Rhizopus* Ehrenb., *Mucor* Fresen., *Aspergillus* P. Micheli ex Link и *Penicillium* Link. Самые распространенные методы дезинтоксикации микотоксинов в животноводстве основаны на использовании пораженных кормов сорбентами. Изучен *in vitro* уровень сорбирующих способностей сорбентов относительно различных микотоксинов. Установлено, что эффективный сорбент должен быть комплексным, способным нейтрализовать комбинацию различных микотоксинов, а важнейшим критерием его оценки является безопасность для животных.

*Ключевые слова:* микотоксикологические исследования, микроскопические грибы, микотоксины, кормовое сырье, сорбенты.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

УДК 612.82/.83; 612.821

**КОГНІТИВНІ ВИКЛИКАНІ ПОТЕНЦІАЛИ У МУЗИКАНТІВ  
І НЕМУЗИКАНТІВ ПРИ МОНО- ТА БІНАУРАЛЬНОМУ  
ПОДАВАННІ ТОНОВОГО СИГНАЛУ**

**А. Охрей\*, Т. Куценко, М. Макарчук**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна  
e-mail: ochrei.artem@gmail.com*

При бінауральній стимуляції у музикантів, порівняно з немужикантами, відсутня міжпівкульна різниця латентних періодів компонентів N2, P3, N3, тоді як при моноуральній стимуляції міжпівкульну різницю цих показників не виявляли в обстежуваних обох груп. При лівосторонньому подаванні тонового сигналу компонент N2 має коротший латентний період у музикантів порівняно з немужикантами. При правосторонньому подаванні стимулу в музикантів спостерігаються значуще вищі показники міжпівкулових амплітуд N1-P2, P2-N2, P3-N3 в обох півкулях порівняно з лівосторонньою стимуляцією.

*Ключові слова:* когнітивні викликані потенціали, міжпівкульна взаємодія, музиканти, немужиканти.

Встановлено, що тривалі та регулярні заняття музикою ведуть до морфо-функціональних змін головного мозку людини [3–5, 8]. Особливості цих реорганізацій слугують яскравим прикладом пластичності нервової системи, розкривають уявлення про її потенційні можливості [5].

На сьогоднішньому етапі кількість наукових публікацій, присвячених впливу занять музикою на функціональні особливості головного мозку, постійно зростає. Ймовірно, подібний інтерес викликаний не тільки прагненням з'ясувати механізми сприйняття й обробки музичної інформації, які залишаються до кінця не вивченими [6], але й перспективою використання цих знань у галузі реабілітаційної практики, відновному навчанні пацієнтів, які страждають від наслідків пошкоджень головного мозку [5].

Оскільки сприйняття музики залучає різні ділянки обох півкуль [6], то вкрай важливим було з'ясувати особливості міжпівкульної взаємодії головного мозку у музикантів і немужикантів при моно- та бінауральному подаванні тонового сигналу.

**Матеріали та методи**

У дослідженні як обстежувані взяли участь 20 праворуких студентів обох статей віком від 17 до 21 року. Експериментальну групу (музиканти; n=10) становили студенти, які закінчили музичну школу і постійно вдосконалювали навички гри на певному музичному інструменті. Решта обстежуваних (немужиканти; n=10) не мали ні музичної освіти, ні постійної музичної практики.

З метою реєстрації когнітивних викликаних потенціалів (КВП) застосовували електроенцефалограф «Нейрон-Спектр 4/ВП» (Нейрософт, Росія). Як стимули використовували тонові сигнали, що відрізнялися між собою за частотою. Кожен обстежуваний мав підраховувати кількість «значимих» стимулів (високий тон із частотою 2000 Гц), ігноруючи «незначимі» стимули (низький тон із частотою 1000 Гц) [1]. Стимули

подавалися як бінаурально, так і моноурально. КВП реєстрували з центральних і парієтальних відведень. Референтні електроди встановлювали на мочках іпсилатеральних вух. Аналізували латентний період (ЛП) і міжпікову амплітуду компонентів викликаних потенціалів.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету STATISTICA (StatSoft, USA, 2001). Нормальність розподілів перевіряли за тестом Шапіро-Вілка. У разі нормально-го розподілу використовували параметричні методи статистики: обчислювали середнє значення і стандартне відхилення ( $M \pm SD$ ). Для порівняння двох груп залежних і незалежних даних застосовували критерій Стьюдента. У разі ненормального розподілу використовували медіану ( $Me$ ), а також верхній і нижній кватилі. Для порівняння двох груп незалежних даних використовували критерій Манна-Вітні, залежних – критерій Вілкоксона. Критичний рівень значущості ( $p$ ) при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

### Результати і їхнє обговорення

Аналіз отриманих результатів показав, що ЛП компоненту P3 у лівій півкулі музикантів за умови бінауральної стимуляції був достовірно ( $p \leq 0,01$ ) коротшим, ніж у немужикантів (рис. 1). При цьому у музикантів значення ЛП компонентів N2, P3, N3 у правій і лівій півкулі не відрізнялися між собою. У той же час у немужикантів спостерігали асиметрію: у лівій півкулі ЛП компонентів КВП були довшими, ніж у правій півкулі (див. рис. 1).

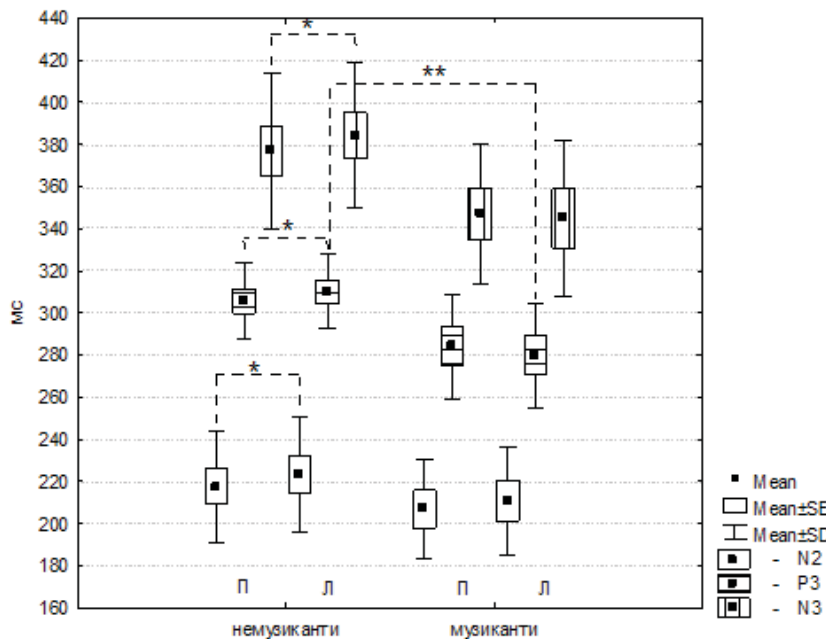


Рис. 1. Латентні періоди компонентів КВП у правій (П) і лівій (Л) півкулі немужикантів та музикантів при бінауральному подаванні стимулу (центральні відведення). \* –  $p \leq 0,05$ , \*\* –  $p \leq 0,01$ .

Аналіз амплітуди компонентів КВП у лівій і правій півкулях показав, що амплітуда компонента P3 у немужикантів у лівій півкулі була вищою ( $M=13,1 \pm 6,31$  мкВ), ніж у правій ( $M=10,5 \pm 5,21$  мкВ), тоді як у музикантів такої міжпівкульної різниці амплітуди P3 не спостерігали.

Характерним є і те, що будь-які міжпівкульні відмінності ЛП й амплітуди компонентів викликаних потенціалів, отриманих на незначимий стимул, ні у музикантів, ні у немужикантів не виявляли.

За умови моноуральної стимуляції лівого вуха (центральні відведення) виявлено коротший ЛП компонента N2 у правій і лівій півкулі музикантів, порівняно з немужикантами (рис. 2). У той же час при моноуральній стимуляції правого вуха міжгрупові відмінності ЛП компонента N2 не виявляли (рис. 3).

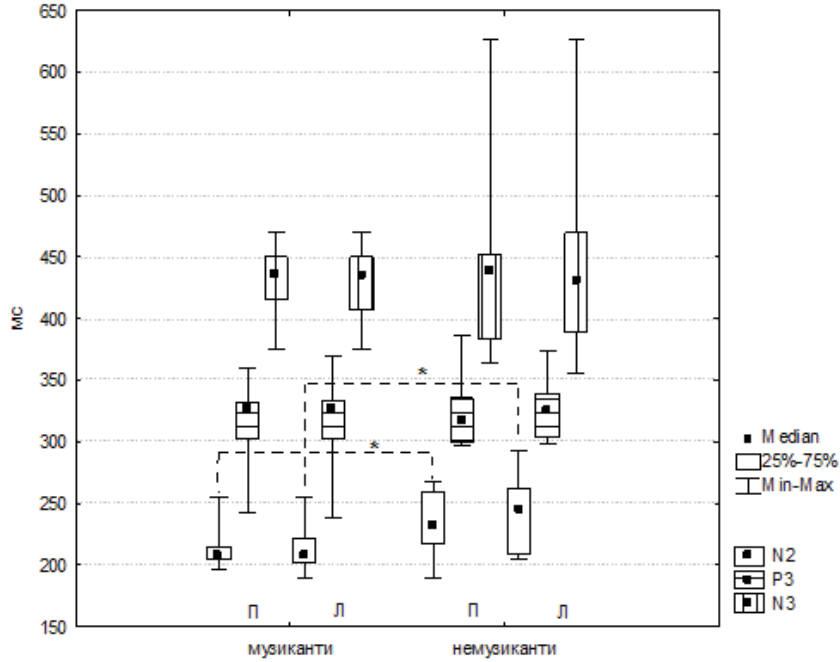


Рис. 2. Латентний період компонентів N2, P3, N3 у правій (П) та лівій (Л) півкулях музикантів і немужикантів при лівосторонньому подаванні стимулу (центральні відведення). \* –  $p \leq 0,05$ .

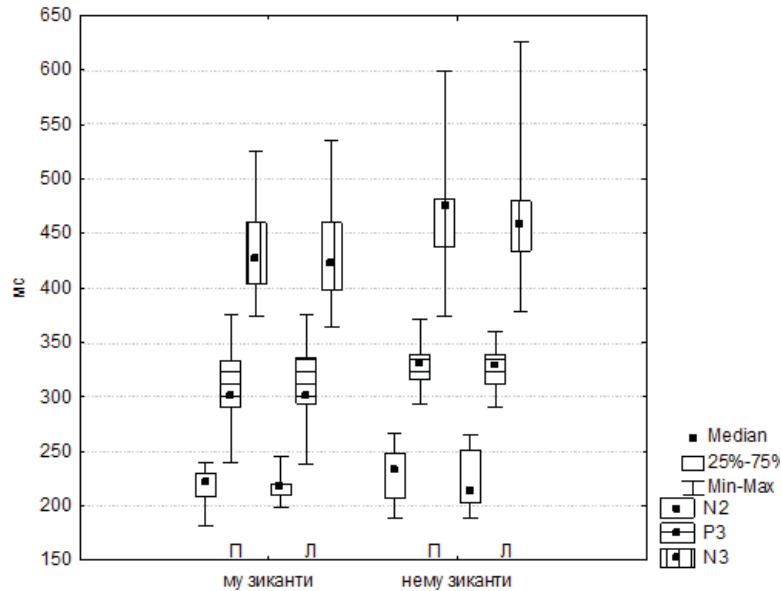


Рис. 3. Латентний період компонентів N2, P3, N3 у правій (П) та лівій (Л) півкулях музикантів і немужикантів при правосторонньому подаванні стимулу (центральні відведення).

У музикантів стимуляція правого вуха виявляла зростання міжпівкових амплітуд N1-P2, P2-N2, P3-N3 як у правій, так і у лівій півкулі порівняно з моноуральною стимуляцією лівого вуха (рис. 4). У немужикантів сторона стимуляції (ліве чи праве вухо) не впливала на КВП у жодній півкулі (див. рис. 4).

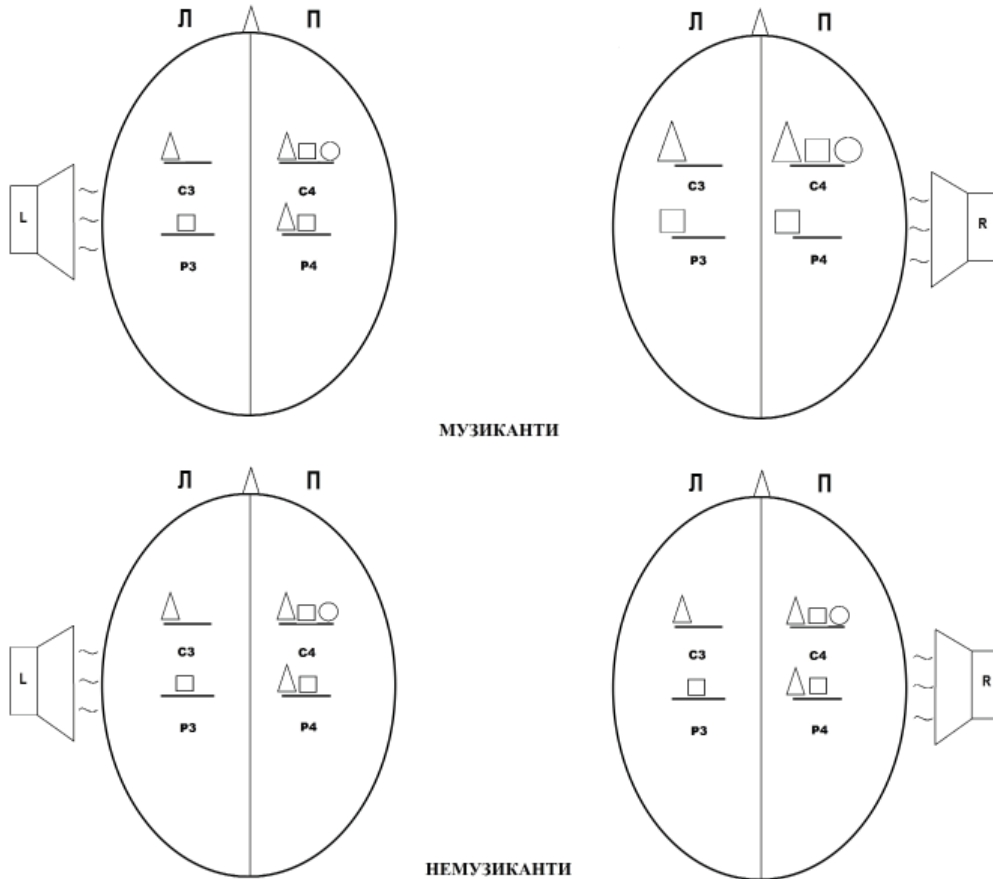


Рис. 4. Міжпівкові амплітуди компонентів КВП на значимий стимул за умови правостороннього і лівостороннього подавання тону в музикантів і немужикантів. Л – ліва півкуля, П – права півкуля, L – ліва сторона стимуляції, R – права сторона стимуляції. Трикутником позначено міжпівкову амплітуду N1-P2, квадратом – P2-N2, колом – P3-N3. Розмір геометричних позначок співвідноситься з розміром відповідної амплітуди. Відмінності амплітуд КВП у музикантів при ліво- та правосторонній стимуляції статистично значущі ( $p \leq 0,05$ ).

Узагальнюючи результати наших досліджень, можна стверджувати, що у музикантів і немужикантів наявна різниця в організації міжпівкульної взаємодії у процесі сприйняття й обробки звукових подразників. Виходячи з того, що ЛП компонента P3 є показником швидкості оцінки стимулу [7], можна зробити припущення, що у музикантів ліва півкуля залучається до аналізу тонового сигналу швидше, ніж у немужикантів (див. рис. 1). Враховуючи факт відсутності міжпівкульної різниці у показниках ЛП компонентів усього когнітивного комплексу в музикантів, можна констатувати, що їхній мозок демонструє більш симетричну та злагоджену роботу в процесі впізнавання і підрахунку тонових

сигналів. Ці дані узгоджуються з матеріалами інших авторів [3–5]. Можливо, така взаємодія і симетрія у роботі півкуль дає змогу музикантам використовувати більш ефективні когнітивні стратегії, проводячи послідовний аналіз стимулу та застосовуючи вербальну систему лівої півкулі [3]. У немужикантів залучення лівої півкулі до обробки звукового подразника відбувається дещо пізніше.

Міжгрупових відмінностей амплітуд компонентів КВП не виявлено. Це стосується й амплітуди P3, розмір якої має пряму залежність від ресурсу оперативної пам'яті [1, 2, 9]. Ймовірно, це свідчить про те, що ресурси оперативної пам'яті, залучені у виконання даного завдання, не відрізняються між групами. Проте було виявлено, що у немужикантів амплітуда P3 у лівій півкулі є вищою порівняно з правою. Можливо, це пояснюється меншою тренуваністю їхньої лівої півкулі до обробки музичних стимулів і необхідністю сильнішого залучення ресурсів уваги й оперативної пам'яті.

Застосування моноуральної стимуляції дало змогу виявити міжгрупову різницю ЛП компонента N2 (див. рис. 2). Враховуючи, що даний компонент є маркером впізнання стимулу [1], можна зробити припущення, що у музикантів цей процес здійснюється швидше. Виявлені відмінності, що стосуються впливу сторони стимуляції на особливості прояву КВП у музикантів (зокрема, на їхню амплітуду; див. рис. 4), вказують на переважання інформаційного потоку від правого вуха в обстежуваних цієї групи, що, ймовірно, обумовлено наявністю у них музичного досвіду.

При бінауральній стимуляції у музикантів порівняно з немужикантами відсутня міжпівкульна різниця латентних періодів компонентів N2, P3, N3, тоді як при моноуральній стимуляції міжпівкульна різниця цих показників не виявлялася в обстежуваних обох груп.

При лівосторонньому подаванні стимулу відзначено значуще менші показники латентного періоду компонента N2 в обох півкулях музикантів порівняно з немужикантами, що може свідчити про повільніше впізнання тону у немужикантів.

При правосторонньому подаванні стимулу у музикантів спостерігаються значуще вищі показники міжпівкульних амплітуд N1-P2, P2-N2, P3-N3 в обох півкулях порівняно з лівостороннім, що, ймовірно, вказує на переважання інформаційного потоку від правого вуха у музикантів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Гнездицкий В. В.* Вызванные потенциалы мозга в клинической практике // Эндогенные ВП. Таганрог, 1997. С. 102–117.
2. *Гордеев С.* Когнитивные функции и состояние неспецифических систем мозга при панических расстройствах // Журнал неврологии и психиатрии. 2007. № 6. С. 54–60.
3. *Костандов Э. А.* Фактор динамичности в функциональной асимметрии больших полушарий головного мезга // Физиология человека. 1992. Т. 18. № 3. С. 17–24.
4. *Панюшева Т. Д.* Музыкальный мозг: обзор отечественных и зарубежных исследований // Асимметрия. 2008. Т. 2. № 2. С. 41–54.
5. *Панюшева Т. Д.* Межполушарная организация слуховых и двигательных функций у музыкантов: автореф. дис. ... канд. психол. наук. М., 2010. 35 с.
6. *Altenmüller E.* Music in your head // Scientific American mind. 2003. Vol. 14. N 1. P. 24–31.
7. *Andreassi J.* Psychophysiology: human behavior and physiological response // Lawrence Erlbaum Associates, Inc. 2006. P. 239.
8. *Hyde K., Lerch J., Norton A. et al.* Musical training shapes structural brain development // Neuroscience. 2009. Vol. 29. N 10. P. 3019–3025.

9. Polich J., Kok A. Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review // Biol. Psychol. 1995. N 41. P. 103–108.

*Стаття: надійшла до редакції 01.03.13*

*доопрацьована 10.04.13*

*прийнята до друку 12.04.13*

## **COGNITIVE EVENT-RELATED POTENTIALS IN MUSICIANS AND NON-MUSICIANS DURING MONO- AND BINAURAL TONE SUBMISSION**

**A. Okhrey, T. Kutsenko, M. Makarchuk**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine  
e-mail: ochrei.artem@gmail.com*

During binaural stimulation musicians unlike non-musicians did not demonstrate interhemispheric differences of N2, P3, N3 latencies, while during monaural stimulation interhemispheric differences of N2, P3, N3 latencies are absent in both groups. Left-side stimulation revealed N2 component to have shorter latency in both hemispheres of musicians unlike non-musicians. Right-side stimulation revealed N1-P2, P2-N2, P3-N3 amplitudes to be significantly higher in both hemispheres of musicians unlike left-side stimulation of ear in this group.

*Keywords:* cognitive event-related potentials, interhemispheric interaction, musicians, non-musicians.

## **КОГНИТИВНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ У МУЗЫКАНТОВ И НЕМУЗЫКАНТОВ ПРИ МОНО- И БИНАУРАЛЬНОЙ ПОДАЧЕ ТОНОВОГО СИГНАЛА**

**А. Охрей, Т. Куценко, М. Макаrchук**

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко  
ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина  
e-mail: ochrei.artem@gmail.com*

Во время бинауральной стимуляции у музыкантов, по сравнению с немусыкантами, отсутствует межполушарная разница латентных периодов компонентов N2, P3, N3, тогда как при моноуральной стимуляции межполушарная разница этих показателей отсутствует у испытуемых обеих групп. При левосторонней подаче тонового сигнала компонент N2 имеет более короткий латентный период у музыкантов, по сравнению с немусыкантами. При правосторонней подаче стимула у музыкантов показатели межпиковых амплитуд N1-P2, P2-N2, P3-N3 достоверно выше в обоих полушариях, по сравнению с левосторонней стимуляцией.

*Ключевые слова:* когнитивные вызванные потенциалы, межполушарное взаимодействие, музыканты, немусыканты.



## ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ СПЕРМІЇВ КРОЛІВ ЗА ДІЇ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ПРИ КОРОТКОЧАСНОМУ ЗБЕРІГАННІ *IN VITRO*

В. Сирватка\*, Ю. Сливчук, І. Розгоні, І. Гевкан

*Інститут біології тварин НААН*  
вул. Василя Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: vasyly.syrvatka@gmail.com

Проведено дослідження з вивчення впливу наночастинок срібла з різними композитними речовинами на функціональну активність спермійв кролів при короткотривалому зберіганні за умов *in vitro*. Встановлено, що наночастинок срібла з полівінілпіролідом, бичачим сироватковим альбуміном і гіалуроновою кислотою не впливають на кількість життєздатних спермійв і їх рухливість. Проте залежно від дози (1 мкг/мл і більше) зумовлюють зниження активності аланін- і аспаргатамінотрансфераз, збільшення активності лужної фосфатази, лактатдегідрогенази та концентрації тригліцеридів у кондиційному середовищі.

*Ключові слова:* наночастинок срібла, спермії, кролі, біохімічні показники.

Патогенні бактерії, віруси та грибки мають негативний вплив на гамети, а також перешкоджають заплідненню яйцеклітини й імплантації ембріонів або є причиною ранньої ембріональної смертності [6, 15]. Відомо, що найбільш широко використовувані антибіотики не завжди є ефективними щодо більшості мікроорганізмів, а деякі з них мають токсичний вплив на процеси запліднення і вагітності [9]. Отже, дослідження можливості використання інших альтернативних речовин, наприклад наноматеріалів, як антимікробних препаратів становить значний науковий інтерес.

Серед антибактеріальних препаратів наночастинок срібла (AgNPs) є найефективнішими для боротьби з інфекціями. Токсична дія AgNPs проти полірезистентних грамнегативних і грампозитивних бактерій, вірусів і грибків є добре дослідженою [7, 11, 12, 17]. Терапевтичний потенціал цих наночастинок у даний час вивчений досить широко, незважаючи на відсутність інформації про їхні механізми дії на молекулярному і клітинному рівнях [13]. Результати токсикологічних досліджень на рибках Данію показали, що наночастинок срібла, залежно від дози, викликають вади в розвитку ембріонів [2]. Також встановлено цитотоксичну дію наночастинок срібла на деякі соматичні клітини тварин і людини [14]. Однак залишається невивченим вплив наночастинок срібла на репродуктивну систему ссавців, зокрема їхню дію на сперматозоїди. Зважаючи на це, метою нашого дослідження було вивчення впливу наночастинок срібла із різними композитними речовинами на функціональну активність спермійв кролів за умов короткотривалого зберігання *in vitro*.

### Матеріали та методи

Наночастинок срібла було синтезовано хімічним відновленням водного розчину нітрату срібла натрій борогідридом [18]. Успішність отримання наночастинок визначали одразу після синтезу за кольором розчину. Прозорий розчин реакційної суміші вказував на те, що реакція не відбулася, яскраво-жовтий – на успішний синтез, наявність темного кольору – на агрегацію наночастинок. Після синтезу наночастинок срібла проводили зв'язування їх зі стабілізуючими речовинами. Як стабілізатор використали: бичачий

сироватковий альбумін (BSA), полівінілпіролідон (PVP) і глікозаміноглікангіалуронову кислоту (HA). Після зв'язування наночастинок срібла з полімерами й альбуміном проводили їхнє очищення від нітрату натрію, залишків натрій борогідриду та стабілізуючих речовин шляхом ультрацентрифугування при 25000 g упродовж 50 хв.

Для з'ясування впливу синтезованих нами композитних наночастинок срібла на функціональну активність спермійів *in vitro* було досліджено їхній вплив на виживаність і рухливість за умов короткотривалого зберігання впродовж 3 год за температури 37°C. Дослід був проведений в умовах лабораторії репродуктивної біотехнології та розведення тварин Інституту біології тварин НААН з використанням свіжоодрержаної сперми самців кролів породи новозеландська біла. Як розбавник використовували тріс-ацетат-глюкозний буфер із додаванням синтезованих нами композитних наночастинок срібла (AgNPs-PVP, AgNPs-BSA та AgNPs-HA) у концентраціях: 0,1; 1 та 10 мкг/мл.

Відношення розбавника до еякуляту становило 5:1. Зберігання спермійів проводили впродовж 3-х годин за температури 37°C з підрахунком їхньої життєздатності й рухливості перед початком культивування, після 1, 2 і 3 год зберігання. Через 3 год культивування проводили відбір кондиційного середовища шляхом центрифугування при 2500 g за температури 4°C для визначення біохімічних показників: концентрації Кальцію (К), Фосфору (Р), Магнію (Mg), Калію (К), Натрію (Na), глюкози, тригліцеридів (ТГ) і холестеролу (ХС), а також активність аланін-амінотрансферази (АЛАТ), аспартат-амінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ). Усі біохімічні визначення проводили за допомогою комерційних тест-наборів (HumanGmbH, Germany) на біохімічному аналізаторі.

Усі статистичні розрахунки проводили за допомогою Minitab 15 пакету програмного забезпечення. Відмінності між групами були визначені за критерієм Стьюдента.

### Результати і їхнє обговорення

Синтезовані функціональні наночастинок срібла показали високу стабільність і рівномірну дисперсію в розчині впродовж експериментального періоду. AgNPs з BSA, PVP та HA не виявляли ознак агломерації й осідання у процесі зберігання, тоді як наночастинок без стабілізуючих речовин агрегували та випадали в осад.

Порівняльний аналіз впливу різних концентрацій композитних наночастинок срібла в середовищі для розведення сперми показав, що рухливість і відсоток живих спермійів знижується у процесі культивування в усіх дослідних групах (табл. 1). У контрольній групі життєздатність знижувалася з 73,73±3,36% перед початком культивування до 49,78±3,79% після 3 год інкубації, а рухливість – з 64,53±2,32% до 39,97±3,58%.

Таблиця 1

Рухливість і відсоток живих спермійів за різних концентрацій композитних наночастинок срібла у розбавнику впродовж 3 год зберігання ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Дослідні групи	Життєздатні спермії, %				Рухливість, %			
	0 год	1 год	2 год	3 год	0 год	1 год	2 год	3 год
Контрольна	73,73±3,36	66,34±6,79	61,10±3,81	49,78±3,79	64,53±2,32	57,21±5,61	54,08±3,60	39,97±3,58
AgNPs-PVP 0,1 мкг/мл	73,46±1,67	64,56±4,15	58,17±6,30	52,21±4,19	63,06±2,40	56,65±3,71	50,84±6,53	41,87±5,34
AgNPs-PVP 1 мкг/мл	74,89±9,05	63,46±1,55	60,94±2,23	53,41±1,42	63,89±6,96	55,62±1,80	52,76±2,52	41,80±1,49
AgNPs-PVP 10 мкг/мл	69,91±2,11	65,15±4,64	60,64±1,74	52,80±3,98	61,54±2,68	50,71±1,95	48,48±1,16	37,86±3,75
AgNPs-BSA 0,1 мкг/мл	71,66±0,97	64,28±2,14	60,69±2,48	50,49±1,62	62,17±1,91	53,62±1,79	52,00±1,54	40,49±1,27
AgNPs-BSA 1 мкг/мл	73,60±0,40	64,95±3,80	62,52±2,10	51,86±1,90	61,10±1,56	55,10±4,15	53,39±1,77	42,62±1,42
AgNPs-BSA 10 мкг/мл	73,04±2,50	65,76±2,07	62,09±3,70	53,40±0,56	60,53±3,59	49,78±4,33	49,55±3,42	39,46±0,40
AgNPs-HA 0,1 мкг/мл	73,90±5,74	66,92±0,78	59,40±2,94	49,25±1,21	64,54±6,24	54,91±1,97	51,14±4,26	41,13±2,29
AgNPs-HA 1 мкг/мл	72,12±5,66	66,66±2,93	62,33±2,82	52,65±2,09	64,37±4,48	57,93±2,07	53,45±3,13	41,44±2,03
AgNPs-HA 10 мкг/мл	71,71±2,16	66,27±0,75	60,01±1,40	50,09±1,08	62,02±2,85	56,58±1,30	50,70±1,47	40,65±1,7

Наночастинки срібла мають здатність проходити тестикулярний бар'єр і накопичуватись у сім'яниках, здійснюючи токсичний ефект на репродуктивну систему самців, зокрема на клітини сперми [1]. Проте в наших дослідженнях між контрольною та дослідними групами з композитними наночастинками срібла не виявлено вірогідних різниць у життєздатності й рухливості спермій упродовж 3 год зберігання за температури 37°C (табл. 1). Не встановлено і безпосереднього вірогідного впливу AgNPs-PVP, BSA та HA на концентрацію Кальцію, Магнію, Фосфору, Калію, Натрію та глюкози в кондиційному середовищі після 3 год зберігання за температури 37°C (табл. 2). Результати Braudich-Stolle зі співавторами (2005) показали, що залежно від концентрації наночастинки срібла характеризуються більшою цитотоксичною дією на стовбурові клітини сперматогоній C184 ніж наночастинки молібдену (III) оксиду й алюмінію. Крім того, негативний ефект на репродуктивні стовбурові клітини сперматогоній більш виражений порівняно зі соматичними клітинами печінки BRL 3A [3].

Таблиця 2

Біохімічні показники кондиційного середовища спермій кролів після 3 год зберігання за умов додавання різних концентрацій композитних наночастинок срібла ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Дослідні групи	Показники					
	Ca ммоль/л	Mg ммоль/л	P ммоль/л	K ммоль/л	Na ммоль/л	Глюкоза ммоль/л
Контрольна	0,37±0,01	1,25±0,02	0,43±0,02	2,80±0,06	12,67±0,67	34,26±0,42
AgNPs-PVP 0,1 мкг/мл	0,36±0,03	1,23±0,01	0,43±0,01	2,83±0,03	12,00±0,58	34,11±0,40
AgNPs-PVP 1 мкг/мл	0,36±0,006	1,21±0,02	0,41±0,01	2,73±0,09	12,00±0,58	34,58±0,70
AgNPs-PVP 10 мкг/мл	0,35±0,02	1,25±0,01	0,41±0,02	2,83±0,12	12,33±0,33	34,59±0,39
AgNPs-BSA 0,1 мкг/мл	0,35±0,03	1,23±0,01	0,41±0,01	2,73±0,03	12,00±0,58	33,52±0,31
AgNPs-BSA 1 мкг/мл	0,37±0,02	1,23±0,01	0,42±0,02	2,83±0,12	12,00±1,00	34,16±0,58
AgNPs-BSA 10 мкг/мл	0,38±0,006	1,24±0,01	0,41±0,02	2,80±0,10	11,67±0,33	34,45±0,63
AgNPs-HA 0,1 мкг/мл	0,35±0,01	1,24±0,01	0,40±0,01	2,70±0,06	12,33±0,33	33,19±0,45
AgNPs-HA 1 мкг/мл	0,37±0,01	1,25±0,01	0,42±0,02	2,73±0,03	11,67±0,88	33,17±0,53
AgNPs-HA 10 мкг/мл	0,35±0,04	1,25±0,01	0,41±0,003	2,83±0,09	12,67±0,88	33,59±0,41

У результаті визначення активності ферментів кондиційного середовища виявлено вірогідне зниження активності аланін-амінотрансферази ( $p < 0,01$ ) й аспаргатамінотрансферази ( $p < 0,05$ ) у разі додавання наночастинок срібла із полівінілпіролідом і бичачим сироватковим альбуміном у концентрації 1 і 10 мкг/мл та із гіалуроновою кислотою – 10 мкг/мл (табл. 3). Втрата активності цих ферментів може відображати безпосередній вплив наночастинок срібла, зокрема, зв'язування їх з активними центрами чи порушення структури ензимів. Різна модифікація поверхонь наночастинок зумовлює їх різну біологічну активність [8]. Дія наночастинок срібла із PVP та BSA в меншій концентрації (1 мкг/мл), очевидно, пов'язана із їх більш реакційноздатними поверхнями або більшою стійкістю в кондиційному середовищі порівняно з наночастинками стабілізованих гіалуроновою кислотою. Так, за впливу AgNPs-PVP та AgNPs-BSA на спермії кролів у концентраціях 1 і 10 мкг/мл підвищувалась активність лужної фосфатази та лактатдегідрогенази, тоді як за дії AgNPs-HA тільки в концентрації 10 мкг/мл знижувалась активність ЛФ. Активність ЛДГ та ЛФ у плазмі сперми негативно корелює з рухливістю і відсотком живих сперматозоїдів [16]. Тому збільшення активності цих ферментів у кондиційному середовищі, можливо, пов'язане із безпосереднім впливом наночастинок срібла на спермії кролів, а саме на дестабілізацію їх мембран і вихід цих ферментів у кондиційне середовище. Аналогічну цитотоксичну дію наночастинок срібла спостерігали на клітинах, зокрема, стовбурових сперматогоніях мишей C184 [3], альвеолярних макрофагах щурів [5] та клітинах печінки щурів BRL 3A [10].

Таблиця 3

Біохімічні показники кондиційного середовища спермійів кролів після 3 год зберігання при температурі 37°C за умов додавання різних концентрацій наночастинок срібла

Дослідні групи	Показники					
	АлАТ (МО)	АсАТ (МО)	ЛФ (МО)	ЛДГ (МО)	ТГ ммоль/л	ХС ммоль/л
Контрольна	11,50±1,60	177,93±5,29	582,37±5,42	985,67±9,64	14,31±0,11	0,220±0,011
AgNPs-PVP 0,1 мкг/мл	10,97±1,75	179,40±5,32	582,40±5,73	985,03±4,84	14,41±0,06	0,217±0,009
AgNPs-PVP 1 мкг/мл	3,87±0,33↓	162,87±5,60	642,27±4,99↑↑	1121,37±15,48↑↑	15,81±0,10↑↑↑	0,197±0,009
AgNPs-PVP 10 мкг/мл	3,07±0,50↓	132,80±5,84↓	667,10±5,73↑↑↑	1138,37±5,45↑↑↑	16,35±0,28↑↑	0,237±0,015
AgNPs-BSA 0,1 мкг/мл	10,27±0,84	181,20±3,90	591,13±5,79	997,37±6,68	14,49±0,10	0,200±0,006
AgNPs-BSA 1 мкг/мл	3,03±0,45↓	155,50±3,69↓	670,10±10,13↑↑	1124,00±13,19↑↑	15,65±0,19↑↑	0,217±0,009
AgNPs-BSA 10 мкг/мл	2,80±0,25↓	132,00±2,92↓	674,47±11,12↑↑	1136,27±5,84↑↑↑	15,92±0,07↑↑	0,217±0,015
AgNPs-NA 0,1 мкг/мл	11,73±0,99	177,27±6,21	581,60±4,95	985,20±7,62	14,40±0,11	0,220±0,015
AgNPs-NA 1 мкг/мл	12,40±0,82	175,57±3,35	608,53±5,29↑	995,67±4,66	14,42±0,08	0,217±0,003
AgNPs-NA 10 мкг/мл	3,80±0,55↓	147,93±3,92↓	596,50±9,69	1001,5±4,51	14,44±0,06	0,220±0,006

**Примітка:** ↑ – вірогідно вищий рівень,  $p < 0,05$ ; ↑↑ – вірогідно вищий рівень,  $p < 0,01$ ; ↑↑↑ – вірогідно вищий рівень,  $p < 0,001$ ; ↓ – вірогідно нижчий рівень,  $p < 0,05$ ; ↓↓ – вірогідно нижчий рівень,  $p < 0,01$  (порівняння з контрольною групою), МО – міжнародні одиниці.

Аналіз даних, отриманих при визначенні концентрації тригліцеридів, показав, що за дії наночастинок срібла із полівінілпіролідом і бичачим сироватковим альбуміном у концентраціях 1 і 10 мкг/мл вміст тригліцеридів вірогідно зростає ( $p < 0,01$ ). Однак не було виявлено вірогідних різниць у концентрації холестеролу між контрольною та всіма дослідними групами.

Механізми цитотоксичності наночастинок срібла реалізуються через продукцію активних форм кисню та взаємодію із ДНК, що призводить до запалення або навіть до злоякісної трансформації соматичних клітини [2, 13, 14]. Однак у випадку із зародковими клітинами, зокрема сперматозоїдами, такі дефекти можуть призводити до порушення відтворювальної здатності у тварин та вроджених дефектів у їхнього потомства [19]. Braydich-Stolle зі співавторами встановили (2010), що, крім продукції активних форм кисню й індукції апоптозу, наночастинок срібла викликають порушення GDNF/Fun кінзального сигнального шляху, що призводить до зниження проліферативної активності стовбурових сперматогоніальних клітин мишей [4].

Дані, отримані в нашому дослідженні, дають підстави стверджувати, що наночастинок срібла не впливають на кількість життєздатних спермійів і їхню рухливість, однак зумовлюють на молекулярному рівні зміни деяких показників кондиційного середовища, зокрема активність ферментів АлАТ, АсАТ, ЛФ, ЛДГ та концентрацію тригліцеридів. Подальші дослідження необхідні для оцінки молекулярних механізмів впливу наночастинок срібла на спермії тварин. З'ясування механізмів клітинного засвоєння та біодеградації всередині клітин і вивчення впливу модифікації поверхні наночастинок срібла різними композитними речовинами на ці процеси допоможе більш ефективно використовувати наночастинок срібла в терапевтичних цілях.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Asare N., Instanes C., Sandberg W. J. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells // *Toxicol.* 2012. Vol. 291. P. 65–72.
2. Asharani P. V., Wu Y. L., Gong Z., Valiyaveetil S. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models // *Nanotechnology.* 2008. Vol. 19. N 25.5102. P. 1–8.
3. Braydich-Stolle L. K., Hussain S., Schlager J. *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germ-line stem cells // *Toxicol. Sci.* 2005. Vol. 88. P. 412–419.

4. *Braydich-Stolle L. K., Lucas B., Schrand A.* et al. Silver Nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells // *Toxicol. Sci.* 2010. Vol. 116. N 2. P. 577–589.
5. *Cataleya C.* *In vitro* Toxicity assessment of silver nanoparticles in rat alveolar macrophages M.S., Department of Pharmacology and Toxicology, Wright State University, 2006. P. 1–327.
6. *Eckert L. O., Moore D. E., Patton D. L.* et al. Relationship of vaginal bacteria and inflammation with conception and early pregnancy loss following in-vitro fertilization // *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* 2003. Vol. 11. P. 11–17.
7. *Elechiguerra J. L., Burt J. L., Morones J. R.* et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 // *J. Nanobiotechnology.* 2005. Vol. 3. P. 1–10.
8. *Galdiero S., Falanga A., Vitiello M.* et al. Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents // *Molecules.* 2011. Vol. 16. P. 8894–8918.
9. *Garbis H., Rost van Tonningen M., Reuvers M.* Anti-infective agent, in: *Shaefer C., Peters P., Miller R. K.* Drags during pregnancy and lactation: 2nd ed. Great Britain.: Elsevier, 2007. P. 248–320.
10. *Hussain S. M., Hess K. L., Gearhart J. M.* et al. *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells // *Toxicol. in Vitro.* 2005. Vol. 19. P. 975–983.
11. *Kim J. S., Kuk E., Yu K. N.* et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles // *Nanomedicine.* 2007. Vol. 3. P. 95–101.
12. *Kim K.-J., Sung W. S., Suh B. K.* et al. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on *Candida albicans* // *BioMetals.* 2009. Vol. 22. P. 235–242.
13. *Lim H. K., Asharani P. V., Hande M. P.* Enhanced genotoxicity of silver nanoparticles in DNA repair deficient mammalian cells // *Front. Gene.* 2012. Vol. 3. Article 104. P. 1–13.
14. *Park E. J., Yi J., Kim Y.* et al. Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism // *Toxicol. In Vitro.* 2010. Vol. 24. P. 872–878.
15. *Rennemeier C., Frambach T., Hennicke F.* et al. Microbial quorum-sensing molecules induce acrosome loss and cell death in human spermatozoa // *Infect. Immun.* 2009. Vol. 77. P. 4990–4997.
16. *Roussel J. D., Stallcup O. T.* Activity of lactic dehydrogenase and its isozymes in bovine semen // *J. Dairy Sci.* 1965. Vol. 48. P. 1506–1510.
17. *Shahverdi A. R., Fakhimi A., Shahverdi H. R., Minaian S.* Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* // *Nanomedicine.* 2007. Vol. 3. P. 168–171.
18. *Solomon S. D., Bahadory M., Jeyarajasingam, A. V.* et al. Synthesis and study of silver nanoparticles // *J. Chem. Ed.* 2007. Vol. 84. N 2. P. 322–325.
19. *Zahavy E., Ordentlich A., Yitzhaki S., Shafferman A.* Nano-Biotechnology for Biomedical and Diagnostic Research. Series: Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer. 2011. Vol. 8. P. 182.

Стаття: надійшла до редакції 01.03.13

доопрацьована 22.03.13

прийнята до друку 01.04.13

## FUNCTIONAL ACTIVITY OF RABBIT'S SPERM UNDER INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES AFTER SHORT TERM STORAGE *IN VITRO*

V. Syrvatka, Y. Slyvchuk, I. Rozgoni, I. Hevkan

*Institute of Animal Biology NAAS  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: vasyi.syrvatka@gmail.com*

It was investigated the effect of silver nanoparticles with different composite agents on functional activity of rabbits sperm after short-term storage *in vitro*. Silver nanoparticles

with polyvinylpyrrolidone, bovine serum albumin and hyaluronan did not influenced on number of sperm viability and motility was found. However, silver nanoparticles in dose depend (1 µg/mL and higher) decreased the activity of aspartat eaminotransferase and alanineaminotransferase, increased alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase and concentration of triglycerides in condition medium.

*Keywords:* silver nanoparticles, sperm, rabbits, biochemical parameter.

### **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ КРОЛИКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И КРАТКОВРЕМЕННОМ ХРАНЕНИИ *IN VITRO***

**В. Сырватка, Ю. Сливчук, І. Розгоні, І. Гевкан**

*Институт биологии животных НААН  
ул. В. Стуса, 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: vasylysyrvatka@gmail.com*

Проведены исследования по изучению влияния наночастиц серебра с различными композитными веществами на функциональную активность сперматозоидов кроликов при кратковременном хранении в условиях *in vitro*. Установлено, что наночастицы серебра с поливинилпирролидоном, бычьим сывороточным альбумином и гиалуроновой кислотой не влияют на количество жизнеспособных сперматозоидов и их подвижность. Однако, в зависимости от дозы (1 мкг/мл и более), обуславливают снижение активности аланин- и аспаргатаминотрансфераз, увеличение активности щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и концентрации триглицеридов в кондиционной среде.

*Ключевые слова:* наночастицы серебра, сперматозоиды, кролики, биохимические параметры.

## ТРАНСФОРМАЦІЯ ХОЛЕСТЕРОЛУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ

Ю. Дябога

*Інститут біології тварин НААН  
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

Гіперхолестеринемію у щурів створювали шляхом щоденного, впродовж 90 днів, згодовування у складі корму хімічно чистого холестеролу в кількості 300 мг/кг живої маси. Експериментальну гіперхолестеринемію корегували додаванням до корму фармакопейного риб'ячого жиру в кількості 1 мл/кг живої маси. Риб'ячий жир також згодовували впродовж зазначеного вище терміну. В результаті проведених досліджень встановлено, що згодовуваний риб'ячий жир прискорює трансформацію холестеролу в жовчні кислоти, тестостерон, 25–ОН–вітамін D<sub>3</sub>, кортизол і альдостерон у відповідних органах щурів за експериментальної гіперхолестеринемії. Тим самим, збільшується концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, кортизолу й альдостерону в крові щурів.

*Ключові слова:* експериментальна гіперхолестеринемія, жовчні кислоти, тестостерон, вітамін D<sub>3</sub>, кортизол, альдостерон, щури.

В останні десятиліття провідне місце займають серцево-судинні захворювання. Відома ціла низка факторів ризику атеросклерозу й ішемічної хвороби серця у людей. Основним все-таки вважається високий рівень холестеролу в плазмі крові [5, 8], хоча дана концепція доповнюється новими положеннями, зокрема про те, що порушується поглинання етерифікованого холестеролу клітинами коронарних судин [6, 10, 12].

Важливу роль при гіперхолестеринемії та метаболічних перетвореннях холестеролу в організмі людини і тварин відіграють поліненасичені жирні кислоти родин ω-6 і, особливо, ω-3, які містяться в риб'ячому жирі та проявляють антихолестериногенну і антиліпогенну дію, що сприяє зменшенню концентрації холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові [11].

Відомо, що холестерол є попередником цілого ряду похідних, які мають у своїй основі циклопентанпергідрофенантронове кільце, зокрема жовчних кислот, вітаміну D, статевих гормонів і гормонів наднирників [1, 17, 18]. Для цього, в першу чергу, використовується етерифікований холестерол. Однак невідомим залишається питання зміни концентрації наведених вище похідних у крові тварин за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції згодовуванням риб'ячим жиром.

З огляду на це метою нашої роботи було дослідження змін концентрації жовчних кислот, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, тестостерону, альдостерону й кортизолу в крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції згодовуванням риб'ячим жиром.

### Матеріали та методи

Дослідження проведено в умовах віварію на статевозрілих самцях білих щурів живою масою 180–200 г. Було сформовано три групи щурів по три тварини, аналогів за віком і живою масою. Щури контрольної групи отримували стандартний розсипний комбікорм, а I і II дослідної – такий самий комбікорм, але з додаванням відповідно хімічно чистого холестеролу ("Merck", Німеччина) в кількості 300 мг/кг живої маси на добу для викли-

кання гіперхолестеринемії та суміші цього ж холестеролу з фармакопейним препаратом “Риб’ячий жир” (“Галичфарм”, м. Львів), який додавали в кількості 1,0 мл/кг живої маси. Перед додаванням кристалів холестеролу до комбікорму їх ретельно розтирали до борошноподібного стану у фарфоровій ступці. Після цього холестерол і риб’ячий жир додавали до комбікорму та добре перемішували. Дослід тривав 90 днів. У кінці досліду провели забій щурів шляхом декапітації під ефірним наркозом. Отримані від тварин зразки сироватки та плазми крові використали для лабораторних досліджень.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Концентрацію жовчних кислот у сироватці крові визначали методом хроматографії на папері [2], а 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, тестостерону, альдостерону та кортизолу в плазмі крові – загальноприйнятим імуноферментним методом.

Отриманий цифровий матеріал оброблено методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [7]. Розраховували середні арифметичні значення та похибки середніх арифметичних. Зміни вважалися вірогідними при  $p < 0,05$ . Для розрахунків використано спеціальну комп’ютерну програму Origin 6.0, Excel (Microsoft, USA).

#### Результати і їхнє обговорення

Констатовано, що за умов експериментальної гіперхолестеринемії є тенденція до збільшення концентрації таурохолевої, глікохолевої, глікодезоксихолевої, холевої та дезоксихолевої кислот у сироватці крові щурів. З даних, наведених у таблиці, видно, що концентрація вказаних жовчних кислот у сироватці крові щурів збільшується на 25,7–152,2% ( $p < 0,05$ – $0,01$ ) за експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром, порівняно з тваринами, які споживали основний раціон (комбікорм).

Відзначено, що у плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії є також тенденція до зростання вмісту тестостерону. Вірогідне зростання вмісту тестостерону в плазмі крові щурів на 38,9% ( $p < 0,05$ ), порівняно зі щурами контрольної групи, існує за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром.

Крім того, встановлено, що в плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії, порівняно з тваринами контрольної групи, підвищується на 57,6% ( $p < 0,01$ ) рівень 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, на 10,7% ( $p < 0,01$ ) – альдостерону та на 44,1% ( $p < 0,05$ ) – кортизолу. Більше виражене зростання рівня названих показників відзначено у щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром (відповідно на 65,4%,  $p < 0,01$ ; на 17,8%,  $p < 0,05$ ; на 49,8%,  $p < 0,01$ ). Причому підвищення вмісту 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, альдостерону та кортизолу в плазмі крові щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром (II дослідна група), проходить дещо інтенсивніше, ніж у плазмі крові щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії (відповідно на 4,9%,  $p < 0,05$ ; на 6,4%,  $p < 0,01$ ; на 3,9%,  $p < 0,05$ ) – I дослідна група.

У попередніх дослідженнях нами було показано, що за експериментальної гіперхолестеринемії в крові та тканинах щурів зростає вміст етерифікованого переважно з насиченими та мононенасиченими жирними кислотами холестеролу [3, 4]. За експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром, у крові та тканинах щурів підвищується рівень етерифікованого холестеролу, головним чином, з поліненасиченими жирними кислотами.



Концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, альдостерону та кортизолу в крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції, (M±m, n=3)

Досліджувані показники та одиниці виміру	Групи тварин		
	Контрольна (комбікорм)	I дослідна (комбікорм+холестерол)	II дослідна (комбікорм+холестерол+риб'ячий жир)
Жовчні кислоти в сироватці крові			
Таурохолева, г <sup>-3</sup> /л	0,42±0,023	0,45±0,026	0,54±0,029*
Глікохолева, г <sup>-3</sup> /л	0,57±0,029	0,65±0,035	0,72±0,037*
Глікодезоксихолева, г <sup>-3</sup> /л	0,23±0,011	0,43±0,113	0,58±0,018**
Холева, г <sup>-3</sup> /л	0,20±0,052	0,28±0,020	0,37±0,023*
Дезоксихолева, г <sup>-3</sup> /л	0,74±0,037	0,83±0,037	0,93±0,049*
Статеві гормони в плазмі крові			
Тестостерон, нмоль/л	6,45±1,045	8,77±0,168	8,96±0,185*
Жиророзчинні вітаміни в плазмі крові			
25–ОН – вітамін D <sub>3</sub> , нг/мл	3,47±0,254	5,47±0,323**	5,74±0,292**
Кортикостероїди в плазмі крові			
Альдостерон, пг/мл	997,1±12,49	1104,0±17,83**	1175,0±58,01*
Кортизол, нмоль/л	54,6±3,396	78,7±4,302*	81,8±3,389**

**Примітка.** \* – різниця порівняно з контролем вірогідна з p<0,05; \*\* – p<0,01.

Переважаюча етерифікація холестеролу крові та тканин щурів насиченими і мононенасиченими жирними кислотами за гіперхолестеринемії може вказувати на підвищення його кристалічності й погіршення міжтканинного транспорту. Холестерол із підвищеною, за рахунок наведених вище жирних кислот, кристалічністю легко відкладається на стінках кровоносних судин [9, 13, 14]. Навпаки, переважаюча етерифікація холестеролу крові та тканин щурів поліненасиченими жирними кислотами за гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риба́чим жиром, може вказувати на зменшення його кристалічності й покращення міжтканинного транспорту [15, 16]. Холестерол зі зниженою, за рахунок наведених вище жирних кислот, кристалічністю легко транспортується кров'ю до тканин. У печінці, шкірі, наднирниках і статевих залозах він частково трансформується відповідно до жовчних кислот, вітаміну D<sub>3</sub>, кортикостероїдів і статевих гормонів [1, 17, 18].

Згодовуваний риба́чий жир прискорює трансформацію холестеролу в жовчні кислоти, тестостерон, 25–ОН–вітамін D<sub>3</sub>, кортизол і альдостерон в органах щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, внаслідок чого збільшується концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, кортизолу й альдостерону в крові.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бауман В. К. Биохимия и физиология витамина D<sub>3</sub>. Рига: Зинатне, 1989. 480 с.
2. Громашевская Л. Л., Неборачко В. С., Счастливцев В. Н. Флюорометрическое определение желчных кислот в сыворотке крови с использованием хроматографии // Лабораторное дело. 1971. № 4. С. 195–202.
3. Гураль А. Л., Співак М. Я. Практичний посібник з імуноферментного аналізу // НАН України. Технологічний парк ІМК. Наук.-вироб. компанія “Діапроф-Мед”. 2005. 63 с.
4. Дябога Ю. З. Ліпідний склад плазми крові, печінки та скелетних м'язів щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції риба́чим жиром // Біологія тварин. 2011. Т. 13. № 1–2. С. 91–98.
5. Дябога Ю. З. Вплив різного вмісту та жирнокислотного складу етерифікованого холестеролу в організмі щурів на концентрацію жовчних кислот у їхній крові // Наук. вісн. Волин. ун-ту. Сер. біол. науки. 2012. № 2 (227). С. 50–55.

6. Журавлева М. В. Коррекция нарушенных липидного обмена // *Consilium medicum*. 2010. № 5. С. 113–118.
7. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. СПб.: Питер Пресс, 1995. 304 с.
8. Лопач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. К.: Мартон, 2001. 410 с.
9. Мітченко О. І., Лутай М. І. Дисліпідемії: Діагностика, профілактика та лікування // Міжнар. ендокринолог. журнал. 2011. № 6 (38). С. 115–129.
10. Мороз О. Ф., Весельський С. П., Леценко Т. П., Нурищенко Н. Є. Зміни співвідношення ліпідних компонентів жовчі щурів при застосуванні нейропептиду бомбезину // Укр. біохім. журнал. 2009. Т. 81. № 1. С. 52–58.
11. Перова Н. В., Метельская В. А. Коррекция нарушенных липопротеидного спектра крови как фактора развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний // *Здравоохранение*. 2011. № 1. С. 31–46.
12. Покотило О. С. Вплив поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 на ліпогенез і холестериногенез в організмі морських свинок і білих щурів за нормальних умов і при холестериновому навантаженні: дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.04. Львів, 2008. 263 с.
13. Савицький І. В. Біологічна хімія. К.: Вища школа, 1973. 486 с.
14. Талаєва Т. В., Амброскіна В. В., Крячок Т. А., Братусь В. В. Системний характер порушень обміну ліпопротеїдів крові як основа патогенезу атеросклерозу // *Журнал АМН України*. 2007. Т. 13. № 1. С. 45–64.
15. Cullis P. R., Fenske D. B., Hope M. J. Physical properties and functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Amsterdam: Elsevier Science B. Vol. 1996. P. 1–32.
16. Faidley T. D., Luchman C. M., Galloway S. T. et al. Dietary beef tallow alters the fatty acid profiles of bile and liver membranes, but not secretion of cholesterol in bile // *Nutr. Res*. 1999. Vol. 19. Is. 7. P. 1027–1039.
17. Fernandez M. L., West K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids // *J. Nutr*. 2005. Vol. 135. P. 2075–2078.
18. Geelen M. J. H., Schoots W. J., Bijleveld C., Beynen A. C. Dietary medium-chain fatty acid raise and (n-3) polyunsaturated fatty acids lower hepatic triacylglycerol synthesis in rats // *J. Nutr*. 1995. Vol. 125. P. 2449–2456.
19. Holick M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets // *J. Clin. Invest*. Vol. 116. N 8. P. 2062–2072.
20. Jolley C. D., Dietschy J. M., Turley S. D. Induction of bile acid synthesis by cholesterol and cholestyramine feeding is unimpaired mice deficient in apolipoprotein AI // *Hepatology*. 2003. Vol. 32. P. 1309–1316.
21. Kamisako T., Ogawa H. Effect of cholesterol, cholic acid and cholestyramine administration on the intestinal mRNA expression related to cholesterol and bile acid metabolism in the rat // *Gastroenterol. and Hepatol*. 2007. Vol. 22. N 11. P. 1832–1837.

Стаття: надійшла до редакції 06.02.13

доопрацьована 16.05.13

прийнята до друку 17.05.13

## TRANSFORMATION OF CHOLESTEROL IN RATS' ORGANS WITH EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERINEMIA AND ITS CORRECTION

Yu. Dlyaboha

*Institute of Animals Biology, NAS of Ukraine  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

*Hypercholesterinemia* in rats created daily, for 90 days, feeding in the food chemically pure cholesterol in quantities of 300 mg/kg body weight. The experimental hypercholesterinemia corrected feeding pharmacopoeial fish oil in quantities of 1 ml/kg body weight. Fish oil is also fed during the above period. As a result of studies found, that fed fish oil accelerates cholesterol transformation into bile acids, testosterone, 25-OH-vitamin D<sub>3</sub>, cortisol and aldosterone in rats' organs with experimental hypercholesterinemia. Thus, the concentrations of bile acids, testosterone, 25-OH-vitamin D<sub>3</sub>, cortisol and aldosterone in rats' blood were increased.

*Keywords:* experimental hypercholesterinemia, bile acids, testosterone, vitamine D<sub>3</sub>, cortisol, aldosterone, rats.

## ТРАНСФОРМАЦИЯ ХОЛЕСТЕРОЛА В ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ И ЕЕ КОРЕКЦИИ

Ю. Длябога

*Институт биологии животных НААН  
ул. В. Стуса 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

Гиперхолестеринемия у крыс создавали путем ежедневного, в течение 90 дней, скармливания в составе корма химически чистого холестерина в количестве 300 мг/кг живой массы. Экспериментальную гиперхолестеринемия коррегировали добавлением к корму фармакопейного рыбьего жира в количестве 1 мл/кг живой массы. Рыбий жир также скармливали в течение указанного выше срока. В результате проведенных исследований установлено, что скармливаемый рыбий жир ускоряет трансформацию холестерина в желчные кислоты, тестостерон, 25-OH-витамин D<sub>3</sub>, кортизол и альдостерон в органах крыс при экспериментальной гиперхолестеринемии. Тем самым увеличивается концентрация желчных кислот, тестостерона, 25-OH-витамина D<sub>3</sub>, кортизола и альдостерона в крови крыс.

Ключевые слова: экспериментальная гиперхолестеринемия, желчные кислоты, тестостерон, витамин D<sub>3</sub>, кортизол, альдостерон, крысы.

## ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ РІАНОДИНЧУТЛИВОГО Ca<sup>2+</sup>-ДЕПО ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ

С. Бичкова

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

У статті висвітлено особливості ріанодинчутливого Ca<sup>2+</sup>-депо гепатоцитів і зміни його функціонування у різних умовах (вікові зміни, вплив інсуліну). Проаналізовано концентрації, за яких ріанодин може активувати, а за яких блокувати вивільнення Ca<sup>2+</sup>. Обговорено взаємозв'язок між ріанодинчутливим депо та мітохондріями. Встановлено, що одночасне активування ріанодин- та IФ<sub>3</sub>-чутливих Ca<sup>2+</sup>-каналів не викликало статистично достовірних змін депонованого Ca<sup>2+</sup>, але після перфузування печінки інсуліновмісним розчином спостерігалось зменшення флуоресценції Ca<sup>2+</sup>-хлортетрациклінового комплексу. Висвітлено особливості впливу ріанодину на АТФ-азні системи гепатоцитів і його зміни після перфузування печінки інсуліновмісним розчином.

*Ключові слова:* ріанодинчутливі Ca<sup>2+</sup>-канали, IФ<sub>3</sub>-чутливі Ca<sup>2+</sup>-канали, мітохондрії, гепатоцити.

Ріанодинчутливі Ca<sup>2+</sup>-канали, або ріанодинові рецептори (RyRs) відкриваються у відповідь на підвищення концентрації йонів Ca<sup>2+</sup> у цитозолі, а тому можуть відповідати за поширення внутрішньоклітинних Ca<sup>2+</sup>-сигналів шляхом Ca<sup>2+</sup>-індукованого вивільнення Ca<sup>2+</sup> [21]. Назва каналу походить від здатності його зв'язувати рослинний алкалоїд ріанодин. Для збудливих тканин, зокрема скелетних м'язів, давно відомо, що у низьких концентраціях (<1 мкмоль/л) ріанодин стимулює вивільнення Ca<sup>2+</sup> зі саркоплазматичного ретикулуму [19, 22], а у високих (> 100 мкмоль/л) – пригнічує його [11, 18]. Зв'язування ріанодину з мікросомальною фракцією, отриманою з гепатоцитів щурів, було неодноразово підтверджено [21, 29]. Показано, що ріанодин також може зв'язуватись як із високоафінними сайтами RyRs, так і з низькоафінними сайтами мікросомальної фракції ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) клітин печінки. Однак виявлено низку відмінностей такого зв'язування, порівняно зі скелетними м'язами. Зокрема, зв'язування ріанодину є Ca<sup>2+</sup>-незалежним і не пригнічується рутенієм червоним і йонами Mg<sup>2+</sup> [29], але його пригнічує кофеїн і дендролен. Такий ефект дослідники пов'язують з тим, що ці речовини зв'язуються з RyRs або тісно асоційованими з ними поліпептидами [29].

Ранні молекулярні дослідження RyRs у гепатоцитах показали, що клітини печінки не експресують мРНК, що кодує серцеву чи скелетну ізоформи RyRs [29]. Було встановлено, що гепатоцити взагалі не експресують RyRs [14]. Згодом [24] показано наявність стовбурової форми RyRs типу 1. Автори не спостерігали достовірних змін базального рівня Ca<sup>2+</sup> у інтактних гепатоцитах за дії ріанодину (1–100 мкмоль/л) і не виявили запуску цитозольних осциляцій Ca<sup>2+</sup> [24]. Вчені констатували лише повільне вивільнення Ca<sup>2+</sup> за дії ріанодину в концентраціях 1–5 мкмоль/л. Такі результати узгоджуються з даними інших авторів [17].

Отже, не викликає сумніву наявність RyRs, але залишається невивченим їхнє фізіологічне значення. Тому метою роботи було з'ясувати, яку роль відіграє ріанодин-чутливе

вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  у гепатоцитах за різних умов і вивчити взаємодію RyRs з іншими системами транспортування  $\text{Ca}^{2+}$ .

### Матеріали та методи

Дослідження проводили на нелінійних щурах масою 0,18–0,2 кг. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Міжнародною конвенцією роботи з тваринами та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Після ефірного наркозу тварин декапітували. Відпрепаровану печінку поміщали у зовнішньоклітинний розчин, який містив у ммоль/л:  $\text{NaCl}$  – 140,0;  $\text{KCl}$  – 4,7;  $\text{CaCO}_3$  – 1,3;  $\text{MgCl}_2$  – 1,0;  $\text{HEPES}$  – 10,0; глюкоза – 10,0;  $\text{pH}=7,4$ . Для вивчення впливу інсуліну проводили перфузування  $\frac{1}{2}$  печінки зовнішньоклітинним розчином, що містив інсулін («Монодар») (0,04 МО).

Ізольовані гепатоцити отримували згідно з рекомендаціями ECVAM [5]. Для пермеабілізації клітин використовували сапонін у концентрації 0,01 мг/мл, який додавали до внутрішньоклітинного розчину такого складу (ммоль/л):  $\text{NaCl}$  – 20,0;  $\text{KCl}$  – 120,0;  $\text{MgCl}_2$  – 1,13;  $\text{HEPES}$  – 10,0;  $\text{pH}=7,0$ . Інкубування зі сапоніном проводили впродовж 10 хв за присутності АТФ («Sigma», США) – 2,0 ммоль/л і  $\text{CaCl}_2$  – 1,3 ммоль/л при постійному струшуванні та сталій температурі (36°C), після чого клітини відмивали внутрішньоклітинним розчином. Пермеабілізовані гепатоцити інкубували у внутрішньоклітинному розчині (контроль) та дослідних розчинах, які містили окремо інозитол -1,4,5-трифосфат ( $\text{IP}_3$ ) («Sigma», США) (10 мкмоль/л), ріанодин («Sigma», США) (100 мкмоль/л). Після закінчення інкубації клітини відмивали внутрішньоклітинним розчином і фарбували 15 хв хлортетрацикліном (ХТЦ) (20 мкмоль/л) за кімнатної температури. Клітини відмивали від барвника внутрішньоклітинним розчином. Вимірювали інтенсивність флуоресценції  $\text{Ca}^{2+}$ -ХТЦ-комплексу в окремих клітинах за допомогою цитофлуориметра ЛЮМАМ-И-1 (Росія) при збільшенні 40x7 з діаметром щілини 5 мм та інтерференційним фільтром  $\lambda_{\text{max}}=541\pm 12$  нм.

### Результати і їхнє обговорення

Ми звернули увагу на те, що у пермеабілізованих гепатоцитах автори не використовували концентрацій ріанодину, що є нижчими за 1 мкмоль/л. Тому припустили, що саме у наномолярному діапазоні може спостерігатись активування RyRs за рахунок зв'язування його з високоафінними сайтами ріанодинового рецептора. Ці припущення підтвердили наші попередні експерименти [1]. Ріанодин у концентраціях 5, 50 і 500 нмоль/л викликав статистично достовірне збільшення вмісту депонованого  $\text{Ca}^{2+}$ , що, на нашу думку, відображає активування каналу. Збільшення флуоресценції комплексу ХТЦ- $\text{Ca}^{2+}$  можна пояснити тим, що ми інкубували клітини у номінально безкальцієвому середовищі, що не містило EGTA- $\text{Ca}^{2+}$ -буфера. За таких умов концентрація вільного  $\text{Ca}^{2+}$  у цитозолі ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) могла бути суттєво вищою за фізіологічний рівень у спокої. Тому  $\text{Ca}^{2+}$ , вивільнений за дії ріанодину, міг реакумулюватись іншими  $\text{Ca}^{2+}$ -депо, наприклад, мітохондріями. Такі міркування підтверджені подальшими експериментами за різної  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ , яка моделювалась за допомогою EGTA- $\text{Ca}^{2+}$ -буферів. Виявилось, що дія ріанодину у блокуючій концентрації (100 мкмоль/л) викликає збільшення вмісту депонованого  $\text{Ca}^{2+}$  за умов, якщо  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  підтримувати у діапазоні від 100 до 300 нмоль/л (рис. 1). Якщо ж середовище інкубування пермеабілізованих гепатоцитів не містить EGTA- $\text{Ca}^{2+}$ -буфера, тоді ріанодин (100 мкмоль/л) викликає незначне зменшення вмісту депонованого  $\text{Ca}^{2+}$ , тобто ефект є протилежним до того, що спостерігався за активуючих концентрацій (наномолярний діапазон). Таким чином, вплив ріанодину на пермеабілізовані гепатоцити виявляє його залежність від  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ .

У літературі багато даних про взаємозв'язок між вивільненням  $\text{Ca}^{2+}$  з ЕПР та поглинанням його сусідніми мітохондріями [8, 13, 26, 27, 29]. Показано, що ділянки тісного кон-

такту між цими органелами, так звані мітохондріально-споріднені мембрани (mitochondria associated membranes-MAM) містять макромолекулярні комплекси зовнішньомітохондріальної мембрани (mitochondrial outer membrane-ОММ) та ЕПР. У транспорті  $\text{Ca}^{2+}$  крізь ОММ важливу роль відіграє потенціалозалежний аніонний канал (the voltage dependent anion channel – VDAC) [26]. Ми використовували рутеній червоний з метою блокування акумулювання  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями [1]. Показано, що сайти зв'язування рутенію червоного наявні на VDAC [15]. Рутеній червоний (10 нмоль/л) виражено зменшує вміст  $\text{Ca}^{2+}$  в депо на  $(56,29 \pm 5,41)\%$  ( $P < 0,01$ ,  $n=6$ ), як у номінально безкальцієвому середовищі, і у середовищі, що містило EGTA- $\text{Ca}^{2+}$ -буфер ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}} = 300$  нмоль/л).

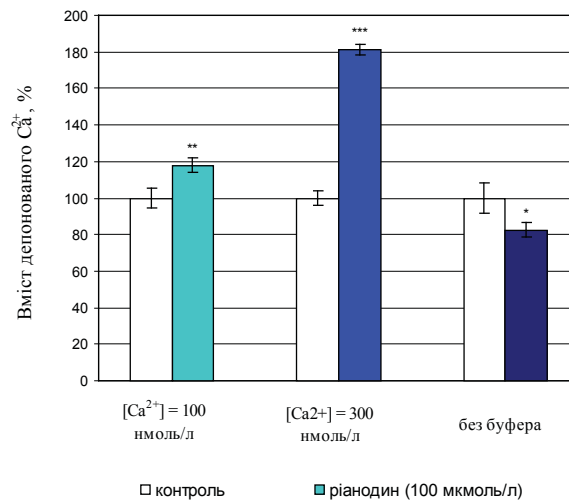


Рис. 1. Вплив ріанодину (100 мкмоль/л) на вміст депонованого  $\text{Ca}^{2+}$  за різної концентрації  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  пермеабілізованих гепатоцитів щурів (виражено в % від вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  у контролі), \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $0,01 < p < 0,05$ .

Нами було встановлено, що за сумісної дії рутенію та ріанодину (5 нмоль/л) у пермеабілізованих гепатоцитах статевозрілих щурів спостерігається збільшення вмісту депонованого  $\text{Ca}^{2+}$  на  $17,41 \pm 7,38\%$  ( $P < 0,05$ ,  $n=13$ ). Оскільки дія самого лише ріанодину викликає такий самий ефект, то рутеній червоний не порушує його впливу. Можна припустити, що це зумовлено акумулюванням  $\text{Ca}^{2+}$ , вивільненого за дії ріанодину, у мембранах ЕПР. Такий взаємозв'язок постулюється, зокрема, для адипоцитів і клітин скелетних м'язів [9]. Для останніх відомою є локалізація RyRs і  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-ази у мембранах саркоплазматичного ретикулуму. Однак це припущення було спростоване нашими подальшими експериментами [4]. Виявлено, що за дії ріанодину на мікосомальну фракцію клітин печінки щурів не спостерігається змін питомої активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз [4].

Отже, залишається незрозумілою природа  $\text{Ca}^{2+}$ -вмісного депо, у якому відбувається накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  після застосування ріанодину в гепатоцитах статевозрілих щурів. Ми припускаємо, що це так зване ацидофільне депо клітин. Ним є ендосомний апарат гепатоцитів, кислий вміст якого забезпечує робота  $\text{H}^+$ -АТФ-ази,  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -антипортер або  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмінник, спряжений з  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  обмінником. На користь цього припущення свідчить виявлене нами збільшення за дії ріанодину активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази і базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази [4]. Т. Фельдман і співавт. [9] вважають, що  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-аза є ключовим гравцем у регулюванні ендосомального рН і переміщенні ендосом у клітині, у регулюванні

клітинного об'єму, цитоплазматичного рН і рівня  $\text{Ca}^{2+}$  через  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ - і  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінники, відповідно [16, 23, 26]. Тому активування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази і базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази за дії ріанодину може свідчити про активування ендосомного апарату клітин.

Відомо, що у гепатоцитах ендосомний апарат містить «потужну машину» перетворення сигналу [25]. Добре вивченим є внутрішньоклітинне сигналювання від рецепторів інсуліну в ендосомальній фракції гепатоцитів [4, 17]. Деградація інсуліну відбувається в ендосомах і пов'язана з АТФ-залежним закисненням останніх [9]. Зокрема, показано, що пригнічення закиснення ендосом веде до зменшення інсулінового сигналу в гепатоцитах [9] і призводить до деградації інсуліну [6]. Попередня обробка гепатоцитів бафоміцином пригнічувала вакуолярне закиснення, а подальше інкубування таких клітин з інсуліном викликало аугментацію активності кінази інсулінових рецепторів, пригнічувало активність фосфатидилінозитол-3-кінази та зменшувало інсулін-індукований синтез ДНК та глікогену [7]. Отже, вакуолярне рН може функціонувати як модулятор інсулінового сигналу в ендосомах гепатоцитів.

Нами встановлено, що після перфузії печінки інсуліновмісним розчином ріанодин не викликав статистично достовірних змін АТФ-азної активності [4]. Отже, перфузія печінки інсуліном повністю перешкоджає впливові ріанодину на АТФ-азну активність мембран. Ми припустили, що ефекти ріанодину й інсуліну реалізуються через одні й ті ж транспортувальні системи, що підтверджують дані кореляційного аналізу [4]. Ймовірно, що вивільнений за дії ріанодину  $\text{Ca}^{2+}$  акумулюється в ацидофільному депо. Перфузія печінки інсуліном викликає зміни в ендосомному апараті гепатоцитів, що порушує вплив ріанодину на АТФ-азну активність мікросомальної фракції.

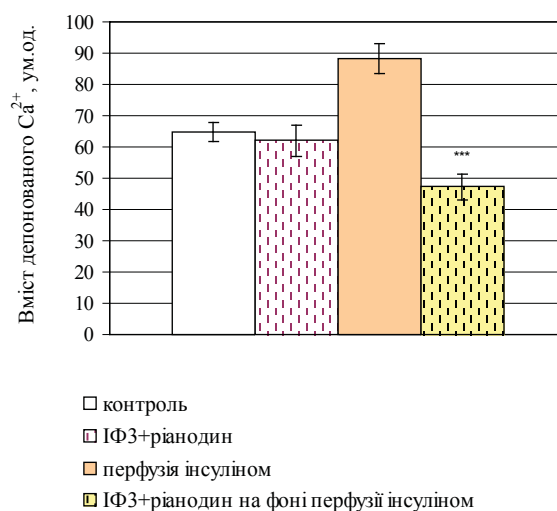


Рис. 2. Вплив сумісної дії ріанодину (5 нмоль/л) та ІФ<sub>3</sub> (10 мкмоль/л) на вміст депонованого кальцію у контролі та після перфузування печінки інсуліновмісним розчином, \*\*\*  $p < 0,001$ .

Сумісна дія ріанодину (5 нмоль/л) та ІФ<sub>3</sub> (10 мкмоль/л) на фоні перфузії печінки інсуліновмісним розчином викликала статистично достовірне зменшення вмісту депонованого  $\text{Ca}^{2+}$  на  $(40,03 \pm 7,68)\%$  ( $0,01 < P < 0,001$ ,  $n=8$ ). У контролі (рис. 2) сумісне застосування ІФ<sub>3</sub> та ріанодину не змінювало депонований  $\text{Ca}^{2+}$  пермеабілізованих гепатоцитів, хоча окремо і ріанодин, і ІФ<sub>3</sub> викликає статистично достовірне збільшення його вмісту. Отже, після перфузії печінки інсуліновмісним розчином змінилися взаємозв'язки між RyRs та ІФ<sub>3</sub>-чутливими

Ca<sup>2+</sup>-каналами (IP<sub>3</sub>Rs). Очевидно, інсулін спричиняє перерозподіл Ca<sup>2+</sup>-транспортувальних систем у внутрішньоклітинних депо, внаслідок активування ендосомного апарату гепатоцитів і його рециркуляції. Ми припускаємо, що активування RyRs залучає якимось чином ацидофільне депо гепатоцитів. На відміну від IP<sub>3</sub>Rs, які асоційовані з ЕПР та мають тісні зв'язки з мітохондріями [2].

Нами досліджена вікова залежність функціонування RyRs у гепатоцитах щурів [1]. Було встановлено, що додавання ріанодину (5 нмоль/л) до середовища інкубування пермеабілізованих гепатоцитів статевонезрілих і старих щурів викликає зменшення вмісту депонованого Ca<sup>2+</sup>, а у групі статевозрілих тварин, навпаки, – збільшення. Такі ж зміни депонованого Ca<sup>2+</sup> гепатоцитів щурів різних вікових груп отримані нами й за дії ІФ<sub>3</sub> [1], що свідчить на користь тісного взаємозв'язку між RyRs та IP<sub>3</sub>Rs, який не змінюється з віком. Показано [3], що з віком підвищується чутливість мітохондрій до Ca<sup>2+</sup>, а це може викликати перевантаження ним цих органел і спричинити клітинну смерть. Ми припускаємо, що, залежно від віку й ступеня розвитку гепатоцита, взаємозв'язок між його Ca<sup>2+</sup> депо, зокрема ЕПР та мітохондріями, змінюється. Це може лежати в основі вікових змін.

Сумісна дія ріанодину (5 нмоль/л) та рутенію червоного у пермеабілізованих гепатоцитах статевонезрілих щурів викликає статистично достовірне зменшення вмісту депонованого Ca<sup>2+</sup>. На нашу думку, це вказує на відсутність взаємозв'язку між вивільненням Ca<sup>2+</sup> під впливом ріанодину й акумулюванням його мітохондріями, оскільки сумісна дія ріанодину та рутенію є поєднанням їхніх поодиноких ефектів. Отже, у цій віковій групі вивільнений за дії ріанодину Ca<sup>2+</sup> не акумулюється мітохондріями. У групі старих щурів не спостерігається статистично достовірних змін вмісту депонованого Ca<sup>2+</sup> у пермеабілізованих гепатоцитах за одночасної наявності в середовищі інкубації ріанодину та рутенію червоного. Однак у цій групі окремо ріанодин, як і рутеній, зменшують вміст депонованого Ca<sup>2+</sup>, а отже, сумісна їхня дія мала би посилювати цей ефект, але цього не спостерігається. Тому ми припускаємо наявність взаємозв'язку між вивільненням Ca<sup>2+</sup> за дії ріанодину і акумулюванням його уніпортером мітохондрій у групі старих щурів. Це може бути пов'язано із віковими змінами клітин, адже показано, що порушення взаємодії між ЕПР і мітохондріями лежить в основі апоптозу [8, 13].

Встановлено, що дія ріанодину залежить від [Ca<sup>2+</sup>]<sub>цит.</sub>. Показано, що ріанодин (5, 50, 500 нмоль/л) активує RyRs гепатоцитів щурів, а у концентрації 100 мкмоль/л блокує його. Виявлено тісний взаємозв'язок між RyRs та IP<sub>3</sub>Rs, який не змінюється з віком, але порушується після перфузування печінки інсуліном. Показано, що активування RyRs залежить від віку тварин. Встановлено, що залежність між RyRs і уніпортером мітохондрій наявна лише у групі старих тварин. Ми не виявили взаємозв'язку між RyRs та Ca<sup>2+</sup>-помпою мембран гепатоцитів, але встановили збільшення активності Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>- та базальної Mg<sup>2+</sup>-АТФ-аз за дії ріанодину. Перфузування печінки інсуліном повністю перешкоджає впливові ріанодину на АТФ-азну активність мембран і порушує взаємодію між IP<sub>3</sub>Rs та RyRs.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бичкова С. В. Вікові особливості взаємодії між внутрішньоклітинними Ca<sup>2+</sup>-транспортувальними системами пермеабілізованих гепатоцитів щурів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 48. С. 146–152.
2. Бичкова С. В., Чорна Т. І. Вплив ІФ<sub>3</sub> на АТФ-азну активність мембранних везикул гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсуліновмісним розчином // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2012. Т. 6. № 1. С. 47–54.



3. *Дубицький Л., Наливайко Н., Кравенська С.* Залежність  $\text{Ca}^{2+}$  акумульованої функції мітохондрій печінки від віку тварин // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 153–158.
4. *Чорна Т., Бичкова С.* Вплив ріанодину на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсулінвмісним розчином // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 55. С. 170–178.
5. *Blaauboer B. J., Boobis A. R., Castell J. V.* et al. The practical applicability of hepatocyte cultures in routine testing. The report and recommendations of ECVAM Workshop 1. ATLA 1994. Vol. 22. P. 231–241.
6. *Balbis A., Baquiran G., Dumas V., Posner B. I.* Effect of inhibiting vacuolar acidification on insulin signaling in hepatocytes // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. N 13. P. 12777–12785.
7. *Bevan A. P., Burgess J. W., Drake P. G.* et al. Selective activation of the rat hepatic endosomal insulin receptor kinase. Role for the endosome in insulin signaling // J. Biol. Chem. 1995. Vol. 270. N 18. P. 10784–10791.
8. *Colins O. E., Eckenrode E. F., Olberding K. E.* et al. Distinct roles of mitochondria- and ER-localized Bcl-x<sub>L</sub> in apoptosis resistance and  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis // Mol. Biol. Cell. 2012. Vol. 23. N 13. P. 2605–2618.
9. *Desbuquois B., Janicot M., Dupuis A.* Degradation of insulin in isolated liver endosomes is functionally linked to ATP-dependent endosomal acidification // Eur. J. Biochem. 1990. Vol. 193. N 2. P. 501–512.
10. *Feldmann T., Glukmann V., Medvenev E.* et al. Role of endosomal  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase and cardiac steroids in the regulation of endocytosis // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2007. Vol. 293. N 3. P. 885–896.
11. *Fleischer S., Inui M.* Biochemistry and biophysics of excitation-contraction coupling // Annu. Rev. Biophys. Chem. 1989. Vol. 18. P. 333–364.
12. *Gilchrist J. S., Palahniuk C., Abrenica B.* et al. RyR1/SERCA1 cross-talk regulation of calcium transport in heavy sarcoplasmic reticulum vesicles // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2003. Vol. 81. N 3. P. 220–233.
13. *Giorgi C., De Stefani D., Bononi A.* et al. Structural and functional link between the mitochondrial network and the endoplasmic reticulum // J. Biochem. Cell Biol. 2009. Vol. 41. N 10. P. 1817–1827.
14. *Hirata K., Puhl T., O'Neill A. F.* et al. The type II inositol 1,4,5-trisphosphate receptor can trigger  $\text{Ca}^{2+}$  waves in rat hepatocytes // Gastroenterol. 2002. Vol. 122. P. 1088–1100.
15. *Israelson A., Zaid H., Abu-Hamad S.* et al. Mapping the ruthenium red-binding site of the voltage-dependent anion channel-1 // Cell Calcium. 2008. Vol. 43. N 2. P. 196–204.
16. *Kaplan J. H.* Biochemistry of  $\text{Na}^{+}$ , $\text{K}^{+}$ -ATPase // Annu. Rev. Biochem. 2002. Vol. 71. P. 511–535.
17. *Khan M. N., Savoie S., Bergeron J. J.* Characterization of rat liver endosomal fractions. In vivo activation of insulin-stimulable receptor kinase in these structures // Biol. Chem. 1986. Vol. 261. N 18. P. 8462–8472.
18. *Lai F. A., Meissner G. J.* The muscle ryanodine receptor and its intrinsic  $\text{Ca}^{2+}$  channel activity // Bioenerg. Biomembr. 1989. Vol. 21. P. 227–245.
19. *Lattanzio F. A., Schlatterer R. G., Nicar M.* et al. The effects of ryanodine on passive calcium fluxes across sarcoplasmic reticulum membranes // J. Biol. Chem. 1987. Vol. 262. P. 2711–2718.
20. *Lilly L. B., Gollan J. L.* Ryanodine-induced calcium release from hepatic microsomes and permeabilized hepatocytes // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 1995. Vol. 268. P. G1017–G1024.

21. McNulty T. J., Taylor C. W. Caffeine-stimulated  $\text{Ca}^{2+}$  release from the intracellular stores of hepatocytes is not mediated by ryanodine receptors // *Biochem J.* 1993. Vol. 291 (Pt 3). P. 799–801.
22. Meissner G. Ryanodine activation and inhibition of the  $\text{Ca}^{2+}$  release channel of sarcoplasmic reticulum. // *J. Biol. Chem.* 1986. Vol. 261. P. 6300–6306.
23. Mobasher A., Avila J., Cozar-Castellano I. et al.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase isozyme diversity; comparative biochemistry and physiological implications of novel functional interactions // *Biosci. Rep.* 2000. Vol. 20. P. 51–91.
24. Pierebon N., Renard-Rooney D. C., Gaspers L. D. Ryanodine receptors in liver // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 45. P. 34090.
25. Pol A., Calvo M., Enrich C. Isolated endosomes from quiescent rat liver contain the signal transduction machinery. Differential distribution of activated Raf-1 and Mek in the endocytic compartment // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 441. N 1. P. 34–38.
26. Rizzuto R., Duchen M.R., Pozzan T. Flirting in little space: the ER/mitochondria  $\text{Ca}^{2+}$  liaison // *Sci STKE.* 2004. Vol. 215. № re 1.
27. Rizzuto R., Pozzan T. Microdomains of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ : molecular determinants and functional consequences // *Physiol. Rev.* 2006. Vol. 86. P. 369–408.
28. Shoshan-Barmatz V., Israelson A., Brdiczka D., Sheu S. S. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death // *Curr Pharm Des.* 2006. Vol. 12. N 18. P. 2249–2270.
29. Shoshan-Barmatz V., Pressley T.A., Higham S., Kraus-Friedmann N. Characterization of high-affinity ryanodine-binding sites of rat liver endoplasmic reticulum Differences between liver and skeletal muscle // *Biochem. J.* 1991. Vol. 276. P. 41–46.
30. Szabadkai G., Bianchi K., Várnai P. et al. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  channels // *J.C.B.* 2006. Vol. 175. N 6. P. 901–911.

Стаття: надійшла до редакції 19.02.13

прийнята до друку 16.05.13

## FEATURES OF FUNCTIONING RYANODINE-SENSITIVE $\text{Ca}^{2+}$ -STORES OF RAT HEPATOCYTES

S. Bychkova

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

The article is observed the features of ryanodine-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$ -store in hepatocytes and change of their functioning in different conditions (age-related changes, the effect of insulin). It was analyzed the concentration in which ryanodine can activate, and in which can inhibit the release of  $\text{Ca}^{2+}$ . We discuss the relationship between ryanodine-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$ -store and mitochondria. It was established that simultaneous activation RyRs and  $\text{IP}_3$ Rs does not cause statistically significant changes of stored  $\text{Ca}^{2+}$ , but perfusion of liver by insulin-content solution decreases the  $\text{Ca}^{2+}$ -content. It was discussed specialties of ryanodine influence on ATPase activity of hepatocytes and its changes after perfusion of liver by insulin-content solution.

*Keywords:* ryanodine-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$ -channels,  $\text{IP}_3$ Rs, mitochondria, hepatocytes.

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РИАНОДИНЧУВСТВИТЕЛЬНОГО Ca<sup>2+</sup>-ДЕПО ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС

С. Бичкова

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

В статье освещены особенности рианодинчувствительного Ca<sup>2+</sup>-депо гепатоцитов и изменения их функционирования в разных условиях (возрастные изменения, влияние инсулина). Проанализированы концентрации, при которых рианодин активирует и при которых блокирует освобождение Ca<sup>2+</sup>. Обсуждается взаимосвязь между рианодинчувствительным депо и митохондриями. Установлено, что одновременное активирование рианодин- и ИФ<sub>3</sub>-чувствительных Ca<sup>2+</sup>-каналов не вызывает статистически вероятных изменений депонированного Ca<sup>2+</sup>, но после перфузирования печени инсулинсодержащим раствором наблюдалось уменьшение флуоресценции Ca<sup>2+</sup>-хлортетрациклинового комплекса. Обсуждены особенности влияния рианодина на АТФ-азные системы гепатоцитов и его изменения после перфузирования печени инсулинсодержащим раствором.

*Ключевые слова:* рианодин-чувствительные Ca<sup>2+</sup>-каналы, ИФ<sub>3</sub>-чувствительные Ca<sup>2+</sup>-каналы, митохондрии, гепатоциты.

## ОСОБЛИВОСТІ МАКРОМОРФОЛОГІЇ МОЗОЧКА ПТАХІВ РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ГРУП

Я. Омельковець, М. Березюк\*

*Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки  
пр. Волі, 13, Луцьк 43025 Україна  
e-mail: Berezmaryia@ukr.net*

Локомоція птахів характеризується значною динамікою рухів, що потребує чіткої координації роботи м'язів і контролю положення тіла у просторі та відповідного розвитку мозочка як структури, що здійснює контроль над цими процесами. У процесі філогенезу Aves адаптивна радіація дала можливість представникам класу опанувати різноманітні екологічні ніші. Зовнішні умови стали визначальними у формуванні типів живлення та способів локомоції. Такі ідіоадаптації відбиваються на будові всіх органів і систем, у тому числі й мозочка. У зв'язку з цим морфо-екологічні дослідження мозочка представників різних екологічних груп птахів є особливо актуальними, оскільки дають змогу виявити відмінності в макроструктурі cerebellum, спричинені адаптаціями до певних умов навколишнього середовища. У процесі дослідження було встановлено, що поверхня мозочка розділена первинними щілинами на десять первинних листків (folia), що формують 8 часточок (lobulus) об'єднаних у дві частини (pars): передню (anterior) та задню (posterior). Розміри часточок (lobulus), поділ первинних листків (folia) на вторинні і третинні та відносна маса й об'єм мозочка відрізняються у птахів різних екологічних груп.

*Ключові слова:* птахи, мозочок, частки мозочка, часточки мозочка, листки мозочка.

Головна функція мозочка – це забезпечення узгодженої рухової активності й подолання в моториці двох основних властивостей маси – тяжіння та інерції [1]. Ступінь розвитку cerebellum залежить від багатьох факторів, зокрема від складності рухової активності тварин конкретного виду та м'язової маси їх тіла.

Питання будови мозочка хребетних розглядали багато авторів. Однак вивчення макроморфології цього органа саме у птахів і встановлення гомології його окремих частин (часточок та щілин) із такими у ссавців є фрагментарними [7]. Тому особливої актуальності набувають комплексні морфоекологічні дослідження мозочка представників різних екологічних груп птахів, результати яких дають змогу виявити відмінності макроморфології цього відділу мозку, викликані адаптацією до тих чи інших умов навколишнього середовища.

Тому ми поставили за мету дослідити диференціацію черв'яка мозочка птахів, що належать до різних екологічних груп, і зробити спробу трактування виявлених відмінностей у морфоекологічному аспекті.

Виходячи з цього, обрали такі групи об'єктів:

1) індик звичайний (*Meleagris gallopavo* L.) є поганим літуном і пересувається суходолом не дуже спритно. Крім того, в умовах одомашнення гама його рухових потенцій дуже збіднена;

2) лиска (*Fulica atra* L.) селиться поблизу закритих водойм, однаково добре плаває та пересувається суходолом. Гнізда будує на купинах із високою травою, активна в сутін-

ках. За зовнішнім виглядом нагадує куроподібних (завдяки відсутності плавальних перетинок на лапах і формі дзьоба), тому отримала народну назву водяна курочка. Довгі кінцівки сприяють вправному пересуванню між високою болотяною рослинністю в темряві;

3) горобець хатній (*Passer domesticus* (L.)), припутень (*Columba palumbus* L.) і сорока звичайна (*Pica pica* (L.)) – птахи, здатні до польоту;

4) крижень (*Anas platyrhynchos* L.) і чирок-тріскунець (*Anas querquedula* L.) використовують три типи руху (суходолом, політ, плавання на поверхні водного плеса). Крім того, чирок вправно пірнає і може, рухаючись під водою, вистежувати здобич. Обидва види перелітні, тобто здатні до тривалого польоту.

#### Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження слугував мозочок лиски – 5 екземплярів, горобця хатнього – 5 екземплярів, припутня – 5 екземплярів, сороки звичайної – 5 екземплярів, крижня – 5 екземплярів, чирка-тріскунца – 5 екземплярів, індика звичайного – 5 екземплярів.

Забій тварин проводили згідно із загальноприйнятими методиками [3, 7, 14]. Для умертвлення птаха поміщали під скляний ковпак із ватним тампоном, просоченим ефіром. Анальгезація не застосовувалася. Голову птаха, звільнену від тканин, фіксували в 5% розчині нейтрального формаліну протягом двох місяців. За цей час матеріал ущільнювався і ставав готовим до препарування [5]. Після ретельного промивання та зневоднення мозочок поміщали в гомогенізовану парафінову суміш (Histomix) [3]. Різку матеріалу проводили серійно в сагітальній і фронтальній площинах (товщина зрізу 15 мкм) на санному мікротомі МС–10. Зрізи фарбували тіоніном (1:1000) і креозил-віолетом (0,5%) за Ніслем.

Маса тіла фіксованих тварин визначалася на терезах ТВЕ-12-0,5 (точність 1 г), а мозочка – на аналітичних PS 210/C/1 «Radweg» (Польща) (точність 0,001 г).

Лінійні величини (довжина, ширина, висота мозку та мозочка) отримані за допомогою штангенциркуля за вказаними в літературі схемами [2].

Визначення об'єму мозочка здійснювали за допомогою програми «Морфологія 5.0»

Аналізували не абсолютні, а відносні показники. Необхідність стандартизації лінійних вимірів головного мозку викликана тим, що його розміри та розміри тіла досліджуваних тварин дуже різні, тому порівнювати абсолютні показники було би некоректно [2].

Схеми будови мозочка були замальовані з мікроскопа МБС-10 при збільшенні  $\times 8$ .

Фотографування мозку та мозочка здійснювали за допомогою цифрової фотокамери Nikon s 2600. При описі структур мозочка користувалися номенклатурою, запропонованою О. Ларселом (Larsel, 1985) [12].

#### Результати і їхнє обговорення

Відомо, що основна маса cerebellum птахів гомологічна черв'якові (vermis) мозочка ссавців [1]. Лишається невизначеним питання походження та гомології аурикул (auricula). У птахів вони представлені розширеннями каудальної частини основи мозочка з обох боків. Різні автори для їх називання вживали такі терміни: флокули, флокулярні долі, аурикули, парафлокули [14, 15]. Тернер (Turner, 1981), наприклад, називав цю частину флокулами й описував її як «бічні виступи, вкладені у спеціальну порожнину черепа» [16]. Рамон-Каял (Ramon y Cajal, 1911), згадуючи «крихітні латеральні півкулі», вочевидь, писав про аурикули [13]. Броувер (Brouwer, 1913) у ході вивчення мозку 25 видів птахів не знайшов підтвердження існуванню латеральних півкуль. Однак він виділив три типи аурикул залежно від їх будови [11]. Ингвар (Ingvars, 1985), використовуючи термін аурикули, мав на увазі комбінацію флокул (flocculus) і парафлокул (paraflocculus) як двох структурних компонентів аурикул. Він стверджує, що флокули пов'язані медіально з вузликом (nodulus), а парафлокули – із втулочкою (uvula) [14].

У більшості досліджених нами птахів основна маса мозочка чи так званий корпус (corpus cerebelli) дуже витягнутий і вигнутий роstralно. Порожнина мозочка, або 4-й шлуночок ділить його на передню (pars anterior) і задню частини (pars posterior) [1]. Поверхня Cerebellum розділена щілинами на листки, що формують часточки, а ті, у свою чергу, – частки (чи частини мозочка) (рис.1, 3). Загальна схема поділу мозочка птахів відповідає такій у ссавців. Броувер (Brouwer, 1913) описав щілину *x*, яка є найменш варіабельною і була присутня в усіх досліджуваних ним видів птахів та відмежовує задню частку мозочка від передньої [11]. Він також показав, що у 16 з 25 досліджуваних видів передня частка складається з 3 часточок (рис.1, 3, 4). За його схемою, задня частка мозочка ділиться щілиною *y* на задню каудальну та задню медіальну частини [11]. Інґвар (Inguars 1985), використовуючи вищезгадані назви щілин, ввів свої додаткові (*z*, *un*) для специфічного позначення інших, виявлених ним. Вивчивши будову мозочка дорослих птахів 43 видів і його ембріогенез у курчат, він встановив, що щілина *x* гомологічна fissure prima, *y* – prepiramidal fissura, *z* – fissure secunda, *un* – uvulonodular fissure чи posterolateral fissure ссавців [14, 16] (рис.1, 3, 5, 6).

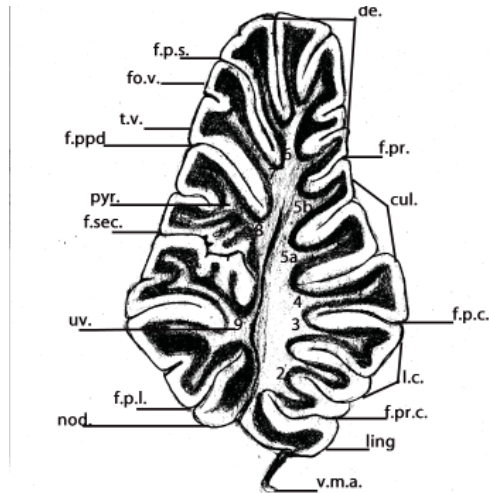


Рис.1. Схема поперечного перерізу через черв'як мозочка крижня (*Anas platyrhynchos* L.) по середній лінії.

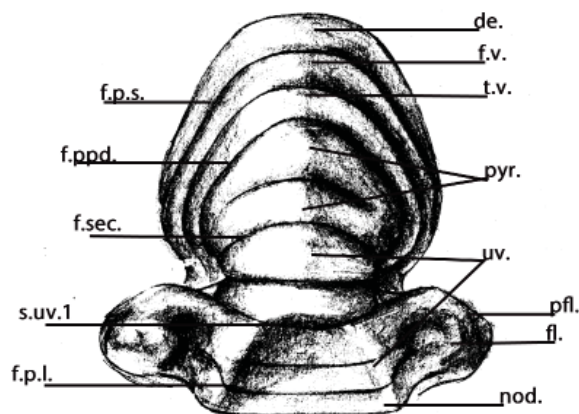


Рис. 2. Мозочок крижня (*Anas platyrhynchos* L.), вигляд ззаду.

На думку Броувера, мозочок птахів поділяється на передню, середню та задню частки (частини). Межі останніх формують глибокі щілини *x* та *y* (fissure prima, prepitridal fissure відповідно) [14, 11].

Якщо мозочок птахів функціонально поділяється на корпус (corpus cerebelli) і жмутково-вузликову частину (pars floccullo-nodulare), як і в інших хребетних, виникає питання про морфологічне та фізіологічне значення відповідних частин і про їхню гомологію з такими у ссавців [4]. Цікавим і недостатньо вивченим є також співвідношення флоккул та парафлоккул у межах аурикул [6].

Мозочок птахів ділиться на корпус мозочка (corpus cerebelli), який є переважачим за розмірами, і невелику жмутково-вузликову частину (pars floccullo-nodulare). Остання морфологічно пов'язана з вузликом, на відміну від повністю відособленої аурикулярної частини нижчих хребетних [6, 10].

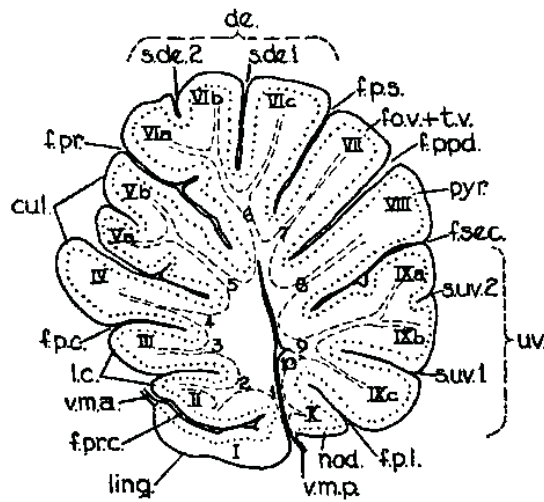


Рис. 3. Схема поперечного перерізу черв'яка мозочка припуття (*Columba palumbus* L.) по середній лінії (із: Larsell O, 1985).

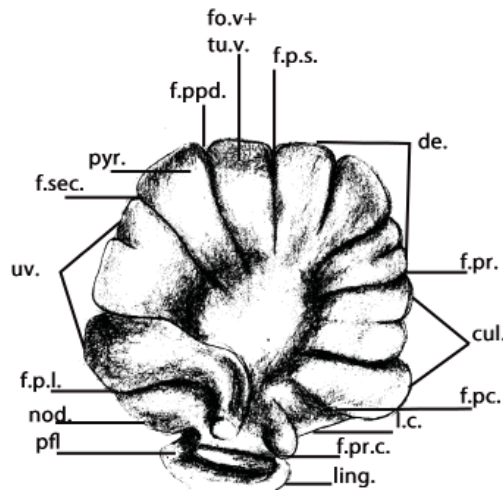


Рис. 4. Мозочок припуття (*Columba palumbus* L.), вигляд збоку.

До складу корпусу мозочка досліджуваних видів входить два компоненти: медіальна частина, покрита листковою корою, та латеральна, покрита нелистковою корою. Ця кора формує вигнутий край між ростральною та каудальною поверхнями мозочка. Вважають, що саме нелисткова кора дає початок півкулям мозочка ссавців. Листкова кора покриває зовні поверхню часточок cerebellum [1, 12].

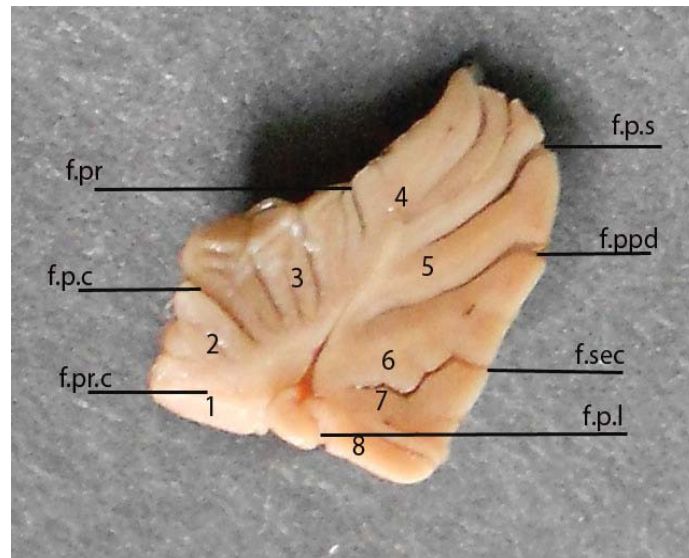


Рис. 5. Схема щілин і часточок на поперечному перерізі мозочка крижня (*Anas platyrhynchos* L.) ( $\times 20$ ): 1 – lingual; 2 – central lobule; 3 – culmen; 4 – declive; 5 – folium vermiis; 6 – pyramis; 7 – uvula; 8 – nodulus.

Вже візуально можна зауважити відмінності морфології мозочка птахів, залежно від екологічної ніші, яку вони займають, і способу пересування. Так, збоку та на парасагітальних зрізах по середній лінії cerebellum куроподібних має майже округлий вигляд. У голуба, горобця та сороки він схожої форми, але має дещо загострену вершину (рис. 3, 4). Різко відрізняється мозочок водоплавних птахів (рис. 1). У латеральній проекції він має трикутну форму, з вентрально витягнутою вершиною (рис. 5). Аналізуючи парасагітальні зрізи в ділянці середньої лінії, ми зауважили, що характерної форми мозочку надає збільшений за розмірами скат і листок черв'яка (рис. 1). Хоча лиска веде водний спосіб життя і її екологічна ніша більш споріднена з такою водоплавних птахів, та її мозочок за формою схожий із таким куроподібних. Ключовим фактором у цьому випадку є, очевидно, спосіб пересування.

Аналізуючи відносну масу мозочка, можна помітити, що найбільший цей показник у чирка-трісхунця, який є водоплавним птахом (12% від маси мозку, див. таблицю), що зумовлено різноманітністю характерних способів локомоції. Приблизно таке саме його значення і в індика (12,4%). Це пов'язано зі значними розмірами птаха, оскільки розміри мозочка залежать і від м'язової маси. Відносний об'єм мозочка (від усього головного мозку) найбільший у індика (16,6%) та лиски (15,0%). Далі цей показник зменшується в такій послідовності: припутень (12,9%), чирок (12,5%), горобець (9,05%), сорока (5,0%) (див. таблицю). Очевидно, цей показник прямо пропорційно корелює з масою тіла. Зі зростанням маси тіла птаха збільшується розчленування мозочка на вторинні і третинні листки, відповідно зростають площа і об'єм cerebellum.



Порожниною мозочка птахів є четвертий, або мозочковий шлуночок (cerebellar ventricle) [6, 7]. Він добре виражений у всіх досліджуваних видів і визначає внутрішню межу між передньою (pars anterior) та задньою (pars posterior) частками мозочка. Поверхня мозочка розділена первинними щілинами (fissura) на десять первинних листків (folia). Для зручності в тексті ми позначатимемо їх латинськими цифрами від I до X, починаючи з рострального боку мозочка. Усередину кожного первинного листка тягнеться первинний серцевинний промінь (primary medullary rays), відділяючись із центральної білої речовини мозочка. Первинні промені нумеруватимуться арабськими цифрами від 1 до 10, відповідно (рис. 1, 3, 5).

Первинними вважаються ті листки, які в ембріогенезі закладаються першими, відмежовані глибокими первинними щілинами та надалі формуються синхронно [12]. У процесі розвитку первинні листки можуть ділитися дрібнішими поверхневими щілинками на вторинні, а ті, у свою чергу, – на третинні, що значно збільшує площу кори мозочка [1]. За Ларселом, до складу передньої частки cerebellum птахів входить 5 первинних листків, що формують три часточки [12]. У своїх описах ми будемо опиратися на таку загальну схему будови.

Язичок (lingula), або листок I, є окремою часточкою. Вона має значні розміри та присутня в усіх досліджуваних видів. Медулярний промінь I заходить усередину язичка по поверхні передньої стінки мозочкового шлуночка і продовжується далі у вигляді тоненької стрічки, формуючи передній медулярний парус (anterior medullary velum). Ми встановили, що в індика, припутня, лиски, сороки та горобця він спрямований рострально і вгору, а у крижня та чирка – вниз і каудально (рис. 1, 3, 5). Кора мозочка покриває язичок лише з дорзального боку в усіх досліджених видів, крім крижня [8]. В останнього вона наявна ще й на вершині звивини язичка. Часточка I відмежовується від часточки II прецентральною щілиною (precentral fissure) (рис. 5, 6).

Центральна часточка (central lobule) лежить вище язичка, до її складу входить два листки II і III [16]. Вона відділена від вершини preculminate fissure. Листок II у крижня й індика розділений на два вторинні листки IIa і IIb, в які, відповідно, заходять серцевинні промені 2a і 2b. Листок III цих видів залишається цілісним, хоча у качки серцевинний промінь 3 на кінці біфуркує (рис. 1). У горобця, припутня і сороки навпаки: листок III розділений неглибокою щілиною на IIIa+IIIb, а промінь 2 біфуркує (рис. 3). У інших видів для обох листків характерна проста будова.

Наступна, третя часточка, передньої частки мозочка називається вершиною (culmen) [10]. В усіх вивчених нами видів це достатньо масивна структура, вона на 2/3 формує передню поверхню мозочка, складається з двох первинних листків (IV, V) (рис. 1, 3, 4). Вентрально межею для неї слугує fissura prima, що відділяє ще й передню частку мозочка від задньої (рис. 1, 3). У літературі трапляється назва цієї щілини – щілина x [7].

У горобця обидва листки, що формують вершину, мають гладку поверхню. Кожному листку відповідає один серцевинний промінь (4 і 5 відповідно). У припутня IV листок нерозділений, але досить масивний, витягнутий латерально і виступає за межі передньої поверхні мозочка. V – роздвоєний майже до середини і формує два вторинні листки Va і Vb (рис. 2). Для індика, сороки та лиски характерний поділ листка IV на вторинні IVa і IVb, V–Va і Vb. Хоча у крижня і чирка четвертий листок має просту будову, листок V розділений на вторинні листки глибокими щілинами, кожен із них має власні серцевинні промені (рис. 1). Тому вони вважаються первинними. На 13-й день ембріогенезу крижня поверхня V-листка ще гладенька. А вже на 15-й день починає формуватися щілина, що в дорослих птахів розділить його на два [16]. Три описані вище часточки входять до складу передньої частки мозочка. Наступні п'ять часточок формують задню частку мозочка [12, 16].

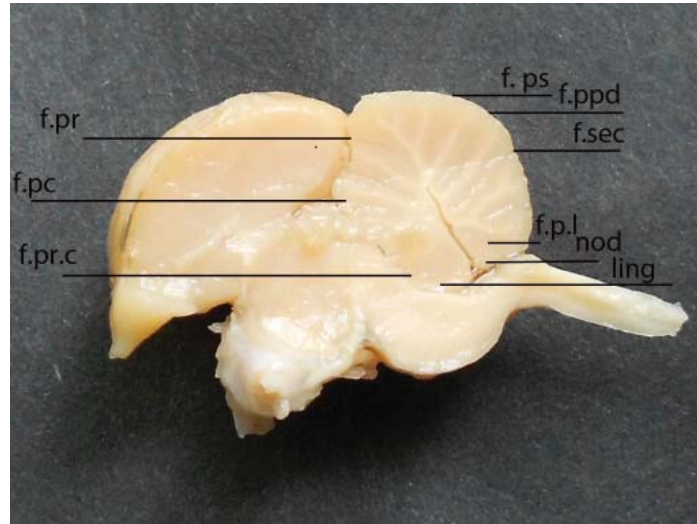


Рис. 6. Схема щілин і часточок на поперечному перерізі мозочка припуття ( $\times 20$ ).

Листок VI називається скатом (declive) і утворює четверту часточку cerebellum птахів. Рострально вона обмежена fissure prima, а ззаду – posterior superior fissure (рис. 6). Поверхня скату розчленована дрібнішими щілинами на три вторинних листки. Declival sulcus 1 відділяє VIa від VIв, а declival sulcus 2 – VIв від VIc. Форма скату і його структура відрізняються у птахів різних екологічних груп. У водоплавних, представлених крижнем і чирком, він має витягнуту вгору форму. У зв'язку зі збільшенням розмірів листка на його поверхні з боку fissure prima ми виявили два додаткові листки. Оскільки їхнє походження невідоме, вони називатимуться надалі VI-1 і VI-2. У інших видів скат має більш сплюснену пірамідну форму. У горобця, індики та лиски до складу цієї структури входить лише два вторинні листки а і в.

П'ята часточка чи листок VII є комбінацією таких структур як листок черв'яка (folium verniis) і горбок черв'яка (tuber verniis) [1, 9] (рис. 4, 6). У крижня вони розмежовані горизонтальною щілиною (horizontal fissure). У інших видів можуть бути розділені частково (припутень, індик) або не розділятися зовсім (лиска, чирок, сорока, горобець). Від піраміди скат відмежовується глибокою прямою передпірамідною щілиною (prepyramidal fissure) (рис. 1, 3).

Листок VIII називається пірамідною (pyramis), або 6-ю часточкою. Вентральню її межею слугує prepyramidal fissure, а дорзально – fissura secunda, або щілина у [12, 16] (рис. 2, 4). Поверхня піраміди індики має найбільшу площу серед усіх досліджуваних видів. Це досягається за рахунок її поділу аж на три вторинні листки VIIIa, VIIIв і VIIIc. У крижня та чирка виділяється лише два вторинні листки (а+в), однак кора піраміди з боку fissura secunda утворює випини, які досягають значних розмірів. Усередину цих випинів заходять вторинні медулярні промені, що відділяються від первинного променя 8 (рис. 1). У інших вивчених птахів цей листок характеризується відносно простою будовою.

Сьома часточка мозочка називаються втулочкою (uvula) і формується листком IX (рис. 2, 4). Це найкрупніша структура cerebellum. Її поверхня поділяється таким чином: вторинні листки IXa і IXв відділяються від IXc глибокою вторинною увулярною щілиною (uvular sulcus 1), що закладається на ранніх етапах ембріогенезу птахів; листки IXa і IXв розділені мілкою uvular sulcus 2. У крижня й індики розміри листка с зростають, тому з'являється

uvular sulcus 3, що спричиняє формування вже третинних листків (рис.1). Втулочка латерально пов'язана з парафлокулами аурикул. Posterolateral fissure та uvular sulcus 1 продовжуються на поверхню вушок мозочка, визначаючи межі між жмутком і парафлокулою.

Листок X називається вузликом (nodulus) [13]. Він відокремлений від втулочки posterolateral fissure (рис. 1, 4). Ми встановили, що ця часточка невеличких розмірів і має нерозчленовану поверхню, покриту з усіх боків корою (рис. 1, 2) [8], на відміну від язичка. Латерально вузлик переходить у флокули аурикул, формуючи жмутково-вузликовий комплекс. Каудальний край nodulus продовжується у вигляді тонкої стрічки, яка називається задній мозковий парус (posterior medullary velum).

Результати морфометричних досліджень мозочка птахів

Показники	Чирок-тріскунець	Крижень	Лиска	Горобець хатній	Голуб припугень	Сорока	Індик домашній
Маса тіла, г	400±5,1	1100±6,8	700±3,1	26,7±1,1	285,7±6,1	100,0±0,8	8500±25,0
Маса головного мозку, г	3,4±0,03	5,1±0,09	3,6±0,02	0,77±0,02	2,3±0,05	4,8±0,05	6,4±0,4
Відносна маса головного мозку, % від маси тіла	0,85	0,46	0,52	2,87	0,8	4,8	0,075
Маса мозочка, г	0,4±0,001	0,6±0,004	0,38±0,002	0,07±0,006	0,25±0,004	0,3±0,002	0,8±0,005
Відносна маса мозочка, % від маси головного мозку	12	11,8	9,7	9,09	10,9	6,25	12,4
Об'єм мозку, см <sup>3</sup>	4,0±0,02	7,0±0,05	4,4±0,002	0,7±0,001	3,1±0,003	4,0±0,008	6,0±0,05
Об'єм мозочка, см <sup>3</sup>	0,5±0,002	0,63±0,003	0,6±0,003	0,063±0,0002	0,4±0,001	0,2±0,001	1,0±0,003
Відносний об'єм мозочка, % від мозку	12,5	9,0	15,0	9,05	12,9	5,0	16,6

Поверхня черв'яка мозочка птахів розділена первинними щілинами на десять первинних листків, які формують дві частки: передню та задню. До складу передньої частки входять три часточки: язичок, центральна часточка та вершина. Задня частка побудована скатом, листком черв'яка, пірамідою, втулочкою та вузликом. Ці структури наявні в усіх досліджуваних нами видів, незалежно від екологічної ніші, яку вони займають, способу локомоції та розміру птаха. Одомашнені птахи мають збіднену гаму рухів, оскільки частково втратили здатність до польоту. Однак навіть у них зберігається загальна схема будови мозочка. Щілини та часточки cerebellum птахів гомологічні відповідним структурам черв'яка ссавців.

Розміри часточок і поділ первинних листків на вторинні й третинні варіюють у птахів різних екологічних груп. Складна будова структурних компонентів мозочка характерна для водоплавних птахів, які об'єднують три види руху: політ, плавання, рух сухоподолом. Однак площа мозочка збільшується не лише з ускладненням локомоторних актів, а й зі зростанням м'язової маси птаха. Тому ми спостерігаємо значну кількість вторинних листків у індика, який є поганим літуном, однак достатньо крупний за розмірами.

Найбільш варіабельну будову мають такі часточки, як скат, втулочка та піраміда. Саме за рахунок цих структур збільшуються площа й об'єм мозочка. Центральна часточка, вершина, горбок і листок черв'яка відносно стабільні. Язичок і вузлик побудовані досить просто й покриті корою лише з дорзального боку.

Найбільша відносна маса та об'єм мозочка характерні для птахів, яким властивий широкий спектр складних рухових актів, і тим, що мають велику м'язову масу.

**Скорочення та умовні позначення**

cul. – culmen; de. – declive; f.h. – horizontal fissure; fo.v. – folium verniis; f.pc. – preculminate fissure, f.p.l. – posterolateral fissure; f.ppd. – prepyramidal fissure; f.pr. – fissura prima; f.prc. – precentral fissure; f.p.s. – posterior superior fissure; f.sec. – fissure secunda; l.c. – central lobule; ling. – lingual; nod. – nodulus; fl. – flocculus; pyr. – pyramis; s.de.1 – declival sulcus 1; s.de.2 – declival sulcus 2; s.uv.1 – uvular sulcus 1; s.uv.2 – uvular sulcus 2; s.uv.3 – uvular sulcus 3; t.v. – tuber vermis; uv. – uvula; v.m.a. – anterior medullary velum; v.m.p. – posterior medullary velum.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Андреева Н. Г., Обухов Д. К. Эволюционная морфология нервной системы позвоночных. СПб.: Лань, 1999. 384 с.
2. Блинков С. М., Глезер И. И. Мозг человека в цифрах и таблицах. Л.: Медицина, 1964. 471 с.
3. Елисеев В. Г., Субботина М. Я., Афанасьев Ю. И., Котовский Е. Ф. Основы гистологии и гистологической техники. М.: Медицина, 1967. 267 с.
4. Заварзин А. А. Избранные труды: в 4-х т. Т. 3. Очерки по эволюционной гистологии нервной системы. М.;Л., 1950. 419 с.
5. Коржевский Д. Э. Краткий курс гистологической техники. СПб.: Крофт, 2005. 46 с.
6. Мозжечек и структуры ствола мозга // Труды VI симпозиума по проблеме «Структурная и функциональная организация мозжечка». Ереван, 1995. 397 с.
7. Омельковець Я., Лихотон Р., Сологор К., Ильчук Н. Порівняльна макроморфологічна характеристика головного мозку деяких комахоїдних, нижчих приматів і рукокрилих // Наук. вісник. 1998. ВДУ. № 4. С.73–76.
8. Омельковець Я., Березюк М. Порівняння цитоархітектоніки кори мозочка птахів різних екологічних груп // Вісн. Прикарпат. нац. ун-ту ім. Василя Стефаника. 2009. Вип. 13. С. 83–90.
9. Омельковець Я. А. Сравнительная макро- и микроморфология мозжечка рыжей вечерницы и большого подковоноса // Вестник зоологии. 1993. № 5. С. 84–87.
10. Савельев С. В. Сравнительная анатомия нервной системы позвоночных. М.: ГЕОТАР-МЕД, 2001. 272 с.
11. Brouwer B. Ueber das Kleinhirn der Vogel. Nebst Bemerkungen ueber das Lokalisationproblem im Kleinhirn. Folia // Neurobiologica. 1913. Vol 132. N 8. P. 349–377.
12. Larsell O. The cerebellum: a review and interpretation // Arh. Neurol. end Psychiat. 1985. Vol. 12. N 8. P. 580–607.
13. Ramon y Cajal. Histologie du systeme nerveux. T. 2. Maloine, Paris, 1911. 564 p.
14. Ingvars R. Zurphylo und Ontogenese des Kleinhirns. Folia // Neurobiologica. 1985. Vol. 205. N 5. P. 153–167.
15. Schroedke K. Der Faserverlauf im Vorderhirn des Huhnes // Psychol. und Neurol. 1981. Vol. 42. N 2. P. 123–131.
16. Turner C. Morphology of the avian brain. Taxonomic value of the avian brain and the histology of the cerebrum // J. Comp. Neur. 1981. Vol 39. P. 365–386.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.13

доопрацьована 26.04.13

прийнята до друку 26.04.13

**FEATURES MACROMORPHOLOGY CEREBELLUM BIRDS OF  
VARIOUS ENVIRONMENTAL GROUPS****Ia. Omelkovets, M. Berezyuk***Lesya Ukrainka Eastern European National University  
13, Voli Ave., Lutsk 43025, Ukraine  
e-mail: Berezmaryia@ukr.net*

Locomotion of birds characterized by large dynamic movements that require precise coordination of muscle control and body position in space and the corresponding development of the cerebellum as a structure that has control all these processes. The Aves in the phylogenetic process owing to adaptive radiation has enabled the class to learn a variety of ecological niches. The environment was decisive in shaping the types of nutrition and modes of locomotion. These idioadaptations reflect in the structure of all organs and systems, including the cerebellum. In this regard, morphological and ecological studies of the cerebellum of different ecological birds groups are particularly relevant as can detect differences in the macrostructure Cerebellum, caused by adaptation to specific environmental conditions. The research found that the surface of the cerebellum is divided into ten primary slits on primary leaves (folia), forming eight segments (lobulus) combined in two parts (pars): front (anterior) and back (posterior). Particle size (lobulus), separation of primary leaves (folia) for secondary and tertiary and relative weight and volume of the cerebellum are differ in different ecological groups of birds.

*Keywords:* birds, the cerebellum, the pars of the cerebellum, cerebella lobule, folium cerebellum.

**ОСОБЕННОСТИ МАКРОМОРФОЛОГИИ МОЗЖЕЧКА ПТИЦ  
РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП****Я. Омельковець, М. Березюк***Восточноевропейский национальный университет имени Леси Украинки  
пр. Воли, 13, Луцк 43025 Украина  
e-mail: Berezmaryia@ukr.net*

Движение птиц очень динамичное и разнообразное. Оно требует четкой координации работы мышц и контроля положения тела в пространстве, а также соответствующего развития мозжечка как структуры, которая осуществляет контроль над этими процессами. В ходе филогенеза Aves адаптивная радиация позволила представителям класса овладеть разными экологическими нишами. Окружающие условия стали определяющими в формировании типов питания и способов локомоции. Такие идиоадаптации отражаются на строении всех органов и систем, в том числе и мозжечка. Поэтому особую актуальность приобретают комплексные морфоэкологические исследования мозжечка представителей различных экологических групп птиц, результаты которых позволяют отыскать различия макроморфологии этого отдела мозга, вызванные адаптацией к тем или иным условиям окружающей среды. В ходе исследования было установлено, что поверхность мозжечка разделена первичными щелями на десять первичных лепестков (folia), формирующих 8 долек (lobulus), объединенных в две доли, или части (pars): переднюю (anterior) и заднюю (posterior). Размеры долек (lobulus), разделение первичных лепестков (folia) на вторичные и третичные, а также относительная масса и объем мозжечка отличаются у птиц различных экологических групп.

*Ключевые слова:* птицы, мозжечок, доли мозжечка, дольки мозжечка, лепестки мозжечка.

## ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ТА ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ НА ПОВЕДІНКУ ЩУРІВ У ТЕСТІ «ВІДКРИТЕ ПОЛЕ»

О. Бондаренко<sup>1\*</sup>, Н. Гула<sup>2</sup>, М. Макарчук<sup>1</sup>, Т. Горідько<sup>2</sup>, В. Бабан<sup>1</sup>, О. Коваленко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
ННЦ «Інститут біології»

просп. Академіка Глушкова, 2, корп. 12, Київ 03022, Україна

<sup>2</sup>Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАНУ

вул. Леонтовича, 9, Київ 01601, Україна

e-mail: bondarenko\_oleksandr@ukr.net

Досліджували поведінку щурів у тесті «відкрите поле» після алкоголізації та введення N-стеароїлетаноламіну (NSE). Виявлено, що алкоголь, NSE та їхнє поєднання здатні змінювати поведінку щурів у відкритому полі. З'ясовано, що введення NSE в дозі 5 мг/кг протягом 7 днів пригнічує локомоторну та вертикальну активність щурів і не впливає на показники емоційної активності (тривалості грумінгу). Введення NSE в останні 7 днів хронічної 30-денної алкоголізації дещо знижує мотивацію щодо споживання етанолу щурами за умов вільного вибору, але при цьому не виявлено суттєвої різниці в поведінці у відкритому полі алкоголізованих тварин і тварин, які на фоні алкоголю отримували NSE.

*Ключові слова:* N-стеароїлетаноламін, тест «відкрите поле», поведінка, алкоголь, залежність.

Алкоголь є однією з найбільш часто вживаних речовин, яка здатна викликати у людини наркотичну залежність, що, у свою чергу, сприяє виникненню різноманітних медичних і соціально-економічних проблем [9]. Усе це зумовлює нагальну необхідність пошуку речовин, які або протидіяли би формуванню такої залежності, або зменшували б імовірність її розвитку. Нині найбільшу увагу і сподівання на вирішення цієї проблеми покладають на дослідження функціонування ендоканабіноїдної системи мозку. Справа в тому, що ця система разом із опіоїдною системою бере участь у регуляції низки фізіологічних процесів, таких як ноцицепція і винагородження (reward). На сьогодні накопичено значний експериментальний і клінічний матеріал, який засвідчує, що ендоканабіноїди впливають на виникнення толерантності/залежності не лише від екзогенних канабіноїдів ( $\Delta^9$ -тетрагідроканабінолу), а й від інших сполук, здатних викликати залежність, зокрема алкоголю і морфіну. Встановлено тісний функціональний зв'язок між канабіноїдною й опіоїдною рецепторними системами, кожна з яких бере участь у регуляції мотивації щодо вживання алкоголю [з книги 5].

Локалізація канабіноїдних рецепторів у лімбічній системі головного мозку є свідченням того, що ендоканабіноїди виступають природними модуляторами обробки емоційної інформації [11], а відповідно можуть включатися в систему формування будь-якої залежності, включаючи й алкоголю. Доказом такого зв'язку можуть бути і дані про те, що хронічне вживання етанолу підвищує рівень ендогенних лігандів канабіноїдних рецепторів, зокрема анандаміду (AEA) в клітинах нейробластоми [9]. Важливо підкреслити і те, що канабіноїдні препарати, діючи на канабіноїдну систему мозку, здатні модулювати діяльність не лише емоційної сфери, а й основні когнітивні функції, справляти нейропротекторну дію, що опосередковуються активацією CB1-рецепторів [12]. Дослідження ендоканабіноїдних рецепторів у лімбічній системі головного мозку є свідченням того, що ендоканабіноїди виступають природними модуляторами обробки емоційної інформації [11], а відповідно можуть включатися в систему формування будь-якої залежності, включаючи й алкоголю.

канабіноїдної системи мозку показали, що поряд із найбільш вивченим на сьогодні анандамідом у мозкові синтезується низка інших N-ацилетаноламінів, функціональні властивості яких не цілком з'ясовані [4]. Однією із таких сполук є N-стеароїлетаноламін (NSE), який входить до групи N-ацилетаноламінів – ацильних похідних моноетаноламіну. Вміст NSE у мозкові мишей і людини становить близько 11–14% від загальної кількості ендоканабіноїдів, тоді як вміст анандаміду не перевищує 7% [10]. NSE виявляє певні канабіміметичні властивості, однак для нього не встановлено зв'язування з канабіноїдними рецепторами. Разом з тим, введення цієї сполуки здатне викликати різноманітні фізіологічні ефекти, зокрема, вже доведено мембраностабілізуючу, кардіопротекторну дію NSE за ішемії-реперфузії міокарда, а також пригнічення вільнорадикального окислення ліпідів [з книги 5, 3].

Виходячи з цього, цілком актуальним є дослідження можливості використання NSE як нейропротекторного агента при інтоксикаціях ЦНС, зокрема при алкогольній залежності.

Метою роботи було вивчення динаміки поведінкових змін у щурів за нормальних умов та після впливу алкоголю і NSE.

#### Матеріали та методи

Досліди були проведені в умовах хронічного експерименту на 85 білих нелінійних щурах-самцях масою 150–200 г. Найбільш поширеним та інформативним тестом для визначення впливу екзогенних речовин на емоційний стан і рухову активність тварин є тест «Відкрите поле» (ВП) [2]. Даний тест є достатнім для первинного скринінгу, а також є адекватним для виявлення токсичності препаратів. У даній установці ми реєстрували такі показники: кількість центральних і периферичних квадратів, які були перетнуті – горизонтальні рухова (локомоторна) активність; підняття на задні лапи (стійки) – вертикальна рухова активність, дослідницька активність; кількість і тривалість грумінгу – емоційна активність. До початку введення будь-яких речовин усі тварини тестувалися у відкритому полі для розподілу й утворення п'яти зрівноважених за основними показниками груп.

I група – «Контроль інтакт» (n=16) – інтактні тварини;

II група – «Контроль зонд» (n=16) – тварини, які 7 днів отримували воду через зонд;

III група – «NSE» (n=17) – тварини, які 7 днів отримували NSE через зонд;

IV група – «Алкоголь» (n=18) – щури з моделлю хронічної 30-денної АІ;

V група – «Алкоголь + NSE» (n=18) – щури, які останні 7 днів 30-денної алкоголізації отримували водну суспензію NSE.

Тварин I, II та III групи утримували на стандартному раціоні віварію і вільному доступі до води та їжі. Тварини IV та V групи протягом періоду введення алкоголю обмежувались у доступі до води, але без харчової депривації протягом усього експерименту.

Хронічну алкогольну інтоксикацію (АІ) здійснювали у два етапи.

На I етапі визначали схильність щурів до етанолу за допомогою «двопляшкового» методу. Тварин, які не мали до цього контакту з етанолом, саджали на 14 днів в індивідуальні клітки, що були оснащені двома поїлками: одна з водою, інша з 15% розчином етанолу. Протягом цієї фази тварини впродовж 24 годин мали вільний вибір між розчином етанолу та водою.

На II етапі здійснювали примусову алкоголізацію шляхом введення тваринам етанолу як єдиного джерела рідини впродовж місяця. Через 30 днів для оцінювання індивідуального рівня вживання алкоголю кожну тварину на 4 дні саджали в індивідуальну клітку з двома поїлками (одна з водою, інша з 15% розчином етанолу). Розташування поїлок змінювали для виключення формування умовного рефлексу на їх певне положення, при цьому враховували індивідуальний об'єм випитого спирту за одиницю часу (г/кг/добу) та відсоткове співвідношення випитого спирту до об'єму всієї рідини [6].

Водну суспензію NSE, яка була синтезована, у відділі біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, вводили тваринам інтрагастрально, використовуючи пластиковий зонд із розрахунку 5 мг/кг маси тіла, протягом 7 днів. Введення речовини за допомогою тонкого та гнучкого пластикового зонду не є травматичним для шурів і дає змогу без зайвих інструментів для фіксування в нерухомому положенні тварини швидко ввести екзогенну речовину безпосередньо у шлунок. Тварини після швидкого звикання до подібної маніпуляції практично зовсім не стресуються, що є важливим для дослідження поведінкових реакцій. Для перевірки впливу процедури введення речовини через пластиковий зонд на поведінкові показники окремій групі шурів вводили воду.

Після закінчення алкоголізації та введення NSE проводили повторне тестування у ВП.

Для статистичного аналізу даних використовували програму Statistica for Windows 7.0 (StatSoft). За критерієм Шапіро-Вілка було визначено, що вибірки даних активності поведінки належать до ненормально розподілених, а вибірки даних показників індивідуального вживання алкоголю – до нормально розподілених. При ненормальному розподілі для порівняння незалежних вибірок кількісних даних (між групами в один із досліджуваних днів) використовували критерій Манна-Вітні, для порівняння зв'язаних вибірок кількісних даних – тест Вілкоксона та представляли у вигляді медіани та 25 і 75% квантилів. Нормально розподілені вибірки обробляли за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

#### Результати і їхнє обговорення

Повторне тестування тварин у ВП після завершення алкоголізації та введення NSE показало, що тварини III групи, яким вводили NSE, мали достовірно ( $p < 0,01$ ) нижчий рівень локомоторної активності порівняно з тваринами I, II і V груп. Тоді як така різниця між тваринами III та IV груп була на рівні тенденції ( $p = 0,09$ ). При цьому важливо підкреслити, що у тварин III, IV, V груп локомоторна активність при повторному тестуванні достовірно знижувалась ( $p < 0,01$ ) порівняно з вихідним тестуванням (рис. 1).

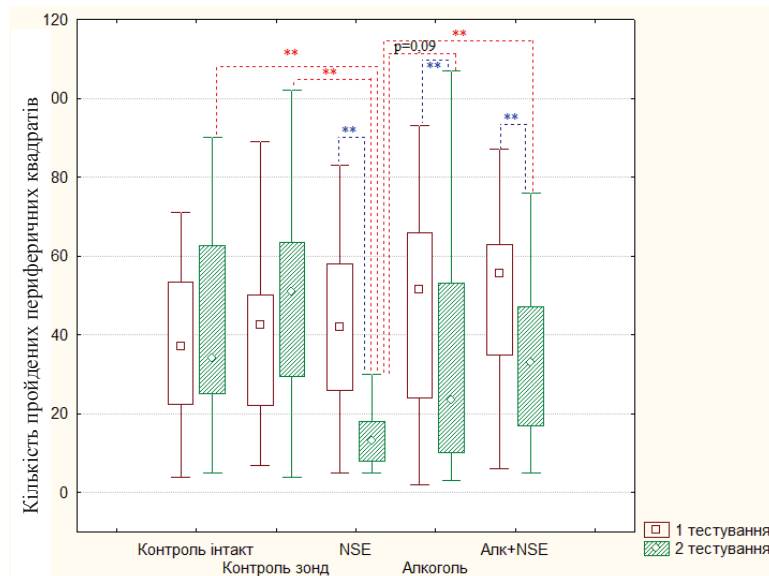


Рис. 1. Локомоторна активність (кількість пройдених периферичних квадратів) тварин під час тестування у ВП.



Що стосується кількості внутрішніх квадратів, пройдених тваринами за час перебування у відкритому полі, то статистично значущої різниці між групами як у першому, так і в повторному тестуваннях не виявлено. Хоча при повторному тестуванні їхня кількість дещо збільшується в контрольних групах шурів і знижується у тварин усіх трьох експериментальних груп.

Показник вертикальної активності шурів (кількість стійок на стіну) при повторному тестуванні достовірно ( $p < 0,05$ ) знижувався у всіх групах, порівняно з першим тестуванням. При цьому, при повторному тестуванні у шурів III групи цей показник був достовірно нижчим порівняно з інтактними тваринами I групи (рис. 2).

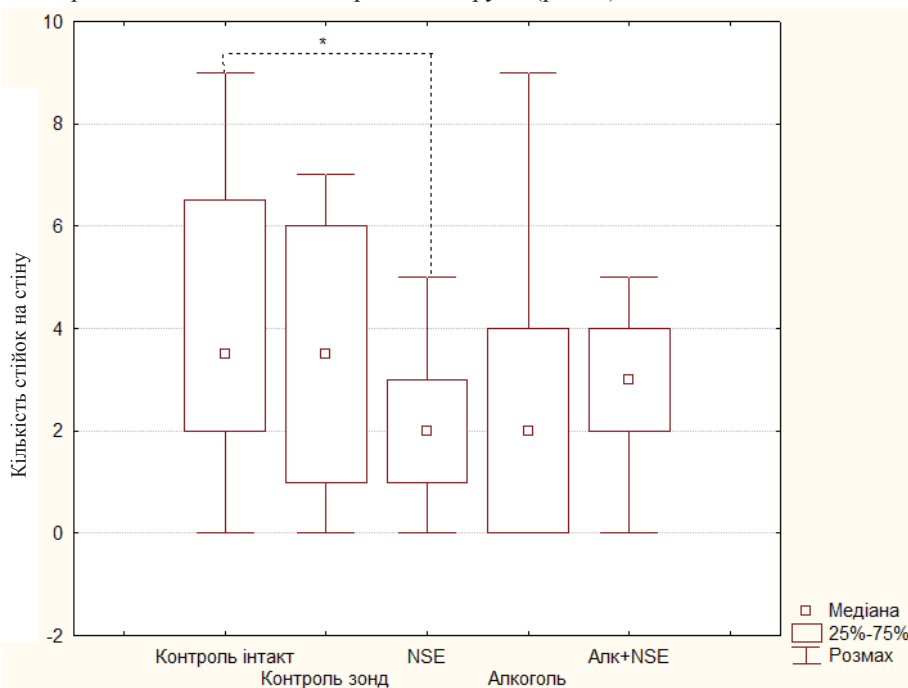


Рис. 2. Вертикальна активність тварин (кількість стійок на стіну) під час тестування у ВП.

Наші дослідження показали, що при повторному тестуванні кількість стійок на задні лапи (рис. 3) у тварин усіх груп була приблизно однаковою. Однак у тварин III групи кількість стійок на задні лапи була достовірно нижчою, ніж при першому тестуванні ( $p < 0,05$ ).

Аналіз грумінгової активності тварин різних груп показав, що кількість реакцій грумінгу при повторному тестуванні достовірно знижується у всіх групах, порівняно з першим тестуванням. При цьому у тварин IV групи при повторному тестуванні спостерігається лише тенденція до зменшення кількості таких реакцій ( $p = 0,07$ ) порівняно з групою інтактного контролю (рис. 4).

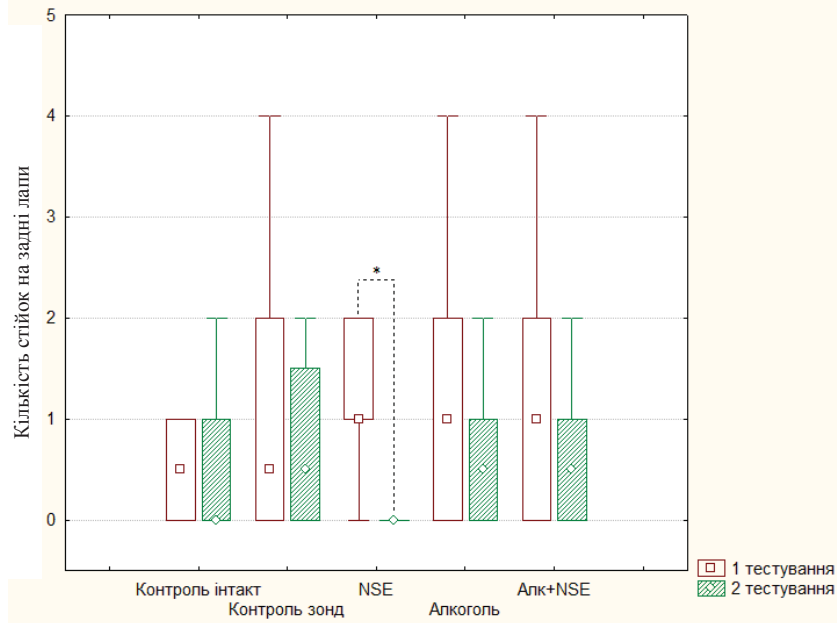


Рис. 3. Вертикальна активність тварин (стійки на задні лапи) під час тестування у ВП.

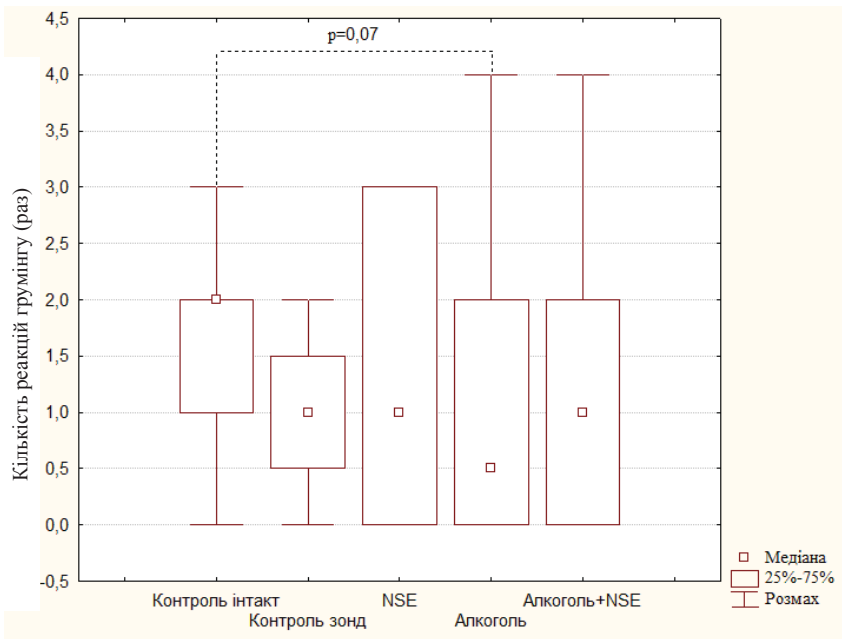


Рис. 4. Кількість реакцій грумінгу під час тестування у ВП.

Тривалість реакцій грумінгу у щурів I, II, IV та V групи була статистично нижчою, ніж у щурів цих груп при першому тестуванні ( $p < 0,05$ ). У щурів, які вживали тільки NSE, цей показник мав лише тенденцію до зменшення ( $p = 0,07$ ). Міжгрупової різниці за цим показником ми не виявили (рис. 5).

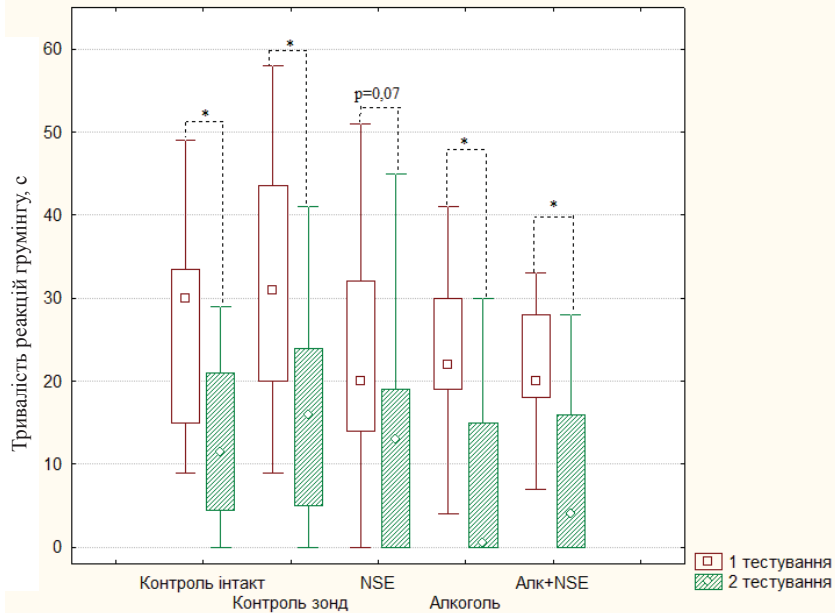


Рис. 5. Тривалість реакцій грумінгу під час тестування у ВП.

В експерименті з примусовою алкоголізацією реєстрація середньодобового об'єму вживання етанолу дала змогу виявити, що до початку 30-денної алкоголізації більше споживали етанол щури V групи, але ці відмінності виявилися недостовірними. Після завершення алкоголізації споживання спирту у щурів IV групи дещо збільшується, проте таке збільшення теж не є достовірним. У V групі оцінювання схильності щурів до етанолу після завершення 30-денної алкоголізації показало виражену тенденцію до зменшення рівня вживання етанолу ( $p=0,07$ ) (рис. 6).

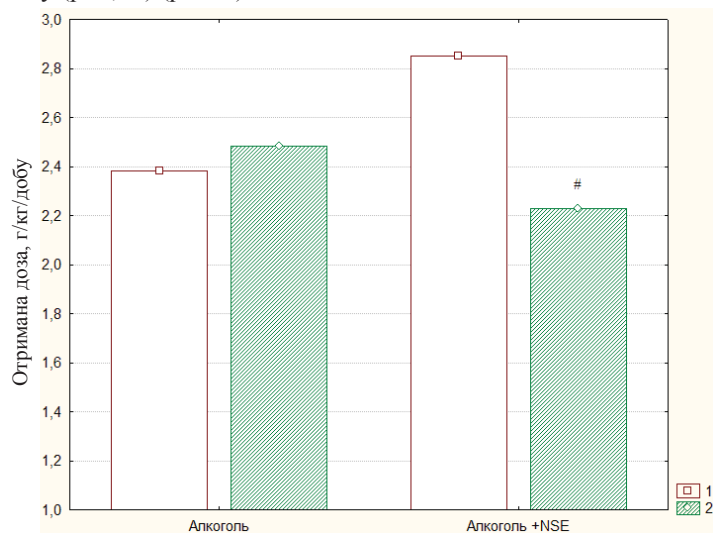


Рис. 6. Середньодобові показники вживання 15% етанолу щурами (отримана доза г/кг/добу): «1» – до 30-денної алкоголізації; «2» – після 30-денної алкоголізації (# – тенденція до зниження в «2» порівняно з «1» в V групі ( $p=0,07$ )).

Підсумовуючи результати проведених досліджень загалом можна стверджувати, що введення алкоголю, NSE та їхнього поєднання здатні змінювати поведінку щурів у ВП. Важливо при цьому наголосити, що такі зміни не є закономірні та лінійні. Іншими словами, ефекти досліджених нами речовин не завжди складаються і не завжди потенціюють або послаблюють дію одна одної. Хоча більшість ефектів, виявлених нами, є цілком закономірними. Так при повторній реестрації локомоторної активності тварин спостерігається її зниження у тварин трьох експериментальних груп порівняно з першим тестуванням, чого ми не спостерігали у тварин контрольних груп. Подібний загальний спад активності у всіх п'яти груп щурів виявляється при повторній оцінці вертикальної рухової активності (стійок на стіну), кількості й тривалості грумінгу. Ми вважаємо, що це пов'язано не стільки зі специфічною дією фармакоагентів, скільки із повтором самої процедури тестування у ВП. Одним із проявів зменшення страху є дослідження щурами внутрішніх квадратів, котре поступово стає більш інтенсивним від досліду до досліду [2, 8]. Однак у даному експерименті нами не виявлено статистично значущої різниці між групами за кількістю відвідання тваринами внутрішніх квадратів, але факт незначного збільшення даного показника в контрольних групах щурів і зниження у всіх трьох експериментальних груп, вказує на посилення тривожно-фобічних реакцій у щурів після введення екзогенних речовин.

Зменшення кількості стійок у щурів III групи не тільки на бокову стінку установки, а й на задні лапи, без сумніву, є наслідком збільшення емоційного напруження у цих щурів і тривожності. Хоча що стосується збільшення часу та кількості актів грумінгу, статистичної різниці у цієї групи щурів не виявлено, тобто спостерігається дещо більша кількість грумінгів після вживання NSE. Посилення грумінгу відбувається у гризунів при розміщенні у нову чи стресогенну ситуацію, в цьому випадку інтенсивний грумінг є прикладом так званої «зміщеної активності», котра виникає у щурів при високому емоційному напруженні [7]. Ефекти, описані багатьма дослідниками, які виникають у тварин після вживання ендоканабіноїдів, узгоджуються з даними цього дослідження. Описані в багатьох джерелах ефекти для ендогенного канабіноїду анандаміду – такі як катаlepsія (завмирання) та зменшення рухливості – знайдені і для стеароїлетаноламіну [10]. Зменшення кількості грумінгу у щурів IV групи може, навпаки, свідчити про зменшення емоційного напруження і тривожності. Нами не виявлено жодних статистично значущих відмінностей у тесті ВП між тваринами I та II групи, що беззаперечно свідчить про відсутність впливу процедури введення рідини через зонд на поведінкові реакції щурів.

Що стосується оцінки індивідуального об'єму спожитої рідини, то однозначно описати виявлені ефекти складно, адже моделювання такого багатофакторного захворювання, як алкоголізм, в експерименті на тваринах становить значну проблему. У людини при цій патології першочерговий вплив мають соціальні фактори, які важко відтворити в експериментах на щурах [1]. З іншого боку, біологічна основа хронічної дії алкоголю на організм людини і тварин в основному ідентична і може бути основою моделювання на тваринах [1]. Вагомий внесок у формування залежності має вроджена генетична схильність. Серед популяції білих нелінійних щурів виділяють тварин, які не вживають алкоголь, – 52%, тварин із помірною схильністю (вживання рівної кількості води та 15% розчину етанолу) – 25%, з вираженою схильністю до алкоголю – 23% [1]. Виявлене нами менш виражене вживання етанолу у щурів IV групи може бути пов'язане і з тим, що в цю групу потрапили щури, які не мають вродженої схильності до вживання етанолу. Тому навіть після хронічної алкоголізації рівень споживання етанолу в них може не зростати. Навпаки, у V групу, на нашу думку, могли увійти щури з більшою мотивацією до вживання алкоголю. Наявність тенден-

ції до зниження в цій групі індивідуального добровільного рівня спожитого етанолу після 30-денної алкоголізації є досить цікавим і потребує подальшого дослідження, адже, згідно з даними літератури, ендogenous канабіноїди здатні підвищувати схильність до вживання алкоголю [9]. Хоча існують дані і про те, що NSE зменшує рівень споживання морфіну [4]. Для з'ясування механізмів, які лежать в основі даного явища, необхідні більш детальні дослідження.

Загалом проведене дослідження показало, що NSE здатний пригнічувати локомоторну активність шурів у тесті ВП, не впливаючи на емоційну активність при повторних тестуваннях. Вживання NSE в останні 7 днів хронічної алкоголізації викликало появу стійкої тенденції до зниження мотивації щодо споживання етанолу шурами. Крім того, важливо підкреслити, що застосування NSE навіть у дозі 5 мг/кг може бути використане для подальшого вивчення його дії на когнітивно-мнестичні реакції у шурів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Анохина И. П.* Генетика алкоголизма и наркоманий // Руководство по наркологии. 2002. Т. 1. С. 140–160.
2. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Медицина, 1991. С. 45–68.
3. *Горідько Т. М., Гула Н. М., Стогній Н. А.* та ін. Вплив N-стеароїлетаноламіну на процесі пероксидного окислення ліпідів та ліпідний склад печінки шурів при гострій морфінній інтоксикації // Укр. біохім. журнал. 2007. Т. 79. № 5. С. 175–185.
4. *Гула Н. М., Маргітич В. М., Артамонов М. В.* та ін. Нейропротекторний ефект N-ацетилетаноламінів за хронічної морфінної залежності. I. Фосфоліпіди головного мозку шурів як мішень для їхньої дії // Укр. біохім. журнал. 2004. Т. 76. № 5. С. 123–131.
5. *Гула Н. М., Маргітич В. М.* Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах. К.: Наук. думка, 2009. 346 с.
6. *Пархоменко Ю. М., Донченко Г. В., Пилипчук С. Ю.* Характерные метаболические нарушения в тканях крыс, вызванные длительным приемом алкоголя // Укр. біохім. журнал. 2007. Т. 79. № 3. С. 62–68.
7. *Balthazart J., Pröve E., Gilles R.* Hormones and Behaviour in Higher Vertebrates. B. Springer-Verlag. 1983. P. 118-136.
8. *Bogdanov V. B., Bogdanova O. V., Koulchitsky S. V.* et al. Behavior in the open field predicts the number of KCl-induced cortical spreading depressions in rats // Behav. Brain. Res. 2013. Vol. 236. N 1. P. 90–93.
9. *Hungund B. L., Basavarajappa B. S.* Are anandamide and cannabinoid receptors involved in ethanol tolerance? A review of the evidence // Alcohol&Alc. 2000 Vol. 35. N 2. P. 126–133.
10. *Maccarrone M., Carboni A., Parolaro D.* et al. Cannabimimetic activity, binding, and degradation of stearyl ethanolamide within the mouse central nervous system // Mol. Cell Neurosci. 2002. Vol. 21 N 1 P. 126–140.
11. *Moise A. M., Eisenstein S. A., Astarita G.* et al. An endocannabinoid signaling system modulates anxiety-like behavior in male Syrian hamsters // Psychopharmacology (Berl). 2008. Vol. 200. N 3. P. 333–346.
12. *Zanettini C., Panlilio L. V., Alicki M.* et al. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior // Front. Behav. Neurosci. 2011. Vol. 5. N 57. P. 1–21.

Стаття: надійшла до редакції 01.03.13

доопрацьована 05.06.13

прийнята до друку 06.06.13

## EFFECTS OF N-STEAROYLETHANOLAMINE AND CHRONIC ALCOHOLIZATION ON BEHAVIOR OF RATS IN “OPEN-FIELD”

O. Bondarenko<sup>1</sup>, N. Gulaya<sup>2</sup>, M. Makarchuk<sup>1</sup>, T. Goridko<sup>2</sup>, V. Baban<sup>1</sup>, O. Kovalenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
Educational and Scientific Centre «Institute of Biology»  
2, Academician Glushkov Ave., Kyiv 03022, Ukraine  
<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine (NASU)  
9, Leontovych St., Kyiv 01601, Ukraine  
e-mail: bondarenko\_oleksandr@ukr.net

The behavioral reactions of rats after administration of alcohol and N-stearoylethanolamine (NSE) were investigated using “open field” test. It was observed that alcohol, NSE or both was able to change the behavior of rats in the open field. It was found that administration of NSE in the dose of 5 mg/kg during 7 days led to reduction of vertical and locomotor activity and had no effect on the parameters of the emotional activity (duration of grooming). Administration of the NSE during the last 7 day of 30-days chronic alcoholization resulted in slight reduction of the rat’s motivation of the alcohol consumption in the case of free choice. At the same time, significant differences of behavior in «Alcohol» and «Alcohol and NSE» groups in open field weren’t found.

*Keywords:* N-stearoylethanolamine, “open field” test, behavior, alcohol, dependence.

## ВЛИЯНИЕ N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА И ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ТЕСТЕ ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ

A. Bondarenko<sup>1</sup>, N. Gulay<sup>2</sup>, N. Makarchuk<sup>1</sup>, T. Goridko<sup>2</sup>, V. Baban<sup>1</sup>, O. Kovalenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
УНЦ «Інститут біології»  
просп. Акад. Глушкова, 2, корп.12, Київ 03022, Україна  
<sup>2</sup>Інститут біохімії імені О.В. Палладина НАНУ  
ул. Леонтовича, 9, Київ 01601, Україна  
e-mail: bondarenko\_oleksandr@ukr.net

Исследовали поведение крыс в тесте «открытое поле» после алкоголизации и введения N-стеароилэтанолamina (NSE). Обнаружено, что алкоголь, NSE и их сочетание способны изменять поведение крыс в открытом поле. Выяснено, что введение NSE в дозе 5 мг/кг в течение 7 дней подавляет локомоторную и вертикальную активность крыс и не влияет на показатели эмоциональной активности (продолжительности груминга). Введение NSE в последние 7 дней хронической 30-дневной алкоголизации несколько снижает мотивацию к потреблению этанола крысами в условиях свободного выбора, но при этом не выявлено существенных различий в поведении в открытом поле алкоголизованных животных и животных, которые на фоне алкоголя получали NSE.

*Ключевые слова:* N-стеароилэтанолamin, тест «открытое поле», поведение, алкоголь, зависимость.

## ОСОБЛИВОСТІ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ДІВЧАТ ПІДЛІТКОВОГО ВІКУ РІЗНИХ СОМАТОТИПІВ ПРИКАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ

І. Султанова\*, І. Іванишин, Б. Лісовський, Р. Арламовський

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ 76018, Україна  
e-mail: IrynaSultanova@gmail.com*

Досліджували особливості варіабельності серцевого ритму у підлітків жіночої статі різних соматотипів, що проживають на території Прикарпаття. Встановлено підвищення загальної потужності спектра серцевого ритму, його складових (TP, мс<sup>2</sup>; HF, мс<sup>2</sup>; LF, мс<sup>2</sup>) у дівчат мезоморфного соматотипу у 13–14 років та підвищення високочастотної складової (HF потг, %) у підлітків екоморфного соматотипу у 14–15 років, яким передували періоди напруження регуляторних систем. У осіб ендоморфного соматотипу найвище напруження регуляторних механізмів виявлене у 12 років, у період з 13 до 15 років спостерігалось поступове підвищення загальної потужності спектра серцевого ритму, яке супроводжувалося зниженням внеску симпатичних (LF потг, %) і збільшенням парасимпатичних (HF потг, %) впливів.

*Ключові слова:* варіабельність серцевого ритму, підлітки, соматотип.

Для сучасного етапу розвитку суспільства характерне збільшення потоку інформації, що є причиною зростання психоемоційного напруження та загального рівня гіпокінезії тощо [12, 20]. Численні дослідження показують, що умови антропогенного навантаження призводять до більш інтенсивного використання адаптаційних можливостей організму [1, 5]. Відомо, що здоров'я людини характеризується не тільки відсутністю патологічно змінених органів і систем, але й функціональними резервами, які забезпечують ефективну адаптацію до мінливих умов середовища [1, 4]. Встановлено, що функціональні резерви організму людини великою мірою визначаються резервами регуляції [1, 3]. Варіабельність серцевого ритму (ВСР) є універсальною фізіологічною властивістю, яка не тільки відображає стан вегетативної нервової системи [27], а й є показником регуляторних процесів на рівні цілісного організму [3, 9, 19], відображає стан його адаптаційних резервів і резервів здоров'я [3, 14, 22]. ВСР дає змогу виявити особливості регуляторних механізмів серця при фізичних навантаженнях [13], у осіб із різними типами гемодинаміки [28], є чутливим показником оцінки ризику розвитку захворювань [5], свідчить про рівень аеробного метаболізму [11], пов'язана з максимальною аеробною потужністю і складом тіла [31]. Встановлено, що ВСР знижується з появою надлишкової маси і розвитком ожиріння у дітей [30], а також відображає особливості статевого розвитку та перебігу фаз менструального циклу [7, 10]. Організм підлітків через незавершеність морфофункціонального розвитку [32], недосконалість його регуляторних механізмів, високу лабільність гостро реагує на впливи несприятливих факторів [6]. У науковій літературі визнано, що соматотип є морфогенетичним маркером, який регламентує особливості розвитку організму на різних етапах онтогенезу [18, 23]. Проте перебіг процесів регуляції в період росту і розвитку організму, залежно від соматотипологічних особливостей, у науковій літературі розкрито недостатньо. Зокрема, встановлено наявність кореляційних зв'язків між показниками тетраполярної реокардіограми [21] та реоенцефалограми [16] з антропо-

соматотипологічними характеристиками осіб підліткового і юнацького віку, виявлено достовірні відмінності потужності низькочастотного компонента спектра серцевого ритму у осіб екто-мезоморфного соматотипу та мезоморфного соматотипу [17]. Оскільки рівень здоров'я школярів України, в тому числі і Прикарпаття, має тенденцію до зниження [2, 15], а підлітковий вік характеризується значною перебудовою регуляторних систем організму [6], це зумовлює необхідність пошуку інформативних критеріїв екосенситивних періодів розвитку залежно від соматотипологічних особливостей особистості.

Мета дослідження – з'ясувати особливості варіабельності серцевого ритму у дівчат підліткового віку залежно від соматотипу.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведені на базі загальноосвітніх шкіл м. Івано-Франківська та області. У дослідженні взяли участь 273 підлітків 12–15 років жіночої статі. Соматотипологічні особливості будови тіла визначали за методом Хіт і Картера [24].

Дослідження проведені із використанням комп'ютерного комплексу «Cardiolab+» ХАІ. Аналіз ВСР (за даними п'ятихвилинної реєстрації) проводили на підставі оцінки абсолютного значення загальної потужності спектра серцевого ритму – TP (мс<sup>2</sup>), його складових у діапазоні високих частот (HF, мс<sup>2</sup>; HF norm, %), низьких частот (LF, мс<sup>2</sup>; LF norm, %) і дуже низьких частот – VLF (мс<sup>2</sup>); визначали співвідношення низькочастотного компонента спектра серцевого ритму до високочастотного LF/HF [3, 33]. Результати дослідження опрацьовані статистично з використанням дисперсійного аналізу.

#### Результати і їхнє обговорення

При дослідженні загальної потужності спектра серцевого ритму нами встановлено (табл. 1), що у дівчат його значення є достовірним вищим у 15 років, ніж у 12 (на 42,2%, P<0,05) і 13 (на 48,3%, P<0,05) років. Ці зміни супроводжуються зменшенням частки симпатичних і підвищенням частки парасимпатичних впливів. Так, зокрема у 15 років відзначено достовірне зниження LF norm, % порівняно з його значенням у 12 років на 12,3% (P<0,05) і підвищення HF norm, % на 10,7% (P<0,05). Отримані результати вікової динаміки ВСР збігаються з наявними дослідженнями [8, 26, 29], які свідчать про підвищення загальної потужності спектра серцевого ритму та його складових у процесі росту і розвитку організму.

Таблиця 1

Вікові особливості варіабельності серцевого ритму дівчат підліткового віку Прикарпатського регіону (M±m)

Показник	Вік			
	12 років, n=59	13 років, n=52	14 років, n=81	15 років, n=81
TP, мс <sup>2</sup>	2738,40±329,67	2625,29±240,32	3617,33±366,67	3892,92±355,02#*
LF, мс <sup>2</sup>	751,51±91,01	670,36±63,27	970,55±107,26#	945,18±77,08#
LF norm, %	46,49±1,93	44,92±2,30	44,66±1,86	40,80±1,81*
HF, мс <sup>2</sup>	1138,39±187,24	988,48±129,11	1560,07±227,32	1843,77±239,27#*
HF norm, %	53,51±1,93	55,08±2,30	55,34±1,86	59,20±1,81*
VLF, мс <sup>2</sup>	725,01±102,40	772,81±72,66	880,20±87,31	926,72±125,73
LF/HF, ум.од.	1,07±0,10	1,06±0,13	1,07±0,11	0,89±0,09

**Примітка.** Позначено достовірні відмінності (P<0,05) порівняно з показниками: \* – у 12 років; # – у 13 років. TP, мс<sup>2</sup> – загальна потужність спектра серцевого ритму; LF, мс<sup>2</sup> – потужність низькочастотної складової спектра серцевого ритму; LF norm, % – потужність низькочастотної складової спектра серцевого ритму в нормалізованих одиницях, HF, мс<sup>2</sup> – потужність високочастотної складової спектра серцевого ритму, HF norm, % – потужність високочастотної складової спектра серцевого ритму в нормалізованих одиницях; VLF, мс<sup>2</sup> – потужність дуже низькочастотної складової спектра серцевого ритму; LF/HF ум. од. – відношення низькочастотного компонента до високочастотного компонента спектра серцевого ритму.



Аналіз динаміки ВСР виявив наявність вікових соматотипологічних особливостей (табл. 2).

Зокрема, у дівчат мезоморфного соматотипу відзначено приріст ТР у 14 років щодо 13 років на 120,5% ( $P < 0,05$ ) та у 15 років на 80,3% ( $P < 0,05$ ). Виявлена аналогічна достовірна динаміка показників  $LF_{mc^2}$  і  $HF_{mc^2}$ . Зміни  $LF_{norm, \%}$ ,  $HF_{norm, \%}$  та  $LF/HF$  були незначні. Таким чином, від 13 до 14 років у підлітків мезоморфного соматотипу спостерігається приріст загальної потужності регуляції серцевого ритму зі зростанням значень усіх його складових, що свідчить про підвищення резервів регуляції, у тому числі симпатичної та парасимпатичної вегетативної системи.

Таблиця 2

Особливості спектральних показників варіабельності серцевого ритму у дівчат підліткового віку Прикарпатського регіону (M+m)

Вік, роки	12	13	14	15
Показники	Ектоморфний соматотип			
n	24	14	20	13
ТР, $mc^2$	1929,56+351,44●	2966,15+547,68	3153,17+564,89	3451,28+619,43*
LF, $mc^2$	484,57+82,04●	717,67+123,77	965,50+184,38*	817,90+134,34
LF norm, %	45,72+3,16	42,51+4,54	49,42+3,73	38,02+3,61■
HF, $mc^2$	759,79+172,06●	1304,89+369,80	1027,86+217,08	1742,54+459,61*
HF norm, %	54,28+3,16	57,49+4,54	50,59+3,73	61,98+3,61■
VLF, $mc^2$	564,31+100,29	773,37+118,56	922,88+155,55#	750,50+125,95
LF/HF, ум.од.	1,03+0,14	0,89+0,16	1,40+0,33	0,70+0,11■
	Мезоморфний соматотип			
n	24	23	21	36
ТР, $mc^2$	3435,64+558,52	2138,73+257,39	4714,66+715,47#	3855,83+561,99#
LF, $mc^2$	946,23+154,89	559,10+88,98	1173,72+186,42#	965,03+120,27#
LF norm, %	43,90+3,01	45,01+3,69	41,73+3,96	42,33+3,07
HF, $mc^2$	1677,05+365,94	879,77+173,18	2191,28+478,00#	1991,48+439,65#
HF norm, %	56,10+3,01	54,99+3,69	58,27+3,96	57,68+3,07
VLF, $mc^2$	698,04+85,09	582,80+79,02	1115,81+240,91*#	713,07+78,33■
LF/HF, ум.од.	0,98+0,20	1,10+0,21	0,94+0,18	1,04+0,18
	Ендоморфний соматотип			
n	11	15	40	32
ТР, $mc^2$	2981,88+970,08	3053,23+512,83	3273,30+566,48	4114,05+598,01
LF, $mc^2$	909,07+277,85	796,79+124,69	866,41+171,21	974,54+131,69
LF norm, %	53,83+3,61	47,03+3,90	43,81+2,53	40,20+2,68*
HF, $mc^2$	789,17+220,50	859,84+102,79	1494,79+363,07	1718,73+306,30
HF norm, %	46,17+3,61	52,97+3,90	56,19+2,53	59,80+2,68*
VLF, $mc^2$	1134,47+465,63◆	1063,63+171,62●	735,17+94,01	1238,66+296,27
LF/HF, ум.од.	1,32+0,18	1,14+0,29	0,97+0,11	0,79+0,09*

**Примітка.** Позначено достовірні відмінності ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками: \* – у 12 років; # – у 13 років; ■ – у 14 років; ● – мезоморфного соматотипу; ◆ – ектоморфного соматотипу. ТР,  $mc^2$  – загальна потужність спектра серцевого ритму; LF,  $mc^2$  – потужність низькочастотної складової спектра серцевого ритму; LF norm, % – потужність низькочастотної складової спектра серцевого ритму в нормалізованих одиницях; HF,  $mc^2$  – потужність високочастотної складової спектра серцевого ритму; HF norm, % – потужність високочастотної складової спектра серцевого ритму в нормалізованих одиницях; VLF,  $mc^2$  – потужність дуже низькочастотної складової спектра серцевого ритму; LF/HF ум. од. – співвідношення низькочастотного компонента до високочастотного компонента спектра серцевого ритму.

Слід відзначити, що у 12 років загальна потужність спектра серцевого ритму була найнижчою у дівчат ектоморфного соматотипу і становила 56,2% від відповідного значення у підлітків мезоморфного соматотипу ( $P < 0,05$ ). Подібна тенденція простежувалась і щодо дівчат ендоморфного соматотипу.

У 12-річних дівчат ендоморфного соматотипу виявлено підвищення потужності дуже низькочастотного компонента порівняно з представницями екоморфного (101,0%,  $P < 0,05$ ) та мезоморфного соматотипів. Слід зазначити, що внесок VLF,  $\text{m}^2$  в загальну потужність спектра серцевого ритму становив у підлітків ендоморфного соматотипу – 38,1%, мезоморфного соматотипу – 20,3% і екоморфного соматотипу – 29,3%. Поряд із цим у дівчат екоморфного соматотипу потужність у діапазоні низьких частот була нижчою щодо значення у дівчат мезоморфного соматотипу на 48,8% ( $P < 0,05$ ). Потужність високочастотного компонента у дівчат екоморфного соматотипу становила 45,3% від рівня осіб мезоморфного соматотипу ( $P < 0,05$ ).

У 13-річних підлітків ендоморфного соматотипу, як і у 12-річних, внесок дуже низькочастотного компонента в загальну потужність спектра серцевого ритму був найвищим – 34,8% ( $P < 0,05$ ) і достовірно відрізнявся від значення у дівчат мезоморфного соматотипу.

Збільшення загальної потужності спектра серцевого ритму також супроводжувалося достовірним приростом дуже низькочастотного компонента спектра в 14 років щодо рівня 13-річних і 12-річних дівчат, однак у 15 років відзначено достовірне зниження VLF,  $\text{m}^2$  на 36,1% ( $P < 0,05$ ).

Слід відзначити, що у 14 років у дівчат екоморфного та мезоморфного соматотипів достовірно збільшувався внесок дуже низькочастотної складової в загальну потужність спектра серцевого ритму, що може свідчити про «критичний період» дозрівання вегетативної нервової системи, пов'язаний із процесами статевого дозрівання [26]. Істотне збільшення потужності дуже низькочастотної складової спектра, яка пов'язана з надсегментарними рівнями регуляції, в тому числі гіпоталамо-гіпофізарним і кірковим рівнем, і відображає церебральні ерготропні впливи на нижчерозташовані рівні [3], у 12-річних осіб ендоморфного соматотипу, порівняно із іншими соматотипологічними групами, може бути обумовлено більш раннім статевим дозріванням, яке супроводжується змінами гормонального статусу, підвищенням інтенсивності метаболізму й активацією ЦНС [3, 4]. Є дані, що VLF є чутливим індикатором управління метаболічними процесами і добре відображає енергодефіцитні стани [25].

У дівчат екоморфного соматотипу відзначено поступовий приріст TP протягом підліткового віку на 78,9% ( $P < 0,05$ ). Це супроводжувалося збільшенням потужності в діапазоні низьких частот у 14 років порівняно із 12-річними підлітками на 99,2% ( $P < 0,05$ ) та дуже низьких частот на 63,5% ( $P < 0,05$ ). Приріст внеску високочастотного компонента за підлітковий період становив 129,3% ( $P < 0,05$ ). Поряд із тим, з 14 до 15 років знижується LF  $\text{norm}, \%$ , LF/HF та зростає HF  $\text{norm}, \%$ . Слід зауважити, що співвідношення низькочастотного компонента спектра до високочастотного у 14-річних дівчат екоморфного соматотипу було найвищим за досліджуваний період, а у 15 років цей показник знижувався на 50,0% ( $P < 0,05$ ).

У дівчат ендоморфного соматотипу протягом підліткового віку відзначено поступове зниження LF  $\text{norm}, \%$  на 25,3% ( $P < 0,05$ ) та підвищення HF  $\text{norm}, \%$  на 29,4% ( $P < 0,05$ ). Ці зміни супроводжувалися зниженням LF/HF на 40,2% ( $P < 0,05$ ).

Отже, наші дослідження показали, що з віком достовірно зростає потужність загального спектра серцевого ритму та окремих його складових ( $F = 5,34$ ;  $P < 0,05$ ); це поєднується зі зменшенням внеску симпатичних і підвищенням парасимпатичних впливів. Отримані результати узгоджуються з існуючими науковими даними [8, 26]. Динаміка показників ВСР у дівчат ендоморфного соматотипу збігається із загальновіковими тенденціями. Проте для дівчат ендоморфного соматотипу найбільше напруження регуляторних механізмів зареє-

строване у 12 років. Це може бути пов'язано з більш ранніми процесами статевого дозрівання, що зазвичай притаманні дівчатам ендоморфного соматотипу [23].

Виявлено чітко виражений приріст функціональних резервів регуляції у дівчат мезоморфного соматотипу протягом 13–14 років. Аналогічні зміни спостерігались у дівчат ектоморфного соматотипу в 14–15 років.

У дівчат ектоморфного соматотипу поряд із зростанням ТР протягом підліткового віку відзначено зростання  $LF_{norm, \%}$  і зниження  $HF_{norm, \%}$  у 13–14 років. Це супроводжувалося підвищенням значень  $LF/HF$ . Отже, у дівчат ектоморфного соматотипу цього віку зареєстровано період підвищення напруги регуляторних механізмів, на зміну якого у 14–15 років приходиться період підвищення функціональних резервів регуляції.

У дівчат ендоморфного соматотипу протягом 12–15 років на фоні приросту значень ТР підвищуються резерви парасимпатичної регуляції та знижується внесок симпатичних впливів у загальний пул регуляторних механізмів. Слід вказати, що для дівчат ендоморфного соматотипу найбільше напруження регуляторних механізмів зареєстроване у 12 років.

Отже, проведене нами дослідження дає підстави зробити такі висновки.

Протягом підліткового віку в дівчат усіх соматотипологічних груп зростає потужність загального пулу регуляторних механізмів (ТР,  $mc^2$ ) і його складових ( $HF mc^2$ ,  $LF mc^2$ ,  $VLF mc^2$ ). Ці зміни супроводжуються зниженням внеску симпатичних ( $LF_{norm, \%}$ ) і перевагою парасимпатичних ( $LF_{norm, \%}$ ) впливів.

Достовірні відмінності показників загальної потужності спектра серцевого ритму, його високочастотного та низькочастотного компонентів між представниками різних соматотипологічних груп виявлено у 12-річному віці.

Період приросту загальної потужності спектра серцевого ритму та його високочастотного і низькочастотного компонентів (ТР,  $mc^2$ ,  $HF mc^2$ ,  $LF mc^2$ ) зареєстровано у дівчат мезоморфного соматотипу в 13–14 років. У дівчат ектоморфного соматотипу в 14–15 років відзначено збільшення внеску парасимпатичних впливів ( $HF_{norm, \%}$ ) у загальну потужність спектра серцевого ритму. Цьому передуює період напруження регуляторних систем у вказаних соматотипологічних групах.

У дівчат ендоморфного соматотипу найвище напруження регуляторних механізмів зареєстроване у 12 років. Протягом усього підліткового періоду спостерігалось поступове підвищення загальної потужності спектра серцевого ритму, яке супроводжувалося зниженням внеску симпатичних ( $LF_{norm, \%}$ ) і збільшенням внеску парасимпатичних ( $HF_{norm, \%}$ ) впливів.

Отримані результати можуть бути підґрунтям для розробки адекватних програм формування здоров'я школярів з урахуванням особливостей функціонального стану у підлітків різних соматотипів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян Н. А. Адаптационная и этническая физиология: экология и здоровье человека // Эколого-физиологические проблемы адаптации: XIV Междунар. симпозиум (Москва, 9–10 апр. 2009 г.). М., 2009. С. 3–7.
2. Арламовський Р. В., Султанова І. Д., Іванишин І. М. Соматотипологічні особливості соматичного здоров'я дівчат підліткового віку // Теорія та методика фізичного виховання. 2012. № 5. С. 12–16.
3. Баевский Р. М. Анализ вариабельности сердечного ритма: история и философия, теория и практика // Клиническая информатика и телемедицина. 2004. № 1. С. 54–64.

4. *Баевский Р. М.* Концепция физиологической нормы и критерии здоровья // Рос. физиол. журнал. 2003. № 4. С. 473–487.
5. *Баранов В. М., Баевский Р. М., Берсенева А. П.* и др. Оценка адаптационных возможностей организма и задачи повышения эффективности здравоохранения // Экология человека. 2004. № 6. С. 25–29.
6. *Белова О. А.* Диагностика вегетативных функций у подростков общеобразовательных школ и использование здоровьеориентированных технологий с целью оптимизации здоровья (1999-2009) // Фундаментальные исследования. 2010. № 3. С. 18–24.
7. *Болова А. А.* Прогнозирование особенностей полового развития девочек на основании оценки вегетативной регуляции: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01. М., 2008. 22 с.
8. *Галеев А. Р., Игишев Л. Н., Казин Э. М.* Вариабельность сердечного ритма у здоровых детей в возрасте 6-16 лет // Вісн. Харк. ун-ту. 2002. № 545. Сер. Медицина. Вип. 3. С. 35–39.
9. *Гжегоцький М. Р., Ковальчук С. М., Паніна Л. В.* та ін. Можливості використання методу варіабельності серцевого ритму для оцінки розвитку адаптивних реакцій за дії різних екстремальних чинників // Фізіол. журнал. 2006. Т. 52. № 2. С. 88.
10. *Димитриев Д. А., Димитриев А. Д., Карпенко Ю. Д., Саперова Е. В.* Особенности функционирования сердечно-сосудистой системы в разные фазы менструального цикла // Рос. физиол. журнал. 2007. № 3. С. 300–305.
11. *Єліссєєва О. П., Семен Х. О., Камінський Д. В.* та ін. Дослідження механізмів взаємозв'язків аеробного метаболізму та ВСР у пацієнтів різних функціональних груп: коригуючий ефект олії амаранта. Ч. 1 // Експеримент. і клін. фізіологія та біохімія. 2011. № 2. С. 48–67.
12. *Коренєв М. М., Даниленко Г. М.* Здоров'я дітей шкільного віку: проблеми і шляхи їх вирішення // Журнал АМН України. 2007. Т. 13. № 3. С. 526–532.
13. *Коритко З. І.* Особливості регуляторних механізмів серця у формуванні перехідних адаптаційно-компенсаторних станів за умов граничних фізичних навантажень // Експеримент. і клін. фізіологія та біохімія. 2011. № 3. С. 66–72.
14. *Лісовський Б. П.* Варіабельність серцевого ритму як показник резервів здоров'я // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 165–171.
15. *Неділько В. П., Камінська В. М., Руденко С. А., Пінчук Л. П.* Стан фізичного здоров'я дітей шкільного віку та шляхи його підвищення // Перинатологія і педіатрія. 2009. № 2(38). С. 72–74.
16. *Нурметова І. К.* Особливості взаємозв'язків товщини шкірно-жирових складок з амплітудними параметрами реоенцефалографії у підлітків різних соматотипів, мешканців Подільського регіону // Вісн. морфології. 2008. № 14(1). С. 118–122.
17. *Очеретна О. Л.* Показники варіабельності серцевого ритму у практично здорових міських підлітків Поділля різних соматотипів // Biomedical and biosocial Anthropology. 2008. № 10. С. 122–126.
18. *Панасюк Т. В.* Конституциональная принадлежность как основа прогноза роста и развития детей от 3 до 17 лет: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 14.00.02. СПб., 2008. 30 с.
19. *Попов В. В., Фрицше Л. Н.* Вариабельность сердечного ритма: возможности применения в физиологии и клинической медицине // Укр. мед. часопис. 2006. № 2 (52). С. 24–31.
20. *Попов О. І., Лупаренко С. Є., Бойко Л. Т.* Психолого-гігієнічна сутність, види та особливості здоров'язберігаючих технологій у дітей в умовах сучасного навколишнього середовища // Довкілля та здоров'я. 2011. № 3. С. 73–76.

21. Сарафинюк Л. А., Белік Н. В., Сарафинюк П. В., Камінська Н. А. Кореляції показників, отриманих методом тетраполярної реокардіографії, з антропометричними і соматотипологічними характеристиками в осіб юнацького віку // Вісн. морфології. 2009. № 15(1). С. 159–164.
22. Сидоренко Г. И. Определение адаптационного резерва организма на основе показателей variability сердечного ритма // Междунар. мед. журнал. 2007. № 2. С. 45–49.
23. Федотова Т. К. Влияние фактора конституции на темпы развития школьников // Новые исследования по генетике развития человека. М., 2007. С. 67–71.
24. Физиологическое тестирование спортсмена высокого класса / под ред. Дж. Дункана Мак-Дугалла, Говарда Э. Уэнгера, Говарда Дж. Грина. К.: Олимпийская литература, 1998. С. 235–269.
25. Флейшман А. Н. Энергодефицитные состояния, нейровегетативная регуляция физиологических функций и variability ритма сердца // Медленные колебательные процессы в организме человека. Теоретические и прикладные аспекты нелинейной динамики в физиологии и медицине: Матер. IV Всерос. симп. с междунар. участием и II школы-семинара, 24–27 мая 2005. Новокузнецк, 2005. С. 10.
26. Хаспекова Н. В. Диагностическая информативность мониторинга variability ритма сердца // Вестн. аритмологии. 2003. № 32. С. 15–23.
27. Цяпець Г. Б., Фекета В. П., Горленко О. М. та ін. Порівняльний аналіз variability серцевого ритму у здорових дітей шкільного віку та дітей з різними формами вегетативних дисфункцій // Современная педиатрия. 2006. № 1 (10). С. 92–97.
28. Шінкарук-Диковицька М. М. Показники variability серцевого ритму у практично здорових підлітків з різними типами гемодинаміки // Biomedical and biosocial Anthropology. 2008. № 10. С. 131–138.
29. Шлык Н. И., Сапожникова Е. Н., Шумихина И. И. и др. ВСР у детей, взрослых и спортсменов с разным типом функционального состояния регуляторных систем // Variability сердечного ритма. Теоретические аспекты и практическое применение: тез. докл. IV Всерос. симп. / отв. ред. Н. И. Шлык, Р. М. Баевский. Ижевск: УдГУ. 2008. 344 с.
30. Birch S. L., Duncan M. J., Franklin C. Overweight and reduced heart rate variability in British children: An exploratory study // Prev. Med. 2012 Sep 23.pil: S0091-7435(12) 00462-8.
31. Esco M. R., Williford H. N., Olson M. S. Skinfold thickness is related to cardiovascular autonomic control as assessed by heart rate variability and heart rate recovery // J. Strength Cond Res. 2011. N 25(8):P. 2304–2310.
32. Fukuba Y., Sato H., Sakiyama T. et al. Autonomic nervous activities assessed by heart rate variability in pre- and post-adolescent Japanese // J. Physiol. Antropol. 2009. Nov. 28 (6). P. 269–273.
33. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology // European Heart J. 1996. N 17. P. 354–381.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 08.05.13

прийнята до друку 06.06.13

**PECULIARITIES OF HEART RATE VARIABILITY IN FEMALE ADOLESCENTS  
OF DIFFERENT SOMATOTYPES OF PRECARPATHIAN REGION**

**I. Sultanova, I. Ivanyshyn, B. Lisovskiy, R. Arlamovskiy**

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University  
57, T. Shevchenko St., Ivano-Frankivsk 76018, Ukraine  
e-mail: IrynaSultanova@gmail.com*

The peculiarities of heart rate variability in female adolescents of different somatotypes living in the Carpathians it is studied. The increasing total power heart rate spectrum and its components (TP, ms<sup>2</sup>; HF, ms<sup>2</sup>; LF, ms<sup>2</sup>) in mesomorphic type girls aged 13–14 and increasing of high-frequency component (HF norm, %) in ectomorphic somatotype adolescents aged 14–15 which preceded the periods of regulatory systems is found. In endomorphic somatotype persons the highest stress regulation mechanisms is found in 12 years, from 13 to 15 years was observed a gradual increase of total power spectrum of heart rate, which was accompanied by a decrease of contribution of sympathetic (LF norm, %) and increase of parasympathetic (HF norm, %) influences.

*Keywords:* heart rate variability, teens, somatotype.

**ОСОБЕННОСТИ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА  
У ДЕВУШЕК ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА РАЗНЫХ  
СОМАТОТИПОВ ПРИКАРПАТСКОГО РЕГИОНА**

**И. Султанова, И. Иванишин, Б. Лисовский, Р. Арламовский**

*Прикарпатский национальный университет имени Василия Стефанюка  
ул. Тараса Шевченко, 57, Ивано-Франковск 76018, Украина  
e-mail: IrynaSultanova@gmail.com*

Исследовали особенности вариабельности сердечного ритма у подростков женского пола различных соматотипов, проживающих на территории Прикарпатья. Установили повышение общей мощности спектра сердечного ритма, его составляющих (TP, мс<sup>2</sup>, HF мс<sup>2</sup>, LF мс<sup>2</sup>) у девушек мезоморфного соматотипа в 13–14 лет и повышение высокочастотной составляющей (HF norm, %) у подростков эктоморфного соматотипа в 14–15 лет, которым предшествовали периоды напряжения регуляторных систем. У лиц эндоморфного соматотипа наиболее высокая степень напряжения регуляторных механизмов зарегистрирована в 12 лет, на протяжении 13–15 лет отмечено постепенное повышение общей мощности спектра сердечного ритма, сопровождающееся уменьшением доли симпатических (LF norm, %) и увеличением доли парасимпатических (HF norm, %) влияний.

*Ключевые слова:* вариабельность сердечного ритма, подростки, соматотип.

УДК 582. 929.4:581.5 (477.42)

**БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД ІНТРОДУЦЕНТА *HYSSOPUS OFFICINALIS* L.  
ЗАЛЕЖНО ВІД СОРТОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ**

**Л. Котюк**

*Житомирський національний агроекологічний університет  
Бульвар Старий, 7, Житомир 10008, Україна  
e-mail: kotyukl@mail.ru*

Представлено результати досліджень біохімічного складу фітосировини й ефірної олії *Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant*, *H. officinalis* L. cv. *Markiz*, *H. officinalis* L. cv. *Vodograj*. Показано, що за вмістом окремих складових біохімічні показники відрізняються. Сухих речовин, клітковини, кальцію і калію найбільше у сорту Маркіз; протеїну, каротину та жирів – у сорту Водограй; цукрів – у сорту Атлант. Сумарний вміст пінокамфону й ізопінокамфону в ефірній олії досліджуваних сортів суттєво не відрізнявся і становив близько 90%.

*Ключові слова:* *Hyssopus officinalis* L., ефірна олія, біохімічні показники, Полісся України.

Гісоп лікарський (*Hyssopus officinalis* L.) – цінна пряно-ароматична, лікарська та ефіроолійна рослина, яка належить до родини Губоцвіті (*Lamiaceae*). Останнім часом гісоп дедалі частіше культивують у різних регіонах України. Найбільші за площею плантації цієї рослини зосереджені на Півдні та Заході України, хоча все частіше можна зустріти повідомлення про культивування гісопу лікарського у зоні Лісостепу та Полісся [3, 8].

Відомо, що у фазі цвітіння надземна маса гісопу лікарського містить від 0,36 до 1,3% ефірної олії в перерахунку на суху вагу; флавоноїди (діосмін, гесперидин); тритерпенові кислоти (урсолова і олеанолова); дубильні та гіркі речовини, смоли, камедь, пігменти, вітамін С й інші речовини. Ефірна олія гісопу складається з терпінену (до 40%), борнеолу, терпінеола (до 20%), терпінелацетату, борнілацетату (до 10%), пінену, цинеолу, камфену, сесквітерпену (до 9%) і фенолів [8, 10, 17, 19].

Рослину сировину й ефірну олію гісопу використовують у фармації, парфумерії та харчовій галузі. Гісоп має чудові фітонцидні властивості й декоративність. Ця рослина – цінний медонос, а гісоповий мед характеризується високою якістю й цілющими властивостями [4, 8, 11].

Молоді та нездерев'янілі листки, стебла гісопу, що починають цвісти, мають терпкий пряний гіркуватий смак і приємний аромат, використовуються як прянощі. У свіжому або сушеному вигляді їх застосовують як запашну приправу для ароматизації холодних закусок, перших і других страв, додають у салати, супи, фарші, паштети, овочеві та дієтичні страви [3].

Використання зелені гісопу в їжу сприяє травленню, підвищує апетит, тонізує організм, діє як загальнозміцнювальний засіб. Фітосировину гісопу використовують при бронхітах, катарах верхніх дихальних шляхів, бронхіальній астмі, стенокардії, неврозах, захворюваннях суглобів, хронічних колітах, метеоризмі, як протигельмінтний, зменшувачий потовиділення засіб, а також як антисептик. Зовнішньо використовують настої та

відвари для промивання очей, при стоматитах, захворюваннях носоглотки, для компресій при крововиливах, забиттях і як ранозагоювальний засіб [1, 8, 14, 15].

З метою введення в культуру та подальшого використання досліджуваних рослин нами упродовж 2010–2012 років було вивчено компонентний склад рослинної сировини й ефірних олій різних сортів гісопу, вирощених в умовах Житомирського Полісся.

#### Матеріали та методи

У дослідженнях використовували три сорти гісопу – Атлант (*Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant*) – форма рожевоквіткова, Маркіз (*Hyssopus officinalis* L. cv. *Markiz*) – ф. сіньоквіткова, Водограй (*Hyssopus officinalis* L. cv. *Vodograj*) – ф. білоквіткова, створені у Національному ботанічному саду (НБС) імені М.М. Гришка НАН України. Інтродукційні дослідження проводили на експериментальних ділянках ботанічного саду Житомирського національного агроекологічного університету. Біохімічні дослідження здійснювали в лабораторії відділу нових культур НБС імені М.М. Гришка НАН України.

Сировину збирали у період цвітіння (у першій декаді серпня), коли рослини досягають максимальної продуктивності. Для біохімічного аналізу використовували надземну частину п'ятнадцяти рослин другого року зростання кожної форми, подрібнювали та перемішували для взяття середньої проби. Абсолютно суху речовину визначали шляхом висушування зразків при температурі 105°C до постійної маси; вміст жирів – методом визначення знежиреного залишку; “сиру” клітковину – за Геннебергом і Штоманом; кальцій – трилонометричним методом [7]; протеїн – методом К'ельдаля; фосфор – об'ємним методом із молібденовою рідиною [13]; золу – методом спалювання в муфельній печі (300–700°C); мокре озолення – методом Куркаєва; аскорбінову кислоту – за Муррі [5]; каротин – спектрофотометрично із застосуванням розчинника бензину Калоша (спектрофотометр UNICO 2800) [12]; загальний вміст цукрів – за Крищенком [9]; калій – у полум'яному фотометрі CL 378 (ELICO Limited, India) [5]. Ефірну олію отримували за методикою Клеwendжера [16].

Хроматографічний аналіз компонентного складу ефірної олії виконували в Національному інституті винограду і вина «Магарач» НАНУ на газорідинному хроматографі Agilent Technologies 6890 із мас-спектрометричним детектором 5973. Умови аналізу: хроматографічна колонка – капілярна DB-5, діаметром 0,25 мм і завдовжки 30 м. Швидкість газу-носія (гелію) – 2 мл/хв, температура нагрівача при введенні проби – 250°C. Температура термостата з програмуванням від 50 до 320°C зі швидкістю 4 °/хв. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більше 470 000 у комплексі з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST [18].

Отримані дані обчислювали статистично [6].

#### Результати і їхнє обговорення

Результати експериментальних досліджень із визначення **компонентного складу фітомаси гісопу лікарського** показали, що найбільший вміст сухої речовини – 28,53% виявлено у рослин сорту Маркіз, у сорту Атлант цей показник був найнижчим і становив 22,96%. За вмістом клітковини і золи сорт Маркіз переважав в 1,3 разу сорти Атлант і Водограй. Вміст протеїну у рослин сорту Водограй становив 21,27%, що у 1,5 разу більше порівняно зі сортом Атлант, де цей показник становив 14,35%. За вмістом жирів рослини сорту Водограй переважали над рослинами інших сортів у середньому в 1,2 разу. Найвищий вміст загальних цукрів було виявлено у фітомасі сорту Атлант – 11,39%, що в 1,6 разу перевищує цей показник у сорту Водограй та в 1,9 разу – у сорту Маркіз (табл. 1).



Таблиця 1

Біохімічний склад рослин *Hyssopus officinalis* залежно від сортових особливостей,  
% на абсолютно суху масу

Компонент	Hyssopus officinalis L. cv.	Hyssopus officinalis L.	Hyssopus officinalis L. cv.
	Atlant	cv. Markiz	Vodograj
Суша речовина	22,96±1,09	28,53±2,30	25,05±0,53
Клітковина	32,55±0,25	41,20±0,76	31,92±0,32
Зола	5,74±0,44	7,20±0,46	5,64±1,44
Протеїн	14,35±0,90	19,18±0,92	21,27±2,83
Загальний цукор	11,39±0,04	6,09±0,25	7,37±0,46
Жири	3,63±0,17	3,81±0,09	4,50±0,68

Дослідження показали, що за вмістом каротину переважає сорт Водограй (в 1,7 разу), де цей показник становив 2,28%, у сортів Маркіз і Атлант – відповідно 1,37 і 1,32% (рис. 1).

Встановлення вмісту аскорбінової кислоти у рослинній сировині гісопу показало, що сорти Водограй і Атлант майже не відрізнялися за цим показником (170,13 і 165,72 мг%), у сорту Маркіз цей показник був нижчим в 1,6 разу і становив 105,15 мг% на суху масу (рис. 2). Досить суттєвий вміст аскорбінової кислоти у гісопу лікарського свідчить про перспективність використання цієї рослини як джерела сировини для потреб фармацевтичної та харчової галузей.

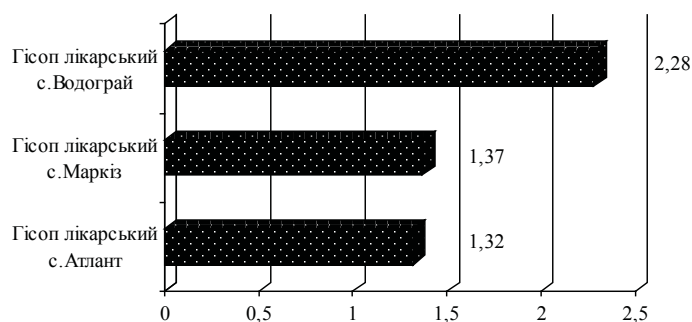


Рис. 1. Вміст каротину у фітосировині залежно від сортових особливостей *Hyssopus officinalis*, мг% на абсолютно суху речовину.

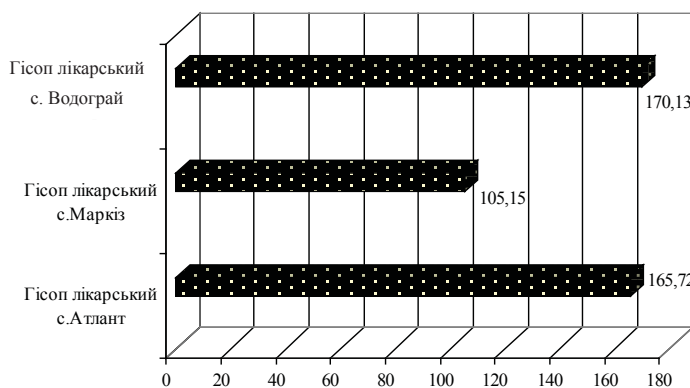


Рис. 2. Вміст аскорбінової кислоти у рослин *Hyssopus officinalis* залежно від сортових особливостей, мг% на абсолютно суху речовину.

Дослідженнями встановлено, що вміст кальцію у рослинній сировині сорту Маркіз в 1,8 разу більший порівняно з цим показником у сорту Атлант і у 3 рази – у сорту Водограй. Найвищий вміст калію – 2606,44 мг% виявлено також у сорту Маркіз, тоді як у сорту Водограй цей показник становив 1607,41. За вмістом фосфору рослини досліджуваних сортів суттєво не відрізнялися (табл. 2).

Слід відзначити, що рослинна сировина гісопу за вмістом калію незначно поступається овочевим культурам, тому може бути цінним джерелом хімічних елементів, які необхідні для нормального перебігу процесів метаболізму в організмі людини.

Таблиця 2

Вміст макроелементів у рослинній сировині *H. officinalis* залежно від сортових особливостей

Сорт рослин <i>H. officinalis</i>	Фосфор, %	Кальцій, %	Калій, мг%
Атлант	0,14±0,001	1,53±0,08	1720,84±93,69
Маркіз	0,15±0,006	2,73±0,24	2607,44±94,64
Водограй	0,15±0,004	0,91±0,11	1607,41±95,46

При дослідженні компонентного складу ефірної олії у досліджених зразках сорту Водограй виявлено 11 компонентів, сорту Маркіз – 9, сорту Атлант – 8. Вміст ліналоолу, β-туйону та пінокарвеолу найвищий у сорту Водограй; міртенолу, пінокамфону – у сорту Маркіз; 1-октен-3-олу та ізопінокамфону – у сорту Атлант (рис. 3–5).

На думку Б. О. Виногадова, висока якість ефірної олії гісопу залежить від співвідношення основних компонентів – пінокамфону й ізопінокамфону, загальний вміст яких має становити більше 55% [2].

Вивчення основних компонентів ефірних олій показало, що сумарний вміст пінокамфону й ізопінокамфону в ефірній олії досліджуваних сортів суттєво не відрізнявся і становив у сорту Атлант 90,432; у сорту Маркіз – 89,228 та у сорту Водограй – 89,096%. Співвідношення вищеназваних компонентів у різних сортах відрізняється – пінокамфон переважає у рослинній сировині сортів Маркіз і Водограй, ізопінокамфон – у сорту Атлант (табл. 3).

Таблиця 3

Компонентний склад ефірних олій рослин *H. officinalis* залежно від сортових особливостей, %

№ з/п	Компоненти ефірних олій	<i>Hyssopus officinalis</i>	<i>Hyssopus officinalis</i>	<i>Hyssopus officinalis</i>
		<i>L. cv. Atlant</i>	<i>L. cv. Markiz</i>	<i>L. cv. Vodograj</i>
1	1-октен-3-ол	0,891	0,596	0,842
2	1,8-цинеол	0,591	0,502	0,842
3	ліналоол	1,869	1,439	2,669
4	β-туйон	0,163	0,164	0,212
5	пінокарвеол	0,207	0,206	0,365
6	пінокамфон	35,641	52,480	56,377
7	ізопінокамфон	54,791	36,748	32,719
8	міртенол	5,527	7,727	5,066
9	транс-сабіненгідрат	–	0,137	0,161
10	1(7),3,8-о-ментатрієн	–	–	0,444
11	елемол	–	–	0,645

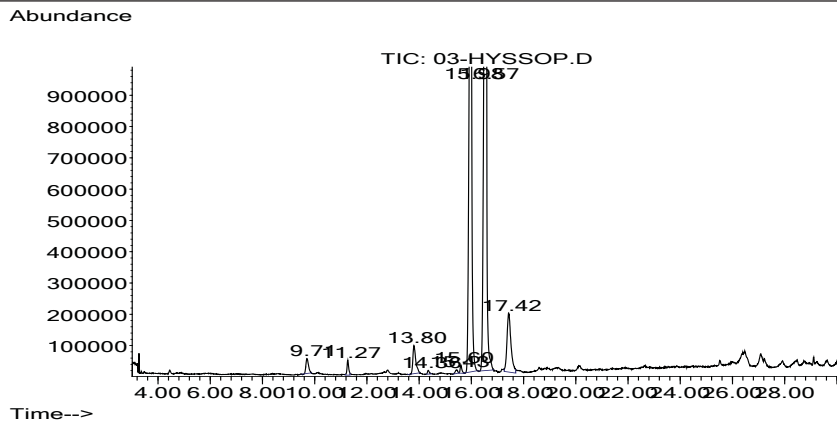


Рис. 3. Хроматограма ефірної олії, отриманої з надземної частини рослин *Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant* у період цвітіння в умовах ботанічного саду ЖНАЕУ.

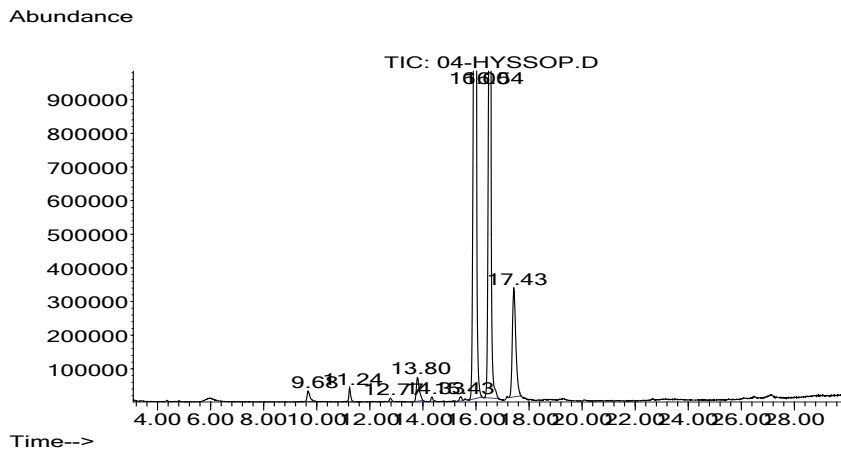


Рис. 4. Хроматограма ефірної олії, отриманої з надземної частини рослин *Hyssopus officinalis* L. cv. *Markiz* у період цвітіння в умовах ботанічного саду ЖНАЕУ.

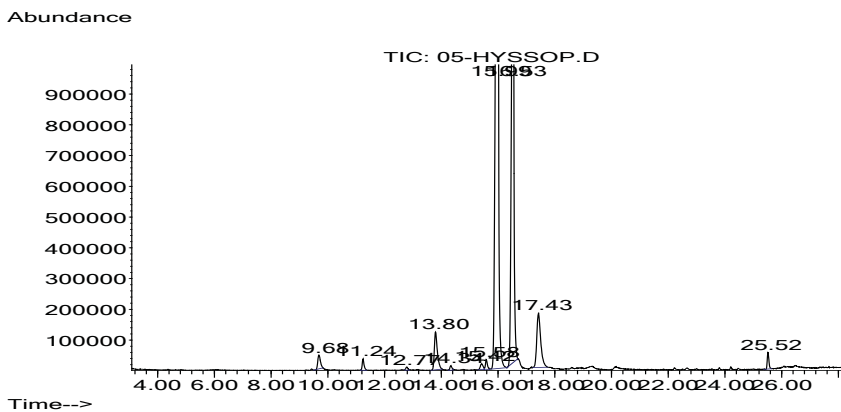


Рис. 5. Хроматограма ефірної олії, отриманої з надземної частини рослин *Hyssopus officinalis* L. cv. *Vodograj* у період цвітіння в умовах ботанічного саду ЖНАЕУ.

Згідно з відомостями О.М. Шибко, сума пінокамфону й ізокамфону в ефірній олії гісопу, вирощеного в умовах передгірної зони Криму, не перевищувала 70% [19]. Враховуючи те, що в умовах Житомирського Полісся було отримано ефірну олію гісопу з 90% сумарним виходом пінокамфону й ізокамфону, можна зробити висновок, що всі сорти інтродуцента адаптовані до нових умов зростання.

Дослідженнями встановлено, що сухих речовин, клітковини, кальцію і калію найбільше у сорту Маркіз; протеїну, каротину та жирів – у сорту Водограй; цукрів – у сорту Атлант. Сумарний вміст пінокамфону й ізокамфону в ефірній олії досліджуваних сортів суттєво не відрізнявся і становив близько 90%. Співвідношення вищезазначених компонентів у різних сортах відрізняється – пінокамфон переважає у сортів Маркіз і Водограй, ізокамфон – у сорту Атлант.

Можна зробити висновок, що результати біохімічних досліджень рослин *Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant*, *H. officinalis* L. cv. *Markiz*, *H. officinalis* L. cv. *Vodograj*, інтродукованих в умовах Полісся України, підтверджують їхню високу поживну цінність для використання у фармацевтичній, харчовій промисловостях і косметології. При виборі напряму використання сировини гісопу слід враховувати його сортові особливості. Отримані результати свідчать про необхідність і можливість культивування вищезазначених сортів у Поліссі України для практичного використання.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бобкова І. А., Варлахова Л. В., Маньковська М. М. Фармакогнозія: підручник. К.: Медицина, 2006. 440 с.
2. Виноградов Б., Виноградова Н., Голан Л. Ароматерапія. Учебный курс. Калифорния: Fultus Publishing, 2010. 433 с.
3. Воронина Е. П., Годунов Ю. Н., Годунова Е. О. Новые ароматические растения для Нечерноземья. М.: Наука, 2001. 173 с.
4. Гоменюк Г. А., Даниленко В. С., Гоменюк І. І., Даниленко І. В. Практическое применение лекарственных сборов: справочник. К.: А.С.К., 2001. 432 с.
5. Грицаєнко З. М., Грицаєнко А. О., Карпенко В. П. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів. К.: НІЧЛАВА, 2003. 320 с.
6. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Колос, 1979. 416 с.
7. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
8. Жаріков В. І., Остапенко А. І. Вирощування лікарських, ефіроолійних, пряносмакових рослин. К.: Вища школа, 1994. 234 с.
9. Крищенко В. П. Методы оценки качества растительной продукции. М.: Колос, 1983. 192 с.
10. Никитина А. С., Попова О. И. Исследование тритерпеновых соединений иссопа лекарственного, культивируемого в условиях Ставропольского края // Фундаментальные исследования. 2011. № 11. Ч. 2. С. 430–432
11. Никитина А. С., Попова О. И., Попов И. В., Никитина Н. В. Разработка и научное обоснование комплексного использования растительного сырья иссопа лекарственного и змееголовника молдавского // Современные проблемы науки и образования: электрон. журнал. 2011. № 2.
12. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1985. 256 с.
13. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений. К.: Наукова думка, 1976. 336 с.
14. Работягов В. Д., Бакова Н. Н., Хлытенко Л. А. и др. Эфиромасличные культуры и пряноароматические растения для использования в фитотерапии. Ялта, 1998. 82 с.

15. Савченко В. Н., Яблчанский Н. И., Хворостинка В. Н., Сокол К. М. Лекарственные растения и фитотерапия. Харьков: Гриф, 2004. 272 с.
16. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла: ГОСТ 24027.2–80. [Действующий с 1981–01–01]. М., 1988. 120 с. (Межгосударственный стандарт).
17. Танасиенко Ф. С. Эфирные масла, содержание и состав в растениях. К.: Наукова думка, 1985. 264 с.
18. Черногород Л. Б., Виноградов Б. А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол // Растительные ресурсы. СПб., 2006. Т. 42. Вып. 2. С. 61–68.
19. Шибко О. М. Біологічні особливості гісопу лікарського (*Hyssopus officinalis* L.) в умовах Передгірної зони Криму: автореф. дис. ... канд.біол.наук: 03.00.05. Ялта, 2012. 21 с.

Стаття: надійшла до редакції 25.02.13

доопрацьована 15.04.13

прийнята до друку 17.04.13

#### BIOCHEMICAL CONSTITUENTS OF *HYSSOPUS OFFICINALIS* L. DEPENDING ON CHARACTERISTICS

L. Kotyuk

Zhytomyr National Agroecological University  
7, Staryi Blvd, Zhytomyr 10008, Ukraine  
e-mail: kotyukl@mail.ru

The article presents the results of researching biochemical composition of herb stuff and essential oil *Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant*, *H. officinalis* L. cv. *Markiz*, *H. officinalis* L. cv. *Vodograj*. It has been proved that the composition of individual components differ in their biochemical parameters. Marquis has the highest composition of dry substance, fiber, calcium and potassium; whereas Fountain has protein, carotene and fat; Atlanta has sugars. Total composition of pinokamfon and izopinokamfon in essential oil of the researched varieties does not differ significantly and makes up around 90%.

**Keywords:** *Hyssopus officinalis* L., essential oil, biochemical parameters, Woodlands of Ukraine.

#### БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ИНТРОДУЦЕНТА *HYSSOPUS OFFICINALIS* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОРТОВЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Л. Котюк

Житомирский национальный агроэкологический университет  
Бульвар Старый, 7, Житомир 10008, Украина  
e-mail: kotyukl@mail.ru

Представлены результаты исследований биохимического состава фитосырья и эфирного масла *Hyssopus officinalis* L. cv. *Atlant*, *H. officinalis* L. cv. *Markiz*, *H. officinalis* L. cv. *Vodograj*. Показано, что по содержанию отдельных составляющих биохимические показатели отличаются. Сухих веществ, клетчатки, кальция и калия больше у сорта Маркиз; протеина, каротина и жиров – у сорта Водограй; сахаров – у сорта Атлант. Суммарное содержание пинокамфона и изопинокамфона в эфирном масле исследованных сортов существенно не отличалось и составило около 90%.

**Ключевые слова:** *Hyssopus officinalis* L., эфирное масло, биохимические показатели, Полесье Украины.

**ВПЛИВ НОВИХ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА ВМІСТ ПІГМЕНТІВ  
ФОТОСИНТЕЗУ ТА РОЗЧИННИХ ВУГЛЕВОДІВ У РОСЛИН  
*POLYGONUM CUSPIDATUM* SIEB. ET ZUC. ЗА УМОВ РОСТУ  
НА СУБСТРАТАХ ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ**

**С. Ващук<sup>1</sup>, Д. Рахметов<sup>2</sup>, О. Романчук<sup>1</sup>, В. Баранов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка

вул. Тімірязєвська, 1, Київ 01014, Україна

e-mail: sergijvaschuk@gmail.com

Проаналізовано вміст пігментів фотосинтезу та водорозчинних вуглеводів у гірчаку японському (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zuc) за умов росту на субстратах породного відвалу вугільних шахт при обприскуванні гібереліном, Цирконом, Епін-ном-екстра, Мочевином-К1. Позитивний вплив регуляторів росту на рослини гірчаку, які ростуть на субстратах відвалу, здійснюється шляхом збільшення вмісту хлорофілів і каротиноїдів. Вміст водорозчинних вуглеводів за дії регуляторів виявився практично незмінним.

*Ключові слова:* гірчак японський (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zuc), субстрати породних відвалів вугільних шахт, пігменти фотосинтезу, розчинні вуглеводи, регулятори росту (гіберелін, Циркон, Епін-екстра, Мочевин-К1).

Техногенно девастовані території – терикони, утворені в результаті діяльності вугільної промисловості, створюють цілий комплекс негативного впливу на навколишнє середовище [2, 3, 20]. Для зменшення цього впливу відвали вугільних шахт необхідно рекультивувати [13] в три етапи: підготовчий, гірничо-технічний і біологічний. Саме біологічний етап рекультиваци визначає швидкість відновлення техногенного ландшафту. Для ренатуралізації порушених територій шляхом озеленення рекомендується використовувати нанесення родючого шару ґрунту для кращого росту рослин, але цей процес економічно не вигідний, адже потребує багато зусиль і коштів. Тому на сьогоднішній час розробляються більш дешеві методи рекультиваци відвалів, зокрема фіторекультиваци. Одним із можливих прийомів прискорення фіторекультиваци є обробка рослин регуляторами росту, які стимулюють їх ріст, покращують антиоксидантні властивості, стійкість до стресів [9, 15, 22, 27, 28].

У даній роботі для стимуляції росту рослин гірчаку, які ростуть на субстратах породного відвалу вугільних шахт, застосовували гіберелову кислоту (ГК) та нові регулятори – Епін-екстра, Циркон і Мочевин-К1.

Епін-екстра синтетичний брасиностероїд, аналог природного фітогормону (виробництво Росії) має антистресовий і адаптогенний ефект [7, 10, 11, 21] У препараті Циркон, також виробництва Росії, діючою речовиною є суміш гідроксикоричних кислот, які отримують із рослинної сировини ехінацеї пурпурової. Біологічна активність Циркону значною мірою обумовлена антиоксидантними властивостями, характерними для фенольних сполук. За його дії активація процесів росту і ризогенезу рослин спостерігається на ранніх етапах розвитку. Крім стимуляції росту, Циркон у рослинах виконує функції імуномодулятора й антистресового адаптогена [16, 19].

До складу Мочевину-К1 (виробництво НВО «Агронауковець», патент №45214А 15.05.2002, Україна), входить суміш різних речовин, які виконують функції добрив і регулятора росту – органічні кислоти трикарбонового циклу в поєднанні з органічним азотом. Препарат посилює ріст кореневої системи, збільшує біомасу рослин і покращує їхню імунну систему [29, 30].

Метою роботи було дослідити вміст пігментів фотосинтезу і розчинних вуглеводів у органах гірчака японського за умов росту на субстратах відвалу, із застосуванням обприскування рослин регуляторами росту.

#### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був гірчак японський (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc), який здатен продукувати значну фітомасу, нагромаджувати важкі метали і рости в екстремальних едафічних умовах породних відвалів вугільних шахт [6]. Субстрати для вирощування рослин були відібрані на відвалі Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) «Червоноградська» Сокальського району Львівської області. Рослини гірчака японського викопували у ботанічному саді ЛНУ ім. І. Франка (м. Львів) та пересаджували у горщики зі субстратами породного відвалу – чорним (неперогорілим) і червоним (перегорілим), за контроль слугувала суміш торф-пісок (1:1). Через 2 тижні рослини обприскували регуляторами росту і ще через тиждень після цього визначали вміст пігментів фотосинтезу та вуглеводів у листках. Визначення пігментів фотосинтезу проводили в ацетоновому витягу спектрофотометричним методом, з обрахунком їхнього вмісту за формулами Ветштейна [17]. Вміст водорозчинних вуглеводів визначали фотометричним методом за Дюбойсом [18]. Отримані результати опрацьовували методами статистичного аналізу [14].

#### Результати і їхнє обговорення

У різних умовах довкілля вміст пігментів фотосинтезу може значно відрізнитися [4, 8], тому цей показник можна використовувати як індикатор життєздатності рослин в екстремальних умовах навколишнього середовища [23–25].

Таблиця 1

Вплив обробки регуляторами росту на вміст пігментів фотосинтезу в гірчаку японського за умов росту на субстратах відвалу

Регулятор росту	Хлорофіл <i>a</i>		Хлорофіл <i>b</i>		<i>a+b</i>		Каротиноїди		<i>a/b</i> мг/г
	мг/г	%*	мг/г	%*	мг/г	%*	мг/г	%*	
Торф-пісок (1:1)									
Контроль	0,808±0,008	100	0,507±0,012	100	1,316±0,020	100	0,378±0,001	100	1,594
ГК	0,889±0,016	111	0,352±0,014	69	1,250±0,070	95	0,214±0,049	57	2,554
Епін-екстра	0,816±0,012	101	0,333±0,032	66	1,148±0,024	87	0,308±0,003	81	2,452
Циркон	0,438±0,011	54	0,368±0,019	73	0,806±0,026	61	0,319±0,003	84	1,192
Мочевин-К1	0,772±0,007	96	0,307±0,010	61	1,079±0,002	82	0,457±0,001	121	2,516
Червоний субстрат									
Контроль	0,330±0,017	100	0,206±0,026	100	0,535±0,015	100	0,237±0,010	100	1,601
ГК	0,880±0,006	267	0,512±0,021	249	1,391±0,023	260	0,443±0,008	187	1,719
Епін-екстра	0,900±0,005	273	0,483±0,022	234	1,383±0,019	259	0,446±0,005	188	1,893
Циркон	0,793±0,001	240	0,546±0,060	265	1,339±0,061	250	0,454±0,005	192	1,454
Мочевин-К1	0,838±0,005	254	0,399±0,014	194	1,237±0,017	231	0,429±0,003	181	2,100
Чорний субстрат									
Контроль	0,494±0,005	100	0,372±0,024	100	0,866±0,022	100	0,308±0,004	100	1,328
ГК	0,677±0,007	137	0,360±0,011	97	1,038±0,018	120	0,353±0,007	115	1,879
Епін-екстра	0,617±0,015	125	0,288±0,055	77	0,905±0,124	105	0,307±0,055	100	2,143
Циркон	0,705±0,009	143	0,394±0,026	106	1,098±0,026	127	0,452±0,001	147	1,790
Мочевин-К1	0,722±0,007	146	0,232±0,017	62	0,954±0,021	110	0,442±0,002	144	3,106

**Примітка.** % \* в таблиці – % до контролю.

Результати визначення вмісту пігментів фотосинтезу в гірчаку японському подані у табл. 1. Вміст хлорофілів у гірчаку за росту на субстратах відвалу без обприскування регуляторами росту зменшувався майже удвічі порівняно із контролем (ріст на торфі), що можна пояснити їхнім прямим руйнуванням за дії кислотності субстратів чи внаслідок інгібування процесів метаболізму внаслідок токсичної дії важких металів або сумісної дії цих чинників [1].

При обприскуванні регуляторами росту спостерігали збільшення вмісту хлорофілу *a* за росту на обох субстратах і хлорофілу *b* на червоному субстраті, що свідчить про активацію метаболізму рослин. На чорному субстраті вміст хлорофілу *b* був на рівні контролю або меншим за дії Епін-екстра та Мочевину-К1, оскільки цей субстрат є неперегорілим і більш токсичним для рослин унаслідок більшого вмісту важких металів.

Співвідношення хлорофіл *a/b*, яке свідчить про пристосованість рослин до певного режиму освітлення, збільшується у всіх варіантах (крім Циркону на суміші торф-пісок і червоному субстраті) стосовно необроблених рослин, що вказує на збільшення світлолюбності рослин після обприскування регуляторами.

Ще одним важливим класом пігментів є каротиноїди, які мають антиоксидантні властивості й захищають хлорофіли від фотовицвітання. За умов росту гірчака на субстратах відвалу спостерігалось зменшення вмісту каротиноїдів у його листках порівняно з торфвою сумішшю, а при обприскуванні регуляторами росту відбувалося їхнє збільшення, особливо на червоному субстраті, за рахунок чого, вочевидь, і зростає вміст хлорофілів. Отже, при обприскуванні ГК та новими регуляторами росту спостерігалось підвищення вмісту хлорофілів і каротиноїдів, що сприятиме накопиченню органічної маси у рослин гірчаку.

Що стосується впливу регуляторів на вміст пігментів фотосинтезу в рослин, які росли на торфвій суміші, то їхня кількість у більшості варіантів була на рівні контролю (табл. 1). Можна припустити, що ці рослини мали достатню кількість ендогенних фітогормонів, тому екзогенні регулятори не мали особливого впливу на метаболізм пігментів [26].

Адаптація рослин до стресорів включає в себе також нагромадження різноманітних сполук, для яких властива поліфункціональність дії. До таких сполук належать, зокрема, розчинні вуглеводи, які є продуктами фотосинтезу. Вони здатні зв'язувати воду і затримувати її в клітині, крім того, утворюючи комплекси з білками та нуклеїновими кислотами, вуглеводи стабілізують їхні молекули в несприятливих умовах [5]. Вміст розчинних вуглеводів також залежить від виду рослини, стадії онтогенезу, умов росту тощо. Тому наступним етапом нашої роботи було вивчення вмісту розчинних вуглеводів у листках рослин гірчаку (табл. 2).

Вміст водорозчинних вуглеводів у гірчаку японському за умов росту на субстратах породного відвалу й торфі в разі обприскування регуляторами росту дещо зменшувався або перебував на рівні контролю (табл. 2), що, можливо, пояснюється їх використанням на синтез полісахаридів у процесі росту.

Виявлено, що позитивний вплив регуляторів росту на рослини гірчаку, які вирощували на субстратах породного відвалу вугільних шахт, відбувається шляхом збільшення вмісту хлорофілів і каротиноїдів. Вміст водорозчинних вуглеводів виявився практично незмінним у досліджуваного виду, що, можливо, пояснюється їх використанням на синтез полісахаридів у процесі стимуляції росту за дії регуляторів.



Таблиця 2

Вміст водорозчинних вуглеводів у листках гірчаку японського за умов росту на субстратах породного відвалу в разі обробки регуляторами росту

Тип субстрату/регулятор росту	Мг/г сирової маси(M±m)	% до контролю
Торф-пісок (1:1)		
Контроль	4,59±0,02	100±0,44
ГК	4,48±0,05	98±1,09
Епін-екстра	4,61±0,31	100±6,72
Циркон	5,01±0,29	109±6,31
Мочевин-К1	4,68±0,18	102±3,92
Червоний субстрат		
Контроль	5,15±0,02	100±0,39
ГК	4,84±0,11	94±2,14
Епін-екстра	4,69±0,12	91±2,33
Циркон	4,77±0,26	93±5,07
Мочевин-К1	4,55±0,14	88±2,71
Чорний субстрат		
Контроль	4,96±0,22	100±4,44
ГК	5,48±0,08	110±1,61
Епін-екстра	4,98±0,21	100±4,22
Циркон	4,06±0,17	82±3,43
Мочевин-К1	4,91±0,14	99±2,82

Таким чином, для вирощування гірчаку японського на породних відвалах вугільних шахт доцільно застосовувати використані в роботі нові регулятори росту (Циркон, Епін-екстра, Мочевин-К1) для покращення метаболічних процесів цих рослин.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ «Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Т. 46. С. 172–178.
2. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ «Львівсистеменерго» та їх вплив на проростання насіння // Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку: матеріали V Міжнар. наук. конф. (Донецьк, 2007.) С. 36–37.
3. Башуцька У. Б. Сукцесії рослинності породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району. Львів: РВВ НЛТУ України, 2006. 178 с.
4. Бессонова В. П. Влияние тяжелых металлов на фотосинтез. Днепропетровск: ДДАУ, 2006. 208 с.
5. Биохимия растений / под ред. Л.А. Красильниковой. Ростов-на-Дону: Феникс; Харьков: Торсинг, 2004. 224 с.
6. Ващук С., Баранов В., Баня А. та ін. Накопичення важких металів у органах рослин гірчака японського (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc) та кремени гібридної (*Petasites hybridus* L.) за дії витяжок субстратів відвалу вугільних шахт // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 60. С. 182–189.
7. Воронина Л. П. Оценка экзогенного действия фитогормона 24-эпибрасинолида и его взаимодействия с гиббереллином (Аз) // Полифункциональность действия брасинолидов. М.: НЭСТ М, 2007. С. 128–139.
8. Гетко Н. В. Растения в техногенной среде. Минск: Наука и техника, 1989. 208 с.
9. Деева В. П., Санько Н. В. Роль регуляторов роста в повышении адаптивных свойств отдельных генотипов к стрессовым факторам // Физиология растений и экология на рубеже веков: материалы конф. Ярославль, 2003. С. 197.
10. Калитуха Л. Н., Кабанникова Л. Ф., Чайка М. Т. Влияние брасинолида на процессы роста и накопление фотосинтетических пигментов в проростках тритикале // Доклады АН Белоруссии, 1997. Т. 41. № 4. С. 69–72.

11. *Калитухо Л. Н., Макаров В. Н., Пишбытко Н. Л., Кабашишникова.* / Влияние brassinosteroidов на физиолого-биохимические характеристики проростков пшеницы // Тез. докл. 4-го съезда Общества физиологов растений. М., 1999. Т. 2. С. 590.
12. *Косулина Л. Г., Луценко С. К., Аксенова В. А.* Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1993. 235 с.
13. *Кучерявий В. П., Геник Я. В., Дида А. П., Колодко М. М.* Рекультивация та фітомеліорація: навч.-метод. посібн. Львів: Вид-во НЛТУ України, 2006. 116 с.
14. *Лакин Г. Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
15. *Ламан Н. А.* Регуляторы роста и развития растений: достижения и перспективы // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: Материалы IV Междунар. науч. конф. Минск: Сельхозиздат, 2005. С. 1–3.
16. *Малеванная Н. Н.* Препарат циркон – иммуномодулятор нового типа // Применение препарата циркон в производстве сельскохозяйственной продукции: тез. докл. науч.-практ. конф. М., 2004. С. 17–20.
17. *Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С.* Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. С. 49–50.
18. *Плешков Б. П.* Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1976. С. 115–117.
19. *Рункова Л. В., Мельникова М. Н., Александрова В. С.* Действие циркона на трудноукореняемые растения // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: тез. докл. 2-й Междунар. конф. Минск, 2001. С. 218.
20. *Попович В. В.* Характеристика осередків самозаймання породних відвалів вугільних шахт Нововолинського гірничопромислового району // Наук. вісн. УкрДЛТУ, 2009. 19(12). С. 77–82.
21. *Прусакова Л. Д., Чижова С. И.* Применение brassinosteroidов в экстремальных для растений условиях // Агрохимия. 2005. № 7. С. 87–94.
22. *Серегина И. И.* Возможность применения регуляторов роста для снижения негативного действия кадмия на рост, развитие и продуктивность яровой пшеницы // Агрохимия. 2004. № 1. С. 71–74.
23. *Смирнов И. А.* Структура хлоропластов и факторы среды. М.: Наука, 1986. 269 с.
24. *Суслова В. В., Николаевский М. С.* Влияние кислых газов на пигментный состав листьев древесных и газонных растений // Учен. зап. Пермск. ун-та. Пермь, 1971. С. 138–145.
25. *Таран Н. Ю.* Каротиноїди фотосинтетичних тканин за умов посухи // Физиология и биохимия культ. растений. 1999. Т. 31. № 6. С. 414–422.
26. *Терек О. І.* Ріст і розвиток рослин: навч. посібник. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2007. 248 с.
27. *Терек О. І., Величко О. І., Яворська Н. Й.* Механізми адаптації проростків сої до стресових умов за дії регуляторів росту Емістиму С та Агростимуліну // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2006. Вип. 41. С. 132–136.
28. *Терьохіна Л. А.* Дія регуляторів росту на насінневу продуктивність та якість насіння рослин моркви // Овочівництво і баштанництво. Харків: ІОБ УААН, 2008. Вип. 54. С. 45–51.
29. [http://meteorit.at.ua/index/super\\_udobrenie\\_quotmochevin\\_kquot/0-7](http://meteorit.at.ua/index/super_udobrenie_quotmochevin_kquot/0-7)
30. <http://www.agronauk.narod.ru/>

Стаття: надійшла до редакції 15.01.13

доопрацьована 29.04.13

прийнята до друку 30.04.13

**EFFECT OF NEW GROWTH REGULATORS ON THE CONTENT  
OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND SOLUBLE  
CARBOHYDRATES IN *POLYGONUM CUSPIDATUM* SIEB. ET ZUC.  
PLANTS UNDER GROWTH ON THE COAL ROCK DUMPS**

**S. Vashchuk<sup>1</sup>, D. Rakhmetov<sup>2</sup>, O. Romanchuk<sup>1</sup>, V. Baranov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*M.M. Grishko National Botanical Garden of Kyiv  
1, Timiryazevska St., Kyiv 01014, Ukraine  
e-mail: sergijvaschuk@gmail.com*

It was analyzed the content of photosynthetic pigments and soluble carbohydrates in *Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zuc under growth on the substrates of coal rock dumps and effect of gibberellin, zircon, Epin-extra, Mochevin-K1. The positive influence of growth regulators on *P. cuspidatum*, growing on substrates of coal rock dumps, is done by increasing of chlorophylls and carotenoids content. The content of water-soluble carbohydrates after action of growth regulators was almost unchanged.

*Keywords:* *Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zuc, substrates of coal rock dumps, photosynthetic pigments, soluble carbohydrates, growth regulators ( gibberellin, Zircon, Epin-extra, Mochevin-K1).

**ВЛИЯНИЕ НОВЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА СОДЕРЖАНИЕ  
ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА И РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ  
У РАСТЕНИЙ *POLYGONUM CUSPIDATUM* СИБ. ЕТ ЗУС ПРИ РОСТЕ  
НА СУБСТРАТАХ ПОРОДНОГО ОТВАЛА УГОЛЬНЫХ ШАХТ**

**С. Ващук<sup>1</sup>, Д. Рахметов<sup>2</sup>, О. Романчук<sup>1</sup>, В. Баранов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

<sup>2</sup>*Национальный ботанический сад имени Н.Н. Гришко  
ул. Тимирязевская, 1, Киев 01014, Украина  
e-mail: sergijvaschuk@gmail.com*

Проанализировано содержание пигментов фотосинтеза и водорастворимых углеводов у горца японского (*Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zuc) в условиях роста на субстратах породного отвала угольных шахт при опрыскивании гиббереллином, Цирконом, Эпином-экстра, Мочевинном-K1. Показано, что положительное влияние регуляторов роста на растения горца, растущих на субстратах отвала, происходит путем увеличения количества хлорофиллов и каротиноидов. Уровень водорастворимых углеводов оказался у данного вида практически неизменным.

*Ключевые слова:* горец японский (*Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zuc), субстраты породных отвалов угольных шахт, пигменты фотосинтеза, растворимые углеводы, регуляторы роста (гиббереллин, Циркон, Эпин-экстра, Мочевин-K1).

## КОМПОНЕНТИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ РОСЛИН КУКУРУДЗИ ЯК ПОКАЗНИКИ ЇХ РЕАКЦІЇ НА ДІЮ ГЕРБІЦИДІВ

Г. Россихіна-Галича

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

У польовому експерименті досліджено вплив гербіцидів (Харнес, Фронт'єр, Мерлін) на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу вегетативних органів *Zea mays* L. Виявлено, що дія гербіцидів призводить до посилення процесу ліпопероксидації, про що свідчить підвищений вміст прооксидантних компонентів (дієнових і триєнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів). Виявлено зростання активності супероксиддисмутази, каталази та пероксидази в коренях і листках кукурудзи.

*Ключові слова:* *Zea mays* L., вегетативні органи, гербіциди, антиоксидантні ферменти, дієнові кон'югати, триєнові кон'югати, ТБК-активні продукти.

Гербіциди – клас хімічних речовин, які використовуються для управління ростом і розвитком небажаної рослинності [7, 27, 42, 43]. Проникаючи у рослини, вони індукують різні реакції-відповіді, які призводять до їх пошкодження і загибелі [7]. Згідно з [8, 27], кожен із гербіцидів має свій механізм дії на бур'яни, не завдаючи шкоди при цьому культурним організмам. Але відомо, що ксенобіотики інгібують проростання насіння культурних рослин, уповільнюють ріст кореня і пагона, викликають хлороз [9, 13, 37]; знижують інтенсивність транспірації [38]; пригнічують дихання та фотосинтез [9]; змінюють співвідношення жирних кислот [28]; вміст і перерозподіл фосфоліпідів, активність ліпаз [5, 41]; впливають на процеси переамінування [17, 36] і вміст вільних амінокислот [40]; викликають зростання ураженості рослин пухирчатою сажкою, кореневими та стебловими гнилями [11], нагромадження фенольних сполук у проростках кукурудзи [39]; впливають на нагромадження елементів живлення [26] та компоненти врожайності [44].

Біодеградація ксенобіотиків у рослинній клітині здійснюється в ендоплазматичному ретикулумі, в результаті чого можливе збільшене утворення супероксидного аніон-радикала, який є джерелом більш агресивних активних форм кисню (гідроксильного радикала та пероксиду водню) [20, 21, 30, 45, 47]. Тому механізм дії різних класів гербіцидів (хлорацетамідів, сульфонілсечовини, похідних бензойної кислоти, інгібіторів транспорту електронів та ін.) пов'язаний із розвитком оксидативного стресу, який проявляється у інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), генерації супероксидного аніон-радикала [4, 7, 27, 45, 54]. Нагромадження радикальних і молекулярних продуктів ПОЛ є сигналом для активації захисних систем, експресії генів і процесів, що призводять до підвищення стійкості рослин [19].

Підтримка балансу окисно-відновних реакцій рослинних клітин за дії чинників навколишнього середовища, в тому числі гербіцидів, забезпечується великою групою ферментів: супероксиддисмутазою (СОД), каталазою, пероксидазами і трансферазами, які характеризуються високою специфічністю дії до певних форм кисню [7, 25, 48, 53].

Вищевикладене зумовило мету нашої роботи – з'ясувати зміни компонентів прооксидантно-антиоксидантної рівноваги вегетативних органів рослин кукурудзи за впливу гербіцидів у польових умовах.

#### Матеріали та методи

Об'єктами польових досліджень були вегетативні органи кукурудзи (*Zea mays* L.) гібриду Кадр 267МВ, вирощеного на дослідних ділянках Інституту сільського господарства степової зони НААНУ (м. Дніпропетровськ) у 2004/2005 рр. На дослідних ділянках вносили за допомогою ранцевого обприскувача у ґрунт хлорацетанлідні гербіциди Харнес (д.р. ацетохлор) у дозі (2,5 л/га) і Фронт'єр (д.р. диметенамід) – (1,5 л/га) та блокатор ферменту р-гідроксифенілпіруват діоксигенази Мерлін (д.р. ізоксофлютол) – (0,13 кг/га). Контрольні рослини вирощували без гербіцидної обробки. Ґрунт дослідних ділянок – чорнозем звичайний малогумусний (вміст гумусу в орному шарі 3,8–4,2%, загального азоту – 0,18–0,20%, фосфору – 0,12–0,15%, обмінного калію – 2,1–2,12%), реакція ґрунтового розчину нейтральна (рН=6,75–7,0). Облікова площа ділянок – 10 м<sup>2</sup>, повторність чотириразова.

Розвиток оксидативного стресу оцінювали за нагромадженням первинних (ДК, ТК) і вторинних – (ТБКАП) продуктів ПОЛ. Дієнові й триєнові кон'югати (ДК, ТК) визначали спектрофотометрично за методикою Л. Н. Курганової [18]. Інтенсивність утворення ТБК-активних продуктів – визначали спектрофотометричним методом за реакцією малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою за М. М. Мусієнко [29].

Стан антиоксидантної системи рослин оцінювали за активністю основних ферментів-детоксикаторів активних форм кисню. Ферментативну активність СОД (КФ 1.15.1.11) визначали за здатністю ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії відновленої форми нікотинамідаденідинуклеотиду та феназинметасульфату [32]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за кількістю розкладеного пероксиду водню під дією ферментативного препарату шляхом титрування перманганатом калію [33], а бензидин-пероксидази (КФ 1.11.1.7) – за швидкістю окиснення бензидину згідно з А. Н. Бояркіним [23].

Статистичну обробку даних, отриманих у трьох аналітичних повторностях, проведено за допомогою програми Microsoft Statistica 6.0.

#### Результати і їхнє обговорення

Як відомо [12, 22], у біологічних мембранах окиснення зазнають, головню, поліненасичені жирні кислоти, тому і виявлення дієнових кон'югатів (ДК) може бути чутливим тестом процесу їх окиснення. Делокалізація подвійних зв'язків дієнових кон'югатів робить їх термодинамічно стійкішими, що дає змогу легко їх визначити за поглинанням в ультрафіолеті [6, 12]. Установлено, що одним із найбільш чутливих прооксидантних компонентів до дії гербіцидних препаратів Харнес, Фронт'єр, Мерлін виявилися дієнові кон'югати, кількість яких як у коренях, так і в листках кукурудзи фази проростків зростала щодо необроблених рослин відповідно на 47–55, 33–55 і 54–63% (рис. 1). При переході рослин до фази 3-5 листків рівень кон'югатів у контрольних рослин зростав у 1,8 разу, а у дослідних – удвічі порівняно з фазою проростків. При цьому вміст ДК у варіанті застосування гербіциду Харнес перевищував контрольні показники на 70–72%, Фронт'єру – на 50–72% і Мерліну – на 65–81%. Максимальний вміст ДК відзначено у рослин кукурудзи у фазу викидання волоті-цвітіння.

Зростання вмісту дієнових кон'югатів за дії гербіцидів супроводжувалось одночасним нагромадженням у клітинах триєнових кон'югатів (ТК). У коренях і листках кукурудзи гібриду Кадр 267МВ на початковому етапі онтогенезу (фаза проростків)

фіксували підвищену їх кількість за впливу гербіциду Харнес на 40–56%, Фронт'єру – на 37–56%, Мерлін – на 54–63% (рис. 2). По досягненню фази 3–5 листків кількість триєнових кон'югатів достовірно зростала в 1,5–1,6 разу у контрольних рослин та в 1,7–2,0 рази у дослідних, порівняно з попереднім етапом розвитку. Вміст триєнових кон'югатів у всіх дослідних варіантах перевищував контроль на 113–73% (Харнес), на 50–73% (Фронт'єр), на 68–80% (Мерлін). Найвищі значення ТК відзначені у фазу викидання волоті-цвітіння.

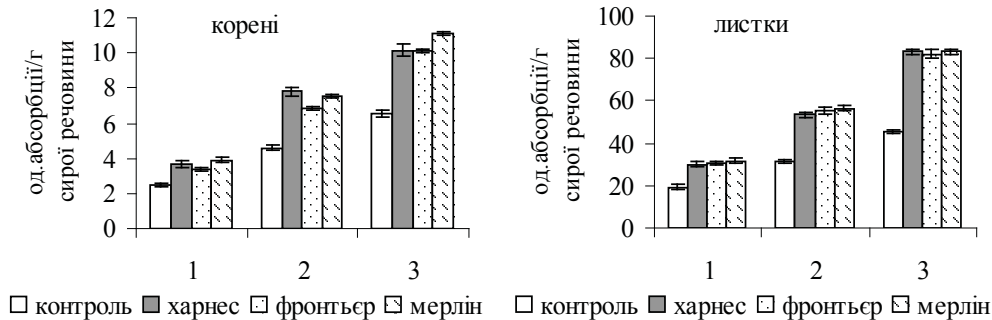


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Похибка вибірки не перевищує 5% від середніх значень.

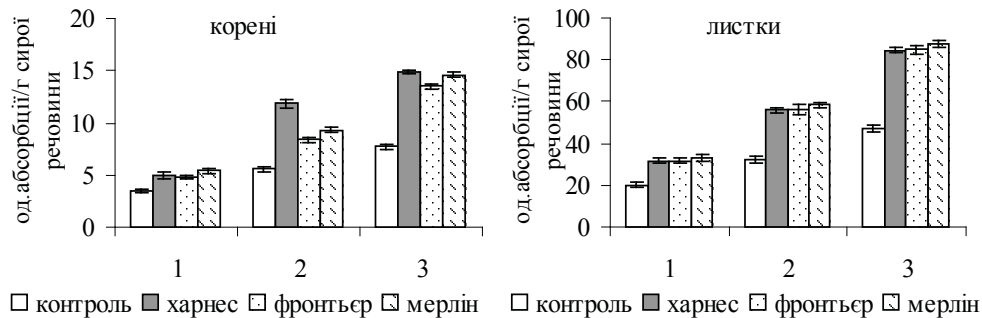


Рис. 2. Вміст триєнових кон'югатів у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Згідно з А. Н. Єршовою і В. А. Хріпач [12], виявлене нами збільшення вмісту первинних продуктів ліпопероксидації (ДК і ТК) може вказувати на інтенсифікацію процесів ПОЛ. Для підтвердження цього ми оцінювали вміст вторинних продуктів ПОЛ за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБКАП), оскільки найчастіше ступінь ліпідної пероксидації в рослинах корелює з нагромадження саме цих сполук.

Результати визначення вмісту ТБК-активних продуктів показали, що в коренях і у листках кукурудзи, обробленої гербіцидами рівень процесів ПОЛ був вищим, ніж у контрольних рослин (рис. 3). Динаміка накопичення вторинних продуктів перекисного окислення була схожою з динамікою первинних продуктів. У фазу проростків рівень ТБКАП у рослин, які зазнали гербіцидного стресу, перевищував контроль на 43–52% (Харнес), на 35–51% (Фронт'єр), на 41–53% (Мерлін). Щодо наступної фази цей показник збільшувався в 1,6–1,4 разу у контрольних рослин та в 1,9–1,6 разу – у дослідних. Від фази 3–5 листків

до фази викидання волоті-цвітіння зафіксовано достовірне зростання вмісту ТБК-активних продуктів від 57 до 64% у коренях та від 67 до 83% – у листках. Слід зазначити, що пероксидація досягала вищого рівня в листках, ніж у коренях, що узгоджується з відомими даними [3] і пояснюється тим, що хлоропласти є тими органелами клітин, які суттєво впливають на розвиток ПОЛ, оскільки містять велику кількість ненасичених жирних кислот у мембранах тилакоїдів, а також є потужним джерелом активних форм кисню [46]. Аналогічно нашим результатам, описано збільшення рівня ТБК-активних продуктів у виноградній лозі за обробки ацетохлором [56], у листках зернових за обробки рослин арилоксифеноксипропіоном [52], у листках вівсюгу за дії Гранстару [7], при високих концентраціях Гліфосату й Атразину [14, 53].

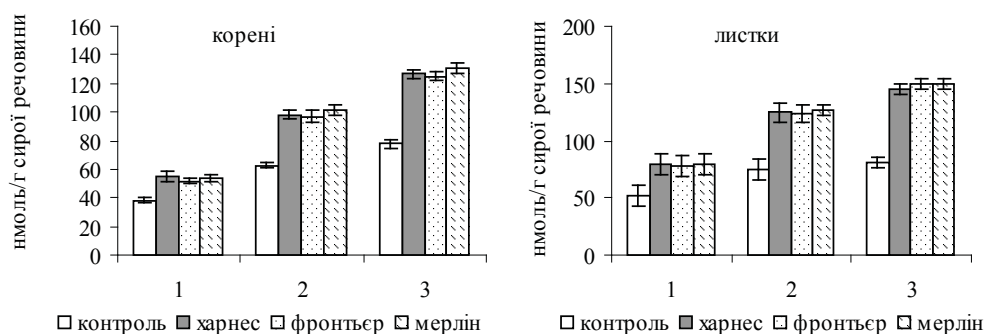


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Між вмістом ТБК-активних продуктів і нагромадженням ДК і ТК за дії вказаних гербіцидів виявлено тісний позитивний корелятивний зв'язок. При цьому коефіцієнт кореляції у досліджувані фази онтогенезу коливався від 0,88 до 0,83, від 0,85 до 0,88 та від 0,89 до 0,96 у коренях; від 0,93 до 0,95, від 0,97 до 0,99, від 0,89 до 0,91 – у листках ( $p \leq 0,05$ ).

Відомо, що посилене утворення ТБКАП є наслідком окислення лінолевої та ліноленової кислот фосфоліпідів і галактоліпідів мембран, тобто вміст ТБКАП характеризує загальний пул продуктів окиснення ліпідів [3]. Ці сполуки здатні взаємодіяти з вільними аміногрупами білків, компонентами фосфоліпідів, ініціювати появу в мембранах етилену. Усе це може призвести до змін властивостей як мембран загалом, так і їхніх окремих компонентів, що позначиться на окисному-відновному гомеостазі клітини [18].

Використання кількох методичних підходів для визначення ПОЛ на ранніх його стадіях (за утворенням дієнових і триєнових кон'югатів) та на більш пізніх етапах (за вмістом ТБКАП) дало змогу встановити, що гербіциди посилювали процеси пероксидації. Відомо, що продукти ПОЛ беруть участь у передачі сигналів від первинних месенджерів, спрямованих на запуск каскаду реакцій, потрібних для пристосування і виживання організмів в екстремальних умовах [10]. Підтвердженням цього є зростання активності ферментів-детоксикаторів вільних радикалів та існуючі позитивні кореляційні зв'язки між продуктами ПОЛ і активністю ферментів антиоксидантої системи рослин.

Отримані результати свідчать, що на збільшення вмісту продуктів ПОЛ супероксиддисмутаза – ензим, який контролює вміст аніон-радикалів супероксиду в клітинах, – реагувала інтенсифікацією активності. Від фази проростків до викидання волоті-цвітіння активність ферменту в коренях за дії гербіцидів збільшувалася від 42 до

63%, а у листках – від 52 до 75% (рис. 4), що, як відомо, може призвести до нагромадження значної кількості перекису водню у клітині [24].

Нами виявлено тісний кореляційний зв'язок між накопиченням продуктів ПОЛ і активністю СОД упродовж онтогенезу в коренях у середньому ( $r=0,89-0,91$ ,  $p\leq 0,05$ ) і ( $r=0,95-0,97$ ,  $p\leq 0,05$ ) у листках.

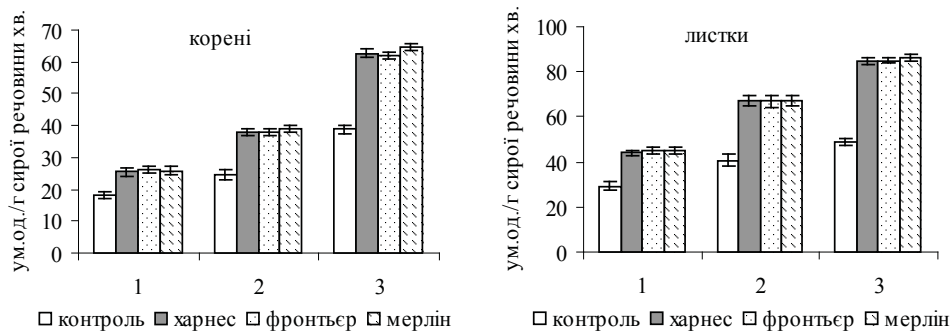


Рис. 4. Активність супероксиддисмутази у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Виявлене нами підвищення активності СОД у вегетативних органах кукурудзи упродовж досліджуваних фаз вегетації має захисний характер і узгоджується з літературними даними, наведеними для гороху за умов кліностагування [2], для рису при засоленні [51], проростків огірків за теплової обробки [50], при гербіцидному стресі у вегетативних органах проростків кукурудзи [35] та ін. Збільшення активності СОД згідно з [15, 49] може відбуватися за рахунок активації латентних форм ферменту і синтезу *de novo*.

Відомо, що за несприятливих умов порушується функціонування електронтранспортного ланцюга і замість звичайного 4-електронного відновлення кисню здійснюється 1- або 2-електронне відновлення [31]. Найчастіше результатом такого процесу є утворення супероксидного аніона, який за участі фермента СОД перетворюється на пероксид водню ( $H_2O_2$ ). Такі ферменти розщеплення пероксиду, як каталази (локалізовані в пероксисомах, гліоксисомах і мітохондріях), можуть моделювати гомеостаз пероксиду і відповідно його сигнальну здатність. Каталаза активує розщеплення пероксиду водню до кисню і води, запобігаючи тим самим його токсичному ефекту. Тільки синхронна дія супероксиддисмутази і каталази захищає клітинні компартменти від можливих деструкційних змін [31, 55].

Поряд зі збільшенням інтенсивності ПОЛ і активності СОД показано поступове підвищення активності каталази у вегетативних органах рослин кукурудзи, яка зростала за дії гербіцидів у польових умовах (рис. 5), що, ймовірно, зумовлено стимуляцією синтезу фермента й наявності його субстрату [15]. Нами виявлено тісний кореляційний зв'язок між активністю каталази і СОД у середньому  $r=0,95-0,99$ ,  $p\leq 0,05$ ; між активністю каталази і вмістом продуктів ПОЛ –  $r=0,89-0,93$ ,  $p\leq 0,05$ .

Отримані нами результати узгоджуються з даними О. Ю. Макаринського [20], згідно з якими активність каталази рослин гороху протягом онтогенезу за дії гербіцидів зростала.

Серед ферментів антиоксидантного захисту особлива роль у підтриманні окисно-відновного гомеостазу належить пероксидазі. Вона реагує на широкий спектр факторів, що призводять до нагромадження активних форм кисню у рослин, двома шляхами – змінюючи набір ізоферментів або підвищуючи активність уже існуючих молекулярних форм [1, 16, 34, 57].



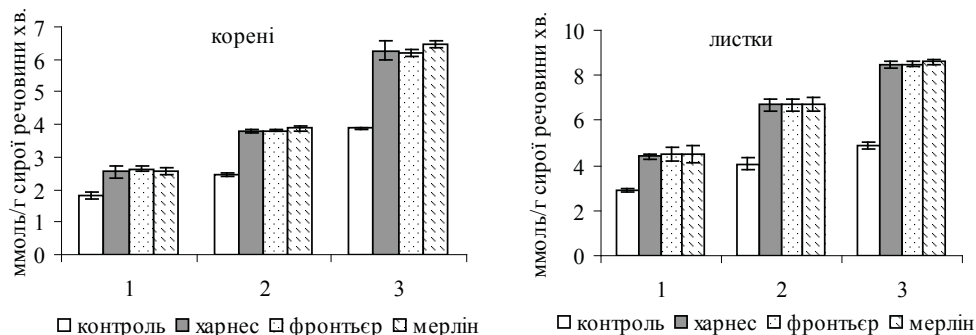


Рис. 5. Активність каталази у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Як показали результати нашої роботи, в ході онтогенезу кукурудзи гібриду Кадр 267МВ спостерігали зростання активності пероксидази у вегетативних органах рослин. У фазу проростків активність цього фермента за дії препаратів Харнес, Фронт'єр і Мерлін збільшувалася щодо необроблених рослин на 37–49, 40–46 і 43–48% відповідно (рис. 6). У наступні етапи онтогенезу рослин (фаза 3–5 листків і викидання волоті-цвітіння) виявлено активацію пероксидази у коренях від 51 до 58%; у листках – від 64 до 75%. Аналізуючи зв'язки між активністю пероксидази та процесами ПОЛ, між ними встановлено високу позитивну кореляційну залежність – коефіцієнт ( $r$ ) якої для коренів коливався від 0,88 до 0,97, а для листків – від 0,91 до 0,99.

Ймовірно, пероксидазна система кукурудзи бере участь у регуляції метаболізму в ході онтогенезу досліджуваних рослин за дії гербіцидів і відіграє важливу роль у їхньому пристосуванні до мінливих умов середовища.

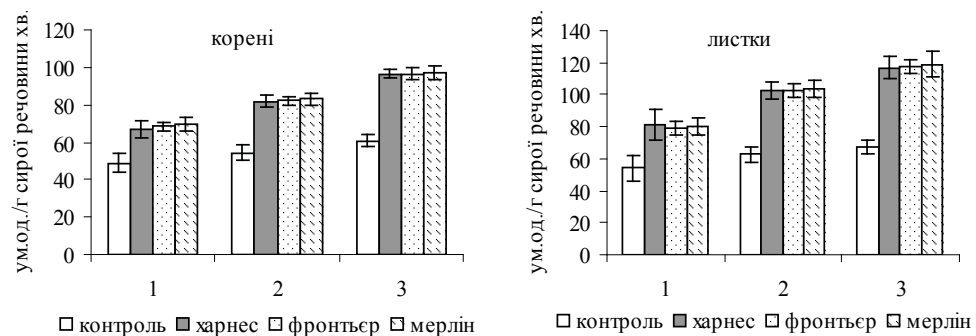


Рис. 6. Активність пероксидази у вегетативних органах кукурудзи за умов гербіцидної дії: 1 – фаза проростків; 2 – фаза 3-5 листків; 3 – фаза викидання волоті-цвітіння. Позначення ті ж, що й на рис. 1.

Отже, за впливу гербіцидів у польових умовах у вегетативних органах досліджуваних рослин кукурудзи відбувалась активація окисно-відновних процесів. При цьому нагромадження прооксидантних компонентів мало сигнальне й адаптивне значення при перебудові метаболізму організмів до зміни умов існування. Виявлена нами своєчасна мобілізація антиоксидантного захисту забезпечувала обмеження високого рівня пероксидації та пристосування організмів до стресової дії гербіцидів. Слід зазначити, що застосовані

гербіцидні препарати хоча й мають різний сайт дії на бур'яни [27], але рослини кукурудзи на реалізацію їх фітотоксичної дії реагували розвитком оксидативного стресу одного рівня.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева В. А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 1988. 128 с.
2. Бараненко В. В. Активність супероксиддисмутази в рослинах гороху за кліностатування // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. біол. 2002. № 1 (16). С. 38–42.
3. Бараненко В. В. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів у рослинах гороху при кліностатуванні // Укр. ботан. журнал. 2002. Т. 59. № 2. С. 212–217.
4. Вінниченко О. М., Більчук В. С., Россихіна Г. С. Вплив гербіцидної обробки на інтенсивність перекисного окислення ліпідів в зерні кукурудзи // Бюлетень Ін-ту зернового господарства. 2003. № 20. С. 30–31.
5. Вінниченко О. М. Захисні механізми рослин за дії гербіцидів // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 90–92.
6. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
7. Гарькова А. Н., Русяева М. М., Нуштаева О. В. и др. Обработка гербицидом Гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаковых // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 6. С. 930–943.
8. Гольдфельд М. Г., Карапетян Н. В. Физико-химические основы действия гербицидов // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Биол. химия. 1989. Т. 30. С. 1–144.
9. Грицаенко З. М., Леонтьюк І. Б. Озима пшениця: вплив гербіцидів та біостимуляторів росту на анатомічну будову листків // Захист рослин. 2000. № 11. С. 11–12.
10. Дубинина Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопросы медицинской химии. 2001. Т. 47. № 6. С. 561–581.
11. Дудка Е. Л., Левада С. О., Ковтун М. В. Гербіциди та ефективність хімічних засобів захисту кукурудзи від хвороб // Вісник аграрної науки. 1991. № 7. С. 15–17.
12. Ершова А. Н., Хрипач В. А. Влияние эпибрассинолида на процессы перекисного окисления липидов *Pisum sativum* в нормальных условиях и при кислородном стрессе // Физиология растений. 1996. Т. 43. № 6. С. 870–873.
13. Зарич Л., Стефанович Л., Керечкин Б. и др. Влияние алахлора и низких температур на растения кукурузы // Кукуруза и сорго. 1999. № 1. С. 18–20.
14. Иванов С. В., Алексиева В. С., Каранов Е. Н. Кумулятивный эффект низкой и высокой концентрации атразина на растения *Arabidopsis thaliana* // Физиология растений. 2005. Т. 52. С. 243–249.
15. Калашиников Ю. Е., Балахнина Т. И., Закржевский Д. А. Действие почвенной засухи и переувлажнения на активацию кислорода и систему защиты от окислительной деструкции в корнях и листьях ячменя // Физиология растений. 1992. Т. 39. № 2. С. 259–263.
16. Карпин О., Джура Н., Цвілинюк О. та ін. Вплив нафтового забруднення ґрунту на ростові показники вмісту пероксиду водню і активність пероксидази рослин бобу (*Vicia Faba* L.) // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 47. С. 160–165.
17. Коцюбинская Н. П. Эколого-физиологические аспекты адаптации культурных растений к антропогенным условиям среды. Днепропетровск: ДГУ, 1995. 172 с.
18. Курганова Л. Н., Веселов А. П., Гончарова Т. А. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке // Физиология растений. 1997. Т. 44. № 5. С. 725–730.

19. Лобачевська О. В. Механізми толерантності рослин та їх адаптація до стресу // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: Восьма наук. конф. молодих учених. (Львів, 2007). С. 25–33.
20. Макаринський О. Ю. Вплив гербіцидів Базаграну, Агрітоксу і Пантери, внесених окремо та сумісно з емістимом С, на активність окисно-відновних ферментів у рослинах гороху // Наук. записки Тернопіль. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 112–115.
21. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Сорос. образов. журнал. 1999. № 9. С. 20–26.
22. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительных клеток // Итоги науки и техники. Сер. физиология растений. Т. 6. М.: ВИНТИ, 1989. 167 с.
23. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
24. Минибаева Ф. В., Гордон Л. Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 3. С. 459–464.
25. Митева Л. П.–Е., Иванов С. В., Алексеева В. С. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом // Физиология растений. 2010. Т. 57. С. 139–145.
26. Михальская Л. М., Швартау В. В. Влияние гербицидов Дерби и Аксиал на накопление элементов питания растениями озимой пшеницы // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол., екол. 2012. Вип. 20. Т. 2. С. 38–45.
27. Мордерер Е. Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. К.: Логос, 2001. 240 с.
28. Мордерер С. Ю., Ходяева Л. В., Мережинський Ю. Г. Неспецифічні реакції рослин на дію гербіцидів інгібіторів проростання в зв'язку з їх антагоністичною дією з гербіцидами інгібіторами фотосинтезу // Доклады Академии наук Украины. 1994. № 8. С. 157–163.
29. Мусянко М. М., Паршиков Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 200 с.
30. Паланиця М. П., Трач В. В., Мордерер С. Ю. Генерування активних форм кисню за дії грамініцидів і модифікаторів їх активності // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 414. С. 328–334.
31. Пацула О., Кобилецька М., Терек О. та ін. Оксидативні реакції рослин прирусової ділянки ріки Тиса // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 48. С. 201–204.
32. Переслєгина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 20–23.
33. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
34. Половникова М. Г., Воскресенская О. Л. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 5. С. 777–785.
35. Россихина А. С., Винниченко А. Н. Участие супероксиддисмутазы в адаптации растений к действию гербицидов // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол., екол. 2005. № 3/1. С. 232–235.
36. Рябченко Н. А., Коцюбинская Н. П., Домашнева Е. В. и др. Адаптогенез растений к пестицидам. Днепрпетровск: Пороги, 2000. 193 с.
37. Спиридонов Ю. Я., Жемчужин С. Г. Современные проблемы изучения гербицидов (2006–2008 г.) // Агрехимия. 2010. № 7. С. 73–91.

38. Сауляк П. М. Вплив гербіцидів на інтенсивність транспірації кукурудзи // Вісн. аграрної науки. 1991. № 7. С. 44–46.
39. Феденко В. С., Шемет С. А., Стружко В. С. Вплив ацетохлору на нагромадження фенольних сполук у проростках кукурудзи // Физиология и биохимия культ. растений. 2004. Т. 36. № 5. С. 419–426.
40. Філонік І. О. Вивчення процесів білкового, амінокислотного, ліпідного обміну в кукурудзи на ранніх етапах розвитку при комплексній дії ксенобіотиків // Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин: Всеукр. наук.-практ. конф. (Дніпропетровськ, 2005). С. 60–61.
41. Філонік І. О., Заморужева Л. Ф. Ліпіди зрілого зерна кукурудзи гібриду Кадр 267МВ під впливом гербіцидних композицій // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол., екол. 2004. Вип. 12. Т. 1. С. 176–181.
42. Матюха В. Л., Хромих Н. О., Россихіна-Галича Г. С., Лашко В. В. Зміни структури врожаю та якості зерна озимої пшениці за гербіцидної обробки // Карантин і захист рослин. 2012. № 12. С. 11–12.
43. Хромих Н. О. Еколого-фізіологічні аспекти гербіцидної дії на амброзію полинолисту (*Ambrosia artemisiifolia* L.) в умовах степового Придніпров'я: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ, 2008. 20 с.
44. Хромих Н. О., Россихіна Г. С., Лашко В. В. Вплив гербіцидів нового покоління на фізіолого-біохімічні показники насіння кукурудзи // Вісн. Харків. нац. аграрного ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 3. С. 50–55.
45. Шевякова Н. И., Бакулина Е. А., Кузнецов Вл. В. Антиоксидантная роль пролина у галофита хрустальной травки при действии засоления и параквата, инициирующих окислительный стресс // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 736–742.
46. Asada K. Radical production and scavenging in the chloroplasts // Photosynthesis and the Environment. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1996. P. 123–150.
47. Hassan N. M., Alla M. N. Oxidative Stress in Herbicide-Treated Broad Bean and Maize Plants // Acta Physiol. Plant. 2005. Vol. 27. P. 429–438.
48. Jung S. Expression Level of Specific Isozymes of Maize Catalase Mutants Influences Other Antioxidants on Norflurazon-Induced Oxidative Stress // Pest. Biochem. Physiol. 2003. Vol. 75. P. 9–17.
49. Kaminaka H., Morita S., Tokumoto M. et al. Differential gene expression of rice superoxide dismutase isoforms to oxidative and environmental stresses // Free Radical Research. 1999. Vol. 31. P. 219–225.
50. Kang H.-M., Saltveit M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles // Ibid. 2001. Vol. 113, N 4. P. 548–556.
51. Lee D. H., Kim Y. S., Lee C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.) // J. Plant Physiol. 2001. Vol. 158. P. 737–745.
52. Lukatkin A. S., Gar'kova A. G., Bochkarjova A. S. et al. Treatment with the herbicide TOPIK induces oxidative stress in cereal leaves // Pesticide Biochemistry and Physiology. 2013. Vol. 105. P. 44–49.
53. Miteva L., Tsoneva J., Ivanov S., Alexieva V. Alterations of the Content of Hydrogen Peroxide and Malondialdehyde and the Activity of Some Antioxidant Enzymes in the Roots and Leaves of Pea and Wheat Plants Exposed to Glyphosate // Compt. R. Acad. Bulg. Sci. 2005. Vol. 58. P. 733–738.
54. Nakamura A., Otori Y., Watanabe K. et al. Peroxidative Formation of Lipid Hydroperoxides in Etiolated Leaves // Pest. Biochem. Physiol. 2000. Vol. 66. P. 206–212.
55. Polidoros A. N., Scandalos J. S. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidant in the regulation of catalase and glutathione-S-transferase gene expression in maize (*Zea*

- mays* L.) // *Physiologia Plantarum*. 1999. Vol. 106. P. 112–120.
56. *Tan W., Li Q., Zhai H.* Photosynthesis and growth responses of grapevine to acetochlor and fluoroglycofen // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2012. Vol. 103. P. 210–218.
57. *Zhang J., Kirkham M. B.* Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species // *Plant Cell Physiol*. 1994. Vol. 35. P. 785–791.

Стаття: надійшла до редакції 18.02.13

доопрацьована 29.04.13

прийнята до друку 30.04.13

### COMPONENTS PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN VEGETATIVE ORGANS OF CORN PLANTS AS AN INDICATOR OF THEIR RESPONSE TO THE EFFECTS OF THE HERBICIDE

**A. Rossikhina-Galycha**

*Dnipropetrovsk National University of Oles Honchar*  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: [anna-rossihina@rambler.ru](mailto:anna-rossihina@rambler.ru)

In a field experiment investigated the effect of soil herbicides (Harnes, Frontier, Merlin) on prooxidant-antioxidant balance in the vegetative organs of *Zea mays* L. Shown that the human factor leads to increased lipid peroxidation, as evidenced by the high content of prooxidant components (diene and triene conjugates, TBA-active products). Found a protective increase in activity of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in roots and leaves of corn.

*Keywords:* *Zea mays* L., vegetative organs, herbicides, antioxidant enzymes, diene conjugates triene conjugates TBA-active products.

### КОМПОНЕНТЫ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ КАК ПОКАЗАТЕЛИ ИХ РЕАКЦИИ НА ДЕЙСТВИЕ ГЕРБИЦИДОВ

**А. Россихина-Галыча**

*Днепропетровский национальный университет имени Олесь Гончара*  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: [anna-rossihina@rambler.ru](mailto:anna-rossihina@rambler.ru)

В полевом эксперименте исследовано влияние почвенных гербицидов (Харнес, Фронтьер, Мерлин) на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в вегетативных органах *Zea mays* L. Выявлено, что действие гербицидов приводит к усилению процесса липопероксидации, о чем свидетельствует повышенное содержание прооксидантных компонентов (диеновых и триеновых конъюгатов, ТБК-активных продуктов). Выявлено защитное возрастание активности супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы в корнях и листьях кукурузы.

*Ключевые слова:* *Zea mays* L., вегетативные органы, гербициды, антиоксидантные ферменты, диеновые конъюгаты, триеновые конъюгаты, ТБК-активные продукты.

## КООРДИНОВАНА РЕАКЦІЯ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНОЇ СИСТЕМИ НАСІННЯ ДЕРЕВ РОДУ *ACER* НА ХРОНІЧНИЙ ВПЛИВ ПОЛЮТАНТІВ

Н. Хромих

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна  
e-mail: Khromykh2012@gmail.com

У насінні кленів гостролистого (*Acer platanoides* L.) і псевдоплатанового (*Acer pseudoplatanus* L.) із забруднених фітоценозів визначено вміст відновленого глутатіону (GSH) й активність глутатіон-S-трансферази (GST, EC 2.5.1.18), глутатіон-пероксидази (GPX, EC 1.11.1.9) і глутатіон-редуктази (GR, EC 1.6.4.2). Видоспецифічні та координовані зміни пулу GSH і активності глутатіон-залежних ферментів у насінні вказують на участь циклу глутатіону в реалізації видами роду *Acer* різних стратегій адаптації до хронічного впливу поллютантів.

*Ключові слова:* *Acer platanoides* L., *Acer pseudoplatanus* L., насіння, поллютанти, глутатіон, глутатіон-редуктаза, глутатіон-S-трансфераза, глутатіон-пероксидаза.

Різноманітні стресові впливи, яких зазнають материнські деревні рослини внаслідок дії природних і антропогенних чинників, викликають зміни фізіолого-біохімічних процесів у насінні [13], зокрема, індукують відповідні реакції захисних метаболічних систем насіння на вплив поллютантів. Відомо, що ефективний антиоксидантний захист рослин за дії токсикантів різного походження забезпечує глутатіон-залежна система [2], однак особливості її функціонування у клітинах насіння потребують детальнішого вивчення. На сьогодні такі дослідження проведені вибірково, наприклад, за умов антропогенного забруднення показано активацію глутатіон-залежних ферментів у насінні гіркокаштану звичайного [4] та зміни вмісту глутатіону в насінні деяких представників роду *Acer* [1].

Відомо [16], що за толерантністю насіння до висихання під час дозрівання клен гостролистий (*Acer platanoides* L.) належить до найбільш поширеної серед вищих рослин групи з так званим «ортодоксальним» насінням, яке висихає без втрати схожості й добре зберігається у сухому стані. У той же час клен псевдоплатановий (*Acer pseudoplatanus* L.) належить до групи з «рекальцитрантним» насінням, яке за низького вмісту вологи втрачає життєздатність і погано зберігається [8, 12]. Зрозуміло, що рослини з такими контрастними конститутивними властивостями насіння можуть також виявити здатність до реалізації різних стратегій метаболічної адаптації до умов забруднених екотопів, проте на сьогодні не вивчено специфічність функціонування захисних ферментних систем у насінні тих деревних видів, які відрізняються за критерієм толерантності насіння до висихання.

Мета роботи полягала у виявленні особливостей реакції метаболічного циклу глутатіону на хронічний вплив комплексу аерополлютантів у толерантному й нетолерантному до висихання насінні двох представників роду *Acer*.

### Матеріали та методи

Деревні рослини роду *Acer* широко розповсюджені у фітоценозах міста Дніпропетровськ, при цьому *A. platanoides* L. (клен гостролистий) вважається аборигенним видом із нижнім кордоном його ареалу в степовому Придніпров'ї, тоді як *A. pseudoplatanus* L. (клен псевдоплатановий) – інтродукований вид [3]. Стигле насіння відбирали на початку

жовтня з рослин клену гостролистого та клену псевдоплатанового у Ботанічному саду Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара (умовний контроль) та на моніторингових точках із комплексним антропогенним забрудненням середовища: узбіччя проспекту Гагаріна, проспекту Кірова, вулиці Героїв Сталінграду. На кожній ділянці формувалась усереднена проба із насіння від 3–4 дерев одного вікового стану, яке висушували за кімнатної температури до постійної маси. Висушене насіння звільняли від насінневих оболонок і розмелювали за допомогою лабораторного млина.

Для отримання екстрактів із насіння наважки рослинного матеріалу гомогенізували в 0,1 М К-На-фосфатному буфері (рН 8,0), витримували 18–20 год при температурі 4°C, після чого центрифугували 10 хв при 16 000 об./хв. Ферментативну активність в екстрактах визначали при довжині хвилі 340 нм за описаними раніше [4, 5] методиками і виражали у нкатал/г сухої маси. Активність GST визначали за змінами оптичної густини реакційної суміші (1 мл буферу, 0,1 мл 0,02 М розчину GSH, 0,2 мл проби) після інкубування при 30°C та додавання 0,1 мл розчину DNCB. Для визначення активності GR в інкубовану при 30°C реакційну суміш, яка містила 1 мл буферу, 0,1 мл розчину EDTA, 0,3 мл розчину GSSG, 0,2 мл розчину NADPH, додавали 0,2 мл проби і реєстрували зміни оптичної густини. Активність GPX визначали в інкубованій при 37°C суміші (1,2 мл буферу, рН 7,4, 0,2 мл розчину EDTA, 0,2 мл розчину GSH, 0,1 мл розчину NADPH, 0,2 мл проби) після додавання 2,5 мМ розчину H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Вміст GSH визначали в отриманій при додаванні 50% розчину трихлороцтової кислоти небілкової фракції екстракту, за попередньо побудованим калібрувальним графіком, вимірюючи при 400 нм оптичну густину реакційної суміші (2 мл 0,4 М трис-буферу, 1 мл проби, 0,05 мл реактиву Елмана) до та після інкубування при 37°C. Дослідження проведені в триразовій аналітичній повторності, результати опрацьовано за допомогою програми Statistica 6.0. Розбіжності між вибірками вважали значущими при  $p \leq 0,05$ .

#### Результати і їхнє обговорення

Установлено, що насіння досліджуваних видів роду *Acer* суттєво відрізнялося за вмістом відновленого глутатіону й активністю глутатіон-залежних ферментів як за контрольних умов зростання, так і за дії аерополітантів. Пул GSH у толерантному до висихання насінні клену гостролистого перевищував відповідний показник для клену псевдоплатанового у 6,9 разу в умовно контрольному фітоценозі та у 2,0–3,1 разу в антропогенно забруднених фітоценозах (табл. 1). Відомо, що толерантність насіння до висихання узгоджується, крім іншого, з високим внутрішньоклітинним рівнем антиоксидантів [7, 10, 14], тому суттєва різниця контрольних рівнів вмісту відновленого глутатіону в насінні може вказувати на важливу роль глутатіон-залежної захисної системи у реалізації двома видами кленів різних екологічних стратегій збереження насіння після дозрівання й опадання з материнських рослин.

Таблиця 1

Вміст відновленого глутатіону (нМоль/г сухої маси) у насінні кленів

Ділянка	Вміст GSH (нМоль/г сухої маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Acer platanoides</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	3746,72±23,50	–	–
Проспект Гагаріна	1589,39±23,30	0,0001	42,42
Проспект Кірова	1829,70±32,60	0,0005	48,83
Вулиця Героїв Сталінграду	1271,67±70,90	0,0001	33,94
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	540,20±19,70	–	–
Проспект Гагаріна	518,88±7,90	0,3710	96,05
Проспект Кірова	783,90±11,80	0,0005	145,11
Вулиця Героїв Сталінграду	635,53±19,90	0,0261	117,83

За умов антропогенного забруднення у насінні *A. platanoides* встановлено зниження вмісту відновленого глутатіону до 34–49% від контрольного значення. Враховуючи, що у толерантному насінні при дозріванні відбувається генетично детерміноване уповільнення метаболічних процесів і зниження вмісту метаболітів [7, 16], можна дійти висновку, що вплив поллютантів на материнські рослини клену гостролистого позначився на властивостях насіння таким чином, що викликав посилене зниження вмісту відновленого глутатіону.

У насінні *A. pseudoplatanus* за дії аерополлютантів виявлено збереження контрольного вмісту GSH (ділянка 2) або навіть його зростання на 18–45% (ділянки 3 та 4) щодо контрольного рівня. Оскільки нетолерантне до висихання насіння при дозріванні зберігає високий рівень метаболічної активності [9, 10, 15, 16], та можна припустити, що вплив поллютантів, якого зазнали рослини клену псевдоплатанового, обумовив інтенсифікацію метаболічних процесів, зокрема, збільшення накопичення відновленого глутатіону у насінні. Для більш ґрунтовних висновків щодо результатів хронічної дії поллютантів необхідно врахувати ферментативну активність насіння, оскільки наявний пул відновленого глутатіону визначає інтенсивність функціонування всієї глутатіон-залежної захисної системи.

Зростання внутрішньоклітинного пулу відновленого глутатіону може бути обумовлено індукцією процесу його біосинтезу або посиленням інтенсивності реакцій відновлення молекул окисленого глутатіону за участю глутатіон-редуктази [2, 15]. Встановлено, що за контрольних умов активність глутатіон-редуктази у насінні клену гостролистого в 1,5 рази перевищувала рівень активності ферменту в насінні клену псевдоплатанового (табл. 2), що узгоджується з закономірністю, виявленою для показників вмісту відновленого глутатіону у насінні двох видів.

Таблиця 2

Активність глутатіон-редуктази (нкат/г сухої маси) у насінні кленів

Ділянка	Активність GR (нкат/г сухої маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Acer platanoides</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	23,58±1,61	–	–
Проспект Гагаріна	15,00±0,33	0,0064	63,59
Проспект Кірова	18,42±0,98	0,0516	78,13
Вулиця Героїв Сталінграду	11,75±0,97	0,0032	49,84
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	16,21±0,95	–	–
Проспект Гагаріна	23,73±0,32	0,0019	146,36
Проспект Кірова	18,56±1,09	0,1823	114,50
Вулиця Героїв Сталінграду	21,33±0,72	0,0134	131,59

Вплив поллютантів спричинив суттєве зниження активності GR у насінні *A. platanoides* (на 22–50% від контролю), що вказує на уповільнення процесів відновлення молекул окисленого глутатіону і призводить до зниження накопичення пулу відновленого глутатіону в насінні. У насінні *A. pseudoplatanus* за дії аерополлютантів, навпаки, відзначено зростання активності глутатіон-редуктази на 15–47% від контролю, що вказує на індукцію процесів відновлення окисленого глутатіону та забезпечує зростання вмісту GSH у насінні. Отже, за дії поллютантів у насінні *A. pseudoplatanus* індукована активність глутатіон-редуктази перевищувала показники для *A. platanoides* в 1,6–1,9 разу.

Активність глутатіон-пероксидази за контрольних умов у насінні *A. pseudoplatanus* в 2,3 рази перевищувала показник для *A. platanoides* (табл. 3).

У насінні клену гостролистого з усіх забруднених фітоценозів рівень глутатіон-пероксидазної активності достовірно не відрізнявся від контрольного, що вказувало на відсутність змін у перебігу антиоксидантних процесів за участю GPX. У той же час у насінні



клену псевдоплатанового з тих самих фітоценозів виявлено зростання активності глутатіон-пероксидази на 98–179% вище контрольного рівня, що свідчило про потужне зростання інтенсивності процесів антиоксидантного захисту, а саме про посилення знешкодження органічних пероксидів і перекису водню в рослинних клітинах [2].

Таблиця 3

## Активність глутатіон-пероксидази (нкат/г сухої маси) у насінні кленів

Ділянка	Активність GPX (нкат/г сухої маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Acer platanoides</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	5,25±0,61	–	–
Проспект Гагаріна	5,16±0,23	0,8929	98,27
Проспект Кірова	5,79±0,31	0,4735	110,29
Вулиця Героїв Сталінграду	5,53±0,05	0,6695	105,33
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	12,28±1,05	–	–
Проспект Гагаріна	24,33±1,72	0,0039	198,08
Проспект Кірова	29,32±2,26	0,0038	238,72
Вулиця Героїв Сталінграду	34,27±3,50	0,0039	279,05

Активність глутатіон-S-трансферази у насінні *A. pseudoplatanus* за контрольних умов у 5,1 разу перевищувала показник для *A. platanoides* (табл. 4).

Таблиця 4

## Активність глутатіон-S-трансферази (нкат/г сухої маси) у насінні кленів

Ділянка	Активність GST (нкат/г сухої маси), M±m	p	До контролю, %
<i>Acer platanoides</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	1,87±0,04	–	–
Проспект Гагаріна	3,23±0,27	0,0071	172,89
Проспект Кірова	3,20±0,09	0,0001	171,23
Вулиця Героїв Сталінграду	3,08±0,18	0,0028	164,76
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.			
Ботсад (умовний контроль)	9,41±0,35	–	–
Проспект Гагаріна	10,41±0,07	0,0502	110,56
Проспект Кірова	18,44±1,41	0,0034	195,91
Вулиця Героїв Сталінграду	17,94±0,30	0,0001	190,53

У насінні обох видів кленів із забруднених фітоценозів активність GST перевищувала контрольний рівень, що вказувало на посилення у рослинних клітинах процесів метаболічної деградації токсикантів шляхом їх кон'югації з відновленим глутатіоном. Індукція активності GST у насінні була обумовлена комплексним складом поллютантів, який визначався викидами автотранспорту (сполуки свинцю, вуглеводні) та промислових підприємств (важкі метали, оксиди азоту, вуглецю, сірки, похідні фенолу тощо) [6], впливу яких насіння деревних рослин зазнає на великих відстанях від джерела забруднення [11].

Перебіг реакцій за участю GPX і GST передбачає витрати пулу GSH, внаслідок чого у насінні *A. platanoides* високий контрольний рівень відновленого глутатіону за дії поллютантів помітно знижувався, як і активність GR. У той же час у насінні *A. pseudoplatanus* з низьким контрольним рівнем GSH за дії поллютантів було активовано процес відновлення окисленого глутатіону за участю GR. Вказані закономірності підтверджує кореляційний аналіз індукованих поллютантами метаболічних змін, який у насінні клену гостролистого виявив високий позитивний зв'язок вмісту GSH з активністю GR ( $r=0,94$ ) та негативну кореляцію з активністю GST ( $r=-0,96$ ) і активністю GPX ( $r=-0,29$ ). У насінні клену псевдоплатанового при несуттєвій кореляції вмісту GSH з активністю GR ( $r=-0,24$ ) установлено високий позитивний зв'язок з активністю GST ( $r=0,88$ ) та GPX ( $r=0,79$ ).

Таким чином, хронічний вплив поллютантів у насінні клену гостролистого посилював генетично детерміновану тенденцію до зниження метаболічної активності під час дозрівання і висихання, тоді як у насінні клену псевдоплатанового викликав зростання генетично обумовленого високого метаболічного статусу під час дозрівання. При цьому для насіння обох видів слід вважати загальною реакцією на дію поллютантів суттєву активацію процесів їх метаболічного знешкодження. Видоспецифічність функціонування метаболічного циклу глутатіону в насінні вказує на залучення глутатіонової захисної системи у реалізацію різних стратегій адаптації *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus* до умов комплексного антропогенного забруднення середовища.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Грицай З. В. Динамика содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в семенах и околоплодниках и в условиях промышленных эмиссий // Деп. в ГНТБ Украины, №2112 УК – 95, 1995. 11 с.
2. Гришко В. Н., Сыщиков Д. В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. К.: Наукова думка, 2012. 239 с.
3. Кохно М. А., Пархоменко Л. І., Зарубенко А. І. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні: довідник. Ч. 2. К.: Фітосоціоцентр, 2005. 716 с.
4. Хромих Н. О. Стан глутатіон-залежної системи насіння *Aesculus hippocastanum* за умов антропогенного забруднення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 265–270.
5. Хромих Н. О. Функціонування глутатіонового циклу в апікальній меристемі та зоні росту коренів проростків кукурудзи за дії іонів кадмію і високої температури // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 59. С. 301–305.
6. Экологические основы природопользования / Н.П. Грицан, Н.В. Шапарь, Г.Г. Шматков и др. Днепропетровск: ИППЭ НАН Украины, 1998. 409 с.
7. Berjak P., Pammenter N.W. Orthodox and Recalcitrant Seeds. In: Plant Cell Biology Unit. For: School of Life Sciences University of Natal, Durban, South Africa. 2001. Ch. 4. P. 137–147.
8. Berjak P., Pammenter N. W. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective // Annals of Botany. 2008. Vol. 101. P. 213–228.
9. Connor K. F., Bonner F. T. Physiology and Biochemistry of Recalcitrant Guarea *Guidonia* (L.) Sleumer Seeds // Seeds Technology. 1998. Vol. 20. No 1. P. 32–39.
10. Connor K. F., Sowa S. Effects of desiccation on the physiology and biochemistry of *Quercus alba* acorns // Tree Physiology. 2003. Vol. 23. P. 1147–1152.
11. Ganatsas P., Tsakalidimi M., Zachariadis G. Effect of air traffic pollution on seed quality characteristics of *Pinus brutia* // Env. Exp. Botany. 2011. Vol. 74. P. 157–161.
12. Gosling P. Raising trees and shrubs from seed: Practice Guide / In: Forestry Commission. Edinburgh, 2007. P. 1–28.
13. Kranner I., Minibayeva F. V., Beckett R. P., Seal C. E. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science // New Phytologist. 2010. Vol. 188. P. 655–673.
14. Kranner I., Colville L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination // Environ. Exp. Botany. 2011. Vol. 72. P. 93–105.
15. Pukacka S., Ratajczak E. Antioxidative response of ascorbate-glutathione pathway enzymes and metabolites to desiccation of recalcitrant *Acer saccharinum* seeds // J. Plant Physiol. 2006. Vol. 163. Is. 12. P. 1259–1266.

16. Pukacka S., Ratajczak E. Ascorbate and glutathione metabolism during development and desiccation of orthodox and recalcitrant seeds of the genus *Acer* // Functional Plant Biology. 2007. Vol. 34. P. 601–613.

Стаття: надійшла до редакції 13.12.12

доопрацьована 15.05.13

прийнята до друку 16.05.13

## COORDINATED REACTION OF GLUTATHIONE-DEPENDENT SYSTEM OF *ACER* SPECIES SEEDS TO POLLUTANTS CHRONIC ACTION

N. Khromykh

*Dnipropetrovsk National University of Oles Honchar*  
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine  
e-mail: Khromykh2012@gmail.com

The content of reduced glutathione (GSH) and glutathione-S-transferase (GST, EC 2.5.1.18), glutathione-peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9) and glutathione-reductase (GR, EC 1.6.4.2) activity in *Acer platanoides* and *Acer pseudoplatanus* seeds from contaminated phytocenoses were determined. Species-specific and coordinated changes of GSH pool and glutathione-dependent enzymes activity confirm the participation of glutathione cycle in the implementation of different adaptation strategies of *Acer* species to pollutants chronic action.

*Keywords:* *Acer platanoides* L., *Acer pseudoplatanus* L., seeds, pollutants, glutathione, glutathione-reductase, glutathione-S-transferase, glutathione-peroxidase.

## КООРДИНИРОВАННАЯ РЕАКЦИЯ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМОЙ СИСТЕМЫ СЕМЯН ДЕРЕВЬЕВ РОДА *ACER* НА ХРОНИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛЛЮТАНТОВ

Н. Хромых

*Днепропетровский национальный университет имени Олесь Гончара*  
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина  
e-mail: Khromykh2012@gmail.com

В семенах клена остролистного (*Acer platanoides* L.) и псевдоплатанового (*Acer pseudoplatanus* L.) из загрязненных фитоценозов определено содержание восстановленного глутатиона (GSH) и активность глутатион-S-трансферазы (GST, EC 2.5.1.18), глутатион-пероксидазы (GPX, EC 1.11.1.9) и глутатион-редуктазы (GR, EC 1.6.4.2). Видоспецифичные и координированные изменения пула GSH и активности глутатион-зависимых ферментов в семенах указывают на участие цикла глутатиона в реализации видами рода *Acer* разных стратегий адаптации к хроническому влиянию поллютантов.

*Ключевые слова:* *Acer platanoides* L., *Acer pseudoplatanus* L., семена, поллютанты, глутатион, глутатион-редуктаза, глутатион-S-трансфераза, глутатион-пероксидаза.

## SPECTRAL ANALYSIS OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF PLANTS, EFFECTED BY CADMIUM IONS AND SALICYLIC ACID

I. Boiko<sup>1,2</sup>, M. Kobyletska<sup>1</sup>, O. Lobachevska<sup>2</sup>, R. Sokhanchak<sup>2</sup>, O. Terek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine  
11, Stefanyk St., Lviv 79000, Ukraine  
e-mail: istryna.boiko@yahoo.com

Spectral characteristics of photosynthetic pigments of wheat and maize plants, effected by cadmium ions and salicylic acid, were studied. Cadmium impact initiates pigment absorption maxima shifts, what indicate appearance of insignificant amount of pigment derivatives. Decrease in the number of absorption peak shifts influenced by SA confirmed its protective role in stressful conditions. [Cd]-chlorophyll was not detected in extracts from examined plants, hereby indicating indirect effect of Cd ions on chlorophyll.

*Keywords:* spectral properties, absorption, photosynthetic pigments, chlorophyll, cadmium, salicylic acid.

Cadmium (Cd) is highly toxic trace element, which enters environment mainly from anthropogenic sources, contaminating the soil, water and air. Plants are able to absorb ions of cadmium and other heavy metals (HM) actively and to accumulate them in tissues, what results in significant disturbs of their metabolism. Specifically, loss of chlorophylls, carbohydrates and soluble proteins, increase in reactive oxygen species content and activity of antioxidant enzymes, accumulation of various low-molecular compounds and secondary metabolites are observed in plants under cadmium stress. In view of inhibition of the growth processes and biomass accumulation in cadmium-stressed plants, changes of photosynthesis and respiration are considered as most important [16, 18].

Effect of cadmium on photosynthetic complex of plants has a wide range of negative reactions at different stages of photosynthesis. Accumulation of cadmium ions in plant tissues causes inhibition of the activity of enzymes, involved in chlorophyll biosynthesis, activation of degradation processes, disruptions of thylakoid membranes and chlorophyll-protein complex stability, decay of photochemical processes and changes in Calvin cycle [17]. Divalent metal cations ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  et al.) are able to form stable complexes with chlorophyll. Chlorophyll with HM-substituted Mg atom ([HM]-chl) has lower fluorescence quantum yield, compared with [Mg]-chlorophyll, it is unstable in the excited state, what is resulting in release of thermal energy, so the transfer of energy from the antenna complexes to the reaction centers of thylakoids becomes impossible. All known [HM]-chls have low ability to release electrons from singlet excited state [13]. Formation of [HM]-chl causes non-reversible loss of chlorophyll functional activity. It results in changes of pigment spectral properties, inducing a blue-shift of absorption maxima. Exactly this is using as diagnostic feature of [HM]-chl presence in pigment extracts from [HM]-stressed plants [5, 14].

Although the existence of [HM]-chl *in vitro* has long been confirmed, *in vivo* it is investigated mainly in phototrophic bacteria and cyanobacteria [9], unicellular algae and water plants [13, 14, 19]. In land plants [HM]-chl was not detected yet, while high concentrations of HMs were established in chloroplasts [5, 23].

Search and investigations of biogenic compounds with protective properties is one of the main topics of current phytophysiology. Salicylic acid (SA) is one of the actively investigated compounds for this role. It is known, that levels of SA in plant tissues rapidly increase under stress conditions. Experiments with mutant plants, which were not able to accumulate SA, showed the importance of it in stress reactions [20]. Its ability to bind catalase, modifying antioxidant activity and involvement in the regulation of gene expression are discussed as possible mechanisms of SA action. Signaling function of SA is important; it participates in NADPH-oxidase and MAPK-signaling systems and cooperates with NO, jasmonic acid and plant hormones [21]. SA influence results in metabolic changes for more effective performance of basic physiological functions in stress conditions. It is known to cause oxidative burst in plant cells even after short-term application, initiating the resistance formation. SA can be convenient for its application for agricultural purposes.

Studying HM effect and SA protection on agricultural plants, such as wheat and maize, is important due to intense emission of xenobiotics in farmland. Our previous studies showed, that rapidly decrease of chlorophyll in Cd-stressed *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. plants is related mainly to pheophytin formation [2]. So we suggested possibility of [Cd]-chlorophyll formation in such plants. The purpose of our study was to establish spectral changes of photosynthetic pigments in extracts from plant leaves for identifying chlorophyll derivatives. We used wheat and maize plants in our experiments, because both of them have great importance in agriculture, particularly in Ukraine and other countries with temperate climate. Also *Z. mays* L. is known as [Cd/Pb]-hyperaccumulator with strong root/stem barrier mechanisms [12], so it gives us opportunity to compare Cd effect on plants with different ability to accumulate HMs.

#### Materials and methods

Wheat (cv Podolianka) and maize (cv Zakarpatska zhovta zubovydna) plants were grown in pots filled with 1.5 kg washed and inciderated sand, artificially contaminated with Cd as Cd-Cl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O in concentration of 0 and 25 mg cadmium chloride in kg<sup>-1</sup> sand. Pot cultivation was carried out in greenhouse under controlled conditions. SA treatment was performed as pre-sowing soaking of seeds in 0.5 mM salicylate during 5 h, control group of seeds was soaked in distilled water under the same conditions. Then seeds were allowed to germinate on moist filter paper in the dark and transported to pot culture. The pots were watered to 60% water holding capacity of the sand and fertilized twice a week with modified Hoagland's nutrient solution (6.7 mM CaNO<sub>3</sub>·4 H<sub>2</sub>O, 5 mM KNO<sub>3</sub>, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.4 mM FeSO<sub>4</sub>, 0.4 mM Na<sub>2</sub>EDTA·2 H<sub>2</sub>O, 0.046 mM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.009 mM MnCl<sub>2</sub>·4 H<sub>2</sub>O, 0.77 μM ZnSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O, 0.32 μM CuSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O, 0.05 μM (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4 H<sub>2</sub>O). Plants with active pigment system formation (14-, 21- and 28-days-old plants) were analysed for spertral changes with spectrophotometer AnalytikJena Specord 210 Plus in the range 400-700 nm with a step of 0.1 nm. Pigments were extracted with 5 ml of 80% acetone from 50 mg of homogenous middle leaves [5].

[Cd]-chl determination in extracts of studied plants was carried out by looking for blue-shift changes of absorption spectra in 80% acetone extracts of pigments [5, 19].

The data were worked out statistically [4].

#### Results and discussion

Chlorophyll degradation is known as one of aspects of cadmium stress. There are some possible reasons for this process: inhibition of chlorophyll biosynthesis enzymes, destruction of molecules owing to free radical reactions, activation of natural enzymatic processes of chlorophyll catabolism, imbalance of plant mineral nutrition [17]. Chlorophyll degradation in stressful conditions often is followed by decreasing in carotenoids [6, 22]. In some cases stress-initiated

accumulation of carotenoids was accumulated, what is related to their antioxidant properties [8]. HM-effected changes of absorption spectra were detected in plants [5, 19] and bacteria [3]. The result of analysis of pigment electronic absorption spectra confirmed changes of their content (Fig. 1, 2). Cd ions caused decrease in photosynthetic pigments content. This effect was leveled by exogenic SA, whose solely influence had positive effect on assimilatory pigments accumulation (Fig. 1, 2).

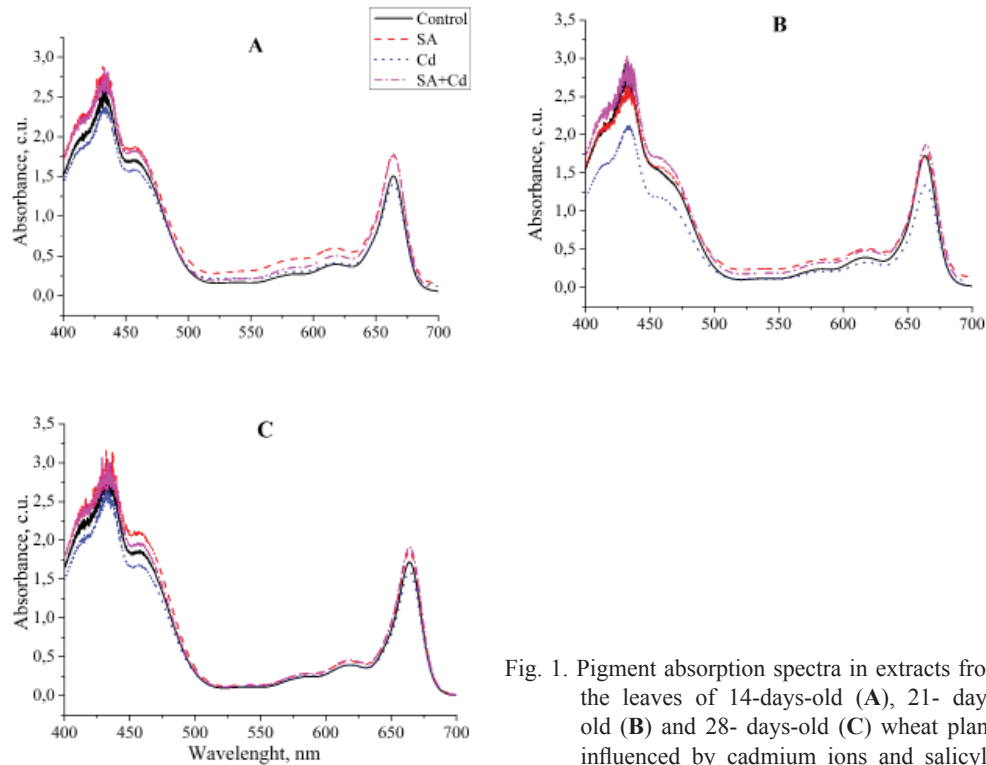


Fig. 1. Pigment absorption spectra in extracts from the leaves of 14-days-old (A), 21- days-old (B) and 28- days-old (C) wheat plants influenced by cadmium ions and salicylic acid.

Registration of absorption peaks in spectral analysis showed the age-related changes in pigment composition of plants and resulted in Cd and SA impact. In the early stage of plant development (14 day) appearance of absorption peaks in the area of 456-458 nm was observed. They were found in both investigated plants and were subjected to some shifting caused by SA. Based on the analysis of shifting absorption peaks of pigments, significant displacements were observed in Cd-stressed plants: in *Z. mays* – shifts in areas 584 nm (21 day-old plants), 541 and 433 nm (28 day-old plants); in *T. aestivum* – shifts in areas 588 nm (14 day-old plants), 617 nm (21 day-old plants) and 540 nm (28 day-old plants). Such changes of absorption peaks suggest appearance of pigment derivatives, but in negligible concentrations. Exogenous treatment of SA showed insignificant changes of pigments spectral properties. It should be noted that matching occurred in most cases of solely SA effect and with Cd ions (tabl. 1, 2). These results confirm the assumption of our previous investigations and research findings of other scientists [5, 7].

Degradation of pigment-protein complexes under Cd stress, which we observed in previous studies [1], creates favorable conditions for chlorophyll pheophytinisation and phytol removal. So, provided sufficient amount of Cd<sup>2+</sup> in thylakoid environment, [Cd]-chl can be formed.

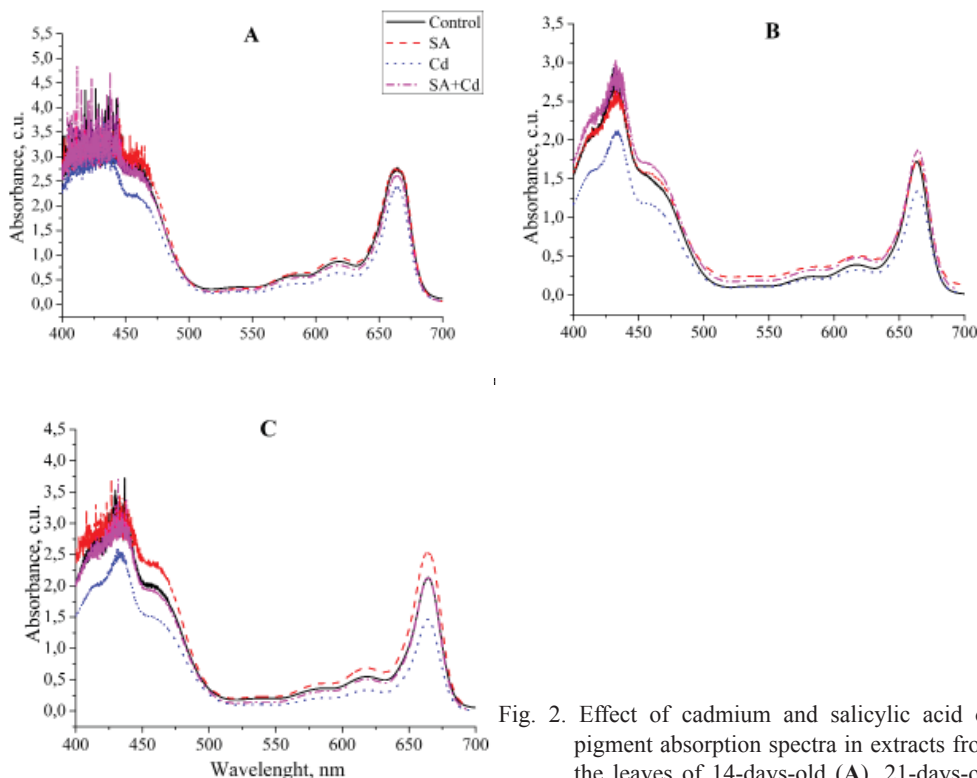


Fig. 2. Effect of cadmium and salicylic acid on pigment absorption spectra in extracts from the leaves of 14-days-old (A), 21-days-old (B) and 28-days-old (C) maize plants.

The results of chlorophyll absorption peaks investigation for identification of [Cd]-chl are presented in table 3. The typical spectral changes (blue shift) were not observed in experimental plants, therefore formation of [Cd]-chl is very unlikely in them. Our data support the idea of other scientists [5], that Cd doesn't have a direct effect on chlorophyll. However, shift in the red area of the spectrum suggest increase in pheophytin content [10] in early stages of the development of Cd-stressed plants, what is consistent with our previous investigations of chlorophyll pheophytinisation in studied plants [2]. In both cases, exogenic SA mitigated pheophytin formation in Cd-stressed plants.

For verification possibility of [Cd]-chl formation in wheat and maize plants, experiments with foliar application of cadmium chloride were carried out. Application of 25 mg/kg  $\text{CdCl}_2$  by substrate and 25 mg/l  $\text{CdCl}_2$  by spraying resulted in 40-50% of lethal effect for investigated plants. But, in survived plants [Cd]-chl was also not detected. Less concentrations of sprayed cadmium chloride (15 mg/l) resulted only in chlorophyll and biomass loss. So, we suggest that in higher plants the appearance of [Cd]-chls in stressful condition doesn't occur. [Cd]-chl is considered to be formed and detected difficultly than other [HM]-chls [15].

According to the obtained data and previous results [1, 2, 7], Cd ions have significant impact on composition and functioning of photosynthetic pigments. Method of spectral analysis makes it possible to estimate rapidly and reliably the effects of HM stress on plant pigments. The results can be used for developing rapid method of assessing pigment system of plants under stress conditions.

Studying SA impact on spectral properties of plants in Cd-initiated stressful conditions is important, because such experiments are conducted for the first time. Positive effect of SA is evident, it manifests itself as quantitative (Fig. 1, 2) and qualitative (Tab. 1–3) characteristics of pigments. A. Krantev with coauthors suggested, that protective effect of short-term SA application on photosynthesis of Cd-stressed plants is based on increase in endogenous SA level and activation of specific and non-specific defensive mechanisms [11].

Table 1

Pigment absorption peaks in extracts from *Triticum aestivum* leaves, effected by cadmium and salicylic acid

Control		SA		Cadmium		Cadmium + SA	
$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance
14-days-old plants							
664	1.505±0.069	664	1.781±0.093	664	1.403±0.072	664	1.781±0.075
619	0.395±0.020	619	0.596±0.026	619	0.411±0.019	619	0.504±0.021
588	0.273±0.011	588	0.468±0.026	586	0.304±0.009	587	0.359±0.017
538	0.165±0.005	--	--	538	0.218±0.012	--	--
456	1.710±0.089	456	1.886±0.055	456	1.582±0.073	457	1.834±0.079
432	2.575±0.124	432	2.899±0.162	433	2.405±0.125	431	2.734±0.126
21-days-old plants							
663	1.726±0.078	664	1.726±0.088	664	1.343±0.058	664	1.874±0.043
617	0.393±0.018	618	0.511±0.021	619	0.327±0.013	618	0.487±0.014
584	0.243±0.012	586	0.371±0.016	586	0.214±0.009	586	0.331±0.013
538	0.119±0.005	541	0.246±0.005	540	0.110±0.003	540	0.191±0.003
433	2.931±0.164	432	2.672±0.130	434	2.126±0.091	432	3.030±0.139
28-days-old plants							
664	1.719±0.091	665	1.855±0.096	664	1.592±0.057	664	1.912±0.082
619	0.394±0.014	618	0.443±0.012	619	0.392±0.007	619	0.456±0.025
587	0.245±0.010	588	0.283±0.012	587	0.257±0.011	588	0.288±0.012
540	0.110±0.006	540	0.136±0.005	544	0.124±0.006	540	0.130±0.004
433	2.990±0.126	437	3.138±0.132	432	2.701±0.113	433	3.031±0.157

Table 2

Effect of cadmium ions and salicylate on pigment absorption in extracts from *Zea mays* leaves

Control		SA		Cadmium		Cadmium + SA	
$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance	$\lambda_{max}$	Absorbance
14-days-old plants							
665	2.780±0.144	664	2.763±0.134	665	2.385±0.091	664	2.628±0.068
619	0.864±0.019	619	0.947±0.035	619	0.637±0.024	618	0.794±0.039
586	0.590±0.024	587	0.639±0.017	586	0.422±0.018	587	0.542±0.029
539	0.350±0.020	--	--	538	0.250±0.007	539	0.298±0.009
457	2.917±0.084	457	3.162±0.085	456	2.248±0.109	458	2.856±0.079
429	4.068±0.113	430	3.633±0.131	428	3.810±0.145	428	3.980±0.155
21-days-old plants							
663	1.726±0.047	664	1.753±0.065	664	1.343±0.058	644	1.874±0.054
618	0.393±0.015	618	0.511±0.027	619	0.327±0.012	618	0.487±0.014
584	0.243±0.013	586	0.371±0.014	586	0.214±0.009	586	0.331±0.017
539	0.119±0.003	541	0.246±0.007	540	0.110±0.045	540	0.191±0.010
433	2.693±0.097	432	2.671±0.035	434	2.126±0.108	432	2.985±0.116
28-days-old plants							
664	2.133±0.086	664	2.552±0.133	664	1.468±0.082	664	2.141±0.083
619	0.548±0.021	618	0.688±0.026	619	0.334±0.016	618	0.510±0.027
587	0.364±0.018	586	0.444±0.021	587	0.208±0.007	586	0.318±0.011
541	0.200±0.007	540	0.231±0.009	537	0.106±0.005	540	0.146±0.008
433	3.339±0.131	433	3.463±0.149	431	2.618±0.102	432	3.701±0.096



Table 3

Chlorophyll absorption peaks in extracts from wheat and maize leaves  
influenced by cadmium and salicylic acid, nm

Treatment	14-days-old plants	21-days-old plants	28-days-old plants
<i>T. aestivum</i> L.			
Control	663.1±0.2	663.0±0.2	663.0±0.1
SA	663.0±0.1	663.0±0.1	663.0±0.1
Cadmium	<b>664.0±0.1</b>	<b>663.9±0.2</b>	663.2±0.2
Cd + SA	663.2±0.2	663.1±0.2	663.1±0.1
<i>Z. mays</i> L.			
Control	663.1±0.1	663.0±0.1	663.0±0.1
SA	663.0±0.1	663.0±0.1	663.1±0.1
Cadmium	<b>664.6±0.2</b>	663.3±0.2	663.2±0.2
Cd + SA	<b>663.9±0.1</b>	663.2±0.1	663.0±0.1

Thus, our data supplement investigations of the protective effect of exogenous short-term application SA on photosynthetic pigments in Cd-stressed plants. Detected changes of pigment absorption maxima indicate appearance of the negligible amount of pigment derivatives in stressful conditions. Such changes due to degradation of pigment-protein complexes and activation of enzymatic activities in thylakoid envelope, observed earlier [1, 2]. Absence of [Cd]-chlorophyll complex in leaf extracts support proposition of other researchers [5] about indirect effect of Cd on chlorophyll, in contrast to other HMs.

## REFERENCES

1. Бойко І., Кобилецька М., Терек О. Функціональний стан хлорофіл-білкових комплексів у листках рослин за дії іонів кадмію та саліцилату // Біол. студії. 2011. Т. 5. С. 105–112.
2. Бойко І., Кобилецька М., Терек О. Деградація хлорофілу в листках рослин за дії йонів кадмію та саліцилової кислоти // Физиология и биохимия культ. растений. 2012. Т. 44. С. 449–456.
3. Кушкевич І., Гнатюш С., Гудзь С. та ін. Вплив різних концентрацій Pb<sup>2+</sup> на фізіолого-біохімічні властивості фітотрофних сіркобактерій *Chromatium okenii* // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 137–146.
4. Чупахина Г. Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум. Калининград, 2000. 59 с.
5. Baryla A., Carrier P., Franck F. et al. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth // Planta. 2001. Vol. 212. P. 696–709.
6. Bhargava P., Atri N., Srivastava A. K., Rai L. C. Cadmium mitigates ultraviolet-B stress in *Anabaena doliolum*: enzymatic and non-enzymatic antioxidants // Biol. Plant. 2007. Vol. 51. N 3. P. 546–550.
7. Boiko I. V., Kobyletska M. S., Terek O. I. Salicylic acid as growth regulator for cadmium-stressed plants // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 271–279.
8. Svetanovska L., Klincharska-Jovanovska I., Dimeska G. et al. Anatomic and physiological disorder after intoxication with heavy metals in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 2010. Vol. 24. P. 4–9.
9. Gupta A., Singhal G. S. Heavy metal induced changes in the spectral properties of *Anacystis nidulans* // Biol. Plant. 1996. Vol. 38. N 2. P. 275–280.
10. Ignatov N. V., Litvin F. F. Photoinduced formation of pheophytin/chlorophyll containing complexes during the greening of plant leaves // Photosynth. Res. 1994. Vol. 42. P. 27–35.

11. *Krantev A., Yordanova S., Janda T.* et al. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants // *J. Plant Physiol.* 2008. Vol. 165. P. 920–931.
12. *Kumara K.* Use of crop plants for removal of toxic metals // *Bio-management of Metal-Contaminated Soils* / Eds. M. S. Khan et al. Springer Netherlands, 2011. P. 439–457.
13. *Kupper H., Kupper F., Spiller M.* Environmental relevance of heavy-metal substituted chlorophylls using the example of water plants // *J. Exp. Bot.* 1996. Vol. 47. P. 259–266.
14. *Kupper H., Kupper F., Spiller M.* *In situ* detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants // *Photosynth. Res.* 1998. Vol. 58. P. 123–133.
15. *Kupper H., Kupper F. C., Spiller M.* [Heavy metal]-chlorophylls formed *in vivo* during heavy metal stress and degradation products formed during digestion, extraction and storage of plant material // *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls* / Eds. B. Grimm et al. Springer Netherlands, 2006. P. 67–77.
16. *Maksymiec W.* Signaling responses in plants to heavy metal stress // *Acta Physiol. Plant.* 2007. Vol. 29. P. 177–187.
17. *Mysliva-Kurczel B., Prasad M. N. V., Strzalka K.* Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments // *Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems* / Ed. M. N. V. Prasad. Springer-Verlag, Berlin; Heidelberg, 2004. P. 146–181.
18. *Pal M., Horvath E., Janda T.* et al. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2006. Vol. 169. P. 239–246.
19. *Prasad M. N. V., Malec P., Waloszek A.* et al. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation // *Plant Sci.* 2001. Vol. 161. P. 881–889.
20. *Suzuki H., Xia Y., Cameron R.* et al. Signals for local and systemic responses of plants to pathogen attack // *J. Exp. Bot.* 2004. Vol. 55. P. 169–179.
21. *Vlot A. C., Dempsey D. A., Klessig A. C.* Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2009. Vol. 47. P. 177–206.
22. *Wang H., Feng T., Peng X.* et al. Up-regulation of chloroplastic antioxidant capacity is involved in alleviation of nickel toxicity of *Zea mays* L. by exogenous salicylic acid // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2009. Vol. 72. P. 1354–1352.
23. *Wei Z., Hong F., Yin M.* Structural differences between light and heavy earth element binding chlorophylls in naturally grown fern *Dicranopteris linearis* // *Biol. Trace Elem. Res.* 2005. Vol. 106. P. 279–297.

Стаття: надійшла до редакції 27.02.13

прийнята до друку 22.04.13

**СПЕКТРАЛЬНИЙ АНАЛІЗ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ РОСЛИН  
ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ ТА САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ****І. Бойко<sup>1,2</sup>, М. Кобилецька<sup>1</sup>, О. Лобачевська<sup>2</sup>, Р. Соханьчак<sup>2</sup>, О. Терек<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Стефаніка, 11, Львів 79000, Україна  
e-mail: iryna.boiko@yahoo.com

Встановлено зміни спектрів фотосинтетичних пігментів рослин пшениці та кукурудзи під впливом іонів кадмію і саліцилової кислоти. Вплив кадмію ініціював зсуви максимумів поглинання пігментів, що вказує на появу незначної кількості похідних пігментів. Зменшення кількості зсувів піків абсорбції пігментів під впливом саліцилату підтвердило його захисну роль в умовах стресу. [Cd]-хлорофіл не був виявлений у екстрактах досліджуваних рослин, що свідчить про непрямий вплив іонів кадмію на хлорофіл.

*Ключові слова:* спектральні характеристики, абсорбція, максимуми поглинання, фотосинтетичні пігменти, хлорофіл, кадмій, саліцилова кислота.

**СПЕКТРАЛЬНИЙ АНАЛІЗ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ  
ПИГМЕНТОВ РАСТЕНИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНОВ  
КАДМИЯ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ****И. Бойко<sup>1,2</sup>, М. Кобылецкая<sup>1</sup>, О. Лобачевская<sup>2</sup>, Р. Соханьчак<sup>2</sup>, О. Терек<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львовський національний університет імені Івана Франка  
ул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
ул. Стефаніка, 11, Львів 79000, Україна  
e-mail: iryna.boiko@yahoo.com

Установлены изменения спектров фотосинтетических пигментов растений пшеницы и кукурузы в условиях воздействия ионов кадмия и салициловой кислоты. Воздействие кадмия инициировало сдвиги максимумов поглощения пигментов, что указывает на появление незначительного количества производных пигментов. Сокращение количества сдвигов пиков абсорбции пигментов под влиянием салицилата подтвердило его защитную роль в стрессовых условиях. [Cd]-хлорофилл не был обнаружен в экстрактах исследованных растений, что свидетельствует о косвенном влиянии ионов кадмия на хлорофилл.

*Ключевые слова:* спектральные характеристики, абсорбция, максимумы поглощения, фотосинтетические пигменты, хлорофилл, кадмий, салициловая кислота.

## КРІОЗБЕРЕЖЕННЯ НАСІННЯ СПОРАДИЧНО ПОШИРЕНИХ ТРАВ'ЯНИХ РОСЛИН ФЛОРИ УКРАЇНИ

Е. Арапет'ян, Ю. Усатенко

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Черемшини, 44, Львів 79014, Україна  
e-mail: emarapetyan@gmail.com

Насіння дослідних видів *Agrostemma githago*, *Berteroa incana*, *Doronicum carpaticum*, *Heliosperma carpaticum*, *Melandrium album*, *Silene dubia* зберегло життєздатність після перебування у рідкому азоті протягом шести місяців. Встановлено, що лабораторна схожість насіння, яке зберігалось за температури  $-196^{\circ}\text{C}$ , не змінювалась або збільшилась порівняно з контрольним варіантом. Ріст і розвиток проростків, отриманих у дослідному варіанті, не відрізнялися від контрольних. Аномальних проростків не відзначено.

*Ключові слова:* насіння, рідкий азот, кріоконсервація, схожість, фітозбереження.

Першочерговість охорони рослин, занесених до Червоної книги, є зрозумілою. Але поняття “рідкісна рослина”, або рослина, яка занесена до Червоної книги, дуже хитке. Прикладом цього є *Arnica montana* L. Вид було занесено до першого видання Червоної книги України та вилучено з його другого видання [8, 9], хоча у документах Європейської стратегії збереження рослин він характеризується як такий, що перебуває під загрозою. Вид є у списку лікарських рослин ботанічних садів [4], але літературні дані щодо розмноження з подальшим зав'язуванням насіння у культурних умовах відсутні. У міжнародних документах, які визначають шляхи збереження різноманіття флори, акцентується на першочерговості охорони рослин місцевої флори з природних локалітетів, незважаючи на їх статус [3]. Збереження у культурних умовах потребують не тільки рослини, які на даний час занесені до Червоної Книги, але й інші групи рослин, наприклад, ендеми або види, які трапляються спорадично, тобто поодинокі, від випадку до випадку (*Agrostemma githago*, *Doronicum carpaticum*, *Heliosperma carpaticum*, *Melandrium album* та низка інших видів). Так, для *Doronicum carpaticum*, який спорадично трапляється тільки у Карпатах [7, 12], ботанічні дослідження відзначають його поширення на нижній межі ліміту [11]. Прикладом зміни точки зору щодо списку рослин, які підлягають охороні, є міжнародна конференція “Сорные растения в изменяющемся мире: актуальные вопросы изучения разнообразия, происхождения, эволюции” [5]. На конференції обговорювали шляхи збереження рослин, які визначаються як бур'яни і для яких відзначено їх зникнення [14], та прийняли постанову щодо збереження окремих видів бур'янів, наприклад, *Agrostemma* (куклію).

Метод консервації насіння у рідкому азоті при температурі  $-196^{\circ}\text{C}$  використовується у світовій практиці понад тридцять років і є пріоритетним напрямом довгострокового зберігання насіння зі збереженням його властивостей. Виходячи з того, що насіння є основним носієм спадкової інформації, збір насіння рослин у природних локалітетах і його кріоконсервація є одним із варіантів збереження фіторізноманіття *ex situ* [13].

На теренах України першим науковим внеском у цьому напрямі були дослідження зі зберігання насіння *A. montana*, зібраного у природних місцях зростання [2]. Метою наших досліджень було дослідити вплив умов зберігання насіння у рідкому азоті на його життєз-

датність, лабораторну схожість і початкові етапи росту й розвитку для низки представників флори України, які характеризуються як спорадично поширені.

#### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження було насіння малопоширених рослин природної флори *Agrostemma githago* L., *Heliosperma carpaticum* (Zapal.) Klok, *Melandrium album* (Mill.) Garcke, *Silene dubia* Herbich, *Doronicum carpaticum* (Griseb. et Schenk) Nym., *Berteroa incana* (L.) DC. Більшість дослідних рослин, згідно з Визначником [7], у минулому столітті траплялись у місцях зростання спорадично (табл. 1).

Таблиця 1

#### Характеристика досліджуваних видів

Назва виду	Назва виду	Родина	Характеристика виду
<i>Agrostemma githago</i> L.	Кукіль звичайний	Caryophyllaceae	Трапляється спорадично
<i>Berteroa incana</i> (L.) DC., син. <i>Alyssum incanum</i> L.	Гикавка сіра	Brassicaceae	
<i>Doronicum carpaticum</i> (Griseb. et Schenk) Nym.	Сугайник карпатський	Asteraceae	Трапляється спорадично
<i>Heliosperma carpaticum</i> (Zapal.) Klok, син. <i>Silene pusilla</i>	Геліосперма карпатська	Caryophyllaceae	Трапляється спорадично
<i>Melandrium album</i> (Mill.) Garcke, син. <i>Silene alba</i> (Mill.)	Куколиця біла	Caryophyllaceae	Трапляється спорадично
<i>Silene dubia</i> Herbich	Смліка сумнівна	Caryophyllaceae	Високогір'я Карпат

Насіння вищезгаданих видів було зібране у природних місцях зростання і протягом двох років містилось у паперових пакетах при кімнатній температурі. Насіння даних видів не характеризується глибоким спокоєм.

Досліджуване насіння по 50 штук у дво- або трикратній повторності засипали в пластмасові пробірки й опускали у заповнену рідким азотом посудину Дьюара, де воно містилось протягом шести місяців. Насіння контрольного варіанта перебувало при кімнатній температурі. Реконсервацію насіння після зберігання у рідкому азоті проводили у лабораторних умовах. Насіння пророщували на зволоженому водою фільтровальному папері у чашках Петрі на розсіяному світлі при кімнатній температурі. Визначали лабораторну схожість насіння, аналізували початкові етапи росту й розвитку проростків. Оцінку розвитку проростків проводили згідно зі стандартами Міжнародних правил визначення якості проростків за Веллінгтоном [1].

#### Результати і їхнє обговорення

Насіння всіх дослідних видів зберегло свою життєздатність у разі безпосереднього його занурення у рідкий азот, тобто режим швидкого заморожування рослинного матеріалу в рідкому азоті можливо використовувати для насіння даних рослин. Головним критерієм визначення впливу екзогенних чинників на насіння є такий параметр як схожість. Аналіз отриманого експериментального матеріалу показав, що зберігання насіння дослідних об'єктів у рідкому азоті вплинуло на проростання. Схожість насіння залежала від виду та могла бути як такою самою, так і більшою ніж у контрольного насіння, яке не піддавалося заморожуванню. За відсотком схожості насіння рослини можна поділити на дві групи.

Рослини першої групи – *A. githago*, *B. incana*, *S. dubia* – характеризуються значним збільшенням відсотка схожості насіння після зберігання його у рідкому азоті порівняно з насінням контрольного варіанта (табл. 2). Перебування насіння *A. githago* у рідкому азоті позитивно вплинуло на схожість, яка становила 56%, у той час як необроблене температурою насіння контрольного варіанта – 28%. Зберігання насіння *B. incana* та *S. dubia* у

рідкому азоті збільшило його схожість до 100% та 36%, тоді як у контрольному варіанті схожість насіння становила 20% та 11% відповідно. До другої групи належать *H. carpaticum* та *D. carpaticum*, зберігання насіння яких протягом шести місяців у рідкому азоті стимулювало його схожість, на відміну від насіння контрольного варіанта, яке після перебування у лабораторних умовах упродовж тривалого часу втратило свою схожість.

Таблиця 2

## Схожість насіння після перебування у рідкому азоті (-196°C), %

Назва виду	Контроль	Дослід
<i>Agrostemma githago</i> L.*	28	56
<i>Berteroa incana</i> (L.) DC.*	20	100
<i>Silene dubia</i> Herbich*	11	36
<i>Heliosperma carpaticum</i> (Zapal.) Klok*	0	39
<i>Doronicum carpaticum</i> (Griseb.et Schenk) Nym. **	0	13
<i>Melandrium album</i> (Mill.) Garcke*	27	29

**Примітка.** \* – середні дані трьох повторностей; \*\* – середні дані двох повторностей.

Умови зберігання не вплинули на схожість насіння *M. album*. Вона була однаковою у контрольному та дослідному варіантах (табл. 2). Насіння схожість *M. album* контрольного варіанта, яке перебувало в лабораторних умовах більше року, становила 27%. Кінцевий відсоток схожості дослідного варіанта був трохи більшим контрольного і становив 29%.

Отримані експериментальні дані підтверджують літературні дані [6] щодо видоспецифічності реакції насіння різних видів на дію ультранизької температури. Види *A. githago*, *H. carpaticum*, *M. album* належать до однієї родини *Caryophyllaceae*. Для *M. album* схожість дослідного насіння є однаковою порівняно з контрольним, необробленим температурою, насінням, а для *A. githago* – вдвічі більшим. Для насіння *H. carpaticum* відзначено стимуляцію схожості насіння, тоді як насіння контрольного варіанта втратило схожість. Якщо рослини характеризувати як одно- та багаторічники, то досліджувані види можна поділити на дві групи. Насіння однорічних рослин *A. githago*, *B. incana* характеризується збільшенням схожості після зберігання у рідкому азоті. Для багаторічних рослин *D. carpaticum* та *H. carpaticum* перебування насіння при температурі -196°C стимулює його схожість, яка була втрачена для контрольного варіанта.

Зберігання насіння всіх досліджуваних видів у рідкому азоті не пришвидшило проростання насіння, як це спостерігалось у попередніх дослідях, наприклад для *Rhododendron luteum* [10]. Насіння *A. githago*, розкладене у чашках Петрі, почало прокльовуватись одночасно у контрольному та дослідному варіантах через п'ять днів від часу замочування насіння у воді. Проростання насіння спостерігалось протягом десяти днів. Однотижневі проростки дослідного варіанта, як і контрольні, мали корені завдовжки 3–4 см та були заввишки 3 см. Проростки дослідного варіанта випереджували за розвитком контрольні та мали зелені сім'ядолі, які у проростків контрольного варіанта відзначені трохи пізніше. Початок прокльовування насіння *B. incana* відзначено одночасно у контрольному й обробленому низькою температурою варіантах через тиждень від початку дослідження. Проростання насіння у контрольному варіанті спостерігалось протягом десяти днів. Зберігання насіння *B. incana* у рідкому азоті скоротило період проростання до трьох днів. Насіння *H. carpaticum*, яке містилось у рідкому азоті, почало прокльовування через тиждень від початку дослідження. Цей процес спостерігався протягом десяти днів. Насіння контрольного варіанта не проросло навіть упродовж місяця. Для насіння *D. carpaticum* відзначена та сама характеристика проростання, та і для вищеприписаного виду. Прокльовування насіння *M. album* розпочалось одночасно у контрольному та дослідному варіантах. Період проростання даного насіння розтягнутий і тривав упродовж вісімнадцяти днів. У контрольному та дослідних варіантах

десятиденні проростки *M. album* заввишки до 7 см мали коріння завдовжки до 4 см та розгорнуті зелені сім'ядольні листки. Аналіз початкових етапів росту і розвитку показав, що проростки, отримані з насіння, яке перебувало при температурі  $-196^{\circ}\text{C}$ , за морфологічними ознаками не відрізнялися від контрольних для всіх досліджуваних видів.

Таким чином, для дослідного насіння спорадично поширених рослин природної флори України, яке зберегло життєздатність після перебування у рідкому азоті протягом шести місяців, можливе використання сучасного методу консервації рослинного матеріалу в рідкому азоті ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). Насіння дослідних видів рослин для збереження життєздатності не потребує спеціальної підготовки та криопротекторів під час зберігання у рідкому азоті. Пластмасові пробірки, які широко використовуються у лабораторіях, слугували як контейнери для зберігання насіння у рідкому азоті. Режим зберігання (заморожування/розморожування) насіння не потребує поступового охолодження/розморожування. Перебування при температурі  $-196^{\circ}\text{C}$  збільшило або не збільшило схожість насіння. Експериментальний матеріал для насіння видів *A. githago*, *B. incana*, *D. carpathicum*, *H. carpathicum*, *M. album*, *S. dubia* флори України отримано вперше.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Веллінгтон П. Методика оценки проростков семян. М.: Колос, 1972. 174 с.
2. Грищенкова Е. А., Рязанцев В. В., Гулевский А. К., Чаплай Е. В. Создание криобанка семян редких и исчезающих видов лекарственных растений // Проблемы криобиологии. 1996. № 2. С. 32–34.
3. Європейська стратегія збереження рослин Botanic gardens conservation international [Електронний ресурс] / Режим доступу <http://www.bgci.org>.
4. Каталог лікарських рослин ботанічних садів і дендропарків України: довідковий посібник / за ред. А.П. Лебеди. К.: Академперіодика, 2008. 160 с.
5. Сорные растения в изменяющемся мире: актуальные вопросы изучения разнообразия, происхождения, эволюции: Междунар. конф. Санкт-Петербург: 6–8 декабря 2011. Ин-т растениеводства им. Н.И.Вавилова (ВИР). Изд-во ВИР СПб., 2011. Режим доступу <http://www.vir.nw.ru/news/27.12.2011.html>
6. Никишина Т. В., Попова Е. В., Вахрамеева М. Г. и др. Криосохранение семян и протокормов редких орхидей умеренного климата // Физиол. растений. 2007. Т. 54. № 1. С. 137–143.
7. Определитель высших растений Украины / ред. Ю. Н. Прокудин. / Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. К.: Наук. думка, 1987. 545 с.
8. Червона книга України. Рослинний світ / під заг. ред. Ю.Р. Шеляг-Сосонка. К.: Укр. енциклопедія ім. М. П. Бажана, 1996. 603 с.
9. Червона книга України. Рослинний світ / під ред. Я.П. Дідуха. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 912 с.
10. Arapetyan E., Tymchyshyn G., Panasyuk M. Use of cryoconservation for the flora diversity preservation by the seeds genetic information conservation // Інтродукція та збереження рослинного різноманіття // Вісн. Київ. ун-ту. 2005. № 9. С. 6–7.
11. Fragmenta floristica et geobotanica / Polskie Towarzystwo Botaniczne. Publishing Office of W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. 1998. Vol. 43, Is. 1, 2.
12. Ine's A' lvarez Ferna' ndez. Systematics of eurasian and north african *Doronicum* (Asteraceae: Senecioneae) // Annals of the Missouri botanical garden. 2003. Vol. 90. N 3. P. 319–389.

13. *Keith J. Hatton, Eaton J.W. Rescue* Refuge and return: A model for the role of the Botanic Garden in conservation // *Science for Plant Conservation: An International Conf. for Botanic Gardens*. Dublin: 8–10 July 2002. P. 3.
14. *Tasenkevich L. Red List of Vascular Plants of the Carpathian Mountains*. Lviv: Carpathian Ecoregion Initiative, 2002. 28 p.

Стаття: надійшла до редакції 21.12.12

доопрацьована 06.03.13

прийнята до друку 13.03.13

## SEED CRYOPRESERVATION OF SPORADICALLY DISTRIBUTED HERBACIAL PLANTS FLORA OF UKRAINE

**E. Arapetyan, Yu. Usatenko**

*Ivan Franko National University of Lviv  
44, Tscheremshyna St., Lviv 79014, Ukraine  
e-mail: emarapetyan@gmail.com*

This study presents the results of seed conservation of wild herb species under liquid nitrogen condition during 6 months. The seed survival was observed for all species *Agrostemma githago*, *Berteroa incana*, *Doronicum carpaticum*, *Heliosperma carpaticum*, *Melandrium album*, *Silene dubia*. It has been concluded that laboratory germinating ability of treatment by temperature  $-196^{\circ}\text{C}$  seeds was identical or increase in compare with control variant. There is no difference in growth and development of seedlings from uncryopreserved and cryopreserved seeds.

*Keywords:* seeds, liquid nitrogen, cryoconservation, germination, phytopreservation.

## КРИОСОХРАНЕНИЕ СЕМЯН СПОРАДИЧЕСКИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ТРАВЯНЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ УКРАИНЫ

**Э. Арапетян, Ю. Усатенко**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Черемшины, 44, Львов 79014, Украина  
e-mail: emarapetyan@gmail.com*

Семена исследованных видов *Agrostemma githago*, *Berteroa incana*, *Doronicum carpaticum*, *Heliosperma carpaticum*, *Melandrium album*, *Silene dubia* сохранили свою жизнеспособность после нахождения в жидком азоте в течение шести месяцев. Установлено, что лабораторная всхожесть семян, хранившихся при температуре  $-196^{\circ}\text{C}$ , одинаковая или увеличилась по сравнению с контрольным вариантом. Рост и развитие проростков семян опытного варианта не отличались от контрольных. Аномальные проростки не отмечены.

*Ключевые слова:* семена, жидкий азот, криоконсервация, всхожесть, фитосохранение.



## ЗМІСТ

### БІОТЕХНОЛОГІЯ

Ю. Сеньків, А. Рябцева, Н. Бойко, Н. Мітіна, О. Заїченко, Р. Стойка Механізми посилення антинеопластичної активності рутеній-вмісного препарату шляхом іммобілізації на полімерному носії .....	3
В. Заболотна Ефективність інокуляції сої культурної ( <i>Glycine max</i> ) мутантами <i>Bradyrhizobium</i> <i>jaropiscum</i> .....	13
С. Мартинов, О. Митрофанова, І. Митрофанова Використання діагностичних методів для виявлення ступеня ураження сортів персика вірусом шарки сливи ( <i>Plum pox potyvirus</i> ) .....	21

### БІОФІЗИКА

Н. Головчак Вільнорадикальні процеси в серцевому м'язі птиці за дії гіпохлориту натрію .....	29
---	----

### БІОХІМІЯ

О. Гопаненко Жирнокислотний склад плазми крові та печінки кролів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції .....	38
М. Люта, І. Ференц, В. Бурда, А. Федорович, К. Дудок, Н. Сибірна Кисеньтранспортина функція гемоглобіну при введенні агматину за експериментального цукрового діабету .....	46
М. Хохла, Г. Клевета, М. Лупак, О. Канюка, Я. Чайка, М. Скибіцька, Н. Сибірна Дослідження компонентного складу екстракту козлятника лікарського .....	55
Н. Салига, Ю. Салига Вплив L-глутамінової кислоти на активність ензимів метаболізму глутатіону та інтенсивність пероксидних процесів у щурів .....	61
О. Біленко, М. Руденко, І. Леус, С. Бабій, О. Скорік, Н. Штеменко Дослідження системи глутатіону за умов гальмування пухлинного росту .....	68

### БОТАНІКА

Е. Челебієва, С. Скребовська Місце в системі Chlorophyta одноклітинної автоспороутворюючої водорості <i>Pseudospongiococcum protococcoides</i> .....	75
С. Гапон Антропогенна трансформація бріофлори та мохового покриву Лісостепу України .....	82
М. Грицина Структура та генезис парціальних суцвіть видів підсекції <i>Isandra</i> Franch. ex Murb. секції <i>Fasciculata</i> Murb. роду <i>Verbascum</i> L. ....	91
О. Фіщук, А. Одінцова Морфологія та васкулярна анатомія квітки <i>Sansevieria hyacinthoides</i> (L.) Druce (Asparagaceae Juss.) .....	99

### ГЕНЕТИКА

М. Вітушинська, Н. Матійців, Я. Черник Чутливість до умов оксидативного стресу, тривалість життя та нейродегенеративні зміни в структурі мозку у мутантів <i>Drosophila melanogaster</i> за генами супероксиддисмутази .....	108
---	-----

<i>I. Моголяк, Н. Матійців, Я. Черник</i>	
Вплив тканинно-специфічного функціонального інгібування гена <i>sws</i> на формування структури складного ока <i>Drosophila melanogaster</i> .....	117
<i>О. Штапенко</i>	
Вплив гіпертермії на експресію генів у тканинах мишей .....	126

### ЕКОЛОГІЯ

<i>А. Гірна</i>	
Фауна павуків (Aranei) лісових екосистем Верхньодністровських Бескидів (Українські Карпати) .....	133
<i>О. Дідур, І. Лоза, Ю. Кульбачко, О. Пахомов, А. Крючкова</i>	
Середовищеперетворювальний вплив екскреторної діяльності дощових черв'яків ( <i>Lumbricidae</i> ) на рН-буферні властивості відновлених ґрунтів .....	140
<i>Н. Глібовицька</i>	
Вплив урбанізованого середовища на інтенсивність плодоношення та масу вегетативних і генеративних органів липи серцелистої ( <i>Tilia cordata</i> L.) .....	146
<i>О. Решетило</i>	
Механізми самовідновлення популяцій земноводних у високогір'ї Українських Карпат .....	152
<i>В. Рожак, В. Козловський</i>	
Запаси й елементний склад опаду та підстилки в лісових екосистемах Стрийсько-Сянської верховини (Українські Карпати) .....	160
<i>Н. Кияк</i>	
Фотосинтетична активність мохів на деастрованих територіях видобутку сірки ..	170
<i>Р. Соханьчак, О. Лобачевська, С. Бешлей</i>	
Сезонні зміни у пігментному комплексі моху <i>Campylopus introflexus</i> (Hedw.) Brid. на вершині відвалу шахти "Надія" .....	180
<i>К. Дядькова, Н. Романюк, В. Козловський</i>	
Біогеохімія Cu, Zn, Cd, Mn, Fe, Co в зелених зонах міста Мелітополя (Запорізька область, Україна) .....	188
<i>С. Задира, Д. Лукашов</i>	
Вплив забруднення довкілля важкими металами на процеси перекисного окиснення ліпідів клітин печінки природних популяцій жовтогорлої миші .....	196
<i>Г. Лисенко, І. Данилик</i>	
Порівняльна синфітоіндикаційна оцінка оселищ ксеротермної рослинності Подільської височини та Закарпатської низовини .....	203
<i>О. Усенко, О. Баланда</i>	
Терпенові сполуки вищих водяних рослин і їх вплив на функціональну активність гідробіонтів .....	216

### ЗООЛОГІЯ

<i>Т. Чернишова</i>	
Мінливість видів роду <i>Limax</i> (Linnaeus, 1758) (Pulmonata, Limacidae) фауни України .....	227
<i>М. Франчук</i>	
До гніздової біології співочого дрозда ( <i>Turdus philomelos</i> C. L. Brehm, 1831) на природоохоронних територіях Західного Українського Полісся .....	234

## МІКРОБІОЛОГІЯ

<i>О. Брезвин, В. Отчич, І. Коцюмбас</i> Контроль мікотоксинів у кормах і їх знешкодження .....	242
--	-----

## ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

<i>А. Охрей, Т. Куценко, М. Макарчук</i> Когнітивні викликані потенціали у музикантів і немужикантів при моно- та бінауральному подаванні тонового сигналу .....	250
<i>В. Сирватка, Ю. Сливчук, І. Розгоні, І. Гевкан</i> Функціональна активність спермій кролів за дії наночастинок срібла при короткочасному зберіганні <i>in vitro</i> .....	256
<i>Ю. Дябога</i> Трансформація холестеролу в органах щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції .....	262
<i>С. Бичкова</i> Особливості функціонування ріанодинчутливого Ca <sup>2+</sup> -депо гепатоцитів щурів ....	267
<i>Я. Омельковець, М. Березюк</i> Особливості макроморфології мозочка птахів різних екологічних груп .....	275
<i>О. Бондаренко, Н. Гула, М. Макарчук, Т. Горідько, В. Бабан, О. Коваленко</i> Вплив N-стеароїлетаноламіну та хронічної алкоголізації на поведінку щурів у тесті «відкрите поле» .....	285
<i>І. Султанова, І. Іванишин, Б. Лісовський, Р. Арламовський</i> Особливості варіабельності серцевого ритму у дівчат підліткового віку різних соматотипів Прикарпатського регіону .....	294

## ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

<i>Л. Котюк</i> Біохімічний склад інтродуцента <i>Hyssopus officinalis</i> L. залежно від сортових особливостей .....	302
<i>С. Ващук, Д. Рахметов, О. Романчук, В. Баранов</i> Вплив нових регуляторів росту на вміст пігментів фотосинтезу та розчинних вуглеводів у рослин <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zuc. за умов росту на субстратах породних відвалів вугільних шахт .....	309
<i>Г. Россихіна-Галича</i> Компоненти прооксидантно-антиоксидантної системи вегетативних органів рослин кукурудзи як показники їх реакції на дію гербіцидів .....	315
<i>Н. Хромих</i> Координувана реакція глутатіон-залежної системи насіння дерев роду <i>Acer</i> на хронічний вплив полютантів .....	325
<i>І. Бойко, М. Кобилецька, О. Лобачевська, Р. Соханьчак, О. Терек</i> Спектральний аналіз фотосинтетичних пігментів рослин за дії іонів кадмію та саліцилової кислоти .....	331
<i>Е. Арапет'ян, Ю. Усатенко</i> Кріозбереження насіння спорадично поширених трав'яних рослин флори України .....	339

**CONTENTS**  
**BIOTECHNOLOGY**

*Yu. Senkiv, A. Ryabtseva, N. Boiko, N. Mitina, O. Zaichenko, R. Stoika*  
Mechanisms of enhancement of antineoplastic activity of Ru<sup>2+</sup>-containing drug by immobilization on polymer carrier ..... 3

*V. Zabolotna*  
Effectiveness of inoculation of soybean cultural (*Glycine max*) by mutants *Bradyrhizobium japonicum* ..... 13

*S. Martinov, O. Mitrofanova, I. Mitrofanova*  
Using the diagnostic methods to identify the infection degree of peach cultivars by *Plum pox potyvirus* ..... 21

**BIOPHYSICS**

*N. Holovchak*  
Free-radical processes in the bird myocardium at the actions of sodium hypochlorite .. 29

**BIOCHEMISTRY**

*O. Hopanenko*  
Fatty acid composition of the blood plasma and liver of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction ..... 38

*M. Lyuta, I. Ferents, V. Burda, A. Fedorovych, K. Dudok, N. Sybirna*  
Oxygen transport function of hemoglobin under the admission agmatine in experimental diabetes mellitus ..... 46

*M. Khokhla, G. Kleveta, M. Lupak, O.P. Kaniuka, Ya. Chajka, M. Skybitska, N. Sybirna*  
Studies of *Galega officinalis* extract component ..... 55

*N. Salyha, Yu. Salyha*  
Effect of L-glutamic acid on the activity of glutathione metabolism enzymes and intensity of peroxidation processes in rats ..... 61

*O. Bilenko, M. Rudenko, I. Leus, S. Babiy, O. Skorik, N. Shtemenko*  
Investigation of glutathione system under inhibition of tumor growth ..... 68

**BOTANY**

*E. Chelebjeva, S. Skrebovskaya*  
Unicellular spore-forming alga *Pseudosporangiococcum protococcoides* position detection in the system Chlorophyta ..... 75

*S. Gapon*  
Anthropogenic transformation of bryoflora and moss cover of the Ukrainian Forest-Steppe ..... 82

*M. Hrytsyna*  
Structure and genesis of the partial inflorescences of subsection *Isandra* Franch. ex Murb. section *Fasciculata* Murb. genus *Verbascum* L. .... 91

*O. Fishchuk, A. Odintsova*  
Morphology and vascular anatomy of the flower in *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce (Asparagaceae Juss.) ..... 99

**GENETICS**

*M. Vitushinska, N. Matiytsiv, Ya. Chernik*  
Sensitivity to the oxidative stress conditions lifespan and neurodegenerative changes in the brain structure of *Drosophila melanogaster* superoxidismutase mutants ..... 108

<i>I. Mohylyak, N. Matiytsiv, Ya. Chernyk</i>	
The influence of tissue specific inhibition of <i>sws</i> gene expression on <i>Drosophila melanogaster</i> compound eye formation .....	117
<i>O. Shtapenko</i>	
Effects of hyperthermia on gene expression in mice tissues .....	126

#### ECOLOGY

<i>A. Hirna</i>	
Fauna of spiders (Aranei) forest ecosystems of Verkhnodnistrovski Beskydy (Ukrainian Carpathians) .....	133
<i>O. Didur, I. Loza, Y. Kulbachko, O. Pakhomov, A. Kryuchkova</i>	
Environmental impact of earthworm ( <i>Lumbricidae</i> ) excretory activity on pH-buffering capacity of remediated soil .....	140
<i>N. Glibovytska</i>	
The impact of urbanized environment on fruiting intensity and vegetative and generative organs mass of the small-leaved linden ( <i>Tilia cordata</i> L.) .....	146
<i>O. Reshetylo</i>	
The mechanisms of amphibia populations' self-renewal in the high-mountains of Ukrainian Carpathians .....	152
<i>V. Rozhak, V. Kozlovskyy</i>	
The amount and metals content of litter and litterfall in forest ecosystems of the Stryy-Sian Eminence (Ukrainian Carpathians) .....	160
<i>N. Kyyak</i>	
Photosynthetic activity of the mosses on the devastated territories of sulphur extraction .....	170
<i>R. Sokhanchak, O. Lobachevska, S. Beshley</i>	
Seasonal changes in pigment complex of moss <i>Campylopus introflexus</i> (Hedw.) Brid depending on the mine "Nadiia" dump top .....	180
<i>K. Dyadkova, N. Romanyuk, V. Kozlovskyy</i>	
Biogeochemistry Cu, Zn, Cd, Mn, Fe, Co in green areas of Melitopol sity (Zaporizhzhya region, Ukraine) .....	188
<i>S. Zadyra, D. Lukashov</i>	
Influence of environmental pollution by heavy metals on processes of lipid peroxidation of cells of liver of natural populations of yellow-necked mouse .....	196
<i>G. Lysenko<sup>1</sup>, I. Danylyk<sup>2</sup></i>	
Comparative synphytoindicative evaluation of xerothermic habitats vegetation of Podillia elevation and Transcarpathian lowland .....	203
<i>O. Usenko<sup>1</sup>, O. Balanda<sup>2</sup></i>	
Terpene compounds of higher aquatic plants and their effect on the functional activity of aquatic substances .....	216

#### ZOOLOGY

<i>T. Chernyshova</i>	
Variability of species of the <i>Limax</i> genus (Linnaeus, 1758) (Pulmonata, Limacidae) molluscs of the fauna of Ukraine .....	227

<i>M. Franchuk</i>	
To breeding biology of song thrush ( <i>Turdus philomelos</i> C. L. Brehm, 1831) on protected areas Western Ukrainian Polissya .....	234
<b>MICROBIOLOGY</b>	
<i>O. Brezvyn, V. Otchych, I. Kotsyumbas</i>	
Control of mycotoxins in feeds and their elimination .....	242
<b>HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY</b>	
<i>A. Okhrey, T. Kutsenko, M. Makarchuk</i>	
Cognitive event-related potentials in musicians and non-musicians during mono- and binaural tone submission .....	250
<i>V. Syrvatka, Y. Slyvchuk, I. Rozgoni, I. Hevkan</i>	
Functional activity of rabbit's sperm under influence of silver nanoparticles after short term storage <i>in vitro</i> .....	256
<i>Yu. Dlyaboha</i>	
Transformation of cholesterol in rats' organs with experimental hypercholesterinemia and its correction .....	262
<i>S. Bychkova</i>	
Features of functioning ryanodine-sensitive Ca <sup>2+</sup> -stores of rat hepatocytes .....	267
<i>Ia. Omelkovets, M. Berezyuk</i>	
Features macromorphology cerebellum birds of various environmental groups .....	275
<i>O. Bondarenko, N. Gulaya, M. Makarchuk, T. Goridko, V. Baban, O. Kovalenko</i>	
Effects of N-stearoylethanolamine and chronic alcoholization on behavior of rats in "open-field" .....	285
<i>I. Sultanova, I. Ivanyshyn, B. Lisovskiy, R. Arlamovskiy</i>	
Peculiarities of heart rate variability in female adolescents of different somatotypes of Precarpathian region .....	294
<b>PLANT PHYSIOLOGY</b>	
<i>L. Kotyuk</i>	
Biochemical constituents of <i>Hyssopus officinalis</i> L. depending on characteristics .....	302
<i>S. Vashchuk, D. Rakhmetov, O. Romanchuk, V. Baranov</i>	
Carbohydrates in <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zuc. plants under growth on the coal rock dumps .....	309
<i>A. Rossikhina-Galycha</i>	
Components prooxidant- antioxidant system in vegetative organs of corn plants as an indicator of their response to the effects of the herbicide .....	315
<i>N. Khromykh</i>	
Coordinated reaction of glutathione-dependent system of <i>Acer</i> species seeds to pollutants chronic action .....	325
<i>I. Boiko, M. Kobyletska, O. Lobachevska, R. Sokhanchak, O. Terek</i>	
Spectral analysis of photosynthetic pigments of plants, effected by cadmium ions and salicylic acid .....	331
<i>E. Arapetyan, Yu. Usatenko</i>	
Seed cryopreservatin of sporadically distributed herbacial plants flora of Ukraine .....	339