

ISSN 0206-5657

ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 61

2013

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

Series Biology | **Серія біологічна**

Issue 61 | **Випуск 61**

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

<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 576:577

**ASSESSMENT OF HEPATIC PERFUSION AND DIFFUSION IN CCl₄ TREATED
RAT LIVER USING MAGNETIC RESONANCE IMAGING**

A. Babsky^{1,2}, B. George¹, N. Bansal¹

*¹Department of Radiology and Imaging Sciences, Indiana University
Indianapolis, IN, 46202, U.S.A.*

*²Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: andriy10@yahoo.com*

The liver is one of the most important organs of detoxification in the body. Use of diffusion-weighted (DWI) and dynamic contrast enhanced (DCE) ¹H MRI for the assessment of hepatic perfusion and diffusion parameters were evaluated in a CCl₄-induced rat liver injury model. Acute liver injury was produced by a single gavage of mixture of CCl₄ and corn oil. MRI experiments were performed before and 24 h after the CCl₄ treatment. CCl₄-induced liver injury caused decreases in both fast and slow apparent diffusion coefficient of water measured by DWI, as well as a decrease in contrast agent uptake measured by DCE ¹H MRI. DWI should prove useful in assessment of liver damage in diffuse liver diseases without the need for a contrast agent.

Keywords: liver toxicity, CCl₄, ¹H MRI, apparent diffusion coefficient, perfusion.

The liver is one of the most important organs in the body when it comes to detoxifying or getting rid of foreign substances or toxins. Many of the toxic chemicals that enter the body are fat-soluble, which means they dissolve only in fatty or oily solutions and not in water. This makes them difficult for the body to excrete. Fat soluble chemicals have a high affinity for fat tissues and cell membranes, which are composed of fatty acids and proteins. The liver detoxifies harmful substances by converting fat soluble toxins into water soluble substances that can be excreted in the urine or the bile.

Liver hemodynamics plays an important role in hepatic function including an excretion of toxins. Several methods have been proposed for the noninvasive quantification of hepatic perfusion, including clearance of xenobiotics, single-photon emission computerized tomography, positron emission tomography, and dynamic contrast enhanced (DCE) ¹H magnetic resonance imaging (MRI) [8]. Measurements of water apparent diffusion coefficient of water (ADC) by diffusion weighted ¹H MRI (DWI) has potential values in characterizing hepatic pathological changes, differentiating between malignant and benign liver tumors, and monitoring response to therapy [7, 11, 12]. As a quantitative parameter calculated from DWI, water ADC may reflect not only diffusion that represents mostly the Brownian motion of the water molecules, but also perfusion in microvessels. Thoeny et al. [13] proposed the use of DWI for simultaneous estimation of both perfusion and diffusion without the use of an exogenous agent. Previous studies show that for low strength of the diffusion weighting (*b*-values < 100 s/mm²) perfusion dominates diffusion by a factor of 10. However, by using high *b*-values (> 500 s/mm²), the influence of perfusion is largely attenuated [13].

CCl₄-induced liver injury in animals is widely used model to study the mechanism underlying the hepatotoxic effects such as steatosis, hepatitis, fibrosis, and cirrhosis [3]. At high dose

and short term, acute CCl_4 toxicity results with hepatocellular necrosis and accumulation of inflammatory cells in centrilobular regions and also significant fat droplet deposition in hepatocytes [3]. The most clearly illustrated mechanism underlying the CCl_4 induced liver injury has been related to the production of reactive radicals and lipid peroxidation [5, 6, 14]. In hepatocytes, CCl_4 is converted into CCl_3^* by cytochrome P450 in endoplasmic reticulum. CCl_3^* is a free radical and can react with various proteins, nucleotides and lipids. Furthermore, in the presence of oxygen, this radical is transformed to the trichloromethyl peroxy (CCl_3OO^*), which is a more reactive radical and can cause more extensive damage than CCl_3^* . CCl_3OO^* is more likely to extract a hydrogen from unsaturated poly fatty acids, e.g. the lipids in membrane, resulting to lipid peroxidation with the formation of reactive aldehydes, carbonyls and alkanes. These radicals will carry on the CCl_4 hepatotoxic effects by binding to a variety of biological molecules and disorder their normal functions [14].

The purpose of this study was to evaluate the use of DWI and DCE ^1H MRI for the assessment of hepatic perfusion and diffusion parameters in a CCl_4 -induced rat liver injury model.

Materials and methods

CCl_4 model:

All animal studies were approved by the Indiana University Institutional Animal Care and Use Committee. MRI experiments were performed on male Sprague-Dawley rats (Harlan, Indianapolis, IN, USA) weighing 300–400 g ($n=7$). Acute liver injury was produced by a single intragastrical gavage of 2.5 ml/kg mixture of CCl_4 and corn oil (1:1).

MRI experiments:

All *in vivo* MRI was performed on a 9.4 Tesla, 31-cm horizontal Varian bore system (Varian, Palo Alto, CA, USA). Animals were anesthetized with 1–1.5% isoflurane delivered in medical air at 1.0–1.5 L/min using a rat nose mask connected to a gas anesthesia machine (Vetland, Louisville, KY, USA). Warm air was blown through the magnet bore to maintain the temperature in the space surrounding the animal and the animal core body temperature at 26–28°C and 32–36°C, respectively. Animal respiration was examined with a physiological monitoring and gating system (SA Instruments, Stony Brook, NY, USA) using a pneumatic pillow located under the animal's abdominal area. DWI and DCE ^1H MRI of the liver were collected with a birdcage coil (ID = 63 mm, length = 190 mm) tuned to 400 MHz. MRI experiments were performed before and 24 h after the CCl_4 treatment.

DWI:

Multi-slice DWI was collected using a modified spin-echo sequence and the following parameters: repetition time (TR) = 1000 ms, echo time (TE) = 1000 ms / 21 ms, δ = 6 ms, Δ = 11 ms, matrix size = 256×128 , field of view (FOV) = 80 mm \times 80 mm, number of slices = 12, slice thickness = 0.5 mm, slice gap = 1.5 mm, and b = 0, 10, 20, 30, 100, 220, 350, 600, 1000, and 1600 s/mm². Total data collection time for a set of DWI at the ten b values was ~ 23 min.

DCE ^1H MRI:

After collecting a baseline of DWI, 0.2 mmol/kg of Gd-DOTA was manually injected over a 30 s interval through a 26-gauge catheter placed in the tail vein. All bolus injections were performed by the same investigator. DCE ^1H MRI was obtained using a gradient-echo sequence and the following parameters: TR/TE = 10 ms / 3.1 ms, matrix size = 256×128 , FOV = 64 mm \times 64 mm, number of slices = 1, and slice thickness = 4 mm. 200 images were collected over approximately 13 minutes, with 4.5 s acquisition time per image.

Data analysis and statistics:

^1H images were reconstructed using the Image Browser software (Varian, Palo Alto, CA, USA). PSI-PLOT software was used to analyze DWI and DCE ^1H MRI data. DWI signal inten-

sity (SI) versus b value data were fit to the following biexponential equation: where A_0 is signal intensity for $b = 0$ s/mm², ADC_{fast} and ADC_{slow} are the fast and slow ADC components which are related to tissue perfusion and random molecular diffusion of water, respectively, and A_f is the relative contribution of ADC_{fast} which is related to the relative vascular volume or the signal fraction of fast moving ADC. ¹H images were reconstructed using the Image Browser software. The kinetics of contrast agent uptake were estimated by measuring the area under the curve (AUC) over the first 60 s after the contrast agent arrival, as well as by fitting the DCE ¹H MRI signal intensity versus time data to a triexponential function [9].

All statistical data are presented as the mean ± standard error of mean (SEM) and represent the range across a cohort of animals. Analysis of the data was performed using Student's t-test. A P value ≤ 0.05 was used to define statistical significance.

Results

CCl₄ intoxication decreased body weight by 5% from 332±5 g (before CCl₄) to 314±5 g (24 h after CCl₄) ($P < 0.0001$). After intoxication a liver color turned from red to mostly yellow with visible dots of the oil accumulation (Fig. 1, A). H&E stained histological sections proved that CCl₄ treatment caused moderate multifocal infiltration of fat in hepatocytes, as well as infiltration of lymphocytes around the portal triads, scattered or moderate hepatocellular degeneration, and mild vascular congestion (Fig. 1, B&C).

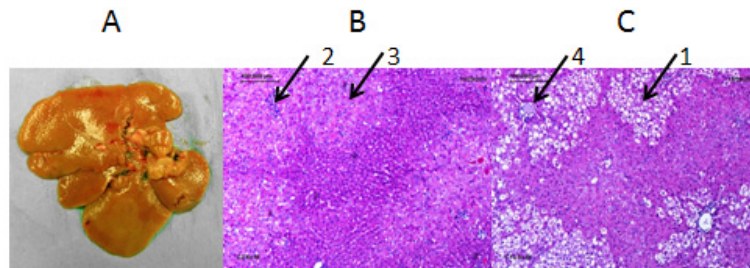


Fig. 1. Macroscopic appearance of the CCl₄ treated rat liver (A) and H&E stained histological sections (B and C) with infiltration of fat in hepatocytes (1), infiltration of lymphocytes around the portal triads (2), scattered or moderate hepatocellular degeneration (3), and mild vascular congestion (4). Original magnification, × 200.

After CCl₄ treatment, the liver ¹H signal intensity with $b = 0$ s/mm² was almost 1.5 times higher compared to untreated liver, suggesting an increase in T_2 relaxation. Plots of DWI signal intensity as a function of b value, before and 24 h after CCl₄ treatment, are shown in Fig. 2. The plots were biexponential in both cases. A_f was not affected by CCl₄: 0.56±0.06 (baseline) and 0.47±0.08 (CCl₄) (Table). However, 24 h after CCl₄ administration ADC_{fast} was drastically decreased by 71%, from 27.3 to 8.1 × 10⁻³ mm²/s ($P < 0.05$). Furthermore, ADC_{slow} was also significantly decreased 24 h post CCl₄ treatment, from 1.2 ± 0.2 × 10⁻³ mm²/s to 0.4 ± 0.2 × 10⁻³ mm²/s, $P < 0.05$ (Table).

Fast and slow components of the water apparent diffusion coefficient (ADC) in the rat liver before and after CCl₄ treatment

Parameter	Baseline	CCl ₄
A_0	98.3±1.6	99.6±0.6
A_f	0.56±0.06	0.47±0.08
ADC_{fast}	27.3±7.3	8.1±1.2
ADC_{slow}	1.2±0.2	0.4±0.2

Note. A_0 is signal intensity for $b=0$ s/mm², A_f is the relative contribution of ADC_{fast} . ADC values are in 10⁻³ mm²/s. Mean ± SEM, n=7. * - $P \leq 0.05$ (vs. Baseline).

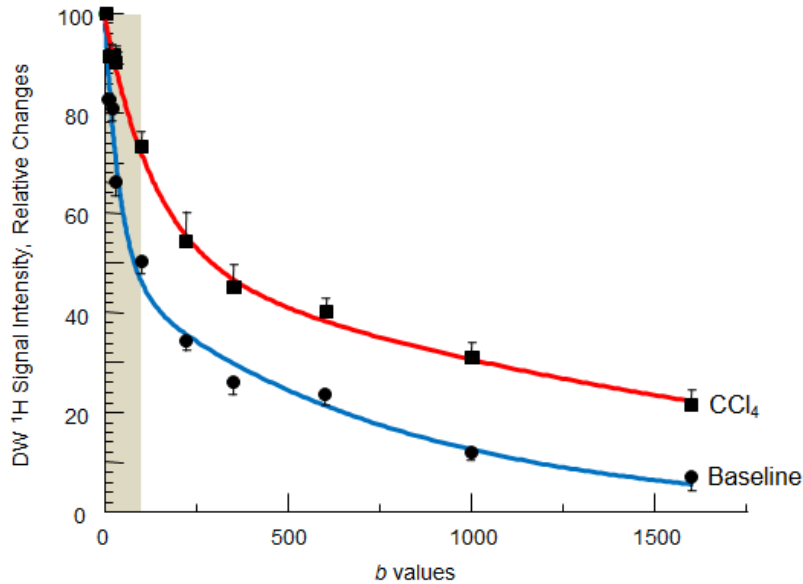


Fig. 2. Effect of CCl_4 on the diffusion-weighted imaging ^1H MRI signal intensity vs. b value plot. Shading indicates the perfusion component area. $M \pm \text{SEM}$, $n = 7$.

Fig. 3 shows the representative tracks accumulation of gadolinium by liver and by subcutaneous muscle. The fit of DCE ^1H MRI liver signal intensity versus time data had the triexponential shape that contains inflow (first 60–70 s), fast outflow (~ 70 –200 s), and slow outflow (~ 200 –800 s) parts. At the same time muscle had the biexponential shape that contains inflow (first 100–110 s) and outflow (~ 110 –800 s) parts. The gadolinium inflow represents mostly a development of perfusion system in liver whereas slow outflow most likely reflects a steady-state of inflow wash-out of the contrast agent. Both inflow and wash-out was significantly faster in liver compared to subcutaneous muscle.

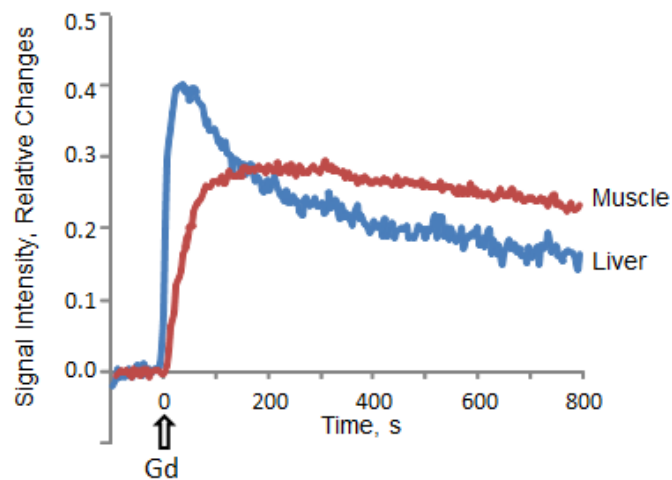


Fig. 3. The representative dynamic contrast enhanced ^1H MRI signal intensity vs. time curves in the rat normal liver and subcutaneous muscle.

Unlike ADC_{fast} (measured from DWI), AUC (measured from DCE 1H MRI) did not change after CCl_4 treatment. In addition, there was no correlation ($R^2 = 0.55$) between ADC_{fast} and AUC values. Only the contrast agent inflow kinetics showed a decrease from $11 \pm 3 \text{ s}^{-1}$ (baseline) to $5 \pm 1 \text{ s}^{-1}$ (CCl_4 , $P < 0.05$) while both fast and slow outflow components did not show any significant difference (Fig. 4).

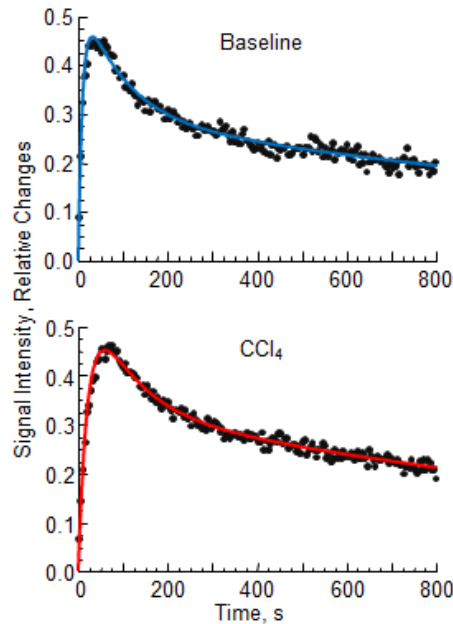


Fig. 4. Corresponding dynamic contrast enhanced 1H MRI signal intensity vs. time curves in the rat liver before (baseline) and 24 h after CCl_4 treatment. Average of 7 experiments is presented.

Discussion

A noninvasive detecting and monitoring of the liver disease development and treatment efficacy are very important in hepatopathology. Traditional laboratory tests, such as measurements of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase ratio, aspartate aminotransferase to platelet ratio index, or FibroTest, a composite of five serum biochemical markers, are closely related to hepatocellular function [10]. However, all of the serum based tests have their limitations in specificity and sensitivity. Commonly used for liver studies imaging methods such as computerized tomography and DCE 1H MRI traditionally require infusion of the contrast agents and do not properly differentiate the perfusion and diffusion processes in liver [10]. Thus, their specialties are more related to the gross morphologic or physical features of liver, like stiffness, shape or anatomic relationship to neighboring organs and are more targeted on assessment of well-developed liver fibrosis and have limited diagnostic utility in monitoring the whole progression of diffuse liver disease, especially in detection of liver disease at its early stage [10, 15].

In this work, the use of DWI and DCE 1H MRI for the assessment of hepatic perfusion and diffusion parameters was evaluated in an acute CCl_4 -induced rat liver injury model. The data presented here show that 24 h after CCl_4 treatment significantly increased the liver 1H signal compared to untreated liver, suggesting an increase in T_2 . Usually T_2 relaxation reflects the loss of phase coherence in the transverse plane and is associated with entropy of the spin system [2]. ADC_{fast} in the liver, which represents mostly perfusion [13], was significantly decreased 24 h after

CCl₄ treatment, while the relative contribution of ADC_{fast} (associated with the relative vascular volume) does not change. This decrease may be because of restricted perfusion in congested microvessels as was shown by histology (Fig. 1). **A slight decrease in inflow slope detected using DCE ¹H MRI partly supports DWI and histology data.** However, unlike ADC_{fast} (measured from DWI), AUC (measured from DCE ¹H MRI) widely used for estimation of perfusion did not change after CCl₄ treatment. Furthermore, a reproducibility and accuracy of non-invasive ADC measurement was higher than invasive DCE ¹H MRI experiments. In addition, more studies of the transition from vessels to the liver representing permeability, and the transition from the liver to vessels representing washout, need to be done.

Unlike DCE ¹H MRI, DWI provides information about water diffusion in liver tissue. CCl₄ significantly decreased a diffusion component of ADC (ADC_{slow}) which can be explained by compartmental changes in liver tissue, such as cellular swelling and hepatocellular degeneration leading to a coagulative type of necrosis. The cellular swelling may also result in a decrease in extracellular space and restriction of water diffusion. In addition, our previous data [4] show that the acute effect of CCl₄ in rat liver is associated with a significant decrease in the ATP/P_i ratio in hepatocytes from 1.24 to 0.94 ($P < 0.01$) and a drastic increase in intracellular Na⁺ from 17 to 49 mM ($P < 0.0005$). A decrease in bioenergetic status after CCl₄ treatment may lead to a decrease in intracellular water diffusion that plays an important role in total tissue ADC as well [1].

Thus, a biexponential model for analysis of non-invasive DWI provides important information about toxic transformation in the capillary liver tissue perfusion and water molecular diffusion. Recognition of both perfusion and diffusion components of water ADC may be important for monitoring response to therapy of liver disease, such as steatosis, fibrosis, hepatitis, and cirrhosis.

Conclusion

CCl₄ treatment caused decreases in both fast and slow apparent diffusion coefficient of water in rat liver measured by DWI, as well as a decrease in contrast agent uptake measured by DCE ¹H MRI. DWI should prove useful in assessment of liver damage in diffuse liver diseases without the need for a contrast agent.

Acknowledgment

The authors thank Mr. Yong Gao for the valuable technical assistance.

REFERENCES

1. *Babsky A. M., Topper S., Zhang H.* et al. Evaluation of extra- and intracellular apparent diffusion coefficient of sodium in rat skeletal muscle: effects of prolonged ischemia // *Magn. Reson. Med.* 2008. Vol. 59. P. 485–491.
2. *Cieszanowski A., Anysz-Grodzicka A., Szeszkowski W.* et al. Characterization of focal liver lesions using quantitative techniques: comparison of apparent diffusion coefficient values and T2 relaxation times // *Eur. Radiol.* 2012 Nov;22(11):2514-24. doi: 10.1007/s00330-012-2519-x. Epub 2012 Jun 15.
3. *Ebaid H., Bashandy S. A., Alhazza I. M.* et al. Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2013. Feb 3;10(1):20. [Epub ahead of print]
4. *Gao Y., James J., Bansal N.* Noninvasive monitoring of CCl₄ induced acute and chronic liver damage in rat by sodium MRI // *Intern. Soc. Magn. Reson. Med.: 17th Sci. Meet. & Exhib.* Honolulu, USA, 2009.
5. *Gu X., Manautou J. E.* Molecular mechanisms underlying chemical liver injury // *Expert. Rev. Mol. Med.* 2012 Feb 3;14:e4. doi: 10.1017/S1462399411002110.

6. *Hernandez-Munoz R., Diaz-Munoz M., Lopez V.* et al. Balance between oxidative damage and proliferative potential in an experimental rat model of CCl₄-induced cirrhosis: protective role of adenosine administration // *Hepatology*. 1997. Vol. 26. P. 1100–1110.
7. *Kanematsu M., Goshima S., Watanabe H.* et al. Diffusion/perfusion MR imaging of the liver: practice, challenges, and future // *Magn. Reson. Med. Sci.* 2012. Vol. 11. P. 151–161.
8. *Materne R., Smith A. M., Peeters F.* et al. Assessment of hepatic perfusion parameters with dynamic MRI // *Magn. Reson. Med.* 2002. Vol. 47. P. 135–142.
9. *Poptani H., Bansal N., Graham R. A.* et al. Detecting early response to cyclophosphamide treatment of RIF-1 tumors using selective multiple quantum spectroscopy (SelMQC) and dynamic contrast enhanced imaging // *NMR Biomed.* 2003. Vol. 16. P. 102–111.
10. *Rockey D. C., Bissell D. M.* Noninvasive measures of liver fibrosis // *Hepatology*. 2006. Vol. 43(2 Suppl 1). P. S113–1120.
11. *Sun X., Wang H., Chen F.* et al. Diffusion-weighted MRI of hepatic tumor in rats: Comparison between in vivo and postmortem imaging acquisitions // *J. Magn. Reson. Imaging*. 2009. Vol. 29. P. 621–628.
12. *Taouli B., Koh D.-M.* Diffusion-weighted MRI of the liver // *Extra-Cranial Applications of Diffusion-Weighted MRI* (ed. B. Taouli). Cambridge (U.K.): University Press, 2011. P. 18–31.
13. *Thoeny H. C., De Keyzer F., Chen F.* et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging allows noninvasive in vivo monitoring of the effects of combretastatin a-4 phosphate after repeated administration // *Neoplasia*. 2005. Vol. 7. P. 779–787.
14. *Weber L. W., Boll M., Stampfl A.* Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model // *Crit. Rev. Toxicol.* 2003. Vol. 33. P. 105–136.
15. *Zuo C. S., Seoane P. R., Thomsen M.* et al. EVP-ABD-enhanced MRI to evaluate diffuse liver disease in a rat model // *J. Magn. Reson. Imaging*. 2008. Vol. 27. P. 1317–1321.

Стаття: надійшла до редакції 25.12.12

доопрацьована 11.02.13

прийнята до друку 20.02.13

ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕРФУЗІЙНИХ ТА ДИФУЗІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ЯМР У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ІНТОКСИКОВАНИХ КАРБОНТЕТРАХЛОРИДОМ

А. Бабський^{1,2}, Б. Джордж¹, Н. Банзал¹

¹Індіанський університет
Індіанapolis, IN, 46202, США

²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: andriy10@yahoo.com

Для дослідження перфузійних процесів у печінці щурів, інтоксикованих карбонтетрахлоридом (CCl₄), використані дифузійно-градієнтний і динамічно-контрастний методи ядерного магнітного резонансу (ЯМР). Пошкодження печінки викликали одноразовим внутрішньошлунковим введенням суміші CCl₄ і кукурудзяної олії. CCl₄ викликав зменшення швидкого (перфузійного) та повільного (дифузійного)

компонентів коефіцієнта дифузії води, який вимірювали дифузійно-градієнтним ЯМР. Одержані дані були частково підтвержені динамічно-контрастним ЯМР, що зафіксував зменшення швидкості нагромадження контрастної речовини гадолінію в інтоксикованій печінці. Отже, метод дифузійно-градієнтного ЯМР дає змогу неінвазивно досліджувати пошкодження печінки без використання контрастних препаратів.

Ключові слова: печінка, CCl_4 , ЯМР, перфузія, дифузія води.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРФУЗИОННЫХ И ДИФФУЗИОННЫХ ПРОЦЕССОВ С ПОМОЩЬЮ ЯМР В ПЕЧЕНИ КРЫС, ИНТОКСИЦИРОВАННЫХ КАРБОНТЕТРАХЛОРИДОМ

А. Бабский^{1,2}, Б.Джордж¹, Н.Банзал¹

¹Индианский университет
Индианаполис, IN, 46202, США

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: andriy10@yahoo.com

Для исследования перфузионных процессов в печени крыс, интоксированной карбонтетрахлоридом (CCl_4), использованы диффузионно-градиентный и динамически-контрастный методы ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Повреждение печени вызывали внутрижелудочным однократным введением смеси CCl_4 и кукурузного масла. CCl_4 вызывал уменьшение быстрой (перфузионной) и медленной (диффузионной) составляющей коэффициента диффузии воды, который измеряли с помощью диффузионно-градиентного ЯМР. Полученные данные были частично подтверждены методом динамично-контрастного ЯМР, который зафиксировал уменьшение скорости накопления контрастного вещества гадолиния в интоксированной печени. Таким образом, метод диффузионно-градиентного ЯМР позволяет неинвазивно исследовать повреждения печени без применения контрастных веществ.

Ключевые слова: печень, CCl_4 , ЯМР, перфузия, диффузия воды.

УДК 597.551.2:591.32:577.352.4:546.33'131.1

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. УПРОДОВЖ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

А. Зинь, Н. Головчак, Д. Санагурський

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: avolina@yandex.ru*

У статті наведені дані щодо впливу гіпохлориту натрію (ГХН) на ступінь окисної модифікації білків (ОМБ). Встановлено, що розчин ГХН призводить до зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків упродовж досліджуваних етапів раннього ембріогенезу. Посилення ступеня окиснювальної деструкції білкових молекул у зародках в'юна свідчить про вихід з-під контролю захисно-приспосувальних реакцій ембріональних клітин, порушення механізмів регуляції ферментних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що за умов окисдативного стресу активні форми кисню (АФК) впливають, передусім, на білки плазматичних мембран і зумовлюють сильну гістодеструкцію.

Ключові слова: окисна модифікація білків, гіпохлорит натрію, антиоксидантна система захисту, зародки в'юна.

Актуальним завданням сьогодення є дослідження впливу широковживаних хімічних сполук на функціональні параметри живих організмів. На сьогоднішній день у медицині застосовують розчин ГХН як протимікробний, дезінтоксикаційний, антисептичний і дезінфекційний препарат. Його отримують електрохімічним методом із водних розчинів хлористого натрію [3, 13, 34]. ГХН є природною сполукою, яка постійно присутня в організмі, оскільки є продуктом активних фагоцитів. Він нетоксичний, легко віддає активний кисень, виводиться з організму, має невелику молекулярну масу і малі розміри, завдяки чому без перешкод проходить через клітинні мембрани та може окиснювати токсини, які містяться не лише у крові, але і в тканинах, модулюючи роботу цитохрому р-450, який локалізований у мембранах ендоплазматичної сітки печінки, нирок та інших органів [6, 23]. Розчин ГХН усе частіше починають застосовувати для профілактики інтоксикацій організму [1, 2, 12, 15, 16]. ГХН є донором активного кисню і стимулює в організмі процес окиснення екзо- й ендогенних токсичних речовин, таких як: продукти розпаду тканин, токсини мікроорганізмів, лікарські препарати, середні молекули, продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [6, 11, 29].

Відомо, що процеси пероксидного окиснення, які потрібні для нормального функціонування біологічних систем, безперервно тривають у всіх клітинах. За участю вільних радикалів відбувається детоксикація чужорідних сполук, що надходять в організм. У процесі окиснення складні органічні сполуки піддаються деструкції, деполімеризації та деградації. Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФК призводить до посилення процесів ПОЛ та ОМБ, деструкції нуклеїнових кислот і вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах [4, 6, 11, 14, 21, 22].

Відомо, що модифікація білкових молекул за дії АФК призводить до утворення додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот [19, 26, 28]. У літературі є

дані про те, що продукти ОМБ стабільніші, порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізують під дією пероксидаз і низькомолекулярних антиоксидантів. Вважають, що відновлення окиснених білків практично не відбувається, а вони стають об'єктом для дії специфічних нейтральних і лужних протеаз [8, 19]. Кисневозалежне окиснення білків є раннім індикатором пошкодження органів і тканин, тому процеси ОМБ у разі всіх патологічних станів мають перебувати під безперервним лабораторним контролем [9].

Є багато досліджень, які стосуються морфофункціональної оцінки органів та систем органів за впливу розчинів ГХН [6, 15, 16], проте недостатньо висвітленими залишаються питання участі процесів пероксидного окиснення білків у регуляції нормального метаболічного стану зародкових клітин за дії ГХН, а також його застосування в терапії з метою профілактики інтоксикації організму, що матиме вагоме значення для медицини і токсикології.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були зародки прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. В'юн широко використовується під час вивчення низки проблем сучасної біології розвитку, в тому числі в ембріологічних, біохімічних, біофізичних, цитологічних та інших дослідженнях [5, 25, 27]. Відомо, що зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L. в період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різноманітних фармакологічних і хімічних чинників на живі організми. Відносно коротка тривалість періоду ембріогенезу, легкість отримання статевих продуктів і відсутність труднощів в утриманні цих риб у лабораторних умовах пояснюють його популярність [5, 25, 27].

Для експерименту використовували яйцеклітини і зародки в'юна *Misgurnus fossilis* L., які отримували і запліднювали за методом Нейфаха [20]. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали й інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета (t=20–22°C), який містив розчин ГХН різних концентрацій, а саме 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 і 12,5 мг/л. Зразки відбирали на етапах розвитку зародка через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин, які відповідають першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому (1024 бластомери) дробленню зиготи. Зародки в'юна на різних стадіях розвитку гомогенізували за допомогою гомогенізатора Поттера-Ельвенгейма у розчині Гольфрета. По 1 мл гомогенату кожної проби заморожували у морозильній камері за температури –20°C, які в подальшому використовували для дослідження [5]. Кількість білка у кожному зразку визначали за методом О. Н. Lowry et al. [30].

Ступінь ОМБ визначали за кількістю утворених додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначали в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ) [35]. Використовуючи молярний коефіцієнт екстинкції ($2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), знаходили вміст фенілгідразонів [7].

У центрифужні пробірки вносили 0,8 мл 0,85% розчину NaCl, 0,2 мл гомогенату, 1 мл 0,1 М ДНФГ, розчиненого в 2М HCl, і 1 мл 10% ТХО. Контрольна проба містила замість ДНФГ 1 мл 2 М HCl. Проби інкубували 1 год за 37°C, після чого центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Одержаний осад промивали тричі 5% ТХО по 5 мл, кожен раз старанно ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додавали 5 мл 8М розчину сечовини, інкубували 5 хв у киплячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували при 370 нм проти контролю.

Вміст карбонільних груп обчислювали за формулою:

$$[\text{КБ}] = \frac{D \cdot V_{np} \cdot P \cdot 1000}{E \cdot n}, \text{ мкмоль/мг білка,}$$

де [КБ] – вміст карбонільних груп; D – екстинкція проби; V_{np} – об'єм сечовини; E – коефіцієнт молярного поглинання динітрофенілгідразонів ($22\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$); n – об'єм гомогенату; P – розведення гомогенату.

Результати досліджень обробляли статистично з обчисленням середніх арифметичних величин (M), стандартної похибки (m). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували 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.

Статистичну обробку та дисперсійний аналіз результатів досліджень проводили з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів «*Microsoft Excel -2007*» для Windows.

Результати і їхнє обговорення

Загальновідомо, що метаболічні процеси, які здійснюються від моменту запліднення яйцеклітин, впливають на розвиток зародків та личинок, і будь-яка зміна цих процесів може призвести до їхньої загибелі. До найважливіших регуляторних систем клітини, які беруть участь у адаптаційних процесах і регуляції метаболічних шляхів, належить прооксидантно-антиоксидантна система, яка підтримує нормальне функціонування клітини [18]. Відомо, що в умовах окисного стресу й неконтрольованої реакції АФК переважають процеси нерегульованої модифікації білків, що, в кінцевому підсумку, призводить до втрати їхньої біологічної активності. У зв'язку із цим становить інтерес вивчення ОМБ у зародків в'юна та впливу на ці показники розчину ГХН.

Під час дослідження інтенсивності процесу ОМБ зародків в'юна у контрольній групі відмічено коливання значень даного показника впродовж ембріогенезу. Так, на стадії розвитку зародків 2 бластомерів вміст карбонільних груп становить $42,1 \pm 5,9$ мкмоль/мг білка (рис. 1, а). Наступний досліджуваний етап розвитку зародків в'юна – 16 бластомерів – є початком стадії морули [33]. На даному етапі розвитку зареєстровано максимальний вміст карбонільних груп білків, де інтенсивність процесів ОМБ зростає до позначки $108,9 \pm 4,3$ мкмоль/мг білка (рис. 1, б). Із даних літератури відомо, що саме через 2 години починається інтенсивний поділ бластомерів зародків, тому значне зростання процесів вільнорадикального окиснення може бути пов'язане з ефективним мембраногенезом. Це свідчить про підвищення функціональної активності клітин зародка з кожним наступним етапом розвитку [27, 31, 32].

У подальшому розвитку зародкових об'єктів настає стадія бластули (64 бластомери, де бластомери вже розміщуються у два шари), яка характеризується незначним зниженням показника ОМБ порівняно зі стадією морули (рис. 1, в).

Стадія розвитку зародків 256 бластомерів – це початок стадії гастрული, де бластомери розміщуються більшою кількістю рядів, що є підготовкою до завершального етапу синхронних поділів [27, 31–33]. Ступінь окиснювальної деструкції білків спав до рівня карбонільних груп першої стадії дроблення зиготи і становить $48,4 \pm 2,9$ мкмоль/мг білка (рис. 1, г). Значне зменшення розміру бластомерів, їх перерозташування, ймовірно, зумовлюють різку зміну білок-ліпідного складу мембран ембріонів, що, у свою чергу, веде до зниження показника ОМБ.

До шести годин розвитку (10-й поділ, 1024 бластомери) повністю формується гастрולה [27, 31–33], і в бластодермі настає юнний гомеостаз, близький до гомеостазу

диференційованих клітин, про що може свідчити про підвищення вмісту карбонільних груп до $60,4 \pm 3,7$ мкмоль/мг білка порівняно з попереднім етапом розвитку (рис. 1, д).

Під час розвитку зародків у середовищі, де містився ГХН, загалом спостерігали пригнічення їхньої життєдіяльності, проте не відбувалося 100%-ної загибелі. Відмічено значне відставання у розвитку зародків від моменту запліднення, порівняно з контролем. Так, поділ на бластомери відбувався із невеликим запізненням – на 35–45 хв.

За розвитку зародків, де в інкубаційному середовищі містився ГХН (у всіх досліджуваних концентраціях), зареєстровано статистично достовірне зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків упродовж досліджуваних етапів ембріогенезу (рис. 1, а–д).

На стадії розвитку зародків 2 бластомери, при інкубуванні їх у розчині ГХН, відбулося достовірне підвищення досліджуваного показника ОМБ. Максимальне зростання інтенсивності процесу ОМБ відзначено за дії ГХН у найменшій концентрації (на $251,1 \pm 37,4\%$; $p \geq 0,999$) (рис. 1, а).

На стадії розвитку 16 бластомерів ГХН у вказаному діапазоні концентрацій спричиняє зростання інтенсивності процесів ОМБ. Досліджуваний показник ОМБ досяг найвищого рівня за дії ГХН у концентраціях 2,5 та 10,0 мг/л, де вміст карбонільних груп окисно-модифікованих білків зріс на $149,4 \pm 0,7$ та $155,7 \pm 2,6\%$ ($p \geq 0,999$) відповідно (рис. 1, б). Цей етап характеризувався ущільненням контакту між бластомерами, а також різким зменшенням їхнього розміру в наступні поділи, що може бути причиною зростання інтенсивності процесу пероксидного окиснення білків за умов дії чинника [27, 31–33].

Аналіз динаміки показників ОМБ на стадії розвитку 64 бластомерів за дії розчину ГХН показав зростання показника даного процесу. Відзначено, що за дії ГХН у концентрації 0,5 мг/л вміст карбонільних груп білків перебуває в межах контролю. При впливі ГХН у концентраціях 10,0 та 12,5 мг/л під час розвитку зародків в'юна зафіксовано максимальне зростання показників ступеня окиснювальної деструкції білків на $316,5 \pm 15,9$ та $309,7 \pm 1,6\%$ відповідно (рис. 1, в).

Тенденція до зростання інтенсивності процесів ОМБ за дії ГХН характерна і для зародків на стадії гастрুলи. На цій стадії розвитку зародків найбільше зростання інтенсивності даного процесу відбувається за дії ГХН у концентраціях 1,0 та 5,0 мг/л на $253,6 \pm 10,9$ та $287 \pm 2,4\%$, відповідно ($p \geq 0,999$) (рис. 1, з).

Завершальна стадія синхронного дроблення зиготи характеризується незначною інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення білків. Слід відзначити, що за дії ГХН у концентрації 5,0 та 12,5 мг/л показник ОМБ наближається до контрольних значень і становить $56,6 \pm 2,4$ та $66,5 \pm 4,4$ мкмоль/мг білка. Максимальне підвищення вмісту карбонільних груп білків на цьому етапі розвитку відбувається за дії ГХН у концентрації 2,5 мг/л (рис. 1, д).

На рис. 1 нами зафіксоване стрибкоподібне підвищення вмісту карбонільних груп у окисно-модифікованих білків залежно від зміни концентрації ГХН. Наприклад, на стадії 2 бластомерів ГХН у концентраціях 0,5; 2,5; 7,5 та 12,5 мг/л призводить до значного підвищення показника ОМБ, тоді як за дії NaClO у концентраціях 1,0; 5,0 та 10,0 мг/л спостерігали менш інтенсивне підвищення даного показника. Відомо, що хімічні сполуки, залежно від концентрації, можуть проявляти або терапевтичну, або пошкоджувальну дію. Ймовірно, незначне підвищення концентрації ГХН зумовлює різноступеневе порушення прооксидантно-антиоксидантних процесів у клітині, в результаті чого і відбувається нерівномірне зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків на досліджуваних етапах зародкових клітин.

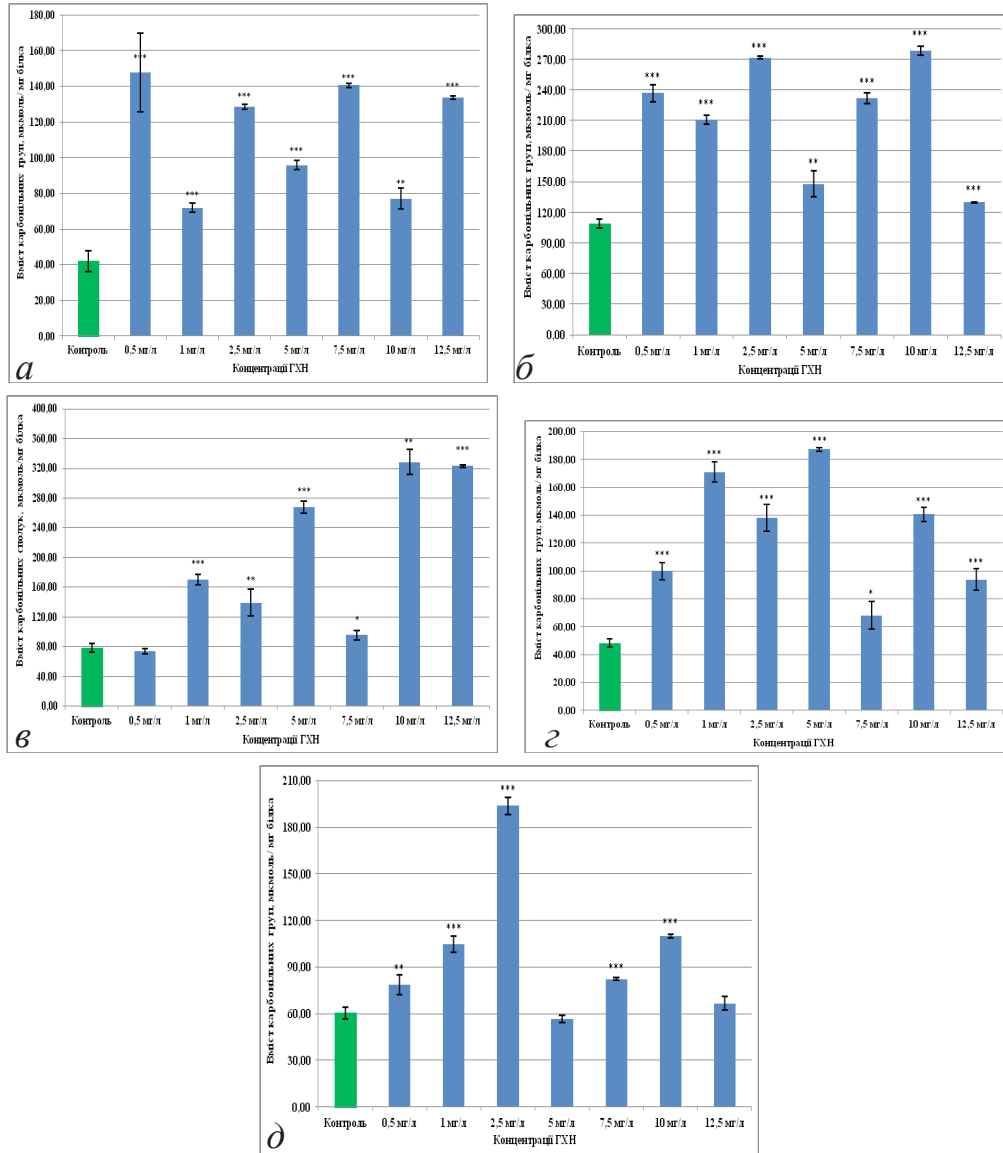


Рис. 1. Вплив гіпохлориту натрію на вміст карбонільних груп зародків в'юна на стадіях 2 (а), 16 (б), 64 (в), 256 (з) і 1024 (д) бластомери (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$).

Для встановлення механізму дії детоксиканта на вільнорадикальні процеси нами був проведений дисперсійний аналіз впливу факторів часу розвитку та концентрації ГХН на мінливість процесу ОМБ, а саме на зміну вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих білків. Слід відзначити, що вплив факторів часу та концентрації коливається впродовж раннього ембріогенезу в межах 30,6–54,1% та 27,6–62,1% відповідно.

Переважаюча частка впливу фактора часу припадає на розвиток зародка за дії ГХН у концентрації 7,5 мг/л, тоді як за дії ГХН у концентрації 2,5 мг/л домінує частка впливу фактора концентрації ГХН. На невраховані фактори припадає найменша частка впливу при

вивченні мінливості процесу окисної модифікації протягом ембріогенезу зародків в'юна за дії ГХН у всіх досліджуваних концентраціях (рис. 2).

Згідно з двофакторним дисперсійним аналізом, наявність ГХН в інкубаційному середовищі справляє значний вплив на зміну показників ОМБ.

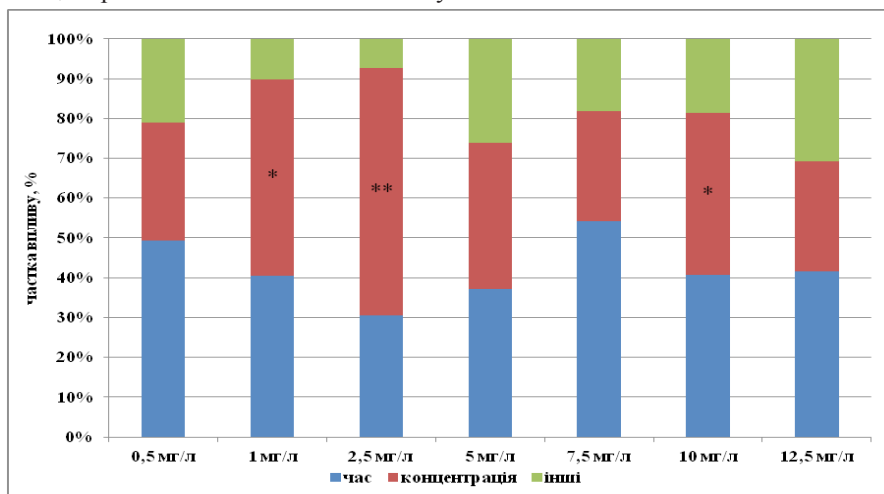


Рис. 2. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу факторів часу та концентрації гіпохлориту натрію на вміст карбонільних груп упродовж ембріогенезу в'юна (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$).

Виявлене посилення ступеня окиснювальної деструкції білкових молекул вказує на вихід з-під контролю захисно-приспосувальних реакцій клітини та свідчить про порушення механізмів регуляції ферментних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що за умов окислятивного стресу АФК впливають передусім на білки плазматичних мембран і призводять до сильної гістодеструкції [24]. Це, у свою чергу, веде до порушення та відставання у розвитку зародків в'юна.

З літератури відомо, що атака білків АФК призводить до утворення первинних амінокислотних радикалів, які вступають у вторинні взаємодії зі сусідніми амінокислотними залишками, що в цілому створює досить складну картину ушкоджувальної дії АФК на білкові макромолекули [19]. Модифікація амінокислотних залишків у білках (тобто модифікація на рівні первинної структури) призводить до таких глибоких змін білкової структури: а) агрегації і фрагментації білків, підданих дії АФК; б) різкого підвищення чутливості білків до протеолітичної деградації; в) ушкодження ліпідного матриксу біомембран за рахунок утворення пероксидних молекулярних продуктів поліненасичених ацилів; г) порушення біофізичних властивостей мембранних білків, що призводить до глибоких змін ферментативних та іон-транспортних властивостей мембран; д) утворення пероксид-ліпід-модифікованих білків як наслідок прямої взаємодії залишків лізину з продуктами ПОЛ [10, 17]. Таким чином, різні спирти, альдегіди, гідрокарбони, будучи продуктами ПОЛ, можуть викликати порушення синтезу білків, зміни мембранної проникності. Як вище згадувалось, у стані окисного стресу за рахунок АФК атаці піддаються в першу чергу не ліпіди, а білки плазматичних мембран, що призводить до їхньої деполімеризації та лізису клітин [10, 17].

Отже, інкубування зародків в'юна у середовищі, що містить розчин ГХН, суттєво пригнічує їхню життєздатність. **Розчин ГХН призводить до інтенсифікації вільнорадикальних реакцій**, про що свідчить зростання вмісту карбонільних груп окисно-модифікованих

білків упродовж ембріогенезу. Це може зумовити порушення структури та функціонування ферментних систем, що забезпечують клітинний гомеостаз.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бояринов Г. А., Векслер Н. Ю. Свойства и сферы применения натрия гипохлорита // Эфферентная терапия. 1997. Т. 3. № 2. С. 5–14.
2. Величенко А. Б., Лукьяненко Т. В., Плаксиенко И. Л. и др. Химический состав и стабильность растворов гипохлорита натрия медицинского назначения // Вопросы химии и хим. технологии. 2006. № 6. С. 156–160.
3. Величенко О. Б., Гиренко Д. В., Лукьяненко Т. В. и др. Растворы гипохлорита натрия для медицины и ветеринарии // Вопросы химии и хим. технологии. 2006. № 6. С. 160–164.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. обр. журн. 2000. № 12. С. 13–19.
5. Гойда Е. А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
6. 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. 2011. Т. 18. № 2. С. 146–152.
7. Дубинина Е. Е., Морозова М. Г., Леонова Н. В. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) // Вопросы медицинской химии. 2000. Т. 46. № 4. С. 398–409.
8. Дубинина О. Ю. Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків // Мед. хімія. 2001. Т. 3. № 2. С. 5–12.
9. Дубинина Е. Е., Пустыгина А. В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // Укр. біохім. журн. 2008. Т. 80. № 6. С. 5–18.
10. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Мед. пресса, 2006. 400 с.
11. Зинь А. Р., Головчак Н. П., Тарновська А. В. та ін. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу // Біологічні студії. 2012. Т. 6. № 1. С. 67–76.
12. Кабан А. П., Ганюшкина И. Г. Перспективы применения натрия гипохлорита для профилактики и лечения токсикоза, гнойно-воспалительных осложнений и заболеваний // Клинич. хирургия. 1997. № 5–6. С. 76–79.
13. Кирюткин Г. В., Горлов И. Ф. Гипохлориты: Дезинфицирующие свойства, механизм действия, контроль качества, способы получения // Труды ВНИИ контроля, стандартизации и сертификации. Волгоград, 2002. 484 с.
14. Кличханов Н. К., Исмаилова Ж. Г., Эмирбеков Э. З. Интенсивность окислительной модификации белков плазмы крови при гипотермии и на фоне введения даларгина // Бюлл. экспер. биологии и медицины. 2001. № 31 (3). С. 281–283.
15. Коцюмбас І. Я. Т-2 токсикоз птиці: Метод. рекомендації. К.: Тріада плюс, 2004. 13 с.
16. Коцюмбас І. Я., Величенко О. Б., Коцюмбас Г. І. та ін. Перспективи застосування гіпохлоритів у ветеринарній медицині. Львів: Афіша, 2009. 312 с.
17. Луццак В. И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // Биохимия. 2007. Т. 72. № 8. С. 995–1017.
18. Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 2006. 556 с.

19. Мецишен І. Ф., Польовий В. П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісн. 1999. Т. 3. № 1. С. 196–205.
20. Нейфах А. А. Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 311 с.
21. Рябов Г. Я., Азизов Ю. М., Дорохов С. И. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях // Анестезиология и реаниматология. 2000. № 2. С. 72–75.
22. Тарновська А., Смалюх Г., Санагурський Д. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) під впливом катіонів кальцію, магнію та антибіотиків класу фторхінолонів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 19–25.
23. Aubut V. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite // OOOOE. 2010. 109 (2). P. 120–125.
24. Bhattacharyya J., Chowdhury T. D., Datta A. G. Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes // J. Physiol. Pharmacol. 1999. Vol. 50. P. 321–326.
25. De Laet S. W., Buwalda R. J., Habets A. M. Intracellular ionic distribution, cell membrane permeability and membrane potential of the *Xenopus* egg during first cleavage // Exp. Cell Res. 1974. Vol. 89. P. 1–14.
26. Davies K. J. A., Delsignore M. E., Lin S. W. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids // J. Biol. Chem. 1987. Vol. 262. N 20. P. 9902–9907.
27. Fujimoto T., Kataoka T., Sakao S. et al. Developmental stages and germ cell lineage of the Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) // Zoological Sci. 2006. Vol. 23. P. 977–989.
28. Halliwell B., Packer Eds. L., Philipko L. et al. Free Radical in the brain. Aging, neurological and mental disorders // Springer-Verlag, Berlin, N.Y., London. 1992. P. 21–40.
29. Hidalgo E., Bartolome R., Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness // Chemico-Biological Interactions. 2002. Vol. 139. P. 265–282.
30. Lowry O. H., Rosenbrough N. G., Farr A. L., Randall R. C. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
31. Mollah M. F. A., Taslima K., Rashid H. et al. Embryonic and larval development of critically endangered riverine catfish *Rita rita* // EurAsian. J. Biosci. 2011. Vol. 5. P. 110–118.
32. Puvanewari S., Marimuthu K., Karuppasamy R., Haniffa M. A. Early embryonic and larval development of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* // EurAsian J. Biosci. 2009. Vol. 3. P. 84–96.
33. Shirazi A., Borjian S., Nasari H. et al. Effects of timing on cell biopsy from pre-compacted morula staged bovine embryos on subsequent embryonic development // J. Reprod. Infertil. 2010. Vol. 11. N 1. P. 25–32.
34. Watters J. K., Downing M., Case P. et al. AIDS prevention for intravenous drug users in the community: street-based education and risk behavior // Am. J. Community Psychol. 1990. Vol. 18. N 4. P. 587–596.
35. Winterbourn C. C., Buss I. H., Chan T. P. et al. Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients // Crit. Care. Med. 2000. Vol. 28. N 1. P. 275–279.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 11.01.13

прийнята до друку 29.01.13

PROTEINS OXIDATIVE MODIFICATION IN LOACH EMBRYOS *MISGURNUS FOSSILIS* L. DURING EMBRYOGENESIS FOR ACTION SODIUM HYPOCHLORITE

A. Zyn, N. Holovchak, D. Sanagursky

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: avolina@yandex.ru*

The article contains data about the sodium hypochlorite influence on the degree of proteins oxidative modification. It was showed that sodium hypochlorite solution leads to increasing content of carbonyl groups of redox-modified proteins during early stages of embryogenesis. High degree of protein molecules oxidative degradation in loach embryos shows out of control protective and adaptive reactions embryonic cells, violation of regulatory mechanisms of enzyme systems that provide cellular homeostasis since it is known that under conditions of oxidative stress reactive oxygen species impact primarily on plasma membrane proteins and cause severe tissue distruction.

Keywords: proteins oxidative modification, sodium hypochlorite, antioxidant defense system, loach embryos.

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. НА ПРОТЯЖЕНИИ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

А. Зынь, Н. Головчак, Д. Санагурский

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: avolina@yandex.ru*

В статье приведены данные о влиянии гипохлорита натрия (ГХН) на степень окислительной модификации белков (ОМБ). Установлено, что раствор ГХН приводит к росту содержания карбонильных групп окислительно-модифицированных белков на протяжении исследуемых этапов раннего эмбриогенеза. Усиление степени окислительной деструкции белковых молекул в зародышах вьюна свидетельствует о выходе из-под контроля защитно-приспособительных реакций клеток, нарушение механизмов регуляции ферментных систем, обеспечивающих клеточный гомеостаз, поскольку известно, что в условиях оксидативного стресса активные формы кислорода (АФК) влияют прежде всего на белки плазматических мембран и вызывают сильную гистодеструкцию.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, гипохлорит натрия, антиоксидантная система, зародыши вьюна.

БІОХІМІЯ

УДК 577.391:576.367:616

**КОМЕТ-АНАЛІЗ СТУПЕНЯ УШКОДЖЕННЯ ДНК ЛІМФОЦИТІВ
КРОВІ *CYPRINUS CARPIO* L. ЗА ДІЇ ЙОНІВ СВИНЦЮ**

М. Онисковець

*Львівський національний аграрний університет
вул. Володимира Великого, 1, Дубляни 80381, Україна
e-mail: Onyskovets_M@mail.ru*

Наведено результати досліджень рівня дволанцюгових розривів ДНК у лімфоцитах коропа лускатого за дії 2, 5 та 50 гранично допустимих концентрацій свинцю за допомогою методу ДНК-комет. У разі додавання свинцю в концентрації 0,2 та 0,5 мг/л не відбувалося вірогідних змін у кількості ДНК-комет мононуклеарних лейкоцитів коропа лускатого усіх класів, тоді як 5 мг/л свинцю спричиняло достовірне зростання рівня фрагментованої ДНК, що відображалось у збільшенні кількості комет вищих класів. Таким чином, встановлено дозозалежне зростання рівня розривів ДНК, що проявлялося у збільшенні кількості комет вищих класів у дослідних зразках.

Ключові слова: ДНК-комети, фрагментація ДНК, лімфоцити, короп, свинець.

При вирішенні проблем збереження та відновлення популяцій промислових риб у природному середовищі існування важливе місце належить розробці сучасних методів діагностики стану водних біоресурсів. Актуальність таких досліджень визначається значною мірою зростанням антропогенного впливу на природні водойми, де для риб як кінцевої ланки трофічного ланцюга виникає чимала токсикологічна загроза [3, 10, 11, 18]. З літературних джерел відомо, що найбільшу небезпеку становить забруднення водойм важкими металами, і в першу чергу свинцем, який навіть у порівняно малих кількостях може негативно впливати на організм водяних тварин [1, 5, 6, 9].

У наших попередніх дослідженнях було виявлено, що йони свинцю викликають зниження РНА-індукованої проліферативної активності Т-лімфоцитів у реакції баластної трансформації лімфоцитів, що може бути наслідком імунотоксичної дії свинцю [8]. Таким чином, нами було висунуто припущення про потенційний токсичний вплив йонів свинцю на ДНК найчутливіших до досліджуваного важкого металу клітин – лімфоцитів. Необхідно було з'ясувати, як впливають йони Pb^{2+} на фрагментацію ДНК лімфоцитів. Використані нами концентрації йонів свинцю були обрані відповідно до даних, наведених у літературі, які стосувалися впливу свинцю на організм риб [2, 4, 7]. Як відомо, метод ДНК-комет дає змогу виявляти пошкодження на клітинному рівні, тому знайшов широке застосування для дослідження впливу різних екстремальних чинників зовнішнього середовища на організм тварин [14, 17, 19]. Для перевірки даної гіпотези було проведено дослідження рівня фрагментованої ДНК у лімфоцитах коропа лускатого за дії йонів свинцю за допомогою методу ДНК-комет.

Матеріали та методи

У дослідженнях використовували дворічні особини коропа лускатого (*Cyprinus carpio* L.) середньою масою 300–350 г. Досліди проводили в резервуарах об'ємом 200 л. У кожну експериментальну групу було включено по 7 особин. Досліджували вплив йонів свинцю (Pb^{2+}) у концентрації 0,2; 0,5 і 5 мг/л, що відповідають 2, 5 і 50 гранично допусти-

мих концентраціям (ГДК) на організм риби. Риб витримували в середовищі з додаванням ацетату свинцю впродовж 96 год. Контрольну групу риб витримували 96 год у звичайних умовах, без додавання йонів свинцю. Здійснювали постійну аерацію і підтримували температурний режим води на рівні 18–20°C.

Кров забирали за допомогою пастерівської піпетки зі серця риб. Із крові риб виділяли лімфоцити шляхом центрифугування у градієнті густини фікол-верографін [12].

Дослідження фрагментації ДНК методом ДНК–комет проводили згідно з Collins і співавт. [13]. Суспензію лімфоцитів інкубували в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР – 0,01 М фосфатно-буферний розчин, рН 7,2–7,4), після цього клітини осаджували центрифугуванням при 1500 об/хв протягом 2 хв. Потім клітини ресуспендували в ЗФР до концентрації 3×10^4 клітин/мл. До 0,5 мл суспензії клітин додавали 1,5 мл 1%-ної агарози. Одержану суспензію наносили на охолоджене предметне скельце. На скельця, покриті агарозою зі суспензією лімфоцитів, наносили буфер лізису (30 мМ ЕДТА, 0,5% додецилсульфат натрію, рН 8,0) протягом 4 год при температурі 50°C для того, щоб зруйнувати мембрани клітин. Далі їх промивали ТВЕ–буфером (90 мМ трис, 2 мМ ЕДТА, 90 мМ борна кислота, рН 8,5) протягом 2 год, після цього здійснювали електрофорез у ТВЕ–буфері (25 хв, 0,55 V/cm²). Після електрофорезу зразки фарбували протягом 1 год 2,5 мкг/мл розчином пропідій йодиду. Під час мікроелектрофорезу лізатів клітин фрагментована ядерна ДНК утворює на електрофореграмі своєрідний ореол, який схожий на хвіст комети. Вважається, що розміри хвоста комети позитивно корелюють зі ступенем фрагментації ДНК [15]. Візуалізацію результатів проводили за допомогою флуоресцентного мікроскопа («Karl Zeiss», Німеччина). Комети класифікували із використанням стандартної таблиці співвідношення розмірів «голови» та «хвоста» ДНК–комет [20].

Статистичне опрацювання результатів проводили за допомогою програми Statistik з використанням t–тесту Стьюдента. Рівень вірогідності отриманих результатів встановлювали при $p < 0,05–0,001$.

Результати і їхнє обговорення

Виявлено (див. таблицю), що в контрольній групі тварин найбільше було комет 0 типу (92,5%), а решта класів були представлені у слідових кількостях. Концентрація йонів свинцю, що відповідала 2 ГДК, не викликала вірогідних змін у кількості ДНК–комет усіх класів, тож переважна кількість клітин мала нормальну структуру ДНК, що представлено на рис. 1.

ДНК–комети різних класів лімфоцитів крові коропа лускатого за дії йонів свинцю, % ($M \pm m$; $n=7$)

Клас комет	Контроль	Концентрація свинцю, ГДК		
		2	5	50
0	92,5±3,2	91,2±2,8	92±3,1	81,7±2,4
I	5,5±0,3	7,4±0,8	6,3±0,5	12,4±0,8***
II	1,2±0,1	1,0±0,2	1,5±0,3	3,1±0,2**
III	0,8±0,2	0,4±0,1	0,2±0,1	2,8±0,4**
IV	0,6±0,1	0,2±0,1	0,8±0,2	5,9±0,8***

Примітка. ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – порівняно з контролем.

За дії 5 ГДК йонів свинцю спостерігали аналогічну до вищеописаної картини впливу на ДНК лімфоцитів коропа лускатого. Зокрема, найбільша частка знову належала кометам нульового класу, які характеризуються практично повною відсутністю дволанцюгових розривів ДНК. Також не було виявлено вірогідних змін у жодному з класів комет, хоча відзначалася тенденція до зростання вмісту фрагментованої ДНК у виявлених кометах четвертого класу (таблиця і рис. 2). У той же час 50 ГДК йонів свинцю призводили до значних

змін у кількості ДНК-комет усіх класів. Так, кількість ДНК-комет нульового класу знизилася на 11,5%. Частка інших класів зросла: наприклад, для першого класу цей показник збільшився у 2,3; для другого – у 2,5; для третього – у 3,5; а для четвертого – аж у 9,8 рази. І хоча в загальній кількості частка всіх цих комет не була значною, але тенденція до зростання рівня ушкодження ДНК за дії йонів досліджуваного важкого металу є незаперечною.

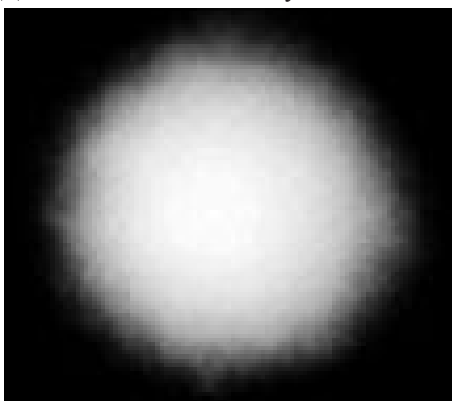


Рис. 1. Типова комета нульового класу за дії 2 ГДК йонів свинцю.

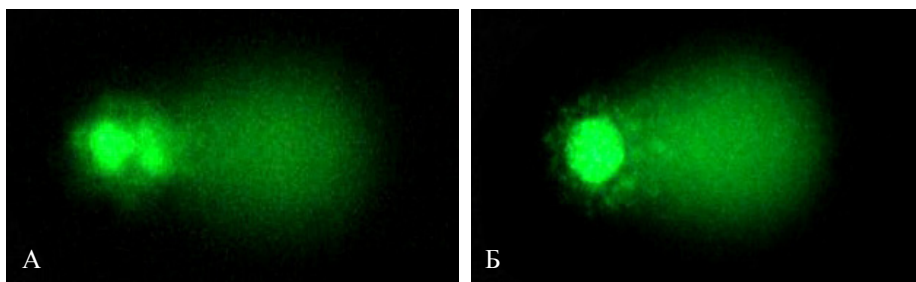


Рис. 2. Типові ДНК-комети четвертого класу за дії 2 та 5 ГДК йонів свинцю (А – 2 ГДК; Б – 5 ГДК).

Було встановлено дозозалежне зростання ступеня фрагментації ДНК, що виявлялося у збільшенні кількості комет вищих класів лімфоцитів коропа, які піддавалися впливу йонів свинцю. Отримані результати можна пояснити значною пенетраційною здатністю свинцю, який легко проходить не тільки крізь плазматичну, а й крізь ядерну мембрану клітин [16]. При цьому цілком імовірно є механізм токсичної дії свинцю на ДНК, при якому він здатний заміщати йони магнію в активних центрах ферментів, відповідальних за репарацію двониткових розривів ДНК [21]. Також можливим є розрив нековалентних зв'язків у ДНК внаслідок взаємодії з йонами свинцю, що може робити її більш доступною для дії неспецифічних і специфічних рестриктаз.

Отже, концентрація йонів свинцю, що відповідала 2 і 5 ГДК, не викликала вірогідних змін у кількості ДНК-комет мононуклеарних лейкоцитів коропа лускатого порівняно з контролем, тоді як 50 ГДК спричиняли достовірне зростання рівня фрагментації ДНК, що відобразалося у збільшенні кількості комет вищих класів у дослідних риб.

Враховуючи той факт, що на сьогодні важливе місце належить розробці сучасних методів діагностики стану водних біоресурсів, то результати нашого дослідження можуть мати практичне застосування при вирішенні проблем збереження та відновлення популяцій промислових риб у природному середовищі існування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Брагинский Л. П., Линник П. Н. К методике токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах // Гидробиол. журнал. 2003. Т. 39. № 1. С. 92–104.
2. Габиров М. М., Мусаев Б. С., Мурадова Г. Р. Влияние солей кадмия и свинца на некоторые показатели липидного обмена органов сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Вестник ДГУ. Ест. науки. 2007. № 5. С. 45–47.
3. Гладышев М. И., Грибовская И. В., Иванова Е. А. Содержание металлов в экосистеме и окрестностях рекреационного и рыболовного пруда Бугач // Водные ресурсы. 2001. Т. 28. № 3. С. 320–328.
4. Зінковська Н. Г. Функціонування антиоксидантних систем у крові риб при інтоксикації йонами міді, цинку, марганцю і свинцю: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.04. Чернівці, 2003. 21 с.
5. Леонова Г. А., Сутурин А. Н., Ломоносов И. С. и др. Токсическое действие соединений свинца на гидробионты и водоплавающих птиц: обзор // Гидробиол. журнал. 1992. Т. 28. № 4. С. 68–75.
6. Мур Дж. Тяжелые металлы в природных водах. М.: Мир, 1987. 285 с.
7. Мусаев Б. С., Рабаданова А. И., Мурадова Г. Р. и др. Влияние хронической интоксикации ацетатом свинца на фракционный состав белков, содержание липидов и антиоксидантную активность головного мозга сеголетков карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Токсиколог. вестник. 2009. № 6. С. 8–12.
8. Онисковець М. Я. Дослідження функціональної активності лімфоцитів *Cyprinus carpio* L. за умов підвищеної концентрації йонів свинцю у водному середовищі // II Міжнар. наук. конф. студентів, аспірантів та молодих учених (Донецьк, 2011). С. 105–106.
9. Пилипенко Ю. В. Оценка пищевого качества рыб-биомелиораторов на содержание тяжелых металлов // Гидробиол. журнал. 2007. Т. 43. № 5. С. 64–77.
10. Романенко В. Д. Основы гидроэкологии. К.: Обереги, 2001. 728 с.
11. Barata C., Markich S. J., Baird D. J. et al. **The relative importance of water and food as cadmium source to *Daphnia magna* Straus** // Aquatic Toxicol. 2002. Vol. 61. P. 143–154.
12. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow // **Stand. J. Clin. Lab. Invest.** 1968. Vol. 21. P. 77–83.
13. Collins A. R., Dobson V. L., Dusinska M. et al. The comet assay: what can it really tell us? // Mutation Research. 1997. Vol. 375. P. 183–193.
14. Gopalakrishna P., Khar A. Comet assay to measure DNA damage in apoptotic cells // *J. Biochem. Biophys. Methods.* 1995. Vol. 30. P. 69–73.
15. Heaton P. R., Ransley R., Charlton C. J. et al. Application of single-cell gel electrophoresis (comet) assay for assessing levels of DNA damage in canine and feline leukocytes // *J. Nutrition.* 2002. Vol. 132. N 6. P. 1598–1603.
16. Karbownik M., Tan D. X., Reiter R. J. Melatonin reduces the oxidation of nuclear DNA and membrane lipids induced by the carcinogen delta-aminolevulinic acid // *Int. J. Cancer.* 2000. Vol. 88. N 1. P. 7–11.
17. Merk O., Speit G. Detection of crosslinks with the comet assay in relationship to genotoxicity and cytotoxicity // Environmental and Molecular Mutagenesis. 1999. Vol. 33. P. 167–172.
18. Oliva-Teles A. Nutrition and health of aquaculture fish // *J. Fish Diseases.* 2012. Vol. 35. N 2. P. 83–108.
19. Olive P. L. The comet assay. An overview of techniques // *Methods in Molecular Biology.* 2001. Vol. 203. P. 179–194.

20. Rojas E., Lopez M. C., Valverde M. Single cell gel electrophoresis: methodology and applications // J. Chromatography. 1999. Vol. 722. N 1–2. P. 225–254.
21. Sanyal G., Doig P. Bacterial DNA replication enzymes as targets for antibacterial drug discovery // Expert Opinion Drug Discovery. 2012. Vol. 7. N 4. P. 327–339.

Стаття: надійшла до редакції 09.10.12

доопрацьована 19.12.12

прийнята до друку 20.12.12

ANALYSIS OF THE DNA-DAMAGE LEVEL IN LYMPHOCYTES OF THE *CYPRINUS CARPIO* L. DUE TO LEAD IONS INFLUENCE

M. Onyskovets

*Lviv National Agrarian University
1, Volodymyr Velykyj St., Dubliany 80381, Ukraine
e-mail: Onyskovets_M@mail.ru*

In the article results of the research level of the double-stranded DNA breaks in lymphocytes of carp flake for 2, 5 and 50 MPC lead using comet assay method were presented. Using of the lead ions in concentrations of 0.2 and 0.5 mg/l did not cause significant changes in the number of DNA comets in mononuclear leukocytes of carp flake. At the same time 5 mg/l of lead ions caused a statistically significant increase of the DNA breaks that was shown by highel amount of the DNA-comets of the higher classes. Thereby, it was found that increase in DNA breaks has dose-dependent manner related to the lead ions concentration.

Keywords: DNA comet, fragmentation of DNA, lymphocytes, carp, lead.

КОМЕТ-АНАЛИЗ СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ *CYPRINUS CARPIO* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ СВИНЦА

М. Онисковец

*Львовский национальный аграрный университет
ул. Владимира Великого, 1, Дубляны 80381, Украина
e-mail: Onyskovets_M@mail.ru*

Приведены результаты исследований уровня двухцепных разрывов ДНК в лимфоцитах карпа чешуйчатого при действии 2, 5 и 50 ПДК свинца с помощью метода ДНК-комет. При добавлении свинца в концентрации 0,2 и 0,5 мг/л не происходили достоверные изменения в количестве ДНК-комет мононуклеарных лейкоцитов карпа чешуйчатого всех классов. Тогда как 5 мг/л свинца вызывало достоверное повышение уровня фрагментированной ДНК, что отражалось на увеличении количества комет высших классов. Таким образом, установлено дозозависимое повышение уровня разрывов ДНК, что проявлялось в увеличении количества комет высших классов в опытных образцах.

Ключевые слова: ДНК-кометы, фрагментация ДНК, лимфоциты, карп, свинец.

ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕЇНІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ КЕРАТИНОВИХ ВОЛОКОН РІЗНИХ ТИПІВ

В. Гавриляк¹, Г. Седіло²

¹*Інститут біології тварин НААН України
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: havvita@ukr.net*

²*Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН України
вул. Грушевського, с. Оброшино, Львівська обл. 81115, Україна*

У статті представлено результати дослідження білкового спектра кератинів волосся людини, шура та вовняних волокон овець. За допомогою електрофоретичного розділення в ПААГ за денатурувальних умов виявлено поліпептиди у діапазоні молекулярних мас 30–10 кДа, 60–40 і 100 кДа, які відповідають білкам із високим вмістом сірки або кератин-асоційованим протеїнам, білкам із низьким вмістом сірки або інтермедіальним філаментам та високомолекулярним білкам. Зміни у співвідношенні протеїнових фракцій досліджуваних кератинів пов'язані з відмінностями у рівні біосинтезу різних типів білків.

Ключові слова: кератини, білки з високим вмістом сірки, білки з низьким вмістом сірки, матриксні білки, фібрилярні білки.

Кератини належать до високоспеціалізованих фібрилярних білків, із яких формуються зовнішні захисні покриви хребетних. Вони утворюють основну масу рогового шару епідермісу та його придатків – волосся, нігтів, рогів тощо. Відомо, що протеїни волоса поділяються на тверді α -кератини, або інтермедіальні філаменти мікрофібрил і матриксні білки, які формують міжклітинний цемент. У свою чергу, α -кератини поділяються на два типи: тип I – кислі кератини із молекулярною масою 40–50 кДа, до яких входить 4–9 груп білків і тип II – нейтрально-основні (55–65 кДа) протеїни, представлені 4–6 групами. Матриксні або кератин-асоційовані протеїни класифікують на білки з високим вмістом сірки (10–30 кДа) та білки з високим вмістом тирозину і гліцину (6–9 кДа) [6, 7].

Літературні дані свідчать, що характеристика кератинів різного походження залежить від співвідношення між інтермедіальними філаментами і кератин-асоційованими протеїнами. Зокрема, є повідомлення про міжвидові відмінності у кількісному співвідношенні різних груп кератинів. Так, було показано, що різні кератинові волокна мають подібні патерни в діапазоні 65–35 кДа, тоді як відмінності стосуються в основному матриксних білків (30–10 кДа) [3–5, 11].

Метою нашої роботи було дослідити протеїни, екстраговані із різних кератинових волокон, і з'ясувати, чи можлива їх диференціація шляхом порівняння електрофоретичних профілів. Варто також зауважити, що для характеристики кератинів ми використали людський волос, вовняне волокно та волос шура, які відрізняються між собою за морфологічною будовою. Відмінності полягають, насамперед, у будові кортексу, який у людини та вівці займає майже весь волос, тоді як у волоссі шура цей шар тонкий і становить не більше 1/10 його товщини, а практично всю частину волоса займає серцевина [1]. Такі результати можуть бути використані для ідентифікації волоса тварин в еволюційному аспекті, судовій експертизі, текстильній промисловості.

Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були зразки волосся людини, вовняні волокна асканійських кросбредних вівцематок і волос щура. Волокна промивали у нейтральному мийному розчині, ретельно споліскували та висушували. Поверхневі ліпіди екстрагували в апараті Сокслетта тетрахлорметаном упродовж 5 годин, а потім сумішшю етиловий спирт – діетиловий ефір (1:1, v/v). Екстракцію білків проводили за методом, описаним Накамурую та ін. (2002) [10]. Для цього волокна поміщали у 25 мМ тріс-НСІ (рН 8,5) буфер, який містив 2,6 М тіосечовину, 5 М сечовину, 5% 2-меркаптоетанол за температури 50°C протягом 3 діб. Після фільтрування розчин діалізували протягом 3 діб, центрифугували при 15 000 g протягом 20 хв. Вміст білка у супернатанті визначали колориметрично за допомогою реагента Бредфорда [2], калібрувальну криву будували з використанням бичачого сироваткового альбуміну, розчиненого у буфері, який використовували для екстракції.

Білки розділяли методом електрофорезу в 12,5% ПААГ у присутності 0,1% ДСН відповідно до загальноприйнятої методики [9]. Протеїни у гелі фарбували за допомогою 0,2% Кумасі R-250 та відмивали розчином, що містив 7% оцтову кислоту і 40% етанол. Для визначення молекулярної маси білків у екстрактах, отриманих із кератинових волокон, використовували стандарти білків із молекулярною масою в діапазоні 10–200 кДа (Ферментас, Литва). Електрофореграми сканували за допомогою сканера hp scanjet 2400, а відносний вміст білкових фракцій обчислювали за допомогою програми Biotest.

Результати і їхнє обговорення

Результати електрофорезу білків, виділених із трьох різних видів волокон, представлені на рис. 1. Проведені дослідження показали, що концентрація білка у екстрактах волоса людини, щура та вовняному волокні була практично однакова і становила відповідно $6,66 \pm 0,15$ мг/мл, $6,52 \pm 0,21$ мг/мл і $6,75 \pm 0,18$ мг/мл.

Слід відзначити, що застосування тіосечовини в екстракційному буфері дає змогу виділити і кортикальні білки, що узгоджується з результатами, отриманими [10], відповідно до яких поєднання сечовини із тіосечовиною забезпечує достатній ступінь екстракції протеїнів.

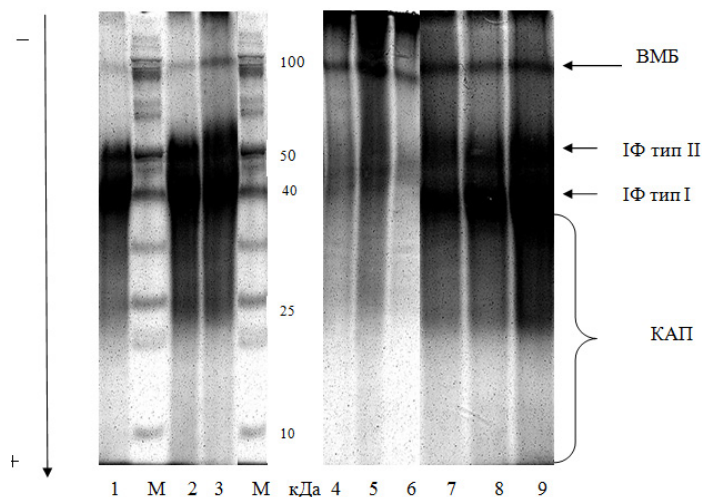


Рис. 1. Спектр білків різних кератинових волокон: ВМБ – високомолекулярні білки, ІФ тип І – інтермедіальні філаменти І типу, ІФ тип ІІ – інтермедіальні філаменти ІІ типу, КАП – кератин-асоційовані протеїни; 1–3 – волос щура; 4–6 – волос людини; 7–9 – вовняне волокно; М – маркер молекулярної маси (200–10 кДа).

Результати електрофорезу за денатурувальних умов показали, що екстраговані кератини розділяються на 2 поліпептидні ланцюги із молекулярною масою в діапазоні 50–40 кДа, які відповідають типу I і типу II інтермедіальних філаментів, або білків із низьким вмістом сірки. У низькомолекулярній ділянці виявлено 2–3 смуги білків із молекулярною масою 30–10 кДа. Це кератин-асоційовані протеїни, які формують матрикс волокна. Характерною особливістю цих білків є наявність високого вмісту сірки, тому їх ще називають білки, багаті на сірку. Крім того, на електрофореграмі вище від смуги білків інтермедіальних філаментів розміщена зона, яка відповідає мінорному білковому компонентіві із молекулярною масою 100 кДа, що узгоджується із даними, отриманими авторами [8].

Білкові профілі, представлені на електрофореграмі, свідчать, що фібрилярні білки фарбуються інтенсивніше, ніж матриксні, на що вказують автори [6], які спостерігали кращу здатність білків із низьким вмістом сірки зв'язувати барвник порівняно з білками з високим вмістом сірки.

У результаті проведених досліджень встановлено, що білки інтермедіальних філаментів різних волокон мають подібну молекулярну масу, проте відрізняються за інтенсивністю смуг. Так, білки із вовняного волокна та волоса щура мають подібні патерни в ділянці 50–40 кДа, натомість людський волос відрізняється меншою інтенсивністю цих смуг.

Результати денситометричної оцінки співвідношення білкових фракцій досліджуваних кератинів представлено на рис. 2.

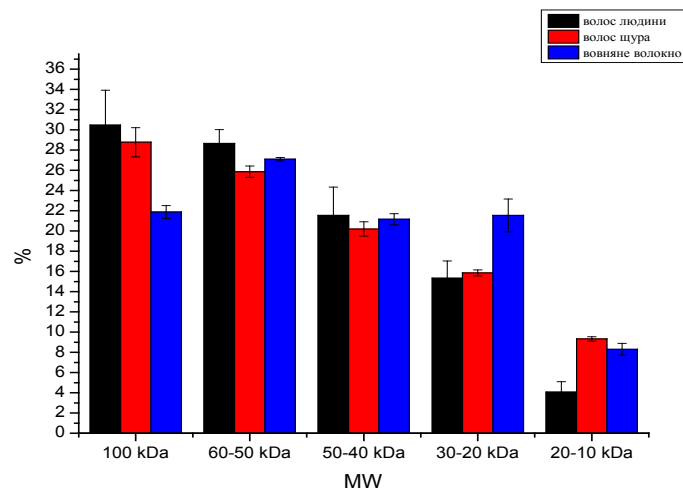


Рис. 2. Співвідношення білкових фракцій у різних кератинових волокнах, % ($M \pm m$, $n=3$). **Примітки:** * – різниця достовірна між волосом людини і волосом щура; ** – різниця достовірна між волосом людини і вовняним волокном; + – різниця достовірна між волосом щура і вовняним волокном.

Електрофорезом виявлено певні відмінності у співвідношенні білкових фракцій, які головним чином стосувалися матриксних або кератин-асоційованих протеїнів. Так, якщо кількість білків у діапазоні молекулярної маси 30–20 кДа була практично однаковою для волоса людини і щура, то у вовняному волокні вміст цієї фракції збільшився на 38% ($P < 0,02$). Нами встановлено відмінності щодо кількості низькомолекулярних білків у діапазоні 20–10 кДа, вміст яких був вірогідно вищий у вовняних волокнах і волосі

щуре порівняно з людським волосом. Слід зазначити, що відносний вміст обох фракцій інтермедіальних філаментів у всіх досліджуваних волокнах був практично однаковий, а кількість високомолекулярних білків проявляла тенденцію до зменшення у вовняному волокні. Також літературні дані свідчать, що співвідношення між основними групами протеїнів кератинових волокон можуть змінюватися у відповідь на дію аліментарних, генетичних чи фізіологічних чинників, наприклад, збільшення сірки у раціоні овець супроводжується посиленням синтезу у вовні білків із високим вмістом сірки [6, 12].

Отже, досліджувані кератинові волокна різняться між собою насамперед за співвідношенням між певними групами білків, що може бути результатом відмінностей у рівні біосинтезу основних поліпептидів кератинів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коцюмбас Г. І., Коцюмбас І. Я., Щербентовська О. М. та ін. Морфологічні особливості шкіри та волоса різних видів тварин і людини в аспекті судово-ветеринарної експертизи. Л.: ТзОВ ВФ "Афіша", 2010. 136 с.
2. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
3. Folin M., Contiero E. Electrophoretic analysis of human hair keratins // *Anthropol. Anz.* 1996 a. Vol. 53. P. 337–348.
4. Folin M., Contiero E. Electrophoretic analysis of mammalian hair keratins // *Anthropol. Anz.* 1996 a. Vol. 54. P. 331–339.
5. Folin M., Contiero E. Electrophoretic analysis of non-human primates' hair keratin // *Forensic. Sci. Int.* 1996 b. Vol. 83. P. 191–199.
6. Gillespie J. M. The structural Proteins of Hair: Isolation, characterization, and regulation of biosynthesis. In *Physiology, biochemistry and molecular biology of skin*: Oxford, 1991. P. 625–658.
7. Harkey M. R. Anatomy and physiology of hair // *Forensic Sci. Int.* 1993. Vol. 63. P. 9–18.
8. Kon R., Nakamura A., Hirabayashi N., Takeuchi K. Analysis of damaged components of permed hair using biochemical technique // *J. Cosmetic Sci.* 1998. Vol. 49. P. 13–22.
9. Laemmly U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄ // *Nature.* 1970. Vol. 227. N 1. P. 680–685.
10. Nakamura A., Arimoto M., Takeuchi K., Fujii T. A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species // *Biol. Pharm. Bull.* 2002. Vol. 25. P. 569.
11. Rane P. P., Barve S. S. Evaluating protein patterns of speciality fibres for identification to combat false labeling // *Int. J. Zool. Res.* 2010. Vol. 6. N 4. P. 286–292.
12. Sherlock R. G., Harris P. M., Lee J. et al. Intake and long-term cysteine supplementation change wool characteristics of Romney sheep // *Austr. J. Agric. Sci.* 2001. Vol. 52. P. 29–36.

Стаття: надійшла до редакції 05.12.12

доопрацьована 20.02.13

прийнята до друку 20.02.13

**ELECTROFORETICAL CHARACTERISTICS OF PROTEINS, EXTRACTED FROM
DIFFERENT TYPE OF KERATIN FIBRES**

V. Havrylyak¹, H. Sedilo²

*¹Institute of Animal Biology, NAAS of Ukraine
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: havvita@ukr.net*

*²Institute of Agriculture of Carpathian Region, NAAS of Ukraine
Hrushevskiyi St., Obroshyno, Lviv region 81115, Ukraine*

The data about the protein spectrum of keratins, isolated from human hair, rat hair and wool fibers by electrophoresis in SDS- PAGE were presented in the paper. It was established the presence of polypeptide bands in the range of molecular weights of 30–10 kDa, 60–40 kDa, and 100 kDa, which correspond to high sulfur proteins or keratin-associated proteins, low sulfur proteins or intermediate filaments and high molecular weight proteins. It was shown that the protein fractions of studied keratin fibers differ by intensity of biosynthesis of various types of proteins.

Keywords: keratins, high sulfur proteins, low sulfur proteins, matrix proteins, fibrous proteins.

**ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
КЕРАТИНОВЫХ ВОЛОКОН РАЗНЫХ ТИПОВ**

В. Гавриляк¹, Г. Седило²

*¹Институт биологии животных НААН Украины
ул. В. Стуса, 38, Львов 79034, Украина
e-mail: havvita@ukr.net*

*²Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН Украины
ул. Грушевского, с. Оброшино, Львовская обл. 81115, Украина*

В статье представлены результаты исследований белкового состава кератинов, выделенных из волоса человека, крысы и шерстного волокна. С помощью электрофореза в денатурирующих условиях выявлено наличие полипептидных зон в диапазоне молекулярного веса 30–10 кДа, 60–40 кДа, и 100 кДа, которые соответствуют белкам с высоким содержанием серы или кератин-ассоциированным протеинам, белкам с низким содержанием серы или интермедиальным филаментам и высокомолекулярным белкам. Изменения в соотношении протеиновых фракций исследуемых кератинов связаны с отличиями в уровне биосинтеза различных типов белков.

Ключевые слова: кератины, белки с высоким содержанием серы, белки с низким содержанием серы, матриксные белки, фибриллярные белки.

БІЛКОВИЙ СКЛАД СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

І. Степанець*, О. Моргаєнко, Л. Остапченко

*Навчально-науковий центр «Інститут біології»
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ 01601, Україна
e-mail: Stepanetsinna@bigmir.net*

Показано кількісні зміни вмісту білкових фракцій у сироватці крові щурів на різних етапах розвитку алкогольної інтоксикації. Встановлено зростання рівня фракції з м.м. 180 кДа на 22% на 28 добу введення етанолу. Визначено зниження рівня альбуміну (м.м. 67 кДа) на 21% на 14 добу, також показано зменшення вмісту білкової фракції з м. м. 52 кДа на 10% на 7 добу. Спостерігалось зниження вмісту фракції з м.м. 9 кДа на 12%, 27% на 14, 28 добу, тоді як на 7 добу відбулося її підвищення на 25%. Відбулося зростання вмісту фракцій 7 кДа і 208 кДа на 209%, 147%, 46% і 50%, 63%, 56%, відповідно, на 7, 14, 28 добу. Зазначено зростання вмісту фракції 27 кДа на 37% на 7, 14 добу і на 26% на 28 добу. Встановлено підвищення вмісту фракцій 113 кДа на 74% на 7 добу і зниження на 15%, 21% на 14 і 28 добу, відповідно. Відносний вміст фракції 105 кДа і 38 кДа знизився на 16%, 30%, 25% і на 8%, 15%, 17%, відповідно, на 7, 14, 28 добу за умов введення етанолу, а вміст білкової фракції 45кДа зростав на 8%, 17% на 14, 28 добу.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, білкові фракції, електрофорез.

Алкоголізм є однією з актуальних проблем сучасності. Ця проблема виходить за межі медицини і несе загрозу для безпеки як окремої особи, так і суспільства загалом [5]. Вивчення порушень, що виникають при дії етанолу на організм людини, обумовлене нагальною потребою часу [4]. Щорічно від захворювань печінки, спричинених алкоголем, у розвинених країнах Заходу помирає близько 2 млн людей, що тягне за собою дуже високі соціально-економічні затрати. В Україні кожного року від алкоголізму помирає понад 40 тис. осіб, налічується більше 900 тис. алкоголіків і набагато більше людей, які регулярно вживають алкогольні напої [1]. Незважаючи на велику кількість досліджень, що стосуються механізмів біологічної дії алкоголю [6, 7, 12], у літературі недостатньо висвітлені порушення білкового обміну за умов алкогольної інтоксикації. Це значно ускладнює цілісне сприйняття комплексних метаболічних змін, які лежать в основі клінічних проявів алкогольної інтоксикації, оскільки білки займають центральне місце у процесах життєдіяльності організму, входячи до складу всіх клітинних і міжклітинних структур, виконують каталітичну, структурну, регуляторну, рецепторну, транспортну, механічну, захисну та інші функції. Склад білків крові організму змінюється залежно від функціонального стану і зумовлює їхню роль в оцінці здоров'я людини як у нормі, так і за умов різних патологій [2, 9]. Відомо, що у сироватці крові людини міститься близько 100 різних білків. За допомогою електрофорезу їх можна поділити на кілька основних фракцій: альбуміни, α -, β -, γ -глобуліни [25]. Визначення вмісту білкових фракцій крові є показовим, оскільки має велике значення для діагностики багатьох захворювань. Альбуміни становлять найбільшу частину білків крові, відіграють важливу роль у підтримці онкотичного тиску крові, беруть участь у транспорті багатьох біологічних речовин: вуглеводів, ліпідів, окремих гормонів, а також мікроелементів (мідь, цинк, магній тощо) [21]. Вміст альбуміну

в сироватці крові має діагностичне значення, його зниження вказує на дисфункцію печінки, нирок або інших органів. Зазвичай цей показник знижений при цукровому діабеті, важкій алергії, запальних процесах. Рівень альбуміну в крові є показником білок-синтетичної функції печінки [15]. Збільшення вмісту альфа-глобулінів спостерігається при запальних процесах, стресових впливах на організм (травми, опіки, інфаркт міокарда тощо), а також при деяких хронічних захворюваннях, злоякісних новоутвореннях. У той час як зниження вмісту альфа-глобулінів відзначається при пригніченні їх синтезу в печінці за умов різних патологічних процесів, зростання вмісту бета-глобулінів спостерігається при атеросклерозі, цукровому діабеті, нефротичному синдромі. Зміна рівня гамма-глобулінів характерна для захворювань, пов'язаних із виснаженням, пригніченням імунної системи [8].

На сьогодні встановлено, що розвиток хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується змінами основних біохімічних показників крові [3, 11]. Проте обмаль даних про зміни білкового складу на різних етапах розвитку алкогольної інтоксикації. Оскільки зміни співвідношення вмісту білкових фракцій можуть свідчити про метаболічні порушення в організмі, їх детальне вивчення під час формування розвитку алкогольної залежності дасть змогу не лише розширити наші уявлення про механізми даного патогенезу, а й розробити нові підходи до діагностики даної патології на ранніх етапах.

Тому метою нашої роботи було охарактеризувати вміст білкових фракцій у сироватці крові щурів на різних етапах за умов розвитку експериментальної моделі алкогольної інтоксикації.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах (самцях) масою 180–200 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води. Для експерименту було взято 40 щурів. Тварини були розділені на 2 групи: 1 група – інтактні тварини (контроль); 2 група – щури з хронічною алкогольною інтоксикацією, яким вводили етанол (40%) протягом 28 діб натщесерце зондом (з медичної сталі) з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу за стандартною методикою М.Х. Халілова, Ш.А. Закірходжаєва [13]. Дана модель алкогольної інтоксикації щурів дає змогу отримати характерні патологічні зміни, властиві людині, за відносно коротким терміном.

Кров для аналізу відбирали на 7, 14, 28 добу. Сироватку отримували шляхом центрифугування крові при 1000 g протягом 15 хв, отриману надосадову рідину (сироватку) швидко відокремлювали від осаду (формених елементів крові) і використовували для дослідження.

Проведені дослідження відповідають основним вимогам щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами згідно з правилами Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншими науковими цілями (Страсбург, 1986 р.), а також відповідно до етичних норм за українським законодавством.

Розділення білкових фракцій сироватки крові щурів проводили методом диск-електрофорезу у поліакриламідному гелі (ПААГ) за наявності додецилсульфату натрію (ДСН) за модифікованим методом Леммлі [18]. Концентрація акриламідну становила 12%. Маркерами молекулярних мас були бичачий сироватковий альбумін (БСА), альбумін курячого яйця та лізоцим («Serva», Німеччина). Відносний вміст білкових фракцій визначали за допомогою програми TotalLab 2.0 і виражали у відсотках від загального пулу. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що у всіх досліджуваних пробах, як у контрольних, так і за умов розвитку алкогольної інтоксикації, присутні білкові фракції з відносними молекулярними масами від 7 до 208 кДа (рис. 1).

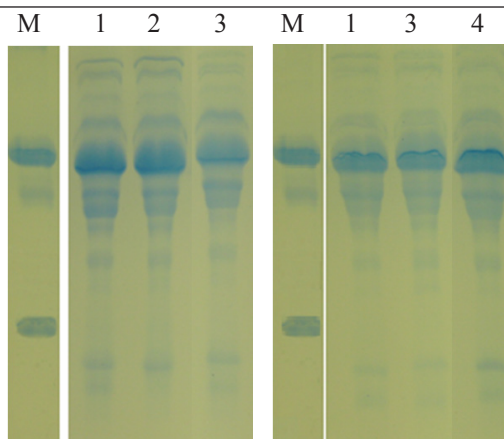


Рис. 1. М – маркери молекулярних мас (БСА-67 кДа, яєчний альбумін – 45 кДа, лізоцим – 14 кДа): 1 – контроль; 2 – етанол 28 діб; 3 – етанол 7 діб; 4 – етанол 14 діб.

При дослідженні вмісту білкових фракцій за умов алкогольної інтоксикації у сироватці крові не виявлено якісних змін білкового вмісту, однак можна відзначити їх кількісні зміни (табл. 1).

Таблиця 1

Відносний вміст білкових фракцій у плазмі крові щурів при алкогольній інтоксикації,
% від загального ($M \pm m$, $n=10$)

Відносна ММ, кДа	Контроль	7 доба введення етанолу	14 доба введення етанолу	28 доба введення етанолу
208	1,6±0,03	2,4±0,02*	2,62±0,72*	2,49±0,46*
180	2,9±0,01	3,47±0,01*	3,38±0,54	3,54±0,27*
113	2,89±0,05	5,04±0,05*	2,46±0,58*	2,28±0,36*
105	8,94±0,03	7,48±0,07*	6,3±0,79	6,68±0,09*
67	40,17±0,11	35,42±0,49*	31,75±2,26*	38,87±3,54
52	8,78±0,06	7,94±0,03*	8,34±0,96	8,54±0,34
45	6,35±0,06	6,45±0,06	6,86±0,09*	7,41±1,17*
38	3,46±0,07	3,2±0,18	2,94±0,05*	2,87±0,13*
27	1,8±0,23	2,46±0,06*	2,47±0,35*	1,33±0,1*
9	3,35±0,21	4,18±0,42*	2,94±0,01*	2,45±0,28*
7	1,19±0,14	3,68±0,39*	2,94±0,05*	1,74±0,36*

Примітка. * – $P \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Так, спостерігається зростання рівня фракцій з м.м. 180 кДа на 7, 14 і 28 добу введення етанолу на 20%, 17%, 22%, відповідно. Можливо, зазначена фракція відповідає α_2 -макроглобуліну. Так, з літературних даних відомо, що α_2 -макроглобулін складається з 4-х однакових субодиниць молекулярною масою 180 кДа, належить до білків гострої фази, а його концентрація підвищується за умов патологічного стану (при запальних процесах), що розвивається і при введенні етанолу [24]. Відомо, що макроглобулін- α_2 синтезується у панкреатичній залозі, а вміст його підвищується при цирозі печінки, в якій він знешкоджується [21].

Також нами було встановлено зниження вмісту білкової фракції, найбільш представленої в сироватці – білки альбуміну (67 кДа) на 12% на 7 добу введення етанолу порівняно з контрольними значеннями. Тоді як на 14 добу спостерігалось максимальне зниження (на 21%). Це може свідчити про пригнічення білок-синтетичної функції печінки внаслідок ал-

коголізації, оскільки основним місцем синтезу альбумінів є саме гепатоцити [23]. Помірне зниження рівня альбумінів є ознакою хронічного патологічного процесу в печінці, що може в подальшому призвести до гепатиту, цирозу, інтоксикації, атрофії цього органа [19, 20].

Відомо, що до α -глобулінової фракції належать α_1 – антитрипсин, гаптоглобін, які належать до білків гострої фази, ступінь збільшення α -глобулінів відображає інтенсивність патологічного процесу [10, 11]. У результаті наших досліджень показано зниження вмісту білкової фракції з м.м. 52 кДа, яка відповідає м.м. α_1 -антитрипсину, на 10% на 7 добу введення етанолу порівняно з контрольними значеннями. Антитрипсин- α_1 може слугувати маркером гострофазного запалення на ранніх стадіях алкогольної інтоксикації. Можна припустити, що зміни вмісту зазначеної білкової фракції свідчать про розвиток ушкодження печінки за умов введення етанолу [10].

З літературних даних відомо, що гаптоглобін утворює комплекси з фрагментами гемоглобіну. Так, комплекс «гаптогемоглобін» з м.м від 85-450 кДа має пероксидазну активність. Молекула гаптоглобіну складається з двох ланцюгів по 40 кДа і двох ланцюгів по 16 чи 9 кДа, рівень яких значно зростає за умов різних патологічних станів (запалення, тканинне ушкодження, пухлинний процес та інші) [17, 21]. Зміна концентрації гаптоглобіну в крові може свідчити про запальний процес в організмі [3, 16]. Нами показано підвищення білкової фракції 9 кДа на 25% на 7 добу введення етанолу, тоді як на 14, 28 добу відбулося зниження на 12%, 27% відповідно. Гаптоглобін бере участь у захисті організму від втрати заліза, у процесах детоксикації, захищає білки від протеолізу, забезпечує транспорт вітаміну B_{12} , проявляє антиоксидантні властивості [14]. Зниження концентрації гаптоглобіну спостерігається при тяжкому ушкодженні паренхіми печінки.

Нами показано зростання рівня компонентів γ -глобулінової фракції з м.м. 208 кДа на 50%, 63%, 56% на 7, 14, 28 добу. До даної фракції належать імуноглобуліни А (160–380 кДа), G (150–170 кДа), **М (970 кДа), що володіють захисними властивостями, забезпечуючи гуморальний захист організму.** Імуноглобуліни (Ig) являють собою глікопротеїни з молекулярною масою від 150 до 1000 кДа. Молекули імуноглобулінів складаються з 4 ланцюгів: 2 однакових важких ланцюгів (50–70 кДа) і 2 легких ланцюгів (по 23 кДа) [22]. Це свідчить про активацію імунної системи, що зумовлює розвиток запального процесу [21].

Нами встановлено зростання вмісту білкової фракції у сироватці крові щурів з відносною м.м. 27 кДа на 37% на 7, 14 добу і 26% на 28 добу. Відбулося зростання вмісту білкової фракції з м. м. 7 кДа на 209%, 147%, 46% на 7, 14, 28 добу. Також встановлено зміни вмісту фракцій 113 кДа. Відбулося підвищення на 74% на 7 добу відповідно і зниження 15%, 21% на 14, 28 добу. Вміст фракції 105 кДа, 38 кДа знизився з 16%, 30%, 25% на 8%, 15%, 17% на 7, 14, 28 добу за умов введення етанолу, а вміст білкової фракції 45 кДа підвищувався на 8%, 17% на 14, 28 добу.

Таким чином, нами виявлено зміни відносного вмісту білкових фракцій у сироватці крові щурів у динаміці за умов розвитку алкогольної інтоксикації. Подальші дослідження особливостей змін білкового складу крові сприятимуть кращому розумінню біохімічних процесів за умов даної патології, що є важливим для розробки принципів нових підходів діагностики і лікування алкогольної залежності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бсленічев І. Ф., Соколик О. П., Абрамов А. В.* Фармакологічна модуляція сигналіngu апоптозу нейронів СА1-зони гіпокампа щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією // Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011. Т. 25. № 6. С. 15–21.

2. *Божко Г. Х., Волошин П. В.* Действие этанола на белки тканей и сыворотки крови человека и животных // Успехи совр. биологии. 1989. Т. 108. Вып. 1. С. 58–65.
3. *Грамотюк С. М.* Динаміка рівня білків гострої фази у хворих на хронічний вірусний гепатит С з нормальною та підвищеною активністю АлСТ // Медицина сьогодні і завтра. 2009. № 1. С. 103–105.
4. *Гулий М. Ф.* Про метаболічні порушення та корекція їх в організмі людини за алкоголізму та наркоманії // Укр. біохім. журнал. 2000. Т. 72. № 6. С. 103–106.
5. *Дереча Л. М.* Алкоголь та його дія на організм: огляд літератури // Вісн. Харків. ун-ту. 2007. Вип. 6. № 788. С. 7–16.
6. *Дунаєв О. В.* Вплив алкоголю на динаміку імунних показників крові померлих від ішемічної хвороби серця (ІХС) при встановленні давності настання смерті // Укр. судово-мед. вісн. 2000. № 1. С. 36–38.
7. *Зейтц Г.* Алкогольная болезнь печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2001. Т. 11. № 4. С. 62–63.
8. *Клімова О., Звягінцева О., Малишев А.* Зміна співвідношення білкових фракцій сироватки крові у експериментальних тварин різного віку після імунізації цитотоксичною сироваткою хворих з аутоімунним захворюванням – міастенією // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 55. С. 27–33.
9. *Кліц І. М., Криницька І. Я., Бекус І. Р.* Вплив карнітину хлориду на показники білкового обміну у щурів за умов гострого алкогольного отруєння на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю // Медична хімія. 2006. Т. 8. № 3. С. 122–125.
10. *Колесникова Е. В.* Альфа-1-антитрипсиновая недостаточность: современный взгляд на проблему // Современная гастроэнтерология. 2008. Т. 40. № 2. С. 93–98.
11. *Корякин А. М., Дадыка И. В., Епифанцева Н. Н.* и др. С-реактивный белок и другие белки острой фазы воспаления у больных хроническим алкоголизмом // Сибирский мед. журнал. 2007. Т. 22. № 2. С. 38–39.
12. *Нужный В. П.* Механизмы и клинические проявления токсического действия алкоголя: Руководство по наркологии / под ред. чл.-корр. РАМН проф. Н.Н.Иванца. М.: Медпрактика, 2002. Т. 1. С. 74–93.
13. *Халилов М. Х., Закихорджаев Ш. Я.* К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Вопросы клиники алкоголизма: науч. тр. Ташкент, 1983. С. 38–41.
14. *Циганенко А. Я.* Стан білків гострої фази (гаптоглобіну та церуплазміну) і показник антиоксидатного захисту супероксиддисмутази у хворих на хронічний гепатит // Гепатологія. 2011. № 2. С. 34–38.
15. *Das S. K., Mukherjee S., Vasudevan D. M.* Effects of long term ethanol consumption on cell death in liver // Clin Biochem. 2011. Vol. 26. N 13. P. 84–87.
16. *Hossein Sadrzadeh S. M., Jafar Bozorgmehr.* Haptoglobin Phenotypes in Health and Disorders // Am. J. Clin Pathol. 2004. Vol. 121. P. 97–104.
17. *Ignez Valette, Marcel Waks, John C.* et al. Haptoglobin heavy and light chains // J. Biol. Chem. 1981. Vol. 256. P. 672–679.
18. *Laemli U. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
19. *Lieber C. S.* Metabolism of alcohol and its implications for the pathogenesis of disease // Alcohol and the Gastrointestinal Tract. 1996. P. 19–29.
20. *Marjolaine Roche, Philippe Rondeau, Nihar Ranjan* et al. The antioxidant properties of serum albumin // FEBS Letters. 2008. N 582. P. 1783–1787.

21. *Ritchie R.* Wellness assessment: Targeted testing for specific problems which are not the measurement of health // *Serum Proteins in Clinical Medicine*. 1999. Vol. II, Clinical Section. – Foundation for Blood Research. Publishers: Scarborough. P. 120.00-1–120.00-9.
22. *Schroeder H. W. Jr., Cavacini L.* Structure and function of immunoglobulins // *J. Allergy Clin Immunol*. 2010. Vol. 125. N 2.P. 41–52.
23. *Tuma D. J., Sorrell M. F.* Effects of ethanol on protein trafficking in the liver // *Seminars in liver disease*. 1988. Vol. 8. N 1. P. 69–80.
24. *Vandenven F.* Human α 2-macroglobulin: structure and function // *Trends. Biochem. Sci.* 1982. Vol. 7. N 5. P. 185–187.
25. *Waqar A., Saad A., Khalid A.* et al. Diagnostic significance of serum protein electrophoresis // *Biomedica*. 2004. Vol. 20. P. 40–44.

Стаття: надійшла до редакції 05.06.12

доопрацьована 19.02.13

прийнята до друку 27.02.13

THE PROTEIN CONTENT IN BLOOD SERUM OF RATS UNDER ALCOHOL INTOXICATION DEVELOPMENT

I. Stepanets, O. Morgaienko, L. Ostapchenko

Educational and Scientific Center «Institute of Biology»

Taras Shevchenko National University of Kiev

64, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine

e-mail: Stepanetsinna@bigmir.net

The quantitative changes of protein fractions content in blood serum of rats at different stages under alcohol intoxication development it was shown. There was an increase of fraction level with m.m. 180 кДа by 22% on the 28th day of introduction of ethanol. The level of albumin with m.m. 67 кДа was decreased by 21% on the 14th day, the level of protein fraction with m.m. 52 кДа by 10% was also decreased by the 7th day. It was observed the reduction of protein fraction with m.m. 9 кДа by 12%, 27% on the 14, 28th days while on the 7th day there was an increase by 25%. Increase of protein fractions content with m.m. 7 кДа, 208 кДа by 209%, 147%, 46% and by 50%, 63%, 56% on the 7, 14, 28 days was established, the increase of the protein fractions content with m.m. 27 кДа by 37% on the 7, 14th days and by 26% on the 28th days was noted. Increase of fractions content with m.m. 113 кДа by 74% on the 7th day and decrease by 15%, 21% on the 14, 28th days were shown. The relative content of fractions with m.m. 105 кДа, 38 кДа was decreased by 16%, 30%, 25% and by 8%, 15%, 17% on the 7, 14, 28th days, and the protein fraction content with m.m. 45 кДа raised by 8%, 17% on the 14, 28th days.

Keywords: alcohol intoxication, proteins fraction, electrophoresis.

**БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ
ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ****И. Степанец, А. Моргаенко, Л. Остапченко**

*Учебно-научный центр «Институт биологии»
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 64, Киев 01601, Украина
e-mail: Stepanetsinna@bigmir.net*

Показаны количественные изменения содержания белковых фракций в сыворотке крови крыс на разных этапах развития алкогольной интоксикации. Произошло повышение уровня фракции с м.м. 180 кДа на 22% на 28 сутки введения этанола. Установлено снижение уровня альбумина с м.м. 67 кДа на 21% на 14 сутки, также показано снижение содержания белковой фракции с м. м. 52 кДа, на 10% на 7 сутки. Наблюдалось снижение содержания фракции с м.м. 9 кДа на 12%, 27% на 14, 28 сутки, тогда как на 7 сутки произошло повышение на 25%. Установлено повышение содержания фракций 7 кДа, 208кДа на 209%, 147%, 46% и на 50%, 63%, 56% на 7, 14, 28 сутки. Отмечено увеличение содержания фракции 27 кДа на 37% на 7, 14 сутки и 26 % на 28 сутки. Показано повышение содержания фракций 113 кДа на 74% на 7 сутки и снижение на 15%, 21% на 14, 28 сутки. Относительное содержание фракций 105 кДа, 38 кДа снизилось на 16%, 30%, 25% и на 8%, 15%, 17% на 7, 14, 28 сутки, а содержание белковой фракции 45кДа повысилось на 8%, 17% на 14, 28 сутки.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, фракции белков, электрофорез.

БОТАНІКА

УДК 582.28+582.29

***CERCIDOSPORA EPIPOLYTROPA* (MUDD) ARNOLD В УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТАХ**

М. Пірогов, Н. Чепелевська

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

Влітку 2011 року в Українських Карпатах, на горі Петрос (хребет Чорногора) зібрано зразок лишайника *Lecanora polytropa* (Ehrh.) Rabenh., ураженого ліхенофільними грибами. Подальші дослідження зразка показали, що це гриб *Cercidospora epipolytropa* (Mudd) Arnold, який є новим видом для мікобіоти України. У роботі наведено детальний опис виду, відомості щодо поширення у світі, процитовано етикетку гербарного зразка, а також відзначено основні відмінності від близьких видів.

Ключові слова: Петрос, ліхенофільні гриби, новий вид.

Під час літньої навчальної практики зі студентами першого курсу біологічного факультету в Карпатах (Високогірний біологічний стаціонар, хребет Чорногора, Карпатський біосферний заповідник) на горі Петрос був зібраний гербарний зразок лишайника, ураженого ліхенофільним грибом. Як виявилось у ході подальших досліджень, це – не відомий для України вид гриба *Cercidospora epipolytropa*. Для визначення зразка використовували сучасні європейські й американські визначники [2, 3, 5]. Нижче ми подаємо опис виду, а також дані щодо подібних видів грибів, цитуємо гербарну етикетку українського зразка і наводимо загальні відомості щодо поширення виду у світі.

***Cercidospora epipolytropa* (Mudd) Arnold**

in Flora, Jena 57: 154 (1874)

Псевдотеції кулястої форми, (116–)120–172 мкм у діаметрі (за даними інших дослідників, псевдотеції бувають дещо крупніші, 130–220 мкм [5], чи менші 75–100(–125) мкм [3]). Стінка аскомо прозора у нижній частині, ближче до остіолі – коричнева до темно-коричневої. Парафізоїдів багато, 1–1,5 мкм завтовшки. Сумки паличкоподібні з вісьмома спорами (за даними інших дослідників, сумки також бувають з чотирма чи шістьма спорами [3, 4]), 45–52×11 мкм (50–70×9–13 мкм за даними [5]). Спори двоклітинні (за даними [5]), спори також бувають одно- або рідше триклітинні, овально-еліпсоїдні із заокругленими чи частіше із загостреними клітинами, тоді спори веретеноподібні, прозорі, перегородка добре помітна і у цьому місці клітина дещо потовщена. Спори невеликі, (13,2–)13,8–16,2(–17,6)×4,4–5,0 мкм (або дещо крупніші (14–)15–19(–22)×(4,5–)5–6(–7) мкм [5]). Пікніди кулясті, 65–87 мкм у діаметрі (за даними інших дослідників, пікніди бувають значно крупнішими, 100–130 мкм у діаметрі [5]). Конідії прості, прозорі, паличкоподібні, 4,1–4,7×1–1,4 мкм (рис. 1–3).

Паразитиє на слані й апотеціях *Lecanora dispersa* (Pers.) Röhl., *L. intricata* (Ach.) Ach. і *L. polytropa* (Ehrh.) Rabenh., а також на інших представниках роду леканора з цієї групи.

Закарпатська область, Рахівський район, Карпатський біосферний заповідник, хребет Чорногора, гора Петрос, на слані *Lecanora polytropa*, на камінні, 14.07.11 збір. М. Пірогов (LW).

Вид поширений у гірських і альпійських регіонах Європи (Австрія, Британські острови, Данія, Естонія, Фінляндія, Франція, Італія, Норвегія, Польща, Іспанія, Швеція,

Україна), Азії (Непал, Росія), Північної Африки (Марокко, Канарські острови) і Північної Америки (Гренландія, США) [4, 6].

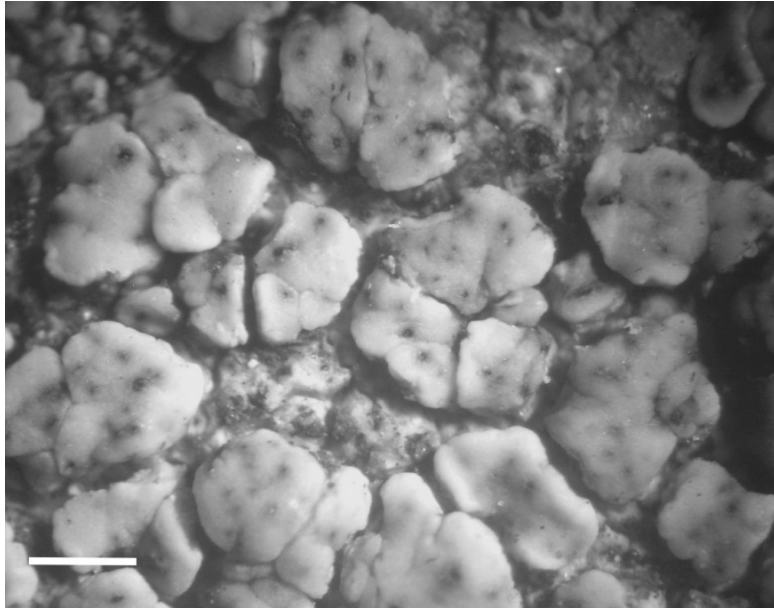


Рис. 1. Апотеції *Lecanora polytropa* (Ehrh.) Rabenh. уражені *Cercidospora epipolytropa* (Mudd) Arnold. Шкала 500 мкм.

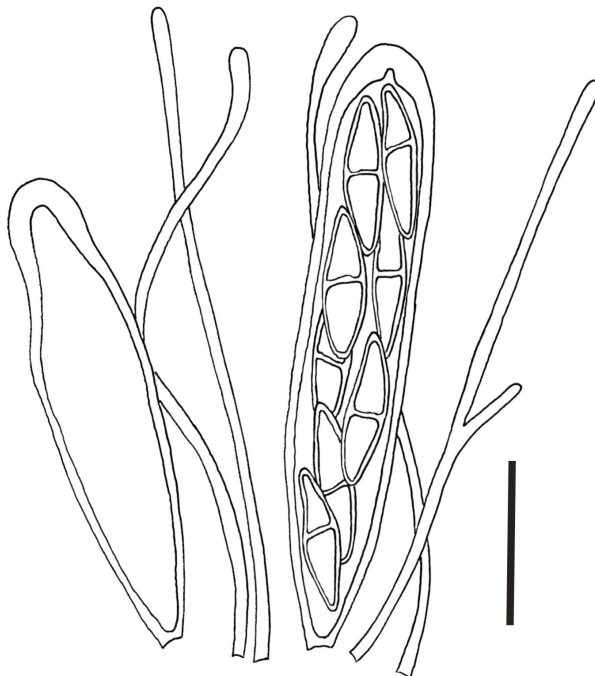


Рис. 2. Аски та парафізоїди *Cercidospora epipolytropa*. Шкала 15 мкм.

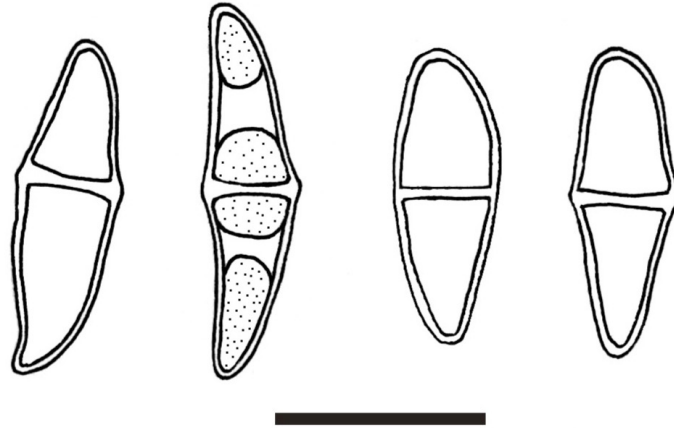


Рис. 3. Аскоспори *Cercidospora epipolytropa*. Шкала 10 мкм.

Від інших представників роду *Cercidospora* вид відрізняється хазяїном, розміром і септованістю спор, їх кількістю у сумці. *C. epipolytropa* також подібний до іншого гриба, *Stigidium squamariae* (B. de Lesd.) Cl. Roux & Triebel., який нещодавно наведений як новий вид для України [1]. *S. squamariae* також розвивається на апотеціях *Lecanora polytropa*. Види відрізняються за такими ознаками: *S. squamariae* уражає повністю весь апотецій леканори, унаслідок чого останній набуває нетипового чорного забарвлення, а його поверхня стає горбкуватою внаслідок масового розвитку псевдотеціїв у гіменіальному шарі лишайника. Тоді як *C. epipolytropa* не змінює забарвлення апотеціїв хазяїна, на них з'являються лише чорні плями у місцях, де розвиваються псевдотеції, а їх розвивається лише по кілька на апотеції хазяїна. *C. epipolytropa* та *S. squamariae* відрізняються також розмірами псевдотеціїв, будовою сумок та спор [1]. Необхідно відзначити, що у Чорногорі ми зібрали також зразки *Lecanora polytropa*, уражені *S. squamariae*.

Отже, *S. squamariae* наразі відомий як із рівнинної частини України, так і з Карпат, а *C. epipolytropa* – лише з альпійського поясу Карпат і, швидше за все, беручи до уваги його поширення у світі, цей вид будуть і надалі збирати дослідники лише у Карпатах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Пірогов М. Ліхенофільні гриби Українського Розточчя // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 59. С. 73–81.
2. Ihlen P. G., Wedin M. An annotated key to the lichenicolous *Ascomycota* (including mitosporic morphs) of Sweden // Nova Hedwigia. 2008. Vol. 86(3–4). P. 275–365.
3. Hawksworth D. L., Atienza V. & Coppins B. J. Artificial Keys to the Lichenicolous Fungi of Great Britain, Ireland, the Channel Islands, Iberian Peninsula, and Canary Islands. Fourth Draft Edition, August 2010. 104 p.
4. Kocourková J. Lichenicolous fungi of the Czech Republic (The first commented checklist) // Acta Mus. Nat. Pragae, Ser. B, Hist. Nat. 2000 [1999]. 55 (3–4). P. 59–169.
5. Navarro-Rosinés P., Calatayud V. & Hafellner J. *Cercidospora* // Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region. Vol. 2. Tempe: Arizona State University, 2004. P. 557–561.

6. *Triebel D., Rambold G., Nash T. H. III* On lichenicolous fungi from continental North America // *Mycotaxon*. 1991. Vol. XLII. P. 263–296.

Стаття: надійшла до редакції 18.12.12

доопрацьована 27.12.12

прийнята до друку 05.02.13

**CERCIDOSPORA EPIPOLYTROPA (MUDD) ARNOLD
IN THE UKRAINIAN CARPATHIANS**

M. Pirogov, N. Chepelevska

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

The herbarium specimen of *Lecanora polytropa* (Ehrh.) Rabenh. with lichenicolous fungi was collected in the Ukrainian Carpathians, Petros Mt. (Chornohora Mts.) during summer 2011. The detail investigations of the specimen revealed investigated lichenicolous fungi to belong to *Cercidospora epipolytropa* (Mudd) Arnold – a new species for Ukraine. The detail description of the mentioned species, distribution data, cited herbarium specimen and basic difference between similar species are given.

Keywords: Petros Mt., lichenicolous fungi, new species.

**CERCIDOSPORA EPIPOLYTROPA (MUDD) ARNOLD
В УКРАИНСКИХ КАРПАТАХ**

Н. Пирогов, Н. Чепелевская

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

Летом 2011 года в Украинских Карпатах, на горе Петрос (хребет Черногора) собран образец лишайника *Lecanora polytropa* (Ehrh.) Rabenh., пораженного лихенофильными грибами. Дальнейшие исследования образца показали, что это гриб *Cercidospora epipolytropa* (Mudd) Arnold, который еще не известен для микобиоты Украины. В работе приведены детальное описание вида, данные о его мировом распространении, цитируется этикетка гербарного образца, а также указаны основные отличия от похожих видов.

Ключевые слова: Петрос, лихенофильные грибы, новый вид.

ДВА ОСНОВНИХ ТИПИ СЕПТАЛЬНИХ НЕКТАРНИКІВ ОДНОДОЛЬНИХ

А. Одінцева

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

У статті пропонується розглядати септальний нектарник як систему екзогенних порожнин усередині зав'язі, яка формується в результаті тих самих морфогенетичних процесів, що і порожнини гнізд зав'язі (конгенітальне та постгенітальне зростання, диференціальний ріст). Враховуючи можливість різного способу об'єднання плодолистків при утворенні синкарпного гінцея, можна виділити два основні, теоретично змодельовані, типи септальних нектарників: об'єднаний і роздільний *sensu novo*. Кожен із цих типів нектарника має кілька вертикальних зон, які можна виявити лише на повній серії поперечних зрізів маточки. Описані в літературі септальні нектарники однодольних переважно відповідають об'єднаному типу *sensu novo* з різною вертикальною зональністю, а поширення роздільного типу *sensu novo* септального нектарника потребує підтвердження.

Ключові слова: однодольні, гінцей, септальні нектарники, вертикальна зональність, постгенітальне зростання.

Описова морфологія септальних нектарників

Септальні нектарники – це вузькі порожнини в перегородках зав'язі, які вкриті залозистим епідермісом, що виділяє нектар. Вони характерні для багатьох родів, які належать до 38% родин однодольних рослин, і відсутні серед дводольних [16, 17]. Різноманітність структури септальних нектарників активно вивчається у зв'язку з питаннями походження й еволюції синкарпного гінцея серед однодольних покритонасінних [12–14]. Існуючі класифікації септальних нектарників – описово-морфологічні. Септальний нектарник у них розглядається як функціональна одиниця або незалежна гістологічна структура. Так, у найбільш детальному зведенні про різноманітність септальних нектарників серед однодольних рослин Е. Дауман [7] класифікував септальні нектарники за трьома групами ознак: за гістологічною структурою секреторного епідермісу, за особливостями секреції нектару та за взаєморозміщенням вивідного каналу і тіла нектарника. Е. Дауман [7] також розділив септальні нектарники на два типи: зовнішні (у вигляді поздовжніх нектарних борозенок на зовнішній поверхні зав'язі) та внутрішні (замкнені ззовні та зсередини нектароносні порожнини в перегородках зав'язі).

Р. Шмід [16] визнавав важливими для класифікації септальних нектарників такі ознаки: 1) положення зав'язі, 2) наявність борозенок на зовнішній поверхні зав'язі, по яких стікає нектар, 3) зовнішній, внутрішній чи комбінований (з поєднанням зовнішньої та внутрішньої структури) тип нектарника за Дауманом, 4) вертикальну протяжність, 5) ступінь відокремлення, 6) обриси нектарника на поперечному перерізі, 7) відстань від центра зав'язі, 8) розміщення вивідних отворів. Він же [16] поділив септальні нектарники на п'ять типів за їх виглядом на поперечному зрізі: нелабіринтні роздільні ("ліліюідні"), нелабіринтні об'єднані, лабіринтні роздільні, лабіринтні об'єднані та лабіринтні об'єднані зі складчастою проліферацією країв плодолистків. До об'єднаних септальних нектарників Р. Шмід зараховував такі нектарники, в яких залозистий епідерміс трьох порожнин нектар-

ника об'єднується в центрі квітки, так що формується спільна нектароносна порожнина, в перерізі трипроменева або похідної від трипроменевої форми (у лабіринтних нектарниках).

В. Ван Хіл [8] уперше звернув увагу на різні способи й етапи формування стінок септального нектарника в його основі, ззовні та зсередини. Так, зовнішня стінка септального нектарника формується конгенітально злитими бічними поверхнями сусідніх плодолистків (меристематична цілісність), внутрішня стінка нектарника формується в результаті постгенітального злипання поверхонь сусідніх плодолистків (дермальне злипання), а основа нектарника обмежується розрослим у процесі морфогенезу апексом квітки. Складчаста поверхня нектарника та борозенки на зовнішній поверхні зав'язі виникають на пізніх стадіях морфогенезу маточки [8].

Виявлення напрямів еволюції септальних нектарників дослідники базують на аналізі перелічених вище описових ознак і систематичній приналежності таксонів із різними описовими типами нектарників [6–8, 13, 14, 16, 17]. При цьому дослідники квітки однодольних часто ототожнюють гінецей зі септальними нектарниками з гемісінкарпним типом гінецея за В. Ляйнфельнером [9]. Наприклад, існує думка [8], що септальний нектарник характерний лише для такого гінецея, в якому плодолистки закладаються вільними або лише частково зрослими між собою, а вільні краї плодолистків є необхідною передумовою для формування септального нектарника.

Проте останнім часом септальні нектарники були описані у гінецеях апокарпного [12, 18] та евсінкарпного [3] структурних типів. Рисунки зрізів квітки у класичній роботі з морфології й анатомії маточки М.Ф. Ван Тігема [20, *plates II-VI*] дають підстави класифікувати гінецей зі септальними нектарниками як евсінкарпний у представників родин *Convallariaceae*, *Amaryllidaceae*, *Hostaceae*, *Hyacinthaceae*, *Iridaceae*, *Cannaceae* та *Maranthaceae*. Це означає, що однозначного зв'язку між наявністю септального нектарника і типом гінецея не існує.

Використання концепції В. Ляйнфельнера [9] щодо вертикальної зональності та класифікації гінецеїв набуває поширення в еволюційній морфології квітки [1–4, 10–12]. Структурний тип гінецея (апокарпний, гемі- або евсінкарпний) визначається з урахуванням його вертикальної зональності, тобто наявності багатогнізної, одногнізної та роздільноплодолисткової структурних зон і наявності повного або неповного зростання країв плодолистків від периферії до центру маточки. Проте будова септального нектарника, який є суттєвою частиною гінецея багатьох однодольних, досі вивчена без зв'язку із зональністю гінецея та без урахування способу об'єднання плодолистків, і цим гальмується прогрес у розумінні напрямів еволюції цілого гінецея однодольних.

У зв'язку з цим ми вирішили провести порівняльно-морфологічний аналіз структури септального нектарника, базуючись на досягненнях морфології гінецея, зокрема на концепції вертикальної зональності гінецея [9] та уявленнях про закономірності морфогенетичних процесів його розвитку [5, 8, 15]. Такий підхід дав нам змогу встановити основні теоретичні моделі організації септальних нектарників, пов'язані з певним структурним типом гінецея.

Порівняльно-морфологічна та функціональна інтерпретація септального нектарника

Септальний нектарник ми розглядаємо як екзогенну (тобто вистелену епідермісом) систему порожнин усередині зав'язі, яка з'єднується з зовнішнім середовищем через вивідні канали або щілини, а також (можливо, лише на ранніх стадіях розвитку) з порожнинами гнізд зав'язі. Септальний нектарник наявний у різноманітних за будовою гінецеях, у яких ступінь і спосіб зростання плодолистків можуть бути різними, як і їхня внутрішня структура

(вертикальна зональність, тип плацентації, кількість насінних зачатків тощо). Зростання плодолистків є необхідною передумовою формування септального нектарника [8].

Про необхідність розділяти конгенітальне та постгенітальне зростання органів квітки наголошували давно [1, 5, 9, 15]. Разом з тим, цьому часто не надають значення, зокрема через те, що у зрілій структурі епідерміси, які злиплися на ранніх стадіях розвитку квітки, важко відрізнити від паренхімних клітин. Конгенітальне зростання ми розглядаємо як результат структурного об'єднання органів або їхніх частин протягом еволюції. Воно виявляється не як морфогенетичний процес, а як цілісність морфологічної структури (*continuity* за [15]), що закладається на апексі квітки, від самих перших етапів її морфогенезу. Тому в місцях гіпотетичних "швів" між конгенітально зрослими органами завжди відсутні їхні епідерміси. Постгенітальне зростання є функціональним об'єднанням органів або їхніх частин, яке можна спостерігати протягом морфогенезу цих органів [15]. Постгенітальне зростання називають *злипанням поверхонь*, або *дермальним злипанням*, причому на ранніх етапах морфогенезу органів помітні їх епідерміси, які згодом щільно злипаються і в зрілій структурі можуть не виявлятися методами світлової мікроскопії. Вважається, що постгенітальне зростання є більш примітивним способом об'єднання органів і протягом еволюції замінюється на конгенітальне. Але така тенденція в багатьох випадках не доведена, а в гінецеї однодольних часто наявні обидва способи зростання [12], у зв'язку з чим їх слід розділяти при еволюційно-морфологічному аналізі гінецея, як це робив Ван Хіл [8].

Розрізняючи конгенітальне та постгенітальне зростання плодолистків і беручи до уваги можливість нерівномірного розростання тканин маточки й апексу квітки протягом морфогенезу (диференціальний ріст), можна припустити, що диференціація внутрішньої структури по вертикалі характерна як для цілого гінецея, так і для септального нектарника зокрема. Основа септального нектарника у зрілій квітці може розміщуватись на різному рівні зав'язі [7] – не завжди на границі плодолистків і апексу квітки, як вважав Ван Хіл [8]. Протягом морфогенезу гінецея відбувається зміна пропорцій частин нектарника, яка може змінити його зональність, але не впливає на принципову організацію. Так можуть формуватись вигнуті у вертикальній площині вивідні канали, а дно та дах нектарних щілин можуть видовжуватись залежно від ступеня розтягу тканин зав'язі. Відповідно, у нижній частині септального нектарника його щілини можуть бути обмежені низу, ззовні та зсередини конгенітально злитими поверхнями плодолистків (*a* на рис. 1, А). На цьому рівні септальний нектарник представлений трьома окремими одиницями, які конгенітально відділені від порожнин гнізд зав'язі і від зовнішнього середовища. Ця мішкоподібна частина септального нектарника є аналогічною базальній асцидіатній частині пельтатного плодолистка і може бути більше або менше розвинута. Вище епідерміси, що вкривають порожнини септальних нектарників, об'єднуються в центрі квітки (*b* на рис. 1, А), формуючи спільну порожнину, або злипаються постгенітально (*e* на рис. 1, А). Ще вище, в зовнішній стінці нектарника формується вивідний канал, який з'єднує порожнину нектарника із зовнішнім середовищем (*z* на рис. 1, А). При цьому вище відходження вивідного каналу може бути наявна зона постгенітального злипання поверхонь плодолистків (*d* на рис. 1, А), на рівні якої тіло нектарника може продовжуватись або бути відсутнім, якщо канал відходить апікально.

Функціонально септальний нектарник не пов'язаний із внутрішньою структурою зав'язі й типом плацент. Він може розміщуватись на різному рівні: під гніздами зав'язі, в їхній основі, в середній або верхній частині [7]. **Кількість насінних зачатків, їхнє розміщення стосовно нектарника, тип плацентації та тип зав'язі (верхня, напівнижня або нижня) та-**

кож бувають різноманітні. Функціональне значення має лише розміщення вивідних отворів септального нектарника й об'єм нектару, що продукується, оскільки ці ознаки пов'язані зі способом і механізмом запилення. Але структурно септальний нектарник розміщений дуже близько з найважливішими частинами зав'язі – плацентами та краями плодолистків, що формують провідниковий тракт для росту пилкових трубок. Тому, принаймні в окремих випадках, слід розглядати перехрещення функцій септального нектарника та компітума (спільного провідникового тяжа для всіх плодолистків) у тих зонах гінецея, де епідерміси септального нектарника та провідникових тканин безпосередньо контактують. Обидві гістологічні структури, – септальний нектарник та провідниковий тракт, – формуються як різновиди залозистого епідермісу плодолистків і, відповідно, можуть бути об'єднані за походженням або функціонально. Наприклад, у нижній зав'язі *Stratiotes aloides* L. – примітивного представника підкласу алісматиди, відсутній септальний нектарник і немає даних про компітум, але є розвинута фертильна гемісимплекатна зона гінецея [2], яка може бути основою для формування обидвох гістологічних структур (рис. 2, А). Проксимальні ділянки адаксіального епідермісу плодолистків у гінецеях більш високого еволюційного рівня диференціюються у провідникову тканину (рис. 2, Б, Г), а зовнішній, абаксіальний епідерміс плодолистків перетворюється на секреторний епідерміс септальних нектарників (рис. 2, В, Г).

З іншого боку, можна припустити розподіл функцій септального нектарника та провідникового тракту, що призведе до відокремлення цих структур у вертикальних зонах гінецея. Просторове розмежування цих типів залозистого епідермісу може призвести до замикання гнізд зав'язі в зоні розміщення спільної порожнини нектарника (рис. 2, В) або, навпаки, до формування окремих щілин нектарника, замкнутих від центру, в зоні розміщення спільного тяжа провідникової тканини (рис. 2, Б, Г).

Об'єднаний і роздільний септальні нектарники

Розглядаючи септальний нектарник як систему екзогенних порожнин у зав'язі, ми визначили можливість існування двох принципово відмінних моделей організації септальних нектарників однодольних. Це об'єднаний *sensu novo* та роздільний *sensu novo* септальний нектарник. Терміни *об'єднаний* та *роздільний* ми використовуємо не в описовому значенні, як це робив Р. Шмід [16], а в **порівняльно-морфологічному значенні**. Вищезазначені терміни, на нашу думку, найкраще відображають суть відмінностей між двома типами нектарників, тому ми зберігаємо їх, проте надаючи їм нового значення.

Об'єднаний септальний нектарник має об'єднані епідерміси для всіх нектарних щілин зав'язі принаймні в тій частині, яка виникає упродовж морфогенезу першою (рис. 1, А). Об'єднаний септальний нектарник виникає в гемісинкарпному або еусинкарпному гінецеї у результаті неповного вентрального зростання бічних частин плодолистків, або в постгенітально синкарпному гінецеї, яким ми вважаємо структурно апокарпний гінецеї із постгенітально злитими плодолистками [4]. Секреторні порожнини такого нектарника можуть бути об'єднаними і формувати цілісну трипроменеву нектарну щілину (об'єднані септальні нектарники *sensu* Шмід [16]) (б на рис. 1, А) або постгенітально зімкнутими в центрі (в на рис. 1, А), тоді формуються три окремі нектарні щілини (роздільні септальні нектарники *sensu* Шмід [16]). Структурна різниця між цими двома варіантами полягає лише в наявності постгенітального злипання центральних частин нектарника або у відсутності такого злипання. З еволюційної точки зору, така відмінність є незначною і легко може зникати у зв'язку зі зміною кількості нектару (трипроменева нектарна щілина має значно більшу площу поверхні залозистого епідермісу і відповідно більшу продукцію нектару,

ніж три окремі нектарні щілини). У зв'язку зі збільшенням секреції нектару можуть виникати лабіринтні об'єднані нектарники та лабіринтні складчасті нектарники *sensu* Шмід [16], які належать до того самого структурного типу об'єданого нектарника *sensu novo*.

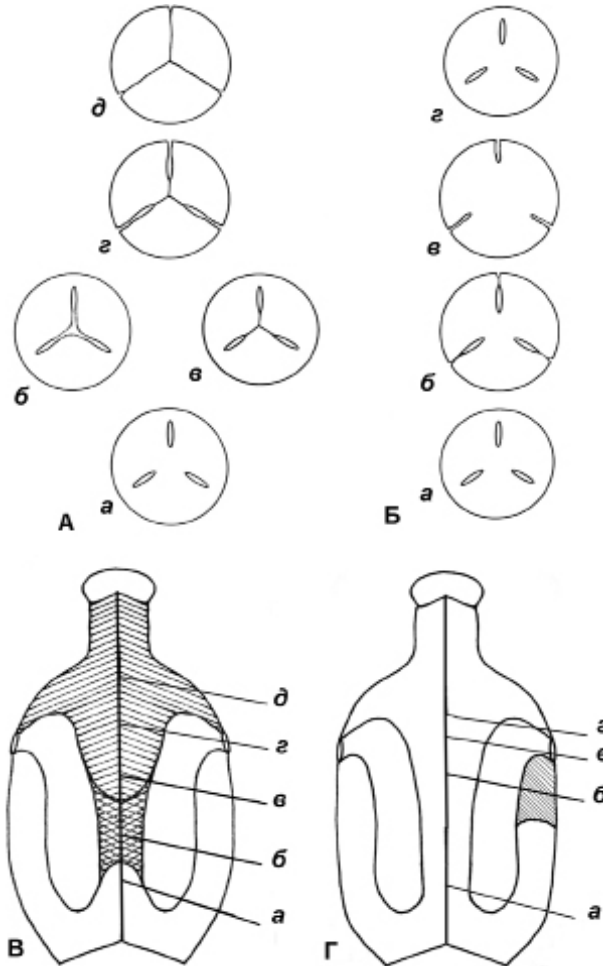


Рис. 1. Схема вертикальної зональності септальних нектарників об'єданого *sensu novo* (А, В) та роздільного *sensu novo* типу (Б, Г). Гнізда зав'язі не показані. Ліва і права половини поздовжнього зрізу на рис. В і Г проведені на радіусах двох септальних нектарників, під кутом 120°. Букви а-д на рис. В і Г відповідають поперечним зрізам на рис. А і Б, ділянка постгенітального зростання заштрихована, ділянка об'єднаних порожнин нектарника показана подвійною штриховкою.

Вертикальна зональність об'єданого септального нектарника може бути складною (рис. 1, В). Так, у його основі нектарні щілини можуть бути відокремленими конгенітально (а на рис. 1, А, В), вище – об'єднуватись (б на рис. 1, А, В), а ще вище – бути відокремленими між собою постгенітально (в, г на рис. 1, А, В). Конгенітальне об'єднання стінок плодолистків зовні нектарних щілин вище відходження вивідного каналу об'єданого нектарника морфогенетично неможливе. У найпростішому випадку об'єднаний септальний нектарник містить лише дві зони, наприклад, зони б та г або в та г на рис. 1, А.

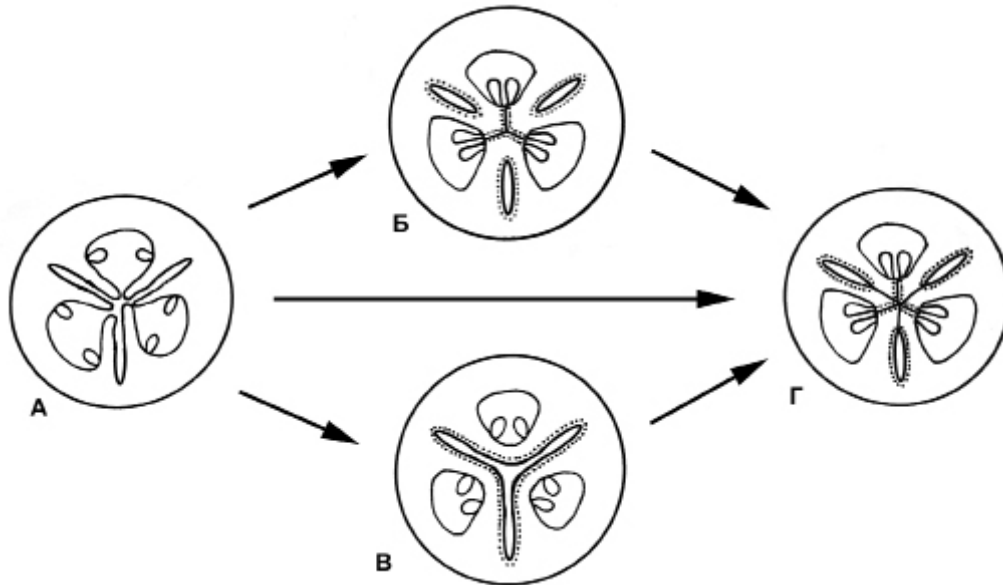


Рис. 2. Схема диференціації зон гінецея і залозистого епідермісу вільних країв плодолистків на септальні нектарники та провідниковий тракт (А–Г). Залозистий епідерміс позначений крапками. Пояснення у тексті.

Роздільний *sensu novo* септальний нектарник складається з трьох нектарних щілин, які на всій висоті не мають спільних епідермісів (*a-g* на рис. 1, Б, Г). Такий нектарник виникає в евскарпному гінецеї *sensu* Ляйнфельнер [9] і у своєму виникненні пов'язаний із зовнішнім нектарником *sensu* Дауман [7], в якому підсилення секреторної функції зумовило заглиблення нектароносних борозенок углиб перегородок зав'язі. Роздільний септальний нектарник виявляє простішу вертикальну зональність, ніж дозволяють морфогенетичні можливості для об'єднаного нектарника. На поперечному зрізі зав'язі зовнішній септальний нектарник завжди буде визначатись як роздільний *sensu* Шмід [16]. Заглиблення нектарних щілин протягом морфогенезу маточки може відбуватись у базальному напрямку, і тоді з'явиться нижня зона з конгеніально замкненими нектарними порожнинами (*a* на рис. 1, Б, Г). Ця зона роздільного септального нектарника аналогічна базальній зоні об'єднаного септального нектарника (*a* на рис. 1, А), але виникає на принципово відмінній морфогенетичній основі. Тому визначати модель септального нектарника необхідно за всією серією поперечних зрізів через зав'язь від основи до верхівки нектарника. Особливо сприятливі умови для виникнення роздільного нектарника створюються у квітці з нижньою зав'яззю, в якій навіть неглибокі нектарні борозенки можуть формувати канали з конгеніально прирослою ззовні до зав'язі квітковою трубкою. Збільшення секреції нектару роздільного нектарника може досягатися шляхом збільшення площі залозистого епідермісу і формування роздільного лабіринтного *sensu* Шмід [16] нектарника. Можна передбачити також гіпотетичну можливість формування верхньої зони з конгеніально замкнутими зовні щілинами роздільного нектарника вище відходження вивідних каналів (*e* на рис. 1, Б, Г), на відміну від об'єднаного нектарника, в якому це неможливо.

У деяких випадках секреторну функцію можуть виконувати ті ділянки епідермісу плодолистків, які розміщені в місці об'єднання нектарних порожнин із зовнішнім середови-

щем (ε на рис. 1, А та ν на рис. 1, Б), такий тип нектарника називають зовнішнім *sensu* Дауман [7]. Відмінність зовнішнього нектарника від внутрішнього полягає лише в розміщенні секреторного епідермісу в нектарниках різного структурного типу, які виділяємо ми. Тому внутрішній і зовнішній тип нектарника можуть поєднуватися в одній квітці та формувати комбінований тип нектарника (*confluent nectaries* за Шмід [16]). Внутрішній септальний нектарник *sensu* Дауман може бути як об'єднаним, так і роздільним *sensu novo*. Зокрема, внутрішньому типу нектарника відповідають зони ε на рис. 1, А (якщо ззовні поверхні плодолистків постгенітально зімкнуться) та ν на рис. 1, Б.

Розміщення вивідних каналів не змінює тип нектарника, оскільки канали завжди розміщуються в зовнішній стінці нектарника, а принциповий структурний тип нектарника залежить від наявності або відсутності об'єднання епідермісів внутрішньої стінки нектарних щілин. Обидва типи нектарників на тому чи іншому рівні ззовні з'єднуються із зовнішнім середовищем.

Об'єднані *sensu novo* септальні нектарники поширені серед різноманітних таксонів однодольних рослин [7, 16, 17]. Не виключено, що в деяких випадках роздільні септальні нектарники помилково описувались так, як об'єднані дослідниками, які не розрізняли конгенітальне та постгенітальне зростання стінок нектарника.

Септальні нектарники з конгенітально замкнутими від центру порожнинами можна знайти на рисунках зрізів квітці у представників порядків Asparagales s. l. та Cannales у роботі М.Ф. Ван Тігема [20] та *Hydrocleis nymphaeoides* (Humb. et Bonpl.) Buchenau (Limnopharitaceae) [7]. Вони також описані А.В. Новіковим [3] в *Ornithogalum caudatum* Ait. Визначати септальні нектарники як роздільні *sensu novo* за літературними даними практично неможливо, якщо автори не описують вертикальну зональність гінецея. Виявлення роздільного септального нектарника у зрілій квітці може бути недостовірним через значну трансформацію тканин плодолистків протягом морфогенезу маточки. Тому дуже бажане, а іноді й необхідне, застосування онтогенетичного підходу з методиками СЕМ і постадійним вивченням структури маточки на поперечних зрізах, починаючи від самих перших етапів закладання плодолистків. Зарахування септального нектарника досліджуваного таксону до об'єданого чи роздільного типу *sensu novo* пов'язане зі встановленням структурного типу гінецея за Ляйнфельнером. Оскільки септальні нектарники відрізняються за своєю вертикальною зональністю, необхідно вивчати їхню структуру на всіх рівнях зав'язі. Важливим етапом порівняльно-морфологічного аналізу септального нектарника є виявлення конгенітального та постгенітального зростання бічних поверхонь плодолистків при утворенні різних його зон.

Походження септальних нектарників

Виділені нами два основні типи септальних нектарників, об'єднаний і роздільний *sensu novo*, неможливо звести один до одного шляхом зміни пропорцій, і вони не можуть поєднуватись в одному гінецеї. Аналогічно можуть виглядати на поперечних зрізах маточки лише деякі їхні зони. Ми вважаємо їх теоретичними моделями двох принципово різних типів гінецея, поширення яких серед однодольних рослин потребує спеціального дослідження.

Виділення цих двох типів септальних нектарників узгоджується з гіпотезою про одноразове виникнення синкарпного гінецея серед однодольних рослин [12]. Вихідним слід вважати апокарпний гінецей (або гінецей із базально зрослими плодолистками) з секреторними бічними поверхнями плодолистків як, наприклад, у *Butomus umbellatus* [7]. Об'єднаний *sensu novo* септальний нектарник може сформуватися при утворенні синкарпного гінецея з

апокарпного або постгенітально синкарпного за умови збереження вільних країв плодолистків. Він також може існувати у двох останніх типах гінецея, які ми відносимо до апокарпного структурного типу [4]. Роздільний септальний нектарник виникає в гінецеї, в якому плодолистки повністю конгенітально зростаються між собою вентральними краями, як у дводольних рослин (евсинкарпний гінецей за Ляйнфельнером [9]). Такий тип гінецея характерний для однодольних середнього та високого еволюційного рівнів, зокрема, для представників порядків *Liliales*, *Asparagales* та *Cannales* [10, 19]. Походження роздільного септального нектарника може бути пов'язане з формуванням нижньої зав'язі або підсиленням секреторної функції зовнішнього нектарника *sensu* Дауман [7] в евсинкарпному гінецеї.

Новий погляд на структурно-функціональну організацію септальних нектарників із застосуванням порівняльно-морфологічного підходу дав змогу встановити два теоретично можливих типи септальних нектарників, які відрізняються за вертикальною зональністю та походженням у різних типах гінецея. Це об'єднаний і роздільний *sensu novo* типи нектарників. Об'єднаний тип нектарника, широко розповсюджений серед однодольних, характеризується наявністю вільних країв плодолистків і об'єднанням нектарних порожнин спільним епідермісом. Вертикальна зональність гінецея та септального нектарника може бути пов'язана з диференціацією функцій двох типів секреторного епідермісу плодолистків на провідниковий тракт і нектароносний шар. Поширення роздільних нектарників потребує дослідження у зв'язку з аналізом вертикальної зональності цілого гінецея однодольних та з'ясуванням шляхів його еволюції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Волгин С. А., Тихомиров В. Н. О структурных типах моноциклического синкарпного гинцея покрытосеменных // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1980. Т. 85. Вып. 6. С. 63–74.
2. Измest'ева С. В., Одінцева А. В. Порівняльна морфологія гінецея *Stratiotes aloides* L. та *Hydrocharis morsus-ranae* L. (Hydrocharitaceae) // Біологічні Студії – *Studia Biologica*. 2010. Т. 4. № 1. С. 115–122.
3. Новіков А. В. Морфологія та васкулярна анатомія квітки *Ornithogalum caudatum* Ait. (Hyacinthaceae) // Біологічні студії – *Studia Biologica*. 2008. Т. 2. № 1. С. 87–94.
4. Одінцева А. В. До питання про принципи класифікації синкарпних гінецеїв // *Modern Phytomorphology: Матер. I Міжнар. конф. (Львів, 24–26 квітня 2012 р.)*. 2012. Т. 1. С. 71–75.
5. Baum H. Über die postgenitale Verwachsung in Karpellen // *Österr. Bot. Zeitschr.* 1948. Bd. 95. S. 86–94.
6. Böhme S. Bromelienstudien III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und systematischer Verwertbarkeit der Septalnectarien von Bromeliaceae // *Akad. d. Wiss. u. d. Literatur, Mainz. – Stuttgart: Steiner*. 1988. 154 s.
7. Daumann E. Das Blütennektarium der Monocotyledonen unter besonderer Berücksichtigung seiner systematischen und phylogenetischen Bedeutung // *Feddes Repert.* 1970. Bd. 80. N 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. Leinfellner W. Der Bauplan des synkarpen Gynözeums // *Österr. Bot. Zeitschr.* 1950. Bd. 97. N 3–5. S. 403–436.
10. Novikoff A. V., Kazemirska M. A. Vascular anatomy and morphology of the flower in *Fritillaria montana* Hoppe (Liliaceae) // *Modern Phytomorphology: Proc. I Intern. Conf. (Lviv, 24–26 april, 2012)*. 2012. Vol. 1. P. 27–35.

11. Novikoff A., Odintsova A. Some aspects of comparative gynoecium morphology in three bromelial species // *Wulfenia*. 2008. Vol. 15. P. 13–24.
12. Remizova M., Sokoloff D., Rudall P. J. Evolution of the monocot gynoecium: evidence from comparative morphology and development in *Tofieldia*, *Japonolirion*, *Petrosavia* and *Narthecium* // *Pl. Syst. Evol.* 2006. Vol. 258. P. 183–209.
13. Rudall P. Homologies of inferior ovaries and septal nectaries in Monocotyledons // *Int. J. Plant Sci.* 2002. Vol. 163. N 2. P. 261–276.
14. Sajo M. G., Rudall P. J., Prychid C. J. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots // *Plant Syst. Evol.* 2004. Vol. 247. P. 215–231.
15. Sattler R. “Fusion” and “continuity” in floral morphology // *Not. Roy. Bot. Gard. Edinburgh*. 1978. Vol. 36. P. 397–405.
16. Schmid R. Functional interpretations of the morphology and anatomy of septal nectaries // *Acta Bot. Neerl.* 1985. Vol. 34. N 1. P. 125–128.
17. Smets E. F., Ronse Decraene L.-P., Caris P., Rudall P. J. Floral nectaries in Monocotyledons: distribution and evolution / Wilson K.L., Morrison D.A. [eds.] *Monocots: systematics and evolution*. Melbourne: CSIRO: 2000. P. 230–240.
18. Stauffer F. W., Barfod A., Endress P. K. Floral structure in *Licuala peltata* (Arecaceae: Coryphoideae) with special reference to the architecture of the unusual labyrinthine nectary // *Bot. J. Linn. Soc.* 2009. Vol. 161. P. 66–77.
19. Takhtajan A. *Flowering Plants*. Sec. Ed. Springer. 2009. 871 p.
20. Tieghem van P. Recherches sur la structure du pistil et sur l’anatomie comparée de la fleur // *Mém. Prés. Divers Savants Acad. Sci. Inst. Impérial France. Sér.2.* 1875. Vol. 21. 261 p.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 22.01.13

прийнята до друку 25.01.13

TWO PRINCIPAL MODELS OF MONOCOTS' SEPTAL NECTARIES

A. Odintsova

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

In this article it is proposed to consider septal nectaries as a system of exogenous cavities inside ovary which develops by the same morphogenetical events as locules of the ovary do (congenital *versus* postgenital fusion, differential growth). Subject to the possibilities of various modes of carpels union in syncarpous gynoecium one can define two principal theoretical models of septal nectaries, common and distinct *sensu novo*. Both of them have several vertical zones detectable only on the whole series of transsections of the pistil. Septal nectaries of Monocots described in the literature mostly correspond to the common model *sensu novo* with various vertical zonality. However, distribution of the distinct model of septal nectaries needs verification.

Keywords: Monocots, gynoecium, septal nectaries, vertical zonality, postgenital fusion.

ДВА ОСНОВНЫХ ТИПА СЕПТАЛЬНЫХ НЕКТАРНИКОВ ОДНОДОЛЬНЫХ**А. Одинцева**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: amorph@ukr.net*

В статье предлагается рассматривать септальный нектарник как систему экзогенных полостей, которая формируется в результате тех же **морфогенетических** процессов, что и гнезда завязи (конгенитальное и постгенитальное срастание, дифференциальный рост). Учитывая возможность различных способов объединения плодолистиков при возникновении синкарпного гинецея, выделено два основных теоретически смоделированных типа септальных нектарников, объединенный и отдельный *sensu novo*. Каждый из них имеет несколько вертикальных зон, которые обнаруживаются на полной серии поперечных срезов пестика. Описанные в литературе септальные нектарники однодольных преимущественно соответствуют объединенному типу *sensu novo* с различной вертикальной зональностью, а распространение отдельного типа септального нектарника требует подтверждения.

Ключевые слова: однодольные, гинецей, септальные нектарники, вертикальная зональность, постгенитальное срастание.

ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ БУДОВИ ЛУСОК ПАПОРОТЕЙ РОДУ ASPENIUM L. ФЛОРИ УКРАЇНИ

О. Вашека*, Ю. Кліщ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Навчально-науковий центр «Інститут біології»
пр. акад. Глушкова, 2, Київ 03022, Україна
e-mail: vasheka_olena@mail.ru

Описано мікроморфологічні ознаки будови лусок 13 видів папоротей роду *Asplenium* L. флори України (*Asplenium adiantum-nigrum* L., *A. × adulteriniforme* Lovis, Melzer & Reichst., *A. × alternifolium* Wulfen ex Jacq., *A. ceterach* L., *A. cuneifolium* Viv., *A. fontanum* (L.) Bernh., *A. obovatum* Viv. subsp. *lanceolatum* (Fiori) P.Silva, *A. rutamuraria* L., *A. scolopendrium* L., *A. septentrionale* (L.) Hoffm., *A. × souchei* Litard., *A. trichomanes* L., *A. viride* Huds.). На основі описів складено ключ, що дає можливість ідентифікувати види роду *Asplenium* флори України.

Ключові слова: *Asplenium*, флора України, луски папоротей.

Родина *Aspleniaceae* Mett. ex A.V. Frank об'єднує понад 700 видів наземних та епіфітних папоротей і велику кількість гібридів, що поширені майже в усіх регіонах земної кулі. Родина включає від одного до десяти родів, найбільшим серед яких є *Asplenium* s.l. Невеликі сегрегатні роди, такі як *Diellia* Brack. (ендемик Гавайських островів), *Pleurosorus* Fée, *Phyllitis* Hill, *Ceterach* Willd., *Thamnopteris* C. Presl та деякі інші останнім часом включають до роду *Asplenium* L. [7, 19-23]. У складі флори України прийнято було розглядати родину у складі трьох родів – *Asplenium*, *Phyllitis* і *Ceterach* [3, 5, 8].

За останніми даними [1, 2, 11, 18], в Україні рід *Asplenium* s.l. налічує 14 видів. Дані про поширення деяких із них (наприклад, *Asplenium fontanum* (L.) Bernh., *A. cuneifolium* Viv., *A. × adulteriniforme* Lovis, Melzer & Reichst., *A. × heufleri* Reichardt) потребують уточнення та подальшого опрацювання. На заваді цьому стає проблема ідентифікації рослин, вирішення якої потребує створення ключів, що враховували б не тільки макроморфологічні, а й мікроморфологічні особливості будови рослин.

Одними із специфічних утворів вегетативних органів папоротеподібних є луски, що утворюються на верхівках кореневищ, черешках, рахісах та іноді на пластинках вай. Вони є одношаровими склеренхіматизованими утворами епідерми (енаціями) [13]. Оскільки деталі будови лусок мають систематичне значення, їх мікроскопічному аналізу приділяється значна увага в дослідженнях, присвячених таксономії папоротей. Зокрема, деталі будови лусок мають значення при описі нових видів і таксонів внутрішньовидового рангу [14-16]. Однак дані щодо будови лусок практично відсутні та не використовуються у вітчизняних визначниках і флорах [3, 5, 8].

Застосування при ідентифікації видів папоротей додаткових мікроморфологічних ознак не лише дає змогу визначати рослини в природних умовах за відсутності інших ознак (наприклад, взимку), а й може бути використане для ідентифікації компонентів фітозборів у фармакогнозії [12]. Це відіграє важливу роль для розвитку сфер практичного застосування папоротей: використання деяких видів як медичної і технічної сировини, споживання в їжу вай і кореневищ окремих видів, використання у народній медицині, зеленому будівництві й фітодизайні [9, 17].

Матеріали та методи

Матеріал для мікроморфологічних досліджень було отримано з рослин роду *Asplenium* L., що росли на колекційній ділянці вищих спорових рослин Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна. Для досліджень із рослин кожного виду відбирали мінімум по 20 лусок зі семи вай різних екземплярів.

Об'єктами досліджень були такі представники флори України: *Asplenium adiantum-nigrum* L., *A. × adulteriniforme* Lovis, Melzer & Reichst (*A. trichomanes* L. ssp. *trichomanes* × *A. viride* Huds.), *A. × alternifolium* Wulfen ex Jacq (*A. septentrionale* (L.) Hoffm. × *A. trichomanes* L.), *A. ceterach* L., *A. cuneifolium* Viv., *A. obovatum* Viv. subsp. *lanceolatum* (Fiori) P.Silva (*Asplenium billotii* F. W. Schultz), *A. ruta-muraria* L., *A. scolopendrium* L., *A. septentrionale* (L.) Hoffm., *A. × souchei* Litard. (*A. adiantum-nigrum* × *A. septentrionale* subsp. *septentrionale*), *A. trichomanes* L., *A. viride* Huds., *A. fontanum* (L.) Bernh.

Препарати для мікроскопічного дослідження виготовляли шляхом розміщення лусок на предметних скельцях, без додаткової фіксації та фарбування.

Отримані препарати досліджувалися за допомогою портативної лупи Regola та мікроскопа Carl Zeiss Primo Star на різних збільшеннях. Проміри параметрів робили за допомогою окуляр-мікрометра та програми ScopePhoto. Мікрофотографії були виконані камерою Scope Tek E DCM 510 з використанням програми ScopePhoto. Для фотографування об'єктів, розміри яких були більшими за 5 мм, застосовували камеру Olympus Camedia C-7070 в режимі макрозйомки.

Цифрову обробку фотографій проводили з використанням програм Adobe Photoshop CS5, Axiovision Rel. 4.8 та Autopano Giga v2.02.

Описи здійснювали відповідно до загальноприйнятої методики за атласом з описової морфології [10]. **До уваги брали такі ознаки: характер розташування лусок (при основі черешків, на верхівці кореневищ, на абаксіальній поверхні пластинок), колір, лінійні розміри, форму проєкції, форму основи та верхівки, характер країв (гладенькі або з відростками).**

Статистичну обробку результатів вимірювання проводили у програмі Microsoft Excel за рекомендаціями Г.Ф. Лакіна [6]. Ключ для визначення видів розробляли за методикою А. В. Галаніна [4].

Результати і їхнє обговорення

Для всіх досліджених нами представників родини Aspleniaceae були притаманні одношарові клатратні луски, тобто такі, що склалися із клітин зі сильно потовщеними бічними стінками та мали вигляд сітчастої структури. Залежно від виду, вони розміщувались на верхівці кореневищ, на черешках, уздовж жилок на пластинках вай, а також цілком вкривали їхню абаксіальну поверхню. Узагальнена характеристика наведена в таблиці.

Для більшості видів було характерне розміщення лусок лише на верхівці кореневищ та при основі черешків. Лише у *A. ceterach* відзначені луски двох типів: вузькотрикутні, що розміщувались на верхівках кореневищ, і трикутні зі серцеподібною основою, які повністю вкривали абаксіальну поверхню вай. Такий тип розміщення, ймовірно, є пристосуванням до ксерофітного способу життя рослин даного виду, які при нестачі вологи здатні скручувати вай та впадати в анабіоз.

Найкраще луски помітні у процесі розгортання равликоподібно закручених вай. За розмірами найбільшими (до 1 см завдовжки) були луски у *A. scolopendrium* та *A. obovatum* subsp. *lanceolatum* (рис. 1), а для двох видів – *A. septentrionale* та його гібриду *A. × alternifolium* були характерні мікроскопічні (менші за 1 мм) членисті луски (рис. 2), що виражені лише на черешках молодих вай. Ще один гібридогенний вид - *A. × heufleri* – нами не був досліджений за браком матеріалу, однак можна зробити припущення, що рослинам цього виду також притаманні мікроскопічні луски. Для інших видів були характерні луски від 1 до 5 мм завдовжки, що мали форму від волосоподібної (*A. viride*) до трикутної (*A. ceterach*). Загальний вигляд лусок представлено на рис. 1.

Характеристика будови лусок папоротей родини Aspleniaceae флори України

Вид	Колір	Форма			Розміри, мм	
		Загальна	Край	Верхівка	Довжина	Ширина
<i>A. adiantum-nigrum</i>	Чорно-коричневий	Видовженотрикутна	3 відростками	Волосоподібно відтягнута	4,66±0,21	0,50±0,018
<i>A. x adulteriniforme</i>	Майже чорний	Вузькотрикутна	3 відростками	Видовжена	2,53±0,12	0,34±0,011
<i>A. x alternifolium</i>	Бурий	Лінійна	Рівний	Булавовидно потовщена	0,20±0,009	0,034±0,0015
<i>A. ceterach</i> (прикореневі)	Майже чорний	Вузькотрикутна, при основі виімчаста	Виімчастий	Видовжена	2,24±0,094	0,49±0,023
<i>A. ceterach</i> (абаксіальні)	Світло-коричневий	Трикутна, при основі серцеподібна	Виімчастий	Видовжена	1,35±0,064	0,7±0,029
<i>A. cuneifolium</i>	Коричневий	Вузькотрикутна	Рівний	Волосоподібна	2,31±0,10	0,28±0,012
<i>A. fontanum</i>	Чорний	Видовженотрикутна	Рівний	Видовжена	1,89±0,085	0,24±0,012
<i>A. obovatum subsp. lanceolatum</i>	Майже чорний	Вузькотрикутна	Рівний	Відтягнута	9,8±0,43	0,91±0,026
<i>A. ruta-muraria</i>	Майже чорний	Вузькотрикутна	Рівний	Видовжена	1,98±0,088	0,13±0,0057
<i>A. septentrionale</i>	Світло-бурий	Намистоподібна	Однорядний	Рівна	0,20±0,0087	0,039±0,0017
<i>A. scolopendrium</i>	Зеленувато-бурий	Трикутна	Рівний	Відтягнута	9,57±0,20	2,25±0,09
<i>A. x souchei</i>	Майже чорний	Видовженотрикутна	3 відростками	Загострена	3,07±0,14	0,39±0,018
<i>A. trichomanes</i>	Майже чорний	Вузькоюйцеподібна	Рівний	Видовжена, відігнута до основи	1,22±0,052	0,18±0,007
<i>A. viride</i>	Майже чорний	Волосоподібна	Рівний	Видовжена	1,26±0,059	0,066±0,001

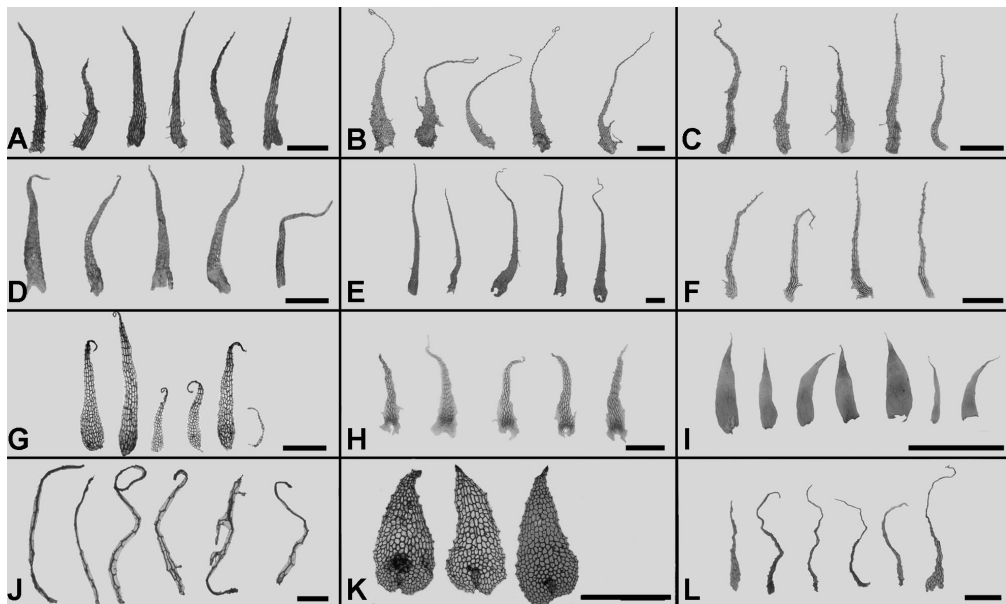


Рис. 1. Луски папоротей родини Aspleniaceae флори України: А – *A. x souchei*; В – *A. adiantum-nigrum*; С – *A. x adulteriniforme*; D – *A. fontanum*; Е – *A. obovatum subsp. lanceolatum*; F – *A. ruta-muraria*; G – *A. trichomanes*; H – *A. ceterach* (луски на кореневищі); I – *A. scolopendrium*; J – *A. viride*; K – *A. ceterach* (абаксіальні луски); L – *A. cuneifolium*, (масштаб лінійки: А-Н, J-L – 1 мм, I – 1 см).

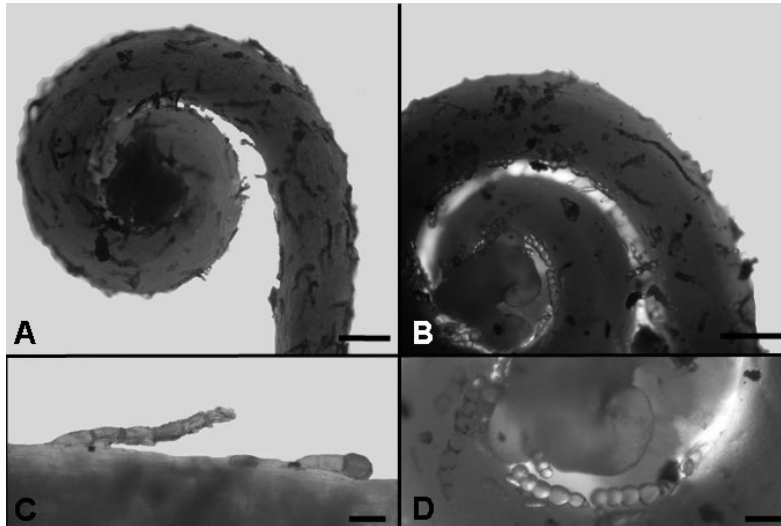


Рис. 2. Мікроскопічні луски: А, С - булавоподібні трихоми *A. x alternifolium*; В, D – намистоподібні трихоми *A. septentrionale* (масштаб лінійки: А, В – 0,5 мм; С, D – 100 мкм).

Отже, наведені дані показують, що луски досліджених видів різняться за характером розміщення, розмірами, формою, кольором, а отже, доцільно використати їхні ознаки з метою створення ключа для визначення видів флори України.

За викладеними вище даними була складена матриця розподілу видів родини *Aspleniaceae* флори України у просторі за 16 ознаками, причому кожна з ознак мала тільки два стани: «+» або «-». Аналіз матриці, проведений за методом графів, допоміг побудувати ключ, що дає можливість визначити рослини 13 видів за діагностичними ознаками їх лусок.

Ключ для визначення таксонів роду *Asplenium* у флорі України:

1. Луски вкривають всю абаксіальну поверхню пластинки..... *A. ceterach*
– Луски розміщені при основі черешків або наявні в період розгортання вай 2
2. Луски однорядні, мікроскопічні, помітні лише в період розгортання вай, розвинені пластинки голі 3
– Луски багаторядні 4
3. Луски булавоподібно потовщені на верхівці *A. x alternifolium*
– Луски намистоподібні, на верхівці не потовщені *A. septentrionale*
- 4 (2). Довжина лусок перевищує 7 мм..... 5
– Довжина луски менша за 7 мм 6
5. Луски трикутні, зеленувато-бурі, завдовжки до 10 мм..... *A. scolopendrium*
– Луски вузькотрикутні з відтягнутою верхівкою та серцеподібною основою *A. obovatum subsp. lanceolatum*
- 6 (4). Луски лінійні або волосоподібні..... 7
– Луски вузькотрикутні, видовженотрикутні або вузькояйцеподібні 8
7. Луски лінійні або волосоподібні, складаються з 2-3 рядів клітин..... *A. viride*
– Луски складаються з більше ніж 3 рядів клітин, іноді розширені при основі *A. cuneifolium*
- 8 (6) Луски яйцеподібні із відігнутою до основи верхівкою..... *A. trichomanes*
– Луски вузькотрикутні або видовженотрикутні..... 9
9. Верхівка лусок відтягнута у волосоподібний відросток..... 10

- Верхівка загострена або коротко відтягнута 11
10. Луски видовженотрикутні, при основі розширені, мають бічні відростки, апікальний відросток майже дорівнює довжині луски *A. adiantum-nigrum*
- Луски вузькотрикутні, апікальний відросток не перевищує 1/4 довжини луски
..... *A. x adulteriniforme*
- 11 (9). Краї лусок рівні, без відростків *A. fontanum*
- Краї лусок з відростками 12
12. Луски видовженотрикутні *A. x souchei*
- Луски вузькотрикутні з колінчастою верхівкою *A. ruta-muraria*
- Отже, будова лусок є видоспецифічною, а тому може бути застосована як діагностична ознака при визначенні видів. Побудований нами ключ дає змогу визначити 13 видів роду *Asplenium* флори України, і його можна використовувати для визначення рослин з молодими недиференційованими вайями.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Безсмертна О. О.* Папоротеподібні флори України: хорология, ценология, охорона: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. К., 2012. 20 с.
2. *Безсмертна О. О., Перегрим М. М., Вашека О. В.* Рід *Asplenium* L. (**Aspleniaceae**) у природній флорі України // Укр. ботан. журнал. 2012. Т. 69. № 4. С. 544–558.
3. *Визначник рослин України / за ред. Д.К. Зерова.* К.: Урожай, 1965. 866 с.
4. *Галанин А. В.* Метод графов при составлении дихотомических ключей для определения растений: препринт. Магадан, 1988. 61 с.
5. *Дідух Я. П., Плюта П. Г., Протопопова В. В.* та ін. Екофлора України. Т. 1. / відпов. ред. Я.П. Дідух. К.: Фітосоціоцентр, 2000. 284 с.
6. *Лакін Г. Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
7. *Мосякін С. Л., Тищенко О. В.* Прагматична філогенетична класифікація спорових судинних рослин флори України // Укр. ботан. журнал. 2010. Т. 67. №6. С. 802–817.
8. *Определитель высших растений Украины / отв. ред. Ю.Н. Прокудин.* К.: Наук. думка, 1987. 547 с.
9. *Стеценко Н. М.* Папороті: інтродукція, розмноження, біохімія, господарське значення, народна медицина. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 140 с.
10. *Федоров А. Л., Куртичников М. Э., Артюшенко З. Т.* Атлас по описательной морфологии высших растений. Лист. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1956. 306 с.
11. *Червона книга України: Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха.* К.: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.
12. *Шретер А. И., Карнишина Л. М.* Использование папоротников флоры СССР в научной и народной медицине // Растит. ресурсы. 1975. Т. 11. № 4. С. 585–597.
13. *Эсау К.* Анатомия растений. М.: Мир, 1969. 565 с.
14. *Gabancho L. R., Prada C.* The genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in Cuba, including new combinations for the Neotropical species // Amer. Fern J. 2011. Vol. 101. N 4. P. 265–281.
15. *Lin S.-J., Ebihara A., Wang D., Iwatsuki K.* Systematic studies of *Polystichum* (Dryopteridaceae) in Japan (I): *P. fibrillosopaleaceum* var. *marginale* is a diploid hybrid between *P. fibrillosopaleaceum* and *P. igaense* // Amer. Fern J. 2011. Vol. 101. N 4. P. 295–306.
16. *Matos F. B., Labiak P. H., Sylvestre L. S.* A new Brazilian species of the genus *Asplenium* L. (Aspleniaceae) // Amer. Fern J. 2009. Vol. 99. N 2. P. 101–105.

17. May L. W. The economic uses and associated folklore of ferns and fern allies // Bot. Review. 1978. Vol. 44. N 4. P. 491–528.
18. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kiev, 1999. 345 p.
19. Murakami N., Nogami S., Watanabe M., Iwatsuki K. Phylogeny of Aspleniaceae inferred from rbcL nucleotide sequences // Amer. Fern J. 1999. Vol. 89. N 4. P. 232–243.
20. Pinter I., Bakker F., Barrett J. et al. Phylogenetic and biosystematic relationships in four highly disjunct polyploid complexes in the subgenera *Ceterach* and *Phyllitis* in *Asplenium* (Aspleniaceae) // Org. Diver. Evol. 2002. Vol. 2. P. 299–311.
21. Schneider H., Smith A. R., Cranfill et al. *Gymnogrammitis dareiformis* is a polygrammoid fern (Polypodiaceae) — Resolving an apparent conflict between morphological and molecular data // Pl. Syst. Evol. 2002. 234. P. 121–136.
22. Smith A. R., Pryer K. M., Schuettpelz E. et al. A classification for extant ferns // Taxon. 2006. Vol. 55. N 3. P. 705–731.
23. Van den Heede C. J., Viane R. L. L., Chase M. W. Phylogenetic analysis of *Asplenium* subgenus *Ceterach* (Pteridophyta: Aspleniaceae) based on plastid and nuclear ribosomal ITS DNA sequences // Amer. J. Bot. 2003. Vol. 90. P. 481–493.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 04.02.13

прийнята до друку 15.02.13

SCALES MORPHOLOGY AND ITS VALUE FOR IDENTIFICATION OF ASPLENIUM L. FERNS OF UKRAINE

O. Vasheka, J. Klishch

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
Education and Scientific Centre “Institute of Biology”
2, Hlushkov Ave., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: vasheka_olena@mail.ru*

Scales micromorphological characters of 13 ferns species of genus *Asplenium* L. from Ukrainian flora (*Asplenium adiantum-nigrum* L., *A. × adulteriniforme* Lovis, Melzer & Reichst., *A. × alternifolium* Wulfen ex Jacq., *A. ceterach* L., *A. cuneifolium* Viv., *A. fontanum* (L.) Bernh., *A. obovatum* Viv. subsp. *lanceolatum* (Fiori) P.Silva, *A. ruta-muraria* L., *A. scolopendrium* L., *A. septentrionale* (L.) Hoffm., *A. × souchei* Litard., *A. trichomanes* L., *A. viride* Huds.) have been described. On the basis of descriptions a key for identification of *Asplenium* species of the Ukrainian flora has been created.

Keywords: *Asplenium*, flora of Ukraine, fern scales.

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ ЧЕШУЕК ПАПОРОТНИКОВ
РОДА ASPLENIUM L. ФЛОРЫ УКРАИНЫ**

Е. Вашека, Ю. Клищ

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

Учебно-научный центр «Институт биологии»

пр. акад. Глушкова, 2, Киев 03022, Украина

e-mail: vasheka_olena@mail.ru

Описаны микроморфологические признаки строения чешуек 13 видов папоротников рода *Asplenium* L. флоры Украины (*Asplenium adiantum-nigrum* L., *A. × adulteriniforme* Lovis, Melzer & Reichst., *A. × alternifolium* Wulfen ex Jacq., *A. ceterach* L., *A. cuneifolium* Viv., *A. fontanum* (L.) Bernh., *A. obovatum* Viv. subsp. *lanceolatum* (Fiori) P.Silva, *A. ruta-muraria* L., *A. scolopendrium* L., *A. septentrionale* (L.) Hoffm., *A. × souchei* Litard., *A. trichomanes* L., *A. viride* Huds.). На основании описаний создан ключ, который дает возможность идентифицировать виды рода *Asplenium* флоры Украины.

Ключевые слова: Asplenium, флора Украины, чешуйки папоротников.

ОСОБЛИВОСТІ ЦВІТІННЯ ТА ПЛОДОНОШЕННЯ ДЕЯКИХ ІНТРОДУКОВАНИХ ВИДІВ РОДУ *LONICERA* L. В УМОВАХ БОТАНІЧНОГО САДУ ІМЕНІ АКАДЕМІКА О.В. ФОМІНА

В. Лавріненко

*Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова
Інститут природничо-географічної освіти та екології
вул. Пирогова, 9, Київ 10601, Україна
e-mail: viktlav@ukr.net*

Фази цвітіння та плодоношення інтродукованих видів роду *Lonicera* L. досить тривалі та залежать від суми накопичених ефективних температур і географічного походження видів. Постійність проходження даних фаз свідчить, що види роду *Lonicera* є достатньо адаптовані до нових умов і можуть використовуватись у практиці декоративного садівництва на території Лісостепу України.

Ключові слова: цвітіння, плодоношення, адаптація, плід.

Рід Жимолость – *Lonicera* L. (*Caprifoliaceae* Juss.) – налічує понад 200 видів, які поширені у помірних і субтропічних областях Європи, Північної Африки, Азії (до островів Ява і Філіппінських), у Північній Америці (до Мексики) [5–7]. В Україні у дикому вигляді росте лише три види: *Lonicera nigra* L., *Lonicera xylosteum* L. і *Lonicera coerulea* L. [1].

Колекція інтродукованих видів роду *Lonicera* L. у Ботанічному саду імені академіка О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка була започаткована з моменту його заснування. Згідно з документами, у 1884 р. ця колекція складалася з 15 видів. Станом на 2002 р. колекція роду *Lonicera* налічувала 25 видів. На сьогодні в колекції 40 видів роду *Lonicera*, які представляють дві секції: *Isika* і *Coeloxylosteum*. Секція *Isika* містить 19 видів, які належать до 6 підсекцій, центри походження: Європа, Середземномор'я, Північна Америка, Японія, Китай. Секція *Coeloxylosteum* містить 21 вид, ці види входять до 5 підсекцій, центри походження: Євразія, Японія, Китай. Саме в екологічних умовах цих регіонів сформувались їхні біоморфологічні, фізіологічні та генетичні особливості.

Мета дослідження: виявити особливості проходження фаз цвітіння та плодоношення інтродукованих видів жимолості в умовах Ботанічного саду імені академіка О.В.Фоміна.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були 20 видів із колекції роду *Lonicera*, які інтродуковані з різних регіонів (з Європи, Західного та Східного Сибіру, Далекого Сходу, Північної Америки, Японії, Китаю, Монголії та країн Середземномор'я, а також із флори України) і ростуть у відкритому ґрунті на території Ботанічного саду імені академіка О.В.Фоміна. Фенологічні спостереження проводили протягом двох вегетаційних періодів за методикою І.О. Зайцева [2]. Групування видів жимолості за термінами початку і кінця цвітіння ми провели за методом Н.В. Рябової [4].

Результати і їхнє обговорення

Фенологічні спостереження за видами роду *Lonicera* дали змогу встановити, що переважна більшість рослин цвіте і плодоносить у відкритому ґрунті на колекційних ділянках Ботанічного саду. Генеративний період у досліджуваних видів розпочинається

у віці 3–4-х років. За початком фази цвітіння нами був прийнятий початок розпускання квіткових бруньок, за кінець цвітіння – повне опадання пелюсток, а фаза плодоношення – від початку дозрівання плодів.

Таблиця 1

Тривалість цвітіння видів роду *Lonicera* L.

№ п/п	Назва виду форми, сорту	Цвітіння 2011		Тривалість цвітіння, дні	Цвітіння 2012		Тривалість цвітіння, дні
		початок	кінець		початок	кінець	
1	<i>L. tatarica</i> L.	12.05.	20.05	8±2	2.05.	25.05	23±4
2.	<i>L. prolifera</i> Rehd.	28.05	7.06	11±2	11.05	20.05	9±1
3.	<i>L. pileata</i> Oliv.	14.05	27.05	13±2	10.05	25.05	15±2
4.	<i>L. ferdinandi</i> Franch.	23.05	30.05	6±2	16.05	27.05	11±1
5.	<i>L. maackii</i> Maxim.	16.05	28.05	12±3	8.05	23.05	15±3
6.	<i>L. nigra</i> L.	9.05	15.05	6±1	17.04	22.04	5±1
7.	<i>L. ciliosa</i> Poir.	20.05	28.05	8±3	9.05	21.05	12±2
8	<i>L. henryi</i> Hems.	4.06	17.06	13±2	22.05	11.06	19±3
9.	<i>L. ruprechtiana</i> Regel.	14.05	21.05	7±3	4.05	15.05	11±4
10.	<i>L. edulis</i> L.	11.05	18.05	7±2	2.05	10.05	8±3
11.	<i>L. stenantha</i> Pojark.	10.05	19.05	9±2	24.04	5.05	11±1
12.	<i>L. caerulea</i> L.	2.05.	11.05	9±2	20.04	4.05	14±3
13.	<i>L. baltica</i> Pojark	8.05	17.05	9±3	3.05	12.05	9±2
14.	<i>L. webbiana</i> Wall.	11.05	18.05	7±2	6.05	13.05	7±2
15.	<i>L. etrusca</i> Santi	24.05.	4.06.	9±3	17.05	28.05	11±3
16.	<i>L. fragrantissima</i> Lindl.et Paxt.	–	–	–	10.04	28.04	18±3
17.	<i>L. korolkowii</i> Stapf	18.05.	27.05	9±2	12.05	23.06	11±2
18.	<i>L. alpigena</i> L.	14.05	23.05	9±1	2.05	10.05	8±1
19.	<i>L. japonica</i> Thunb.	–	–	–	–	–	–
20.	<i>L. xylosteum</i> L.	30.05	12.06	13±2	26.05	11.05	15±2

З наведених у табл. 1 даних видно, що фаза цвітіння вегетаційного періоду 2011 р. більшості видів колекційних рослин відбувалась у травні (з 10.05 по 21.05) і тривала приблизно 9±2 дні, а у 2012 р. з 04.05. по 25.05 і тривала 11±3 дні. За метеорологічними даними, в період березня–квітня 2012 р. температура повітря перебувала в межах +9 ... +16°C, на відміну від попередніх 2010–2011 рр., коли температура повітря коливалася в межах +4 ... +8°C. Це зумовило швидке набухання і розпускання вегетативних та генеративних бруньок. Тому, на відміну від попереднього 2011 р., фаза цвітіння у дослідних видів розпочалася на 5–8 днів раніше і тривала на 4–6 днів довше. Найдовша фаза цвітіння відзначена у видів: *L. pileata* Oliv. (13±2 дні), *L. maackii* Rupr. (12±2 дні), *L. ferdinandi* Franch. (11±2 дні), *L. ciliosa* (Pursh) Poir. (12±3 дні), *L. ruprechtiana* Regel. (11±2 дні). Найкоротша фаза цвітіння була у видів: *L. nigra* L. (5±1 дні), дещо довший у *L. edulis* L. (7±2 дні) і *L. webbiana* Wall. (7±2 дні).

Ми погоджуємося з думкою Н.В. Рябової [4], що період цвітіння жимолостей у різні роки може зміщуватися від середніх дат залежно від погодних умов, але в черговості зацвітання зберігається стабільність.

Серед дослідних видів раннє цвітіння характерне для видів: *L. nigra* L., *L. stenantha* Pojark., *L. caerulea* L., *L. fragrantissima* Lindl.et Paxt. Серед них *L. nigra* – абориген, який цві-

те і плодоносить кожного року. Природний ареал видів *L. stenantha* Rojark. і *L. caerulea* L. – Сибір, де середня температура січня $-17,7^{\circ}\text{C}$, липня $+19,7^{\circ}\text{C}$, тож за даними власних феноспостережень можна з впевненістю сказати, що дані види адаптувались до ґрунтово-кліматичних умов регіону дослідження. Необхідно зазначити, що вид *L. fragrantissima* Lindl. et Paxt. (центр походження Сх. Китай), який належить до ранньоквітучих [4], за період феноспостережень квітував лише у 2012 р. в період з 10.04 по 28.04, вид *L. japonica* L. (центр походження Японія, Китай, Корея) за роки наших спостережень і спостережень співробітників саду не квітував узагалі, оскільки щороку підмерзав.

Одержані результати фенологічних спостережень дали нам можливість розділити досліджувані види роду *Lonicera* на феногрупи за термінами початку і кінця цвітіння.

Таблиця 2

Групи видів роду *Lonicera* за термінами початку і кінця цвітіння

Загальні феногрупи	Підгрупи за терміном цвітіння	Види жимолості
Раннього цвітіння	РР – ранні	<i>L. stenantha</i> , <i>L. nigra</i> , <i>L. fragrantissima</i> , <i>L. caerulea</i>
	РС – ранні	<i>L. tatarica</i> , <i>L. ruprechta</i> , <i>L. baltica</i> , <i>L. webbiana</i> <i>L. alpigena</i>
	РП – ранні	-
Середнього цвітіння	СР – середні	<i>L. ciliosa</i> , <i>L. maackii</i> , <i>L. pileata</i>
	СС – середні	-
	СП – середні	-
Пізнього цвітіння	ПР – пізні	<i>L. xylosteum</i> , <i>L. korolkowii</i> , <i>L. prolifera</i>
	ПС – пізні	<i>L. henryi</i> .
	ПП – пізні	-
Раннього відцвітання	РР – ранні	<i>L. nigra</i> , <i>L. fragrantissima</i>
	РС – ранні	-
	РП – ранні	-
Середнього відцвітання	СР – середні	<i>L. stenantha</i>
	СС – середні	<i>L. xylosteum</i> , <i>L. alpigena</i> , <i>L. webbiana</i> , <i>L. baltica</i> <i>L. edulis</i> , <i>L. ruprechtiana</i>
	СП – середні	<i>L. ciliosa</i> , <i>L. maackii</i> , <i>L. ferdinandi</i> , <i>L. pileata</i> <i>L. tatarica</i> , <i>L. prolifera</i>
Пізнього відцвітання	ПР – пізні	<i>L. korolkowii</i> , <i>L. henry</i>
	ПС – пізні	-
	ПП – пізні	-

Групуючи види за термінами початку і кінця цвітіння (див.табл. 2), ми відзначили тільки п'ять груп із дев'яти. До групи РР – цвітіння входить 4 види, РС – 5 видів, СР – 3 види, ПР – 3 види, ПС – 1 вид, а до груп РР – відцвітання входить 2 види, СР – 1 вид, СС – 6 видів, СП – 6 видів, ПР – 2 види.

У зв'язку з відмінностями у ритмі сезонного розвитку можна розподілити види роду *Lonicera*, раннього та пізнього цвітіння по секціях. Так, секція *Isika*, яка об'єднує 6 підсекцій, включає жимолості, які цвітуть у період з 10.04 по 13.05 (2011–2012 р.), хоча ці види й належать до різних підсекцій, але за термінами цвітіння належать до однієї феногрупи, в даному разі до групи раннього цвітіння. Секція *Coeloxylosteum* об'єднує 5 підсекцій, включає види середнього та пізнього цвітіння в період з 2.05 по 27.05 (2011–2012 р.), тобто однорідність у ритмі сезонного розвитку свідчить про їхню філогенетичну подібність.

Аналіз фаз цвітіння впродовж 2011–2012 рр. показав, що залежно від кліматичних змін (наприклад, рання або пізня весна), змінюються терміни початку і тривалості цвітіння. Так, рання тепла весна 2012 р. прискорила початок вегетації багатьох видів рослин

природної флори. Інтродуковані види роду *Lonicera* зацвіли на 5–8 днів раніше порівняно з 2011 р., коли у квітні–травні стояла прохолодна погода.

Порівнюючи природні ареали видів роду *Lonicera*, ми встановили, що всі далекосхідні види жимолості належать до групи раннього та середнього цвітіння, а серед пізньоквітучих жимолостей переважають Китайські та Північноамериканські види. Середньоазіатські види жимолості з різними біологічними особливостями належать до різних секцій і відрізняються між собою різними термінами цвітіння. Це означає, що далекосхідні види жимолості більш однотипні за термінами вегетації і цвітіння, а середньоазіатські менш однотипні та значно відрізняються між собою за даними ознаками.

Фаза формування плодів у досліджуваних видів роду *Lonicera* досить тривала [3], від 30 до 132 днів і залежить від суми накопичених позитивних температур, строків цвітіння виду, його географічного походження. Рано зацвітаючі види (*L. nigra*, *L. caerulea*, *L. edulis*, *L. baltica*, *L. webbiana*) мають також і ранні терміни зав'язування (через 3–4 дні) та дозрівання плодів (через 14–18 днів). Види зі середніми фазами цвітіння (*L. ciliosa*, *L. maackii*, *L. pileata*, *L. alpigena*) плодоносять у 6–7 місяці. Період дозрівання плодів у видів (*L. etrusca*, *L. ferdinandi*, *L. henryi*, *L. xylostemum*, *L. korolkowii*, *L. prolifera*) триває до вересня, у виду *L. ferdinandi* плоди можуть триматися навіть до листопада, хоча це звичайно відображається на якості насіння, а отже, й на можливостях масового розмноження даних видів.

Аналізуючи терміни цвітіння та плодоношення видів роду *Lonicera*, ми дотримувалися такого положення: якщо інтродуковані рослини постійно цвітуть і плодоносять, то терміни закладки генеративних органів у природних ареалах повністю підходять до ґрунтово-кліматичних умов регіону дослідження.

Проведені нами феноспостереження протягом 2011–2012 рр. показали, що період цвітіння жимолостей триває в середньому від 9 до 11 днів (залежно від виду), може зміщуватися від середніх дат, що пов'язано зі змінами погодних умов, але в черговості зацвітання зберігається стабільність.

Аналіз природних ареалів видів роду *Lonicera* показав, що всі далекосхідні види жимолості належать до групи раннього та середнього цвітіння, а серед пізньоквітучих жимолостей переважають Китайські та Північноамериканські види.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі: Покритонасінні. Ч. 2. К.: Фітосоціоцентр, 2002. 448 с.
2. Зайцева І. О. Дослідження феноритміки деревних рослин: навч.-метод. посібник. Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2003. 39 с.
3. Плоды и семена деревьев и кустарников, культивируемых в Украинской ССР / Н. А. Кохно, А. М. Курдюк, Н. М. Дудик и др.; под. ред. Н. А. Кохно. К.: Наук. думка, 1991. 320 с.
4. Рябова Н. В. Жимолость. Итоги интродукции в Москве. М.: Наука, 1980. 160 с.
5. Флора СССР / под ред. В.Л. Комарова. Т. 23. М.: Изд-во АН СССР, 1958. 468 с.
6. Krüssmann G. Handbuch der Laubgehölze. 2 Aufl., Bd. 2. Berlin-Hamburg: Paul Parey, 1978. 496 S.
7. Rehder A. Manual of cultivated trees and shrubs. N.Y., 1949. 996 p.

Стаття: надійшла до редакції 19.11.12

доопрацьована 16.01.13

прийнята до друку 15.02.13

**FEATURES FLOWERING AND FRUITING SOME KIND INTRODUCED SPECIES
LONICERA L. IN A BOTANICAL GARDEN ACADEMICIAN O.V.FOMINA**

V. Lavrynenko

*M.P. Drahomanov National Pedagogical University
Institute of Natural and Geographic Education and Ecology
9, Pirogov St., Kyiv 10601, Ukraine
e-mail: viktlav@ukr.net*

Phases of flowering and fruiting introduced species of *Lonicera* L. very long and depends on the amount of accumulated effective temperatures and geographical origin of species. Constancy of passing phase, shows that species of the genus *Lonicera* L. adapted to the new conditions and can be used in the practice of ornamental horticulture in the steppes of Ukraine.

Keywords: flowering, fruiting, adaptation, fruit.

**ОСОБЕННОСТИ ЦВЕТЕНИЯ И ПЛОДОНОШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ
ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ РОДА *LONICERA* L. В УСЛОВИЯХ
БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.В.ФОМИНА**

В. Лавриненко

*Национальный педагогический университет имени М.П. Драгоманова
Институт естественно-географического образования и экологии
ул. Пирогова, 9, Киев 10601, Украина
e-mail: viktlav@ukr.net*

Фазы цветения и плодоношения интродуцированных видов рода *Lonicera* L. достаточно длительные и зависят от суммы накопленных эффективных температур и географического происхождения видов. Постоянство прохождения данных фаз свидетельствует, что виды рода *Lonicera* L. адаптировались к новым условиям и могут использоваться в практике декоративного садоводства на территории Лесостепи Украины.

Ключевые слова: цветение, плодоношение, адаптация, плод.

ПРОСТОРОВА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЙ *CAREX DIOICA* L. (CYPERACEAE) В УКРАЇНІ

С. Ізмест'єва, І. Данилик

Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: Svetalzmestieva@yandex.ru

Проведено дослідження просторової організації восьми популяцій *Carex dioica* L. на території України. Встановлено п'ять модифікацій просторового розміщення генеративних особин залежно від способу їх самопідтримання та умов росту. За переважання у популяції вегетативного розмноження і низької ефективності генеративного, або ж повної відсутності останнього, спостерігаємо формування групової і плямистої просторової структури. За невисокої інтенсивності насінневого й вегетативного відтворення розподіл генеративних особин у межах основного популяційного поля стає компактно-дифузним. У близьких до еколого-ценотичного оптимуму умовах ефективне генеративне розмноження в популяції супроводжується дифузним розміщенням особин, а комбінований тип самопідтримання сприяє мозаїчності її просторової структури.

Ключові слова: *Carex dioica* L., просторова структура, популяція, самопідтримання.

У зв'язку з посиленою антропогенною трансформацією середовища, низка рідкісних видів рослин, оселищем для яких є болотні типи екоотопів, опинилася нині під загрозою зникнення. Зокрема, це стосується групи аркто-альпійських і бореальних видів, більшість із яких є гляціальними реліктами й перебуває на території нашої країни на південних межах їхніх ареалів. До них належить *Carex dioica* L. – представник найнечисленнішого у флорі України підроду *Psyllophora* (Degl.) Peterm. роду *Carex* L. (Cyperaceae Juss.) [6]. За останні десятиліття кількість осередків виду значно зменшилася, що стало підставою для його включення до Червоної книги України [3, 4, 21]. З огляду на сучасний природоохоронний статус, проблема встановлення хорологічних, еколого-ценотичних, біоморфологічних особливостей *C. dioica*, проведення созологічної оцінки тощо стає особливо актуальною [3].

Загальновідомо, що про тенденції виду до зникнення свідчать негативні зміни його популяцій, як структурні, так і хорологічні [19]. Тому на сьогодні виникла нагальна потреба у проведенні саме популяційних досліджень, результати яких могли би стати передумовою для розробки та впровадження ефективних заходів щодо збереження *C. dioica* у флорі нашої країни. До одних із найбільш інформативних критеріїв оцінки стану популяцій зараховуємо зміни у їхній просторовій структурі, чисельності, щільності особин тощо [17]. У свою чергу, характер розподілу особин прямо залежить від особливостей генеративного й вегетативного поновлення популяції та від умов її існування [10]. Тому ці параметри потребують особливо детального вивчення у контексті проведення комплексних популяційних досліджень рідкісних видів рослин.

Метою роботи було встановити особливості просторової організації популяцій *C. dioica* залежно від різноманітних умов росту на території України.

Матеріали та методи

Carex dioica – євразійський вид, ареал якого охоплює Північну, Атлантичну, Середню Європу та Сибір [9, 13, 20]. На території України він трапляється на Західному, Цен-

тральному та Східному Поліссі, у Лісостепу й Карпатах [2, 7]. Це дводомна багаторічна довгокореневищна трав'яна рослина явнополіцентричного типу біоморфи, яка відновлюється насінням і вегетативно [1]. Для дослідження просторової структури було обрано вісім популяцій *C. dioica*, розташованих на території Західного Полісся, Малого Полісся і Карпат (рис. 1).

Під час виконання роботи були застосовані маршрутні й стаціонарні методи досліджень відповідно до поширення виду на території України. Облік основних популяційних параметрів проводили на постійних дослідних ділянках [16]. Враховуючи морфобіологічні особливості *C. dioica* та характер екотопу, у межах кожної популяції закладали пробні ділянки площею 2,5 м², які розбивали на квадрати розміром 0,25 м². З огляду на природоохоронний статус виду, використовували нешкодуючі методи, спрямовані на мінімальне вилучення особин; більшість вимірів здійснювали безпосередньо в польових умовах [14]. Аналіз просторової структури популяцій проводили згідно з типізацією В. Гранта і К.А. Малиновського [5, 12, 17]. На підставі підрахунку співвідношення σ^2/M , де σ^2 – дисперсія кількості особин на облікових ділянках, а M – середня щільність особин, та порівняння отриманої величини з одиницею визначали три фундаментальні типи просторового розміщення особин – рівномірне, дифузне, або випадкове, та групове [8, 10]. На їх основі встановлювали модифікації просторової структури популяцій *C. dioica* залежно від умов їх існування. Особливості розподілу особин популяцій у просторі визначали шляхом картування на постійних пробних площах зі середньою ясністю виду [15]. Щільність популяцій визначали за чисельністю особин на площі в перерахунку на 1 м². З огляду на те, що для *C. dioica* характерна довгокореневищна життєва форма і клональна структура популяцій, обліковими одиницями були генеративні та вегетативні пагони. З метою встановлення взаємозв'язку між просторовою структурою популяцій та способом їх самовідтворення (генеративне, вегетативне чи комбіноване розмноження) проводили дослідження репродуктивної здатності. Для цього визначали коефіцієнт генерування популяцій як відношення чисельності генеративних до постгенеративних пагонів, виражений у відсотках, та індекс відновлення популяцій, який обчислювали за відношенням чисельності прегенеративних до генеративних пагонів [18]. **Враховуючи вищевказані показники, а також співвідношення генеративних і вегетативних пагонів, наявність чи відсутність проростків у популяції, встановлювали інтенсивність генеративного й вегетативного поновлення, яку диференціювали за 5-бальною шкалою: 5 – дуже висока, 4 – висока, 3 – середня, 2 – слабка, 1 – дуже слабка.**

Отримані дані згруповані за варіантами й опрацьовані традиційними статистичними методами [11].

Результати і їхнє обговорення

Значна частка наявних локалітетів *C. dioica* в Україні зосереджена на території Західного Полісся, де для дослідження було обрано шість популяцій. Більшість із цих оселищ містяться на території об'єктів природозаповідного фонду регіону, але тією чи іншою мірою зазнають антропогенного навантаження: рекреаційного та пасквального впливу тощо. На Поліссі вид приурочений до ділянок великих болотних масивів різного ступеня трофності. Одна з найбільших за площею й чисельністю популяція *C. dioica* виявлена на мезотрофному осоково-сфагновому болоті поблизу оз. Карасинець. Вирівняний рельєф болота, достатній рівень його освітлення й обводнення створюють оптимальні еколого-ценотичні умови для існування виду. Зокрема, популяція відзначається досить високою щільністю генеративних і прегенеративних пагонів, що становить відповідно 128 ген. паг./м² і 600,22 преген. паг./м² (табл. 1).

**Волинська обл., Шацький р-н:**

1 – околиці с. Пулемець, болото на пн.-сх. березі оз. Пулемець;

2 – південні околиці с. Затишшя, болото на пд.-сх. березі оз. Луки;

3 – околиці с. Мельники, болото “Уничі”;

4 – болото, ~ 1,6 км на південь від с. Мельники, поблизу оз. Карасинець;

Волинська обл., Маневицький р-н:

5 – околиці с. Замостя, болото “Болітце”;

Рівненська обл., Володимирецький р-н:

6 – околиці с. Озірці, болото “Коза-Березина”;

Львівська обл., Сокальський р-н:

7 – болото в околицях с. Хлівчани;

Закарпатська обл., Рахівський р-н:

8 – схиле болото під г. Стіг (Свидовець).

Рис. 1. Карта-схема території досліджень.

Carex dioica росте куртинами, максимальної щільності досягає у вікнах, вільних від *C. lasiocarpa* Ehrh., *C. aproinquata* Schum. та інших більш конкурентоспроможних видів, а також концентрується біля мочажин разом із *C. chordorrhiza* Ehrh. У статевій структурі популяції переважають жіночі особини, які формують більш протяжні скупчення порівняно з компактними чоловічими, загальною площею 0,09–0,16 м² і налічують до 60 генеративних пагонів (табл. 2). У місцях переважання чагарникового ярусу та менш розвинутого мохового покриву формуються мікроскупчення з нижчою щільністю пагонів чоловічих (5–8) і жіночих (10–20) особин (табл. 2). Отримані показники індексу відновлення та коефіцієнта

генерування популяції свідчать про те, що процеси її відтворення і старіння є збалансовані (табл. 1). Значна частка прегенеративних особин утворюється в результаті насінневого розмноження, тому що кількість сформованих проростків на одиницю площі в цій популяції є найвищою (табл. 1). Інтенсивне генеративне й вегетативне відтворення сприяють перекриванню чоловічих і жіночих клонів, дифузному розташуванню поодиноких особин і формуванню окремих ексклавів, розташованих на віддалі 0,3–10 м один від одного. Такий тип просторової структури ідентифікуємо як мозаїчний (рис. 2, А). Він є комбінацією двох основних типів просторового розподілу особин: групового й випадкового. Встановлена модифікація повною мірою відображає особливості розміщення роздільностатевих клонів досліджуваного дводомного виду. Формування мозаїчної просторової структури є свідченням різноманітності й оптимальності умов росту популяції та її ефективного самовідновлення, як генеративного, так і вегетативного.

Таблиця 1

Параметри популяцій *Carex dioica* L.

Досліджена популяція*	Щільність генеративних пагонів / м ² , M±m	Щільність пагонів чоловічих особин / м ² , M±m	Щільність пагонів жіночих особин / м ² , M±m	Щільність прегенеративних пагонів / м ² , M±m	Щільність постгенеративних пагонів / м ² , M±m	Кількість проростків / м ² , M±m	Індекс відновлення	Коефіцієнт генерування, %	Інтенсивність генеративного розмноження, бали	Інтенсивність вегетативного розмноження, бали
П1	241,33 ±7,69	2,00 ±0,14	239,33 ±7,56	1061,85 ±60,13	464,83 ±26,94	–	4,40	52	1	2
П2	55,60 ±2,62	14,40 ±1,02	41,20 ±2,50	147,81 ±11,40	125,65± 8,07	0,91 ±0,10	2,66	44	1	1
П3	77,60 ±4,00	43,60 ±3,99	34,00 ±2,32	335,21 ±25,44	205,71 ±17,06	20,54 ±1,56	4,32	38	4	2
П4	128,00 ±5,70	32,40 ±1,02	95,60 ±2,53	600,22 ±42,07	344,54 ±19,31	35,20 ±2,80	4,69	37	5	3
П5	95,60 ±3,59	9,60 ±0,87	84,80 ±3,58	812,23 ±35,08	322,94 ±22,16	3,68 ±0,19	8,49	29	2	4
П6	55,20 ±4,48	31,60 ±4,40	23,60 ±1,39	349,34 ±21,45	136,04 ±7,01	8,45 ±6,46	6,33	41	3	3
П7	45,00 ±3,33	13,50 ±0,79	31,50 ±2,09	644,14 ±38,11	186,88 ±9,06	–	14,31	24	1	5
П8	97,20 ±2,79	97,20 ±2,79	0	368,87 ±16,27	214,33 ±15,02	0	3,79	45	–	2

Примітка. *Тут і далі: П1 – популяція на пн.-сх. березі оз. Пулемець; П2 – популяція на пд.-сх. березі оз. Луки; П3 – популяція на болоті “Уничі”; П4 – популяція поблизу оз. Карасинець; П5 – популяція на болоті “Болітце”; П6 – популяція на болоті “Коза-Березина”; П7 – популяція на болоті в околицях с. Хлівчани; П8 – популяція на схилому болоті під г. Стіг.

Подібною мозаїчністю розташування особин відзначається популяція *C. dioica* на мезо-оліготрофному болоті “Болітце”, що має статус ботанічної пам’ятки природи. Інтен-

сивність генеративного розмноження тут є дещо нижчою, про що свідчать невисокі показники коефіцієнта генерування та проростання насіння і, ймовірно, пов'язана з невеликою кількістю чоловічих особин у популяції (табл. 1). Проте розрахований індекс відновлення вказує на її ефективне вегетативне відтворення (табл. 1). Окремі скупчення меншої площі й щільності розташовуються на віддалі 0,5–4 м один від одного й приурочені до “горбистих” ділянок болота з більш розвинутим сфагновим покривом, налічуючи 18–36 пагонів жіночих і 5–6 пагонів чоловічих генеративних особин відповідно (табл. 2). Накладання різностатевих клонів спричинено, більшою мірою, вегетативним розмноженням особин: розростанням кореневищ і їх перекриванням у місцях локалізації мохових купин. Саме на них формуються компактні чоловічі куртини, оточені значно численнішими й більшими за площею жіночими куртинами (рис. 2, А).

Зовсім інший тип просторової структури притаманний популяції *C. dioica* на оліго-мезотрофному болоті на пд.-сх. березі оз. Луки. Порівняно з вищерозглянутими, вона відзначається удвічі меншою щільністю генеративних і прегенеративних пагонів, що пов'язано з дещо відмінними еколого-ценотичними умовами біотопу та незначним антропогенним навантаженням (табл. 1). Зокрема, для оселища характерний більш виражений деревно-чагарниковий ярус, унаслідок чого ступінь затінення збільшується і формуються не цілком оптимальні для геліофільного виду умови. Ще одним лімітаційним фактором є незначне витоптування, пов'язане з заготівлею ягід *Oxycoccus palustris* Pers.

Таблиця 2

Параметри просторової структури популяцій *Carex dioica* L.

Популяція*	Площа оселища популяції, м ²	Площа скупчень генеративних пагонів, м ²		Кількість генеративних пагонів у скупченнях		Ступінь віддаленості скупчень, м	
		♂	♀	♂	♀	L _{min}	L _{max}
П1	900	–	0,04–0,45	–	43–250	0,4	7
П2	10000	0,07–0,14	0,12–0,52	5–12	9–30	0,2	3
П3	30000	0,01–0,04	0,02–0,06	10–16	7–11	0,2	15
П4	10000	0,03–0,06	0,09–0,16	8–15	25–60	0,3	10
П5	7500	0,01–0,05	0,08–0,10	5–6	18–36	0,5	4
П6	12000	0,02–0,05	0,02–0,07	8–18	6–13	0,2	5
П7	2500	0,01–0,12	0,04–0,20	4–9	9–17	0,2	1,5
П8	1400	0,08–0,30	–	30–50	–	0,3	1

Оліготрофність умов у поєднанні з антропопресією зумовлюють невисоку ефективність як генеративного, так і вегетативного розмноження (табл. 1). Необхідність пошуку поживних ресурсів зумовлює наявність у особин обох статей значно довших діагеотропних пагонів-кореневищ, що сприяє формуванню окремих протяжних скупчень (табл. 2). Дещо більшої щільності особини досягають в основній частині популяційного поля, де трав'яний і чагарниковий ярус розріджений, меншої – на периферії. Ступінь віддаленості скупчень є невеликим і становить від 0,2 м до 3 м, у проміжках між якими є до 3–10 поодиноких генеративних пагонів. Такий тип просторового розташування особин у популяції визначаємо як компактно-дифузний ($\sigma^2/M \approx 1$) (рис. 2, Б) і розглядаємо його як один із варіантів випадкового розподілу. Основними рисами, що характеризують виявлений тип просторової структури, є незначний ступінь віддаленості різностатевих особин і їхніх нещільних скупчень, а також концентрація на обмеженій території з більш сприятливими еколого-ценотичними умовами. Компактно-дифузне розташування особин характерне для

популяції із невисокою здатністю до поновлення, що детермінується як антропогенним впливом, так і властивостями екотопу (ступінь освітлення, рельєф, оліготрофність тощо).

Інтенсивне генеративне розмноження особин у популяції сприяє формуванню її розсіяно-дифузної просторової структури (рис. 2, В). Подібним розташуванням відзначаються досліджені популяції *C. dioica* на мезоевтрофному болоті “Уничі” й мезотрофному болоті “Коза-Березина”. Для них характерне подібне співвідношення особин генеративного та пре-генеративного вікових періодів і значне переважання чоловічих особин у статевій структурі виду (табл. 1). Можливо, саме останній показник у поєднанні з багатьма умовами існування сприяє збільшенню ефективності запилення, формуванню та виживанню проростків (табл. 1). Варто також відзначити, що для популяції на болоті “Коза-Березина” характерне й інтенсивне вегетативне поновлення (табл. 1). Цьому, ймовірно, сприяють добре розвинутий моховий покрив, а також періодичне викошування ділянки болота. За існуючих умов в обох популяціях переважає розсіяно-дифузне розташування особин ($\sigma^2/M \approx 1$): скупчення генеративних особин, особливо чоловічих, невеликі за площею й чисельністю, віддалені один від одного на 5–15 м; здебільшого переважають поодинокі генеративні пагони (табл. 2).

Як відомо, в умовах, що не цілком відповідають еколого-ценотичного оптимуму виду, генеративне розмноження поступається за своєю ефективністю вегетативному. Інтенсивність останнього сприяє формуванню більш вираженої клональної популяційної організації та групової просторової структури ($\sigma^2/M \approx 1$) (рис. 2, Д). Такий тип розташування особин був виявлений у двох популяціях, приурочених до цілком відмінних типів екотопів. Одна з них займає мезотрофне болото в околицях с. Хлівчани. Для неї характерна невелика щільність генеративних особин, зокрема чоловічих, низький показник коефіцієнта генерування і слабка здатність до насіннєвого відтворення (табл. 1). Незначну частку генеративних пагонів компенсує високий показник індексу відновлення, що зумовлений ефективним вегетативним омолодженням популяції (табл. 1). Локалізація дочірнього потомства навколо материнської особини сприяє формуванню чітко відокремлених чоловічих і жіночих клонів (рис. 2, d_1). Основною загрозою існуванню цієї популяції є процес інтенсивного заростання болота, у результаті чого збільшується його видове різноманіття і відповідно зростає конкуренція за поживні ресурси. Проявляючи стрес-толерантний тип стратегії, *C. dioica* намагається її уникнути, концентруючись у найбільш сприятливих для існування мікролокусах. Такими для неї є невеликі підвищення – так звані “сфагнові подушки”, на яких формуються порівняно великі нещільні групи, що налічують по 4-9 чоловічих і 9-17 жіночих генеративних пагонів (табл. 2). Таким чином, формування групової просторової структури спостерігаємо за не цілком сприятливих умов існування, що зумовлюють низьку ефективність насіннєвого розмноження та домінування вегетативного способу поновлення у популяції.

Подібним розташуванням особин характеризується популяція, виявлена у високогір'ї Карпат на мезотрофному схиловому болоті під г. Стіг (Свидовець). Під впливом інтенсивного випасу, рекреації, господарських робіт тощо популяція *C. dioica* розчленована на окремі ізольовані локуси площею 25–30 м², що представлені виключно чоловічими особинами. З огляду на це, самопідтримання її відбувається лише вегетативним шляхом. Щільність популяції доволі висока й досягає 97,2 ген. паг./м² (табл. 1). Особини локалізуються у місцях витoku струмка, де моховий покрив є більш розвинутий. Окремі скупчення площею 0,08–0,3 м налічують до 50 генеративних пагонів і віддалені на 0,3–1 м один від одного (табл. 2). Груповий тип розміщення особин, а саме формування своєрідних багатопагонових псевдодернин збільшує ефективність використання ресурсів в умовах обмеженого для заселення простору (рис. 2, d_2).

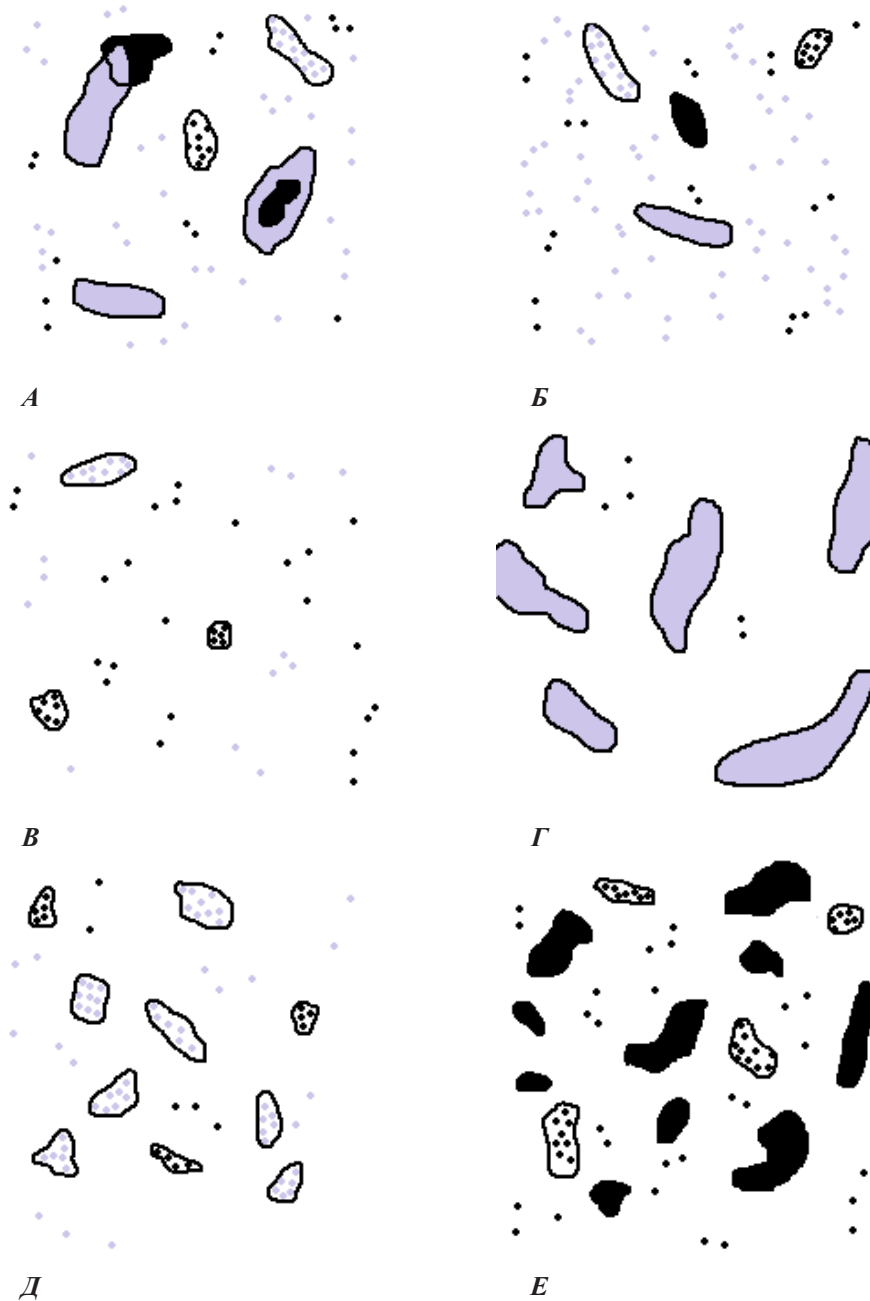


Рис. 2. Типи просторового розташування особин у популяціях *Carex dioica* L.: А – мозаїчне (П4, П5); Б – компактно-дифузне (П2); В – розсіяно-дифузне (П3, П6); Г – плямисте (П1); Д – групове (∂_1 – П7, ∂_2 – П8). 1 – жіночі клони з високою (~20) щільністю генеративних пагонів; 2 – чоловічі клони з високою щільністю (~10) генеративних пагонів; 3, 4 – нечисленні скупчення генеративних пагонів: жіночих (3) і чоловічих (4) особин; 5, 6 – поодинокі генеративні пагони: жіночих (5) і чоловічих особин (6) – позначення на всіх рисунках ідентичні.

Різновидом групової просторової структури визначаємо плямистий тип розподілу особин, за якого формуються більш протяжні та щільні групи особин. Зокрема, у невеликій локальній популяції на підсушеному еутрофному болоті Пулемець вони мають вигляд острівців, досягаючи площі до 1,5 м² і щільності до 250 генеративних пагонів (табл. 2). Ймовірно, під впливом пасквального навантаження та несприятливих умов існування чоловічі особини *C. dioica* випадають зі складу популяції. Подібні відхилення від нормального співвідношення статей (1:1) унеможливають насінневе поновлення особин. (табл. 1). Як наслідок, формуються потужні вегетативно-рухливі жіночі клони, приурочені до мохових купин і ділянок із розрідженим трав'яним покривом, а просторова структура популяції стає плямистою (рис. 2, Г).

Проведені популяційні дослідження *C. dioica* на території України дали змогу встановити п'ять модифікацій просторового розміщення генеративних особин залежно від способу їх самовідновлення та умов росту, до яких зараховуємо: розсіяно-дифузний, компактно-дифузний, груповий, плямистий і мозаїчний. За переважання у популяції вегетативного розмноження і низької ефективності генеративного, або ж повної відсутності останнього, спостерігаємо формування групової і плямистої просторової структури, що спричинене концентрацією особин у найбільш сприятливих і придатних для існування локусах. За невисокої інтенсивності насінневого й вегетативного відтворення розподіл генеративних особин у межах основного популяційного поля стає компактно-дифузним. У близьких до еколого-ценотичного оптимуму умовах ефективне генеративне розмноження популяції супроводжується дифузним розміщенням особин, а комбінований тип самовідновлення сприяє мозаїчності її просторової структури.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев Ю. Е., Абрамова Л. И. Осока двудомная // Биологическая флора Московской области: сборник / под ред. Т.А. Работнова. М.: Изд-во МГУ, 1980. Т. 6. С. 177–180.
2. Андриєнко Т. Л., Прядко О. І. Поширення і еколого-ценотичні особливості *Carex dioica* L. та *C. chordorrhiza* Ehrh. на Україні // Укр. ботан. журнал. 1980. Т. 36. № 3. С. 7–10.
3. Андриєнко Т. Л., Прядко О. І. *Carex dioica* L. – осока дводомна // Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха. К.: Глобалконсалтинг, 2009. С. 87.
4. Балашов Л. С., Андриєнко Т. Л., Кузьмичев А. И., Григора И. М. Изменение растительности и флоры болот УССР под влиянием мелиорации. К.: Наук. думка, 1982. 292 с.
5. Грант В. Видообразование у растений. М.: Мир, 1984. 528 с.
6. Данилик І. М. Система родини *Cyperaceae* Juss. флори України // Укр. ботан. журнал. 2012. Т. 69. № 3. С. 337–351.
7. Данилик І. М., Ізвест'єва С. В., Середницька С. Л. Хорологічні особливості видів підроду *Psyllophora* (Degl.) Peterm. (*Carex* L., *Cyperaceae* Juss.) в Україні // Матеріали XIII з'їду Укр. ботан. тов-ва (19–23 вересня 2011р., м. Львів). Львів, 2011. С. 40.
8. Дідух Я. П. Популяційна екологія. К.: Фітосоціоцентр, 1998. 192 с.
9. Егорова Т. В. Осоки (*Carex* L.) России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) / отв. ред. А.Л. Тахтаджян. СПб.: Санкт-Петербургская гос. хим.-фарм. академия; Сент-Луис: Миссурийский бот. сад, 1999. 772 с.
10. Злобин Ю. А. Популяционная экология растений: современное состояние, точки роста. Сумы: Університетська книга, 2009. 263 с.
11. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2001. 408 с.

12. Малиновський К. А. Популяційна біологія рослин: її цілі, завдання і методи // Укр. ботан. журнал. 1986. Т. 50. № 2. С. 5-12.
13. Мальшиев Л.И. *Carex* L. – Осока // Флори Сибіри. Новосибірск: Наука, 1990. Т. 3 С. 35–170.
14. Панченко С. М. Неразрушаючі методи морфометричного аналізу рідких рослин і їх застосування на прикладі *Hyperzia selago* (*Hyperziaceae*) // Заповідна справа в Україні. 2007. Т. 13. Вип. 1–2. С. 106–110.
15. Панченко С. М. Методи картування при вивченні екології популяцій рідкісних видів рослин // Укр. ботан. журнал. 2011. Т. 68. № 5. С. 672–685.
16. Полевая геоботаника / под ред. А.А. Корчагина, Е.М. Лавренко и В.М. Понятовской. М.;Л.: Изд-во АН СССР, 1964. Т. 3. 530 с.
17. Структура популяцій рідкісних видів флори Карпат / за ред. К. Малиновського. К.: Наук. думка, 1998. 173 с.
18. Царик Й., Кияк В., Дмитрах Р., Білонога В. Генеративне розмноження популяцій рослин високогір'я Карпат як ознака їхньої життєздатності // Вісн. Львів ун-ту. Сер. біол. Вип. 36. С. 50–56.
19. Яблоков А. В. Популяционная биология. М.: Высшая шк., 1987. 304 с.
20. Chater A. 12. *Carex* L. Flora Europaea. Cambridge: University Press, 1980. Vol. 5. P. 290–323.
21. Izmetieva S. Distribution of *Carex dioica* L. (*Cyperaceae* Juss.) on the territory of Ukraine // Біорізноманіття. Екологія. Адаптація: Матеріали V Міжнар. конф. молодих вчених, присвячена 160-річчю від дня народження проф. Ф.М. Каменського (Одеса, 13–17 червня 2011 р.). Одеса: Друк. дім, 2011. С. 20–21.

Стаття: надійшла до редакції 18.10.12

доопрацьована 30.10.12

прийнята до друку 06.11.12

SPATIAL STRUCTURE OF *CAREX DIOICA* L. (CYPERACEAE) POPULATIONS IN UKRAINE

S. Izmetieva, I. Danylyk

Institute of Ecology of the Ukrainian Carpathians of the NAS of Ukraine
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: SvetIzmetieva@yandex.ru

Research of the spatial organization of eight *Carex dioica* L. populations in Ukraine is conducted. Five modifications of the spatial distribution of generative individuals depending on the way of their self-maintenance and growth conditions are established. With the prevalence of vegetative reproduction in the population and low efficiency of generative reproduction or its complete absence the formation of group and spotty spatial structure is observed. Because of the low intensity of seed and vegetative reproduction, distribution of generative individuals within the main population field is compact-diffuse. Under the favorable ecological and coenotic conditions effective generative reproduction is accompanied by diffuse distribution of individuals. A combined type of populations self-maintenance promotes the formation of mosaic spatial structure.

Keywords: *Carex dioica* L., spatial structure, population, self-maintenance.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *CAREX DIOICA* L. (*CYPERACEAE*) В УКРАИНЕ**С. Измest'єва, И. Данылык**

*Институт экологии Карпат НАН Украины
ул. Козельницкая, 4, Львов 79026, Украина
e-mail: Svetalzmestieva@yandex.ru*

Проведено исследование пространственной организации восьми популяций *Carex dioica* L. на территории Украины. Установлено пять модификаций пространственного размещения генеративных особей в зависимости от способа их самоподдержания и условий местопроизрастания. В связи с преобладанием в популяции вегетативного размножения и при низкой эффективности генеративного, или полного отсутствия последнего наблюдаем формирование групповой и пятнистой пространственной структуры. При невысокой интенсивности семенного и вегетативного воспроизведения распределение генеративных особей в пределах основного популяционного поля становится компактно-диффузным. В близких к эколого-ценотическому оптимуму условиях эффективное генеративное размножение популяции сопровождается диффузным размещением особей, а комбинированный тип самоподдержания способствует мозаичности ее пространственной структуры.

Ключевые слова: *Carex dioica* L., пространственная структура, популяция, самоподдержание.

ГЕНЕТИКА

УДК 575:636.4

ОСОБЛИВОСТІ СОМАТИЧНОГО МУТАГЕНЕЗУ КЛІТИН КРОВІ *BOS TAURUS* І *SUS SCROFA* В РІЗНИХ РАДІОЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ УТРИМАННЯ

С. Костенко

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Генерала Родімеца, 19, Київ 03022, Україна
e-mail: swetakostenko@mail.ru*

Проведено цитогенетичний аналіз великої рогатої худоби і свиней, які утримуються в різних радіоекологічних умовах. За хронічного низькодозового опромінення у тварин двох видів *Bos taurus* і *Sus scrofa* спостерігається підвищення частоти клітин із мікроядрами й анеуплоїдією. У свиней, на відміну від корів, виявлено також підвищення частоти хроматидних розривів, асинхронного розщеплення центромірних районів хроматид, появу дицентричних і кільцевих хромосом. Більша реактивність каріотипу *Sus scrofa* ніж *Bos taurus* може відображати різні темпи еволюції каріотипів цих видів.

Ключові слова: *Bos taurus*, *Sus scrofa*, хронічне низькодозове іонізуюче опромінення, еволюція, соматичний мутагенез.

Упродовж тривалого часу дані палеонтології [28] та порівняльної морфології слугували як основний інструментарій у припущеннях щодо часу, темпів і шляхів еволюції. Методологія оцінки еволюційних подій на основі швидкості спочатку амінокислотних, а згодом і нуклеотидних замін, що отримала назву молекулярного годинника (molecular clock), почала використовуватися у 60-ті роки минулого століття [13]. На думку деяких дослідників, палеонтологічні дані не завжди інтерпретуються вірно, що ускладнює оцінку часу розходження між видами, отриману на їх основі, та є джерелом протиріч при вивченні молекулярного годинника [25]. Гіпотеза молекулярного годинника до нашого часу залишається спірною з багатьох причин. Це стосується перш за все нерівнозначності замін. Оскільки мутації можуть впливати на життєздатність організмів, годинник може спрацьовувати лише за умови їх нейтральності та дрейфу генів. Іншою складністю інтерпретації нуклеотидних замін є їхня невідповідність у часі, якщо розглядати, наприклад, швидкість мутаційних змін за покоління, а не за рік [13].

Іншим підходом до оцінки еволюційних подій є реконструкція перебудов певних хромосом і їхніх фрагментів, оцінки синтенії на основі даних геномних проектів різних видів [26]. Параметри соматичного мутагенезу традиційно використовують з метою біоіндикації мутагенного впливу генотоксичних факторів середовища, лікарських препаратів тощо [1]. Свійські тварини є невід'ємною частиною агроєкосистем, генетичний моніторинг яких має як теоретичне, так і прикладне значення. Організми високопродуктивних тварин дедалі більше наближаються до межі фізіологічних можливостей, що обумовлює чутливість до мутагенних факторів [1, 12]. Цитогенетичні методи є провідними при вивченні мутагенності факторів і виявленні мутабільності у тваринництві [1, 10, 15–17].

За даними моніторингу популяцій великої рогатої худоби, які відтворюються на територіях, що постраждали від радіаційного та хімічного забруднення в результаті діяльності Семіпалатинського ядерного полігону і Чебулинського підземного ядерного

вибуху, у тварин різного напрямку продуктивності в різних кліматогеографічних умовах встановлений однаковий вектор впливу і біологічний ефект радіаційного забруднення, що виражалось у підвищенні кількості аномальних мітозів і пробілів хромосом. Виявлено зв'язок імунореактивності з ростом числових мутацій [17].

При цитогенетичних дослідженнях не завжди враховують видоспецифічність мінливості їх каріотипів, які описані, наприклад, у кількох видів мишоподібних гризунів, що відтворюються в умовах хронічного низькодозового опромінення [9].

Оскільки особливості соматичного мутагенезу тварин видів *Bos taurus* і *Sus scrofa*, які відтворюються в умовах постійного впливу іонізуючого опромінення, до цього часу вивчені мало [6–8], метою нашої роботи було виявлення видової специфіки мінливості їхніх цитогенетичних показників.

Матеріали та методи

Дослідження *Bos taurus* ($2n=60$) проводили на коровах української чорнорябої молочної породи, а *Sus scrofa* ($2n=38$) – на свиноматках великої білої породи, які є найбільш розповсюдженими в Україні. Дослідними слугували групи тварин, які утримуються на територіях підвищеного радіонуклідного забруднення. Корови утримували у таких господарствах Київської області: СГВК «Мрія» с. Горностайпіль Іванківського р-ну (6 гол.), СГВК ім. Мічуріна с. Дитятки Іванківського р-ну (14 гол.), що розташовані у зоні дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення (24–96 мкР/год), та СВК ім. Щорса Білоцерківського р-ну (24 гол.), СТОВ «Агросвіт» Миронівського р-ну (28 гол.), ТОВ «Княжичі» Броварського р-ну (6 гол.), що розташовані на територіях з експозиційною дозою опромінення 11–13 мкР/год (контроль). Свиноматки утримували в господарствах: СТЗОВ «Дружба» Ковельського р-ну Волинської обл. (10 гол.), ДП Агроінвест Чернігівської обл. (10 гол.), ТОВ «Луговське» Дніпропетровської обл. (10 гол., 11–15 мРн/год, контроль) і ТОВ «Шпилі» Іванківського р-ну Київської обл. (15 гол., 96 мРн/год, дослід).

Цитогенетичні препарати готували згідно з традиційною методикою культивування клітин крові *in vitro* [19]. У процесі досліджень враховували кількісні порушення хромосом – анеуплоїдію (А), поліплоїдію (ПП), частоту клітин із асинхронністю розщеплення центромірних районів хроматид (АРЦХ), структурні аберації – розриви хромосом і хроматид, дицентричні та кільцеві хромосоми. Мікроядерне тестування проводили на цих самих препаратах, підраховуючи одноядерні лімфоцити з мікроядрами (МЯ) на 1000 клітин (%), досліджуючи не менше 3000 клітин для кожної тварини. Фотографії метафазних пластинок і клітин з мікроядрами та двоядрених лімфоцитів розміщені на рис. 1–8.

Статистичну обробку результатів здійснювали загальноприйнятими методами Н. А. Плохинського [14].

Результати і їхнє обговорення

Показники цитогенетичної мінливості тварин, представлені в табл. 1–4, свідчать про те, що за дії хронічного низькодозового опромінення досліджені тварини характеризуються видоспецифічними особливостями дестабілізації каріотипу. Якщо контрольні показники соматичного мутагенезу і свиней, і корів перебувають у межах спонтанної мінливості, характерної для ссавців в умовах відсутності генотоксичного впливу факторів мутагенезу [1–4, 6–8, 15, 16, 18, 21], то за дії хронічного низькодозового опромінення спостерігаються яскраво виражені відмінності.

Аналіз даних цитогенетичного аналізу (табл. 1) свідчить про те, що досліджені корови української чорно-рябої породи характеризуються широким спектром мінливості таких показників як кількість клітин із мікроядрами та мітотичний індекс. Найнижчий рівень

клітин з МЯ був виявлений у тварин ТОВ «Княжичі» Броварського р-ну, а найвищий – СГВК ім. Мічуріна Іванківського р-ну. Слід зазначити, що незважаючи на відстань у 12 км між господарствами, розміщеними в Іванківському р-ні, у тварин спостерігається статистично вірогідна різниця за рівнем клітин з МЯ. Це може бути обумовлене тим, що СГВК ім. Мічуріна Іванківського р-ну розташоване на кордоні 30-км зони відчуження, внаслідок чого тварини цього господарства зазнають більш потужного впливу іонізуючого опромінення. Порівняння отриманих нами даних із результатами досліджень Т. Т. Глазко у 1988 (7,52%) та 1993 (6,5%), які були виконані на голштинізованих коровах у 30-км зоні відчуження ЧАЕС, слід зазначити відсутність суттєвих відмінностей між отриманими показниками. За частотою двоядерних лімфоцитів (6,9%) і мітотичної активності (7,4%) отримані нами показники вірогідно нижчі [1, 2], що може бути обумовлене як впливом використаних мітогенів, так і сезоном проведення досліджень.

Таблиця 1

Цитогенетичні показники корів чорно-рябої породи				
Господарство		МЯ, ‰	ДЯ, ‰	МІ, ‰
a	СВК ім. Щорса (n=24)	2,2±1,3***	2,9±1,2	4,1±2,7
b	СТОВ «Агросвіт» (n=28)	3,4±1,9*	4,0±2,28	8,0±5,26
c	ТОВ «Княжичі» Броварського р-ну (n=6) Територія з підвищеним рівнем іонізуючого опромінення	1,87±0,51***	1,07±0,24	2,4±0,34
d	СГВК ім. Мічуріна Іванківського р-ну (n=14)	7,52±0,35***	1,88±0,25	1,74±0,22
e	с. Горностайпіль, Іванківського р-ну (n=6)	4,76±0,25***	1,95±0,18%	1,80±0,21

Примітка. * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$.

Таблиця 2

Результати цитогенетичного аналізу метафазних пластинок корів чорно-рябої породи, %

Господарство	% метафаз із цитогенетичними порушеннями				
	A-I	ПП	Хромосомні розриви	Хроматидні розриви	АРЦРХ
СВК ім. Щорса	9,9±7,10	0,8±2,10	2,4± 2,30	2,2± 2,10	1,3±1,10
СТОВ «Агросвіт»	17,8±9,22	–	5,3±4,82	3,2±3,78	2,4±1,58
ТОВ «Княжичі» Броварського р-ну	4,23±1,28*	1,25±0,78	1,18±0,73	1,17±0,2	3,82±1,14
Територія з підвищеним рівнем іонізуючого опромінення					
СГВК ім. Мічуріна Іванківського р-ну	8,25±1,2*	0,81±0,54	1,24±0,6	1,76±0,69	3,16±0,83

Примітка. * – при $p < 0,05$.

Таблиця 3

Цитогенетичні показники свиноматок великої білої породи (*Sus scrofa*)

Господарство		МЯ, ‰	ДЯ, ‰	МІ, ‰
a	СТЗОВ «Дружба» Ковельського р-ну Волинської обл. (10)	2,12±0,30***	0,49±0,11***	1,89±0,40
b	ТОВ Агроінвест Чернігівської обл. (n=10)	1,97±0,14***	0,33±0,11***	2,11±0,11
c	ТОВ «Луговське» Дніпропетровської обл. (n=10) Територія з підвищеним рівнем іонізуючого опромінення	2,5±0,29***	1,53±0,14***	1,97±0,34
d	ТОВ «Шпилі» Іванківського р-ну Київської обл. (n=15)	7,13±0,82***	2,07±0,33***	1,4±0,81

Примітка. *** – при $p < 0,001$ (по частоті МЯ між a і d, b і d, c і d групами; по частоті ДЯ – між a і d, b і d, a і c, b і c групами).

Таблиця 4

Результати цитогенетичного аналізу метафазних пластинок свиноматок, %

Господарство	АІ	ПП	АРЦРХ	Хроматидні розриви	Хромосомні розриви
ТОВ «Луговське» Дніпропетровської обл. (n=10)	4,52±0,03***	–	1,34±0,02	–	–
СТЗОВ «Дружба» Ковельського р-ну Волинської обл. (n=10)	4,50±0,98***	1,73±0,63	2,85±0,76	3,31±0,98*	2,11±0,84
Територія з підвищеним рівнем іонізуючого опромінення					
ТОВ «Шпилі» Іванківського р-ну Київської обл. (n=15)	18,55±3,39***	2,98±1,75	2,89±0,03	5,69±0,12*	1,32±0,02

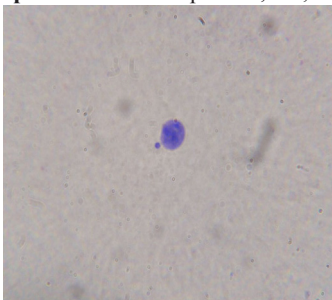
Примітка. *** – При $P > 0,999$; * – при $P > 0,95$.

Рис. 1. Лімфоцит із мікроядром (МЯ).

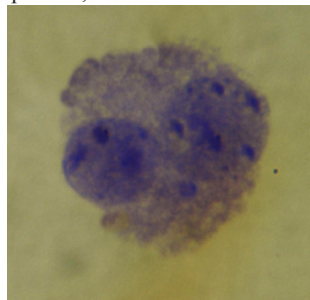
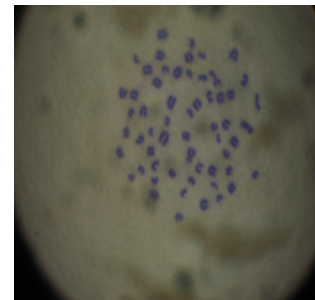
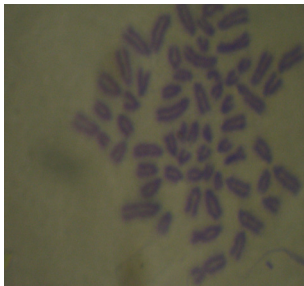
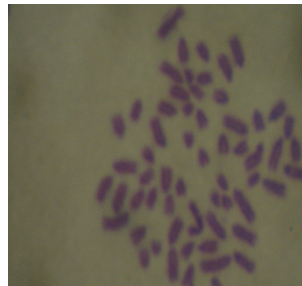
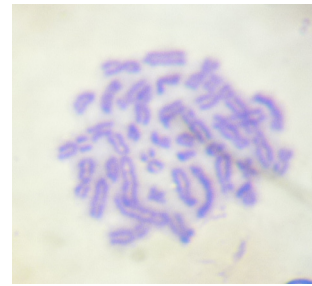
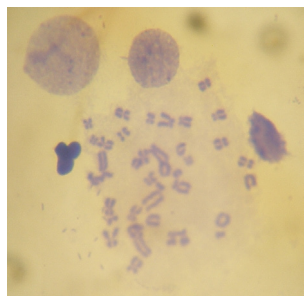


Рис. 2. Двоядерний лімфоцит (ДЯ).

Рис. 3. Асинхронне розщеплення центромірних районів хроматид (АРЦРХ) *B. taurus*.Рис. 4. Розрив хроматид *B. taurus*.Рис. 5. Анеуплоїдія (А; $2n \pm 2$), $2n=58$ *B. taurus*.Рис. 6. Прицентромірний хроматидний розрив (*S. scrofa*).Рис. 7. Кільцева хромосома в метафазній пластинці *S. scrofa*.Рис. 8. Дицентрична хромосома в метафазній пластинці *S. scrofa*.

Серед геномних порушень у корів в умовах хронічного низькодозового опромінення варто відзначити достовірно вищі (при $p < 0,05$) значення відсотка анеуплоїдії порівняно з тваринами, що утримуються на територіях, благополучних щодо радіоактивного забруднення (табл. 2). Подібна тенденція була відзначена нами також і для свиноматок великої білої породи, що утримуються за впливу низькодозового іонізуючого опромінення (табл. 4) [3].

Порівняння цитогенетичних показників корів двох господарств із різними системами утримання тварин слід зазначити деякі особливості спонтанного мутагенезу. Одноядерні лімфоцити з мікроядрами у корів господарства СТОВ «Агросвіт» траплялися з частотою 3,4%, що у 1,5 разу більше ніж у тварин СВК ім. Щорса, із достовірною різницею середніх значень при $P > 0,99$. Двоядерних лімфоцитів (4,0%) у 1,3 разу більше із достовірною різницею середніх значень при $P > 0,99$ у СТОВ «Агросвіт» порівняно з СВК ім. Щорса. Однак ці дані не перевищують показників, характерних для тварин даної породи, умовно контрольної групи (МЯ – $6,0 \pm 0,6\%$ і ДЯ – $6,0 \pm 0,5\%$), які виявили Т. Т. Глазко і Н. А. Сафонова [15]. Це свідчить про відсутність прямого токсичного впливу на організм тварин двох господарств.

За іншими порушеннями геному соматичних клітин корів української чорно-рябої молочної породи не знайдено вірогідних відмінностей. Не відзначено збільшення маркерної ознаки ВРХ молочною напрямом продуктивності – частоти асинхронного розщеплення центромірних районів хромосом у тварин при хронічному іонізуючому опроміненні. Взагалі, частоти АРЦРХ у досліджених нами корів двох дослідних груп були на порядок нижчими за значення аналогічних показників, одержаних при цитогенетичному аналізі тварин голштинізованої чорно-рябої молочної породи в 30-км зоні відчуження ЧАЕС. Так, згідно з результатами Т. Т. Глазко, у них частота асинхронного розщеплення центромірних районів хромосом досягала 9%. За відсотком анеуплоїдних (15,0%) і поліплоїдних (9,0%) клітин дані автора також переважають наші результати [2]. Пояснити такого роду розбіжності за частотами хромосомних порушень у соматичних клітинах організму в умовах впливу іонізуючого опромінення низької потужності можна з огляду на індивідуальні особливості цитогенетичної мінливості досліджених корів, а також на малі вибірки тварин, для яких проводили цитогенетичний контроль.

За рівнем структурних порушень отримані нами показники соматичного мутагенезу великої рогатої худоби є нижчими за показники аналогічних, наведених у роботах інших авторів [2, 18]. При цитогенетичних дослідженнях корів нами не виявлено метафаз із аберраціями хромосом за типом транслокацій і тварин – носіїв конститутивних цитогенетичних аномалій. Це збігається з даними С. С. Сунцова і співавторів. Ними встановлено відсутність кореляції ($r = 0,02$) між частотою Робертсонівських транслокацій у соматичних клітинах тварин ВРХ симентальської породи, які відтворюються в умовах підвищеного рівня радіаційного забруднення (Семипалатинський полігон), і ефективною дозою поглинутої ними радіації. Особини носіїв-транслокацій, найімовірніше, успадковували їх від батьківських форм. Відповідно, іонізуюче опромінення низької потужності не призводить до підвищення утворення Робертсонівських транслокацій у каріотипі досліджених тварин *de novo* [17].

Аналізуючи результати кореляційного аналізу між різними цитогенетичними параметрами соматичних клітин досліджених корів, слід зауважити наявність прямого достовірного (при $p < 0,05$) зв'язку високої сили ($r = 0,717$) між відсотком анеуплоїдії та частотою ЛМЯ у тварин господарства СГВК ім. Мічуріна.

Отже, за низькодозового іонізуючого опромінення у корів чорно-рябої молочної породи не відбувається підвищення рівня структурних аберацій хромосом. Основною

реакцією каріотипу є кількісні зміни хромосом соматичних клітин за типом анеуплоїдії та підвищення частоти клітин із мікроядрами.

Дані, представлені в табл. 3, свідчать про те, що свиноматки, які утримуються в умовах фонових рівнів опромінення, мають частоту клітин з МЯ, характерну для контрольних показників ссавців [21]. Найвищий рівень лімфоцитів із МЯ був характерний для тварин, що утримуються в умовах підвищеного іонізуючого опромінення – 7,13% ($P > 0,999$). Отриманий показник перевищує верхню межу параметрів умовного контролю клітин з МЯ для ссавців (5,6%) [21]. Рівень індивідуальної мінливості тварин становив $4,0 \pm 0,57\%$ – $10,0 \pm 0,57\%$, що може свідчити про різну чутливість досліджених тварин до хронічного низькодозового опромінення.

За даними D. Hasanbasic і D. Rukavina, у свиней при опроміненні дозами 1–2 Гр спостерігається підвищення частоти мікроядер у лімфоцитах периферичної крові порівняно з неопроміненими тваринами [27]. Слід зазначити, що в контролі досліджень кількість клітин із МЯ становила 5,8%. При опроміненні дозою в 1 Гр у свиней було 35,8% клітин з МЯ, дозою в 2 Гр – 69,2%. Збільшення дози опромінення до 3-х Гр зумовило до зростання частоти клітин з МЯ до 76,2%. Відсутність лінійної залежності між дозою опромінення і виходом МЯ автори пояснили насиченням клітин опроміненого організму хромосомними порушеннями при збільшенні дози опромінення і, відповідно, асоціаціями різних порушень між собою [27].

Результати цитогенетичного аналізу метафазних пластинок свиней представлені в табл. 4. У свиноматок, які утримуються на території з підвищеним радіаційним фоном, спостерігається статистично достовірне підвищення частоти анеуплоїдних метафаз і клітин із хроматидними розривами. У тварин, що утримуються в умовах хронічного низькодозового опромінення, були також виявлені метафазні пластинки з дицентричними ($0,55 \pm 0,24\%$) і кільцевими ($0,47 \pm 0,14\%$) хромосомами, які є цитогенетичними маркерами впливу іонізуючої радіації. Дані контрольних груп відповідали цитогенетичним показникам, отриманим іншими дослідниками [4].

Слід зазначити, що згідно з даними І. Г. Кобідзе (1989), частота метафазних пластинок з анеуплоїдією у тварин великої білої породи в контрольних умовах коливається в межах 4,5–19,4% [7]. Таким чином, отриманий нами показник відповідає спонтанному рівневі, характерному для великої білої породи.

Кореляційний аналіз отриманих даних свідчить про те, що між анеуплоїдією і мікроядрами спостерігається пряма залежність, яка зростає при впливі хронічного низькодозового опромінення. Якщо у свиноматок, що перебувають у Дніпропетровській обл., коефіцієнт кореляції був 0,662 ($P > 0,99$), то в Іванківському р-ні Київської обл. – 0,962 ($P > 0,999$).

У свиноматок, яких утримують в умовах хронічного низькодозового опромінення, виявлені менші показники багатоплідності і збереження поросят. Вищий відсоток аварійних опоросів у тварин, які відтворюються на радіаційно неблагополучних територіях, а також підвищена частота анеуплоїдних клітин, котра його супроводжує, можуть свідчити про те, що хронічне низькодозове опромінення призводить до втрат потомства внаслідок анеуплоїдії. На користь цього припущення свідчить наявність кореляції ($r = -0,75$) між частотою анеуплоїдних клітин і багатоплідністю, а також даних про те, що у тварин із підвищеною частотою анеуплоїдії спостерігається збільшення відсотка мертвонароджених поросят [6].

Це стосується більш високого рівня частот метафаз із анеуплоїдією, АРЦРХ, хромосомними та хроматидними розривами у *S. scrofa* в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення. У свиней були також виявлені метафази з дицентричними та кільцевими хромосомами, наявність яких вважають цитогенетичними індикаторами іо-

нізуючого опромінення. Що стосується частоти клітин із мікроядрами, то її підвищення було характерним для двох досліджених видів. Також було виявлено статистично достовірне підвищення рівня клітин з анеуплоїдією порівняно з контролем, як у *S. scrofa*, так і у *B. taurus*. Кореляційний аналіз між кількістю клітин з анеуплоїдією та мікроядрами виявив статистично достовірний позитивний зв'язок, який зростає в умовах хронічного низькодозового опромінення від 0,45 (*S. scrofa*) та 0,62 (*B. taurus*) до 0,96 (*S. scrofa*) та 0,7 (*B. taurus*). Таким чином, можна припустити, що підвищення частоти клітин в умовах хронічного низькодозового опромінення в переважній більшості відбувається за рахунок втрат окремих хромосом у тварин двох досліджених видів.

Відмінності реактивності каріотипу на вплив хронічного іонізуючого опромінення (рис. 9) можуть бути обумовлені різними причинами. Це стосується як особливостей каріотипу [9], так і роботи репаративної, імунної систем [5], ефективності функціонування імплантаційного бар'єру [19], експресії генів [5] тощо. Одним із аспектів, який розглядається у зв'язку з видоспецифічністю відповіді на іонізуюче опромінення, є відмінності репродуктивного потенціалу тварин. Слід зазначити також те, що у *S. scrofa* значно швидше, ніж у *B. taurus*, відбувається зміна поколінь. Одноплідні тварини, на відміну від багатоплідних, характеризуються нижчим рівнем мінливості, що може бути обумовлено більш суворим тиском відбору [12]. Порівняння частоти народження тварин-носіїв конститутивних порушень каріотипу серед свиней і великої рогатої худоби свідчить про те, що види суттєво відрізняються. Якщо для *B. taurus* у переважній більшості діагностуються лише робертсонівські транслокації, в які залучена переважно перша хромосома (Rb 1;29) та інверсії, а також анеуплоїдії статевих хромосом, то у *S. scrofa* виявлено залучення у перебудови усіх хромосом каріотипу. Поширення Rb 1;29 серед м'ясних порід великої рогатої худоби має дискусійний характер: на думку одних вчених, мова йде про те, що бугаї-плідники її отримують від матерів, які не були каріотиповані, інші не виключають виникнення цих транслокацій *de novo* [22]. У *S. scrofa* 0,4% молодих кнурців є носіями конститутивних порушень каріотипу, які виникли *de novo* [23, 24]. Таким чином, можна припустити, що каріотип свиней характеризується меншою стабільністю, яка може бути обумовлена наявністю ламких (фрагільних, *fragily*) сайтів, знаходження яких асоційоване з контрольними точками еволюційних подій [29].

Згідно з моделлю нерівномірного розподілу точок розривів, у геномах ссавців є райони з високою і низькою частотою хромосомних перебудов. Наявність «гарячих точок», де розриви та інверсії хромосом відбувалися частіше, ніж у інших районах хромосом, підвищує ймовірність виникнення одного і того ж розриву (або дуже схожого) або інверсії в різних лініях філогенетичного дерева [29].

За даними А.П. Кулемзіної, отриманими шляхом порівняльного хромосомного пейнтингу, швидкість еволюції каріотипів групи *Suina* значно вище, ніж *Bovidae* [11]. З початку формування каріотипів давніх верблюдів (63 млн років) до дивергенції сучасних видів (11 млн років) відбулося 14 перебудов, що відповідає 0,28 перебудов/млн років. Каріотип верблюдів і лам після відділення один від одного не зазнали більше жодних міжхромосомних перебудов і залишаються консервативними останні 11 млн років, що має подібність до темпів хромосомної еволюції каріотипів носорогів і тапірів Нового світу. Період видимої зупинки еволюції каріотипів усередині групи *Pesocera* триває від утворення предкового каріотипу цієї групи до відділення *Giraffidae*, а потім виявляється у великої рогатої худоби після утворення предкового каріотипу *Bovidae*. Для *Cetartiodactyla* найшвидші темпи перетворення спостерігаються при формуванні предкового каріотипу *Suina* (1,76 перебудов/млн). Після дивергенції цієї групи швидкість фіксації перебудов у *S. scrofa* впала у сім разів [11].

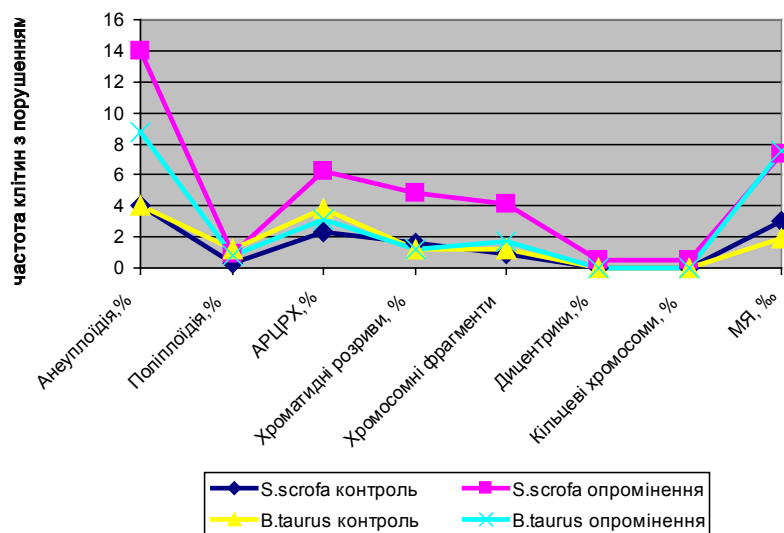


Рис. 9. Показники цитогенетичної мінливості тварин видів *Sus scrofa* і *Bos taurus* у різних радіоекологічних умовах.

Таким чином, серед показників соматичного мутагенезу у *S. scrofa* та *B. taurus* в умовах хронічного низькодозового опромінення частота анеуплоїдних і мікроядерних клітин є невидоспецифічною реакцією каріотипу. Переважна більшість клітин із мікроядрами у досліджених видів утворюється за рахунок анеуплоїдії. У *S. scrofa*, на відміну від *B. taurus*, спостерігається підвищення частоти клітин з АРЦРХ, хромосомними і хроматидними фрагментами, дицентричними та кільцевими хромосомами. Реактивність показників соматичного мутагенезу за умов хронічного низькодозового опромінення віддзеркалює швидкість еволюційних змін і стабільність каріотипу виду.

Щиро вдячна моїм аспірантам П. П. Джус, О. М. Коновал, Л. Ф. Стародуб, О. В. Сидоренко, Ю. Ф. Куриленко, О. В. Федорві за допомогу у виконанні експериментальної частини роботи та с.н.с. Н. В. Тряпціній за слушні зауваження.

Робота виконана за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Глазко Т. Т. Мікроядерний тест у великої рогатої худоби // Вісн. аграрної науки. 2001. Т. 39. С. 45–48.
2. Глазко Т. Т., Дубицький С. Е., Косовський Г. Ю. Частоти встречаемости цитогенетических аномалий в клетках крови крупного рогатого скота разных направлений продуктивности при действии низких доз ионизирующего излучения // Сельскохозяйственная биология. 2007. № 6. С. 58–62.
3. Джус П. П., Костенко С. О., Сидоренко О. В. Цитогенетичний аналіз свиней, яких утримують в різних радіоекологічних умовах // Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту ветерин. медицини та біотехнології ім. С.З.Гжицького. Сер. харчові технології. 2010. Т. 12. № 2 (44). Част. 4. С. 178–182.
4. Дзіцюк В. В. Використання цитогенетичних методів у селекції плідників. К.: Аграрна наука, 2009. 60 с.

5. Ильинских Н. Н., Бочаров Б. Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск: Наука, 1984. 256 с.
6. Кленовицкий П. М., Завада А. Н., Лобан Н. А. и др. Вопросы прикладной цитогенетики свиней // III Междунар. науч.-практ. конф. (Дубровицы, 2005). Т. 2. С. 183–186.
7. Кобидзе И. Г. Цитогенетическое обследование племенных хрячков пород крупная белая и ландрас // Вопросы производства свиней. Бюлл. науч. работ ВИЖа. 1989. Вып. 93. С. 56–58.
8. Кобозева Н. А. Цитогенетична мінливість у ВРХ у зв'язку з різними факторами добору: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.15. К., 2001. 17 с.
9. Костенко С. О., Глазко Т. Т., Бунтова Е. Г. Видоспецифичность дестабилизации кариотипа в условиях радионуклидного загрязнения (ЧАЭС) у полевок *Microtus oeconomus*, *Microtus arvalis*, *Clethrionomys glareolus* // Цитология і генетика. 2001. Т. 35. № 2. С. 11–18.
10. Красота В. Ф., Семенов А. С., Бакай А. И. Цитологический скрининг коров с нарушениями воспроизводительной функции // Сельскохозяйственная биология. 2007. № 6. С. 58–62.
11. Кулемзина А. И. Сравнительная цитогенетика основных таксонов в отрядах Perissodactyla и Cetartiodactyla (Laurasiatheria, Mammalia): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07. Новосибирск, 2010. 20 с.
12. Моссэ И. Б. Существуют ли радиационно-индуцированные мутации у человека? // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. НАН України, УАН України, НАМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавілова; [редкол.]; за ред. В. А. Кунах. К.: Логос, 2011. Т. 10. С. 124–128.
13. Ней М., Кумар С. Молекулярная эволюция и филогенетика. К.: КВЦ, 2004. 418 с.
14. Плохинский Н.А. Биометрия. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
15. Сафонова Н. А., Глазко Т. Т. Меж- и внутрипородная цитогенетическая нестабильность у крупного рогатого скота // Зб. наук. праць Ін-ту агроєкології та біотехнології УАН. 2000. № 4. С. 198–209.
16. Семенов А. С. Цитогенетический скрининг в различных популяциях голштинизированного скота: автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук: 06.02.07. Новосибирск, 2010. 16 с.
17. Сунцов С. С., Лобанова Т. В. Взаимосвязь аномалий крупного рогатого скота с их иммунным статусом в районе Семипалатинского полигона // Зоотехния. 2010. №2. С. 66–68.
18. Шельов А. В. Цитогенетична оцінка племінних ресурсів сільськогосподарських тварин: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 03.00.15. с. Чубинське, 2008. 17 с.
19. Шельов А. В., Дзіцюк В. В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві: наук. зб. К., 2005. С. 210–213.
20. Эрнст Л. К., Жигачев А. И. Мониторинг генетических болезней животных в системе крупномасштабной селекции. М., 2006. 383 с.
21. Sea G. F., Etcheberry K. F., Dulout F. N. Induction of micronuclei in mouse bone-marrow cells by the flavonoid 5,3',4'-trihydroxy-3,6,7,8-tetramethoxy-flavone (THTMF) // Mutat Res. 1983. Mar. N 119(3). P. 339–342.
22. Citek J., Rubes J., Hajkova J. Short communication: Robertsonian translocations, chimerism, and aneuploidy in cattle // J. Dairy Sci. Vol. 92. Issue 7. July 2009. P. 3481–3483.
23. Ducos A., Berland H. M., Bonnet N. et al. Chromosomal control of pig populations in France: 2002–2006 survey // Genet Sel Evol. 2007. Vol. 39. P. 583–597.
24. Ducos A., Revay T., Kovacs A. et al. Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: an overview // Cytogenet Genome Res. 2008. N 120. P. 26–41.

25. *Jing-Fen Kang, Xiang-Long Li, Rong-Yan Zhou et al.* Bioinformatics analysis of lactoferrin gene for several species // *Biochem. Genet.* 2008. Vol. 46. P. 312–322.
26. *Haig D.* The complex history of distal human chromosome 1q // *Genomics.* 2005. N 86. P. 767–770.
27. *Hasanbasic D., Rukavina D.* Micronuclei in lymphocytes of horses and pigs after in vitro irradiation // *Acta Veterinaria.* 2007. Vol. 57. No 4. P. 341–350.
28. *Farina S.* Late Pleistocene-Holocene mammals from “Canale delle Acque Alte (Canale Mussolini)” (Agro Pontino, Latium) // *Bollettino della Società Paleontologica Italiana.* 2011. N 50 (1). P. 11–22.
29. *Picone B., Sineo L.* Reconstructing the phylogeny of the human chromosome 4 synteny using comparative karyology and genomic data analysis // *Cariologia.* 2010. Vol. 63. N 3. P. 314–334.

CHARACTERISTICS SOMATIC MUTAGENESIS OF *BOS TAURUS* AND *SUS SCROFA* BLOOD CELLS IN DIFFERENT RADIOECOLOGICAL CONDITIONS

S. Kostenko

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
19, General Rodimcev St., Kyiv 03022, Ukraine
e-mail: swetakostenko@mail.ru*

Cytogenetic analysis of cattle and swine kept in different radioecological conditions. In chronic low-dose irradiation animals of these species (*Bos taurus* and *Sus scrofa*) observed increase in the frequency of cells with micronucleus and aneuploidy. Pigs unlike cows also revealed increased frequency of chromatid breaks, asynchronous cleavage of centromere regions chromatids dicentric and ring chromosomes. This may reflect the different rates of evolution of the karyotypes of these species.

Keywords: *Bos taurus*, *Sus scrofa*, chronic low doses of irradiations, evolution, somatic mutagenesis.

ОСОБЕННОСТИ СОМАТИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА КЛЕТОК КРОВИ *BOS TAURUS* И *SUS SCROFA* В РАЗНЫХ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ СОДЕРЖАНИЯ

С. Костенко

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
ул. Генерала Родимцева, 19, Киев 03022, Украина
e-mail: swetakostenko@mail.ru*

Проведен цитогенетический анализ крупного рогатого скота и свиней, содержащихся в различных радиоэкологических условиях. При хроническом низкодозовом облучении у животных двух видов *Bos taurus* и *Sus scrofa* наблюдается повышение частоты клеток с микроядрами и анеуплоидией. У свиней, в отличие от коров, выявлено также повышение частоты хроматидных разрывов, асинхронного расщепления центромерных районов хроматид, появление дицентричных и кольцевых хромосом. Более высокая реактивность кариотипа *Sus scrofa*, по сравнению с *Bos taurus*, может отображать различные темпы эволюции кариотипов этих видов.

Ключевые слова: *Bos taurus*, *Sus scrofa*, хроническое низкодозовое ионизирующее облучение, эволюция, соматический мутагенез.

**ЗМІНИ ФЕНОТИПОВИХ ОЗНАК У ДИСТРОФІНОВИХ МУТАНТІВ
DROSOPHILA MELANOGASTER ЗА ВПЛИВУ ДОДАТКОВИХ КОПІЙ
ГЕНІВ *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* ТА *Sema-2a***

О. Голуб¹, Я. Черник¹, Р. Білий², Н. Голуб^{1*}

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: nholub@mail.ru

Досліджено вплив генів-модифікаторів *nAchRa-30D* та *Cam*, що задіяні у функціонуванні м'язів і цитоскелету, та *Sema-1a* і *Sema-2a*, що задіяні у міграції нейронів, на мутантний фенотип за геном дистрофіну у *Drosophila melanogaster*. Було одержано особини, що в одному організмі містили ген-модифікатор і генетичну конструкцію для інактивзації гена дистрофіну. Внаслідок аналізу таких гібридів виявлено відновлення структури вен крила та структури м'язів, збільшення показників максимальної тривалості життя (МТЖ), середньої тривалості життя (СТЖ), індексу рухової активності та збільшення довжини оматидіїв очей, порушення яких є характерними фенотиповими ознаками мутантів за геном дистрофіну.

Ключові слова: дрозофіла, дистрофін, ген-модифікатор, тривалість життя, рухова активність.

М'язові дистрофії належать до групи генетичних захворювань, що характеризуються прогресивною слабкістю кінцівок, ушкодженням дихальних і серцевих м'язів [1, 2, 8]. Найважчою серед них є м'язова дистрофія Дюшена. Розвиток цього захворювання зумовлений відсутністю білка дистрофіну, який необхідний для підтримки цілісності й нормального функціонування м'язів. Білок дистрофін є складовою частиною дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК). ДГК сполучає актиновий цитоскелет із зовнішньоклітинним матриксом за допомогою трансмембранного білка дистроглікану та стабілізує саркомеру під час скорочення м'язів [10]. Попередньо отримані дані показали, що у *Drosophila melanogaster* присутні всі основні компоненти ДГК, але із дещо меншою кількістю ізоформ [3]. Одним із підходів для вивчення м'язових дистрофій на молекулярному рівні є дослідження впливу генів-модифікаторів на функціонування дистрофін-глікопротеїнового комплексу.

Метою роботи було перевірити вплив генів *nAchRa-30D* і *Cam*, що задіяні у м'язових скороченнях, і *Sema-1a* і *Sema-2a*, що задіяні у міграції нейронів, на мутантний фенотип за геном дистрофіну у *Drosophila melanogaster*.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження служили такі лінії *D. melanogaster*: *Oregon*, *NH₂-DysAct Gal4//CyO* (*NH₂-Dys*), *nAchRa-30D//CyO* (*nAchRa-30D*), *Cam//CyO* (*Cam*), *Sema-1a//CyO* (*Sema-1a*) і *Sema-2a//CyO* (*Sema-2a*). Особини лінії *NH₂-Dys* є мутантами за геном дистрофіну, у яких нокаутовані лише довгі ізоформи дистрофіну. Ген дистрофіну (*dmDLP*) в дрозофіли локалізований у третій хромосомі і кодує 6 ізоформ білка: три повнорозмірні (*dmDLP1*, *dmDLP2*, *dmDLP3*) і три короткі форми (*dmDp186*, *dmDp205*, *dmDp117*). Лінія *NH₂-Dys* характеризується наявністю вбудованого на другій хромосомі конструкта, який несе білок-активатор транскрипції *ActGal4*, що активує послідовність *UAS*, і послідовність

антисенс-РНК до N-кінця дистрофінової мРНК. Особини лінії *NH₂-Dys* характеризуються зниженими показниками як середньої, так і максимальної тривалості життя, порушенням рухової активності особин, аномальним розвитком задньої поперечної вени крила, дегенерацією м'язів, яка починається з 12-го дня життя імаго і прогресує з віком, а також порушенням полярності овоцитів і фоторецепторних нейронів. Лінії *D. melanogaster nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* і *Sema-2a* у другій хромосомі несуть додаткові копії ймовірних генів-модифікаторів функціонування дистрофінового гена, проте ген дистрофіну у них є нормальним. Контролем служила лінія дикого типу *Oregon*.

Дослідження вен крил особин першого покоління проводили з використанням бінокулярної лупи 6-кратного збільшення. Для дослідження параметрів тривалості життя мух проводили тест на виживання з подальшою побудовою й аналізом кривих виживання. На основі побудованих кривих виживання визначали показники СТЖ і МТЖ. Показники СТЖ визначали за такими параметрами: S_{75} – термін (у добах), на котрий залишаються живими 75% мух, S_{50} – 50% мух і S_{25} – 25% мух відповідно. Для характеристики локомоторної активності визначали індекс рухової активності за допомогою climbing-тесту [9]. Для виготовлення препаратів м'язів тораксу й оматидій очей проводили парафінову заливку згідно з методом Хейзенберга і Боля [5]. Виготовляли зрізи товщиною 7 мкм на ротатійному мікрометрі. Фарбування здійснювали за стандартною методикою за Майєром гематоксилін-еозином [5]. Зрізи аналізували у видимому світлі з використанням об'єктива 40-кратного збільшення на мікроскопі Laboval-3 Carl Zeiss Jena. Довжину оматидій вимірювали за допомогою програми Image ProPlus. Фотографії препаратів отримали за допомогою програми MiniSee/ScopePhoto. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакету аналізу даних MS Excel на персональному комп'ютері.

Результати і їхнє обговорення

Попередньо визначено 37 генів, які можуть виступати модифікаторами функціонування ДГК (6 груп) [6]. У роботі досліджували здатність генів I групи – *nAchRa-30D* і *Cam* та II групи *Sema-1a* і *Sema-2a* *D. melanogaster* впливати на прояв мутантного фенотипу у лінії *NH₂-Dys*. Для аналізу модифікуючого впливу генів на мутантний фенотип за геном дистрофіну було проведено схрещування між мутантною лінією *NH₂-Dys* та особинами ліній *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* і *Sema-2a*. Серед F_1 відбирали особин, що в одному організмі містили конструкт, який блокує трансляцію білка дистрофіну і ген-модифікатор.

Аналізували відібраних потомків за фенотипом жилкування вен крила. У *Drosophila* під час розвитку крила формуються п'ять поздовжніх вен L1, L2, L3, L4, L5 та дві поперечні – передня (ACV) та задня (PCV) (рис. 1, А). Для лінії дикого типу *Oregon* характерною є завершеність поперечних жилок: ACV з'єднує L3 та L4, PCV – L4 та L5. У мутанта *NH₂-Dys* розвиток PCV відбувається з порушенням і спричиняє формування вени, яка не торкається поздовжніх вен L4 і L5 (рис. 1, Б). У особин F_1 *nAchR-30D/NH₂-Dys*, *Cam/NH₂-Dys*, *Sema-1a/NH₂-Dys* та *Sema-2a/NH₂-Dys* спостерігали відновлення нормального жилкування вен крил у усіх типах схрещувань (рис. 1, В, табл. 1).

Отже, пенетрантність гена *nAchRa-30D* становить у середньому 32%, *Cam* – 27%, *Sema-1a* – 16%, і *Sema-2a* – 44%. Таким чином, гени-модифікатори певним чином супресують мутантний дистрофіновий фенотип за ознакою жилкування вен крила. Підсилення мутантного фенотипу в жодному схрещуванні виявлено не було.

Важливо було встановити, чи будуть у гібридів з відновленою задньою поперечною веною крила змінюватися й інші характеристики, тобто чи будуть гени *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* і *Sema-2a* впливати також на збільшення показників тривалості життя, підвищення рухової функції, відновлення м'язів та збільшення довжини оматидій очей. Тому на-

ступним завданням було проаналізувати показники тривалості життя і побудувати криві виживання. (табл. 2, рис. 2).

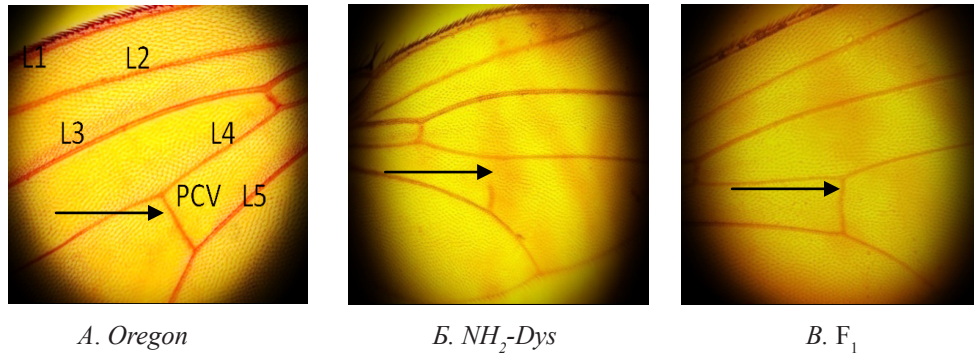


Рис. 1. Жилкування вен крила у особин дикого типу *Oregon* (А), мутантної лінії за геном дистрофіну *NH₂-Dys* (Б) та особин F₁ (В). Стрілкою показано задню поперечну вену крила.

Таблиця 1

Частота появи потомків першого покоління з нормальним фенотипом вен крил від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени

Лінії	К-сть проаналізованих потомків	К-сть особин з потрібним генотипом (несуть мутантний ген дистрофіну та ген-супресор)	К-сть особин з відновленою задньою поперечною веною крила	Частота появи особин з відновленою задньою поперечною веною крила
контроль <i>NH₂-Dys</i>	681	681	85	0,120±0,012
<i>nAchR</i> × <i>NH₂-Dys</i>	4915	1166	369	0,32±0,014***
<i>Cam</i> × <i>NH₂-Dys</i>	4615	1480	313	0,27±0,012***
<i>Sema-1a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	4084	1005	157	0,156±0,022***
<i>Sema-2a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	5166	1368	596	0,436±0,017***

Примітка. *** Імовірність $p \geq 0,999$, статистично істотна наявність ефекту порівняно з відповідним контролем.

При побудові кривих виживання особлива увага приділяється плато на кривій, наявність якого вважається характерною ознакою нормального старіння дрозофіли. Закінчення плато і перегин кривої виживання свідчить про інтенсивне відмирання особин. Особливо важливими є показники СТЖ, високі значення яких свідчать про підтримання періоду активної життєздатності за рахунок певних адаптивних механізмів, спрямованих проти процесу старіння [7].

Як контроль було використано дані про виживання лінії дикого типу *Oregon* та відповідної лінії (табл. 2, рис. 2). Із представлених результатів видно, що в імаго лінії *Oregon* спад кривої починався після 15-го дня життя. Показники СТЖ становили: S_{75} – 27,4 днів, S_{50} – 41,1 днів, S_{25} – 46,8 днів. Максимальна тривалість життя дорівнювала 58 дням. Мутантна лінія за геном дистрофіну характеризувалася швидким відмиранням особин, оскільки плато у них було відсутнє. Значно зниженими, порівняно з лінією *Oregon*, були показники як СТЖ, так і МТЖ (табл. 2, рис. 2).

Проаналізувавши вплив 4 генів-модифікаторів, робимо висновок, що найбільше зростання показника S_{75} спричиняв ген *Sema-2a* – в середньому на 101,6%, показника S_{50} – *Sema-1a* і *Sema-2a*, оскільки показали аналогічні результати – зростання на 24,3%, показник S_{25} не збільшився для всіх чотирьох генів-модифікаторів. Максимальна тривалість

життя найбільш зростає при наявності гена *nAChR-30D* – на 70%, проте жоден із показників не досяг рівня показників лінії дикого типу *Oregon*.

Таблиця 2

Показники тривалості життя мутантної лінії *NH₂-Dys* та гібридів першого покоління від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени

Лінії	СТЖ, доби			МТЖ, доби M±m
	S _{75%} , M±m	S _{50%} , M±m	S _{25%} , M±m	
Oregon	27,4±0,17	41,1±0,25	46,8±0,18	58,0±0,24
nAChR×NH ₂ -Dys	6,8±0,12*	12±0,18**	15,4±0,12**	34,0±0,17**
Cam×NH ₂ -Dys	6,8±0,12**	9,8±0,20**	14,±0,23**	22,0±0,15**
Sema-1a×NH ₂ -Dys	11,1±0,14**	13,3±0,50*	14,8±0,23*	24,0±0,15**
Sema-2a×NH ₂ -Dys	12,5±0,12**	13,3±0,50*	14,8±0,23*	26,0±0,17**
контроль NH ₂ -Dys	6,2±0,22	10,7±0,18	15,4±0,12	20,0±0,09

Примітки: *p≥0,95 низька імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем; **p≥0,99 висока імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем.

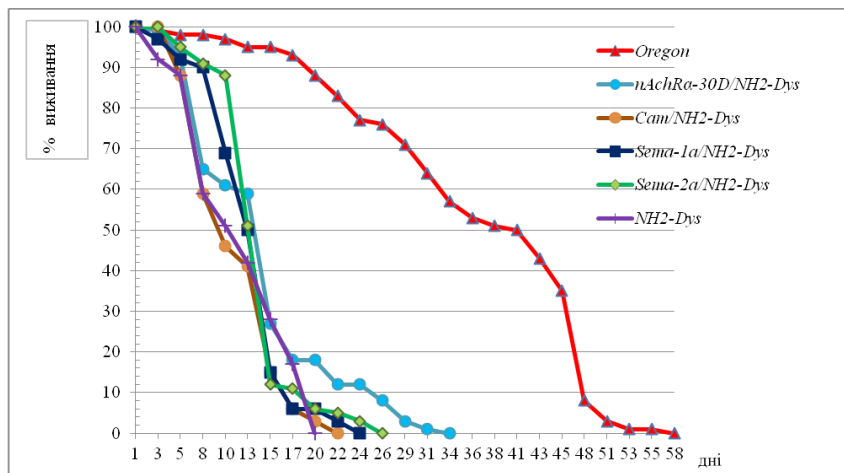


Рис. 2. Криві виживання мутантної лінії за геном дистрофіну *NH₂-Dys*, гібридів першого покоління та контрольної лінії *Oregon*.

Нестача дистрофіну у дрозофіли спричиняє появу фенотипів, подібних до людських при розвитку дистрофій: поступова дегенерація м'язів, скорочена тривалість життя, зниження рухової активності. За попередніми дослідженнями, мутантна лінія *NH₂-Dys Drosophila melanogaster* характеризується зниженими індексами рухової активності. Тому далі ми перевірили, чи будуть гени-модифікатори впливати на рухову активність дистрофінової лінії *NH₂-Dys*. Для цього було проведено тести на рухову активність і визначено індекси рухової активності ліній *Oregon*, *NH₂-Dys* та гібридів першого покоління від схрещувань (табл. 3).

Як видно з даних табл. 3, індекси рухової активності для особин F₁ впродовж усього життя імаго є достовірно вищими, порівняно з особинами лінії *NH₂-Dys* (від 56% до 498%), але вони залишилися нижчими, порівняно з лінією *Oregon*. Найвищими індексами рухової активності характеризувались особини *nAChR/NH₂-Dys*.

Було очевидним припустити, що оскільки гени-модифікатори супресують прояви нестачі дистрофіну (порушення вен крил, підвищують показники СТЖ, МТЖ, ІРА), то ці гени могли би позитивно впливати і на інший фенотиповий прояв мутацій у гені дистрофіну – відновлювати порушену структуру м'язів.

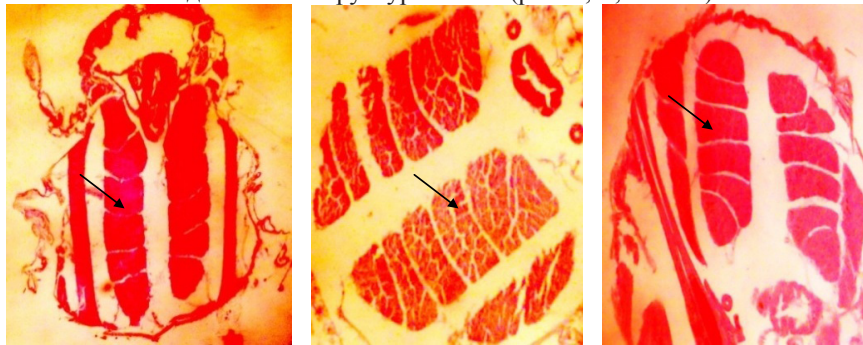
Таблиця 3

Динаміка рухової активності мутантної лінії *NH₂-Dys* та гібридів F₁ від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени

Лінії	Індекс рухової активності у особин певного віку, дні				
	1-3	4-6	7-9	10-12	13-15
<i>Oregon</i>	0,640±0,05	0,600±0,07	0,490±0,06	0,480±0,03	0,390±0,03
<i>nAchR</i> × <i>NH₂-Dys</i>	0,61±0,07**	0,49±0,03***	0,46±0,09**	0,39±0,03**	0,29±0,03**
<i>Cam</i> × <i>NH₂-Dys</i>	0,48±0,03***	0,38±0,04**	0,36±0,07**	0,23±0,02***	0,16±0,05***
<i>Sema-1a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	0,400±0,07**	0,340±0,07**	0,300±0,06**	0,230±0,03**	0,140±0,03**
<i>Sema-2a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	0,590±0,11**	0,490±0,05**	0,430±0,04**	0,390±0,09**	0,290±0,09**
контроль <i>NH₂-Dys</i>	0,102±0,02	0,170±0,03	0,110±0,03	0,140±0,03	0,090±0,03

Примітки: * $p \geq 0,95$ низька імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем; ** $p \geq 0,99$ висока імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем; *** $p \geq 0,999$ дуже висока імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем.

Було виготовлено і проаналізовано гістологічні препарати м'язів тораксу вихідної лінії *NH₂-Dys* та гібридів від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* і ліній, що несуть супресорні гени. У особин вихідної мутантної лінії *NH₂-Dys* спостерігалася локальна втрата щільності м'язових волокон і вакуолізація, що не характерно для особин дикого типу лінії *Oregon* (рис. 3, А, Б). Від кожного типу схрещувань було використано для аналізу по 100 гібридів першого покоління з нормальною задньою поперечною веною крила, і у них спостерігалася часткове відновлення структури м'язів (рис. 3, В, табл. 4).



А. *Oregon*

Б. *NH₂-Dys*

В. F₁

Рис. 3. Гістологічні зрізи м'язів тораксу лінії дикого типу *Oregon* (А), мутантної лінії за геном дистрофіну *NH₂-Dys* (Б) та потомків F₁ (В). Стрілками позначені нормальна структура м'язів (А), дефекти структури м'язів (Б) та відновлення структури м'язів (В).

Таблиця 4

Результати аналізу гістологічних зрізів м'язів мутантної лінії *NH₂-Dys* та потомків першого покоління від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени

F ₁	К-сть імаго з відновленою РСВ	К-сть проаналізованих сегментів м'язів	К-сть сегментів з відновленою структурою	Частота відновлення фенотипу
контроль <i>NH₂-Dys</i>	80	890	61	0,068±0,008
<i>nAchR</i> × <i>NH₂-Dys</i>	100	767	487	0,635±0,018***
<i>Cam</i> × <i>NH₂-Dys</i>	100	908	574	0,632±0,016***
<i>Sema-1a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	100	532	313	0,588±0,020***
<i>Sema-2a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	100	900	552	0,613±0,018***

Примітка. *** $p \geq 0,999$ дуже висока імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем.

Крім цього, у мутантів за геном *Dys* спостерігається неправильне видовження фоторецепторних клітин сітківки дорослих мух. Довжина омаїдій у мутантів майже втричі менша, ніж у мух дикого типу, причому порушення організації та росту омаїдій відбувається ще у личинковому віці [11].

У проведених нами дослідженнях показано, що довжина оматидій у лінії *Oregon* становила в середньому 87,16 нм, тоді як у вихідної мутантної лінії *NH₂-Dys* цей показник був нижчим і становив 50,56 нм (табл. 5, рис. 4).

Таблиця 5

Результати аналізу вимірів довжин оматидій на гістологічних зрізах очей лінії *Oregon*, мутантної лінії *NH₂-Dys* і потомків першого покоління від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени

Лінії	Кількість проаналізованих мух	Середня довжина оматидій, нм
<i>Oregon</i>	15	87,16±1,33
<i>nAchR</i> × <i>NH₂-Dys</i>	25	77,18±1,16***
<i>Cam</i> × <i>NH₂-Dys</i>	25	71,25±2,34***
<i>Sema-1a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	15	64,83±1,11***
<i>Sema-2a</i> × <i>NH₂-Dys</i>	15	66,41±1,29 ***
контроль <i>NH₂-Dys</i>	10	50,56±1,24

Примітка. *** $p \geq 0,999$ дуже висока імовірність наявності ефекту порівняно з відповідним контролем.

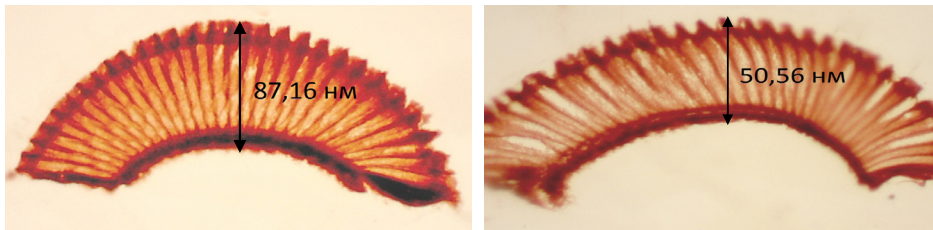
A. *Oregon*B. *NH₂-Dys*

Рис. 4. Гістологічні зрізи оматидій очей осіб дикого типу *Oregon* (A) та вихідної лінії *NH₂-Dys* (B). Стрілками позначено довжини оматидій очей.

Проаналізувавши довжини фасеток очей у потомків F₁ від проведених схрещувань, спостерігали збільшення цих довжин порівняно з вихідною мутантною лінією *NH₂-Dys*. Так, у особин *nAchR-30D/NH₂-Dys* ця величина зростала в середньому на 26,62 нм у всіх системах схрещування, у особин *Cam/NH₂-Dys* спостерігали збільшення на 20,69 нм, а у імаго з генотипами *Sema-1a/NH₂-Dys* і *Sema-2a/NH₂-Dys* на 14,27 нм та на 15,85 нм відповідно (табл. 5, рис. 5).

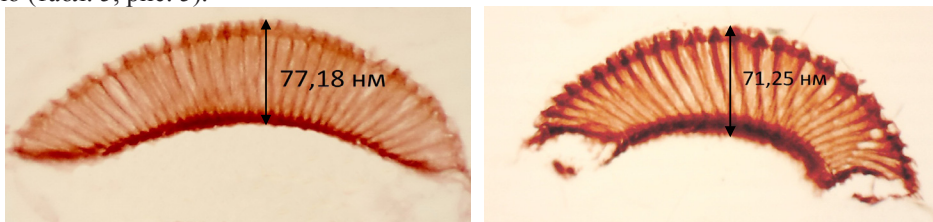
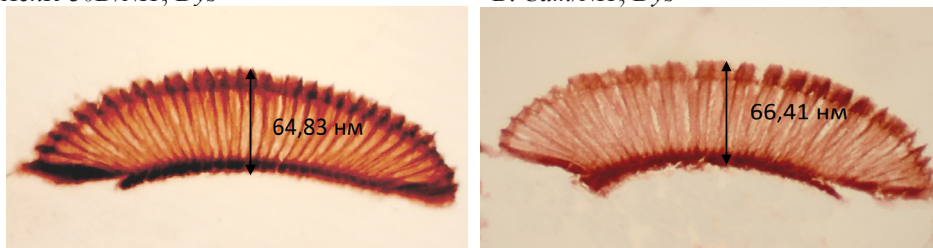
A. *nAchR-30D/NH₂-Dys*B. *Cam/NH₂-Dys*C. *Sema-1a/NH₂-Dys*D. *Sema-2a/NH₂-Dys*

Рис. 5. Гістологічні зрізи очей імаго F₁ від схрещування особин лінії *NH₂-Dys* та ліній, що несуть супресорні гени (A, B, B, Г). Стрілками позначено довжини оматидій очей.

Отже, найбільший ефект, як і в попередньому досліді, проявили гени *nAChR-30D* і *Cam* – збільшення довжини оматидій на 53% і 41% відповідно, тоді як гени *Sema-1a* і *Sema-2a* – збільшення на 28% та 31%.

Таким чином, у своїй роботі ми дослідили 4 гени-модифікатори мутантного дистрофінового фенотипу і встановили, що кожен із них впливає на відновлення задньої поперечної вени крила, збільшення показників СТЖ, МТЖ, ПА, відновлення м'язів тораксу та збільшення довжин оматидій очей. У роботі В. Рішко [4] було досліджено вплив гена *Cam* на прояв мутантного дистрофінового фенотипу у мутанта з делецією гена дистрофіну (*DysDf*) та у мутанта з нокаутом синтезу довгих ізоформ дистрофіну (*dsDystg4*). Показано, що ген *Cam* підсилював мутантний фенотип неправильної термінації аксонів фоторецепторів та скорочення рабдомер (складова фоторецепторних клітин, що містить родопсин) ока дрозофіли.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бадалян Л. О. Наследственные заболевания нервно-мышечной системы // М.: Медицина, 1998. С. 4–25.
2. Гріню Л. П. М'язова дистрофія: факти // К.: Здоров'я, 1998. С. 1–34, 156–157.
3. Кучеренко М., Яценко А., Максимів Д., Черник Я. *Drosophila melanogaster* як модельна система пошуку модифікаторів дистрофін-дистрогліканового комплексу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 71–77.
4. Рішко В. Гени, задіяні у функціонуванні нервової системи *Drosophila melanogaster*, як модифікатори мутантного дистрофінового та дистрогліканового фенотипу: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.15. К., 2012. 20 с.
5. Heisenberg M., Bohl K. Isolation of anatomical brain mutants of *Drosophila* by histological means // Z. Naturforsch [C]. 1979. Vol. 34. P. 143–147.
6. Kucherenko M. M., Pantoja M., Yatsenko A. S. et al. Genetic modifier screens reveal new components that interact with the *Drosophila* dystroglycan dystrophin complex // PLoS ONE. 2008. P. 1–14.
7. Lints F.A., Stoll J., Gruwez G. An attempt to select for increased longevity in *Drosophila melanogaster* // Gerontol. 1979. Vol. 25. N 4. P. 192–204.
8. Nudel U., Zuk D., Einat P. et al. Duchenne muscular dystrophy gene product in brain is not identical to its product in muscle // Nature. 1989. Vol. 737. P. 76–78.
9. Roberts D. B. *Drosophila*: a partial approach // Oxford: Oxford University Press, 1998. P. 341.
10. Shcherbata H. R., Yatsenko A. S., Patterson L. et al. Dissecting muscle and neuronal disorders in a *Drosophila* model of muscular dystrophy // EMBO. 2007. P. 1–13.
11. Zhan Y., Melian N.Y., Pantoja M. et al. Dystroglycan and mitochondrial ribosomal l34 regulate differentiation in the *Drosophila* eye // PLoS One. 2010. N 5. P. 10488.

Стаття: надійшла до редакції 21.09.12

доопрацьована 01.02.13

прийнята до друку 11.02.13

CHANGES IN THE PHENOTYPIC CHARACTERISTICS ON DYSTROPHIN MUTANT OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* UNDER THE IMPACT OF ADDITIONAL COPIES OF GENES *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* AND *Sema-2a***O. Holub¹, Ya. Chernyk¹, R. Bilyy², N. Holub^{1*}**¹*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*²*Danylo Halytskyi National Medical University of Lviv
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: nholub@mail.ru*

Influence of genes-modifiers *nAchRa-30D* and *Cam*, which are involved in the functioning of muscle and cytoskeleton, and genes *Sema-1a* and *Sema-2a* that are involved in neuronal migration on mutant phenotype by dystrophin gene in *Drosophila melanogaster* have been discovered. Individuals containing the probed gene-modifier and genetic construction for the diminished expression of dystrophin gene were obtained. Partial restore of wing veins and muscle structure, increase of maximal and mean life-span, move activity index and R-cell elongation has been revealed. Changes of these attributes are the characteristic signs of mutants after the dystrophin gene.

Keywords: Drosophila, dystrophin, gene-modifier, life expectancy, physical activity.

ИЗМЕНЕНИЯ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ У ДИСТРОФИНОВЫХ МУТАНТОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ ВЛИЯНИИ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ КОПИЙ ГЕНОВ *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* И *Sema-2a***О. Голуб¹, Я. Черник¹, Р. Белый², Н. Голуб^{1*}**¹*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*²*Львовский национальный медицинский университет
имени Данила Галицкого
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина
e-mail: nholub@mail.ru*

Исследовано влияние генов-модификаторов *nAchRa-30D* и *Cam*, участвующих в функционировании мышц и цитоскелета, а также генов *Sema-1a* и *Sema-2a*, контролирующих миграцию нейронов, на мутантный фенотип по гену дистрофина у *Drosophila melanogaster*. Были получены особи, которые несли исследуемый ген-модификатор и генетическую конструкцию, блокирующую ген дистрофина с помощью антисенс-РНК к N-концу гена. В результате анализа таких гибридов обнаружено восстановление структуры вен крыла и структуры мышц, увеличение показателей максимальной продолжительности жизни (МПЖ), средней продолжительности жизни (СПЖ), двигательной активности и увеличение длины омматидиев глаз, нарушение которых является характерным признаком мутантов по гену дистрофина.

Ключевые слова: дрозофила, дистрофин, ген-модификатор, продолжительность жизни, двигательная активность.

ЛОКАЛІЗАЦІЯ МУТАЦІЇ *rib83*, ЩО БЛОКУЄ НАДСИНТЕЗ РИБОФЛАВІНУ У ДРІЖДЖІВ *PICHA GUILLIERMONDII*

Ю. Борецький¹, Д. Федорович¹, В. Борецький¹, Л. Фаюра¹,
Ю. Пиняга¹, А. Сибірний^{1,2}

¹Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна
e-mail: boretsky@cellbiol.lviv.ua

²Кафедра біотехнології та мікробіології, Жешівський університет
вул. Цвіклінської, 2, Жешів, 35-601, Польща

Гени *P. guilliermondii*, що потенційно кодують транскрипційні фактори Sef1p та Yap1p, ідентифіковано, клоновано і делетовано. Делеція гена PGUG_00664.1, що потенційно кодує активатор транскрипції генів антиоксидантного захисту Yap1p, призводить до зниження флавіногенної активності за умов дефіциту заліза у 2,5–3,5 разу та до зниження вмісту негемінового заліза у клітинах приблизно в 1,8–2,2 разу. Делеція гена PGUG_03868.1, що потенційно кодує активатор транскрипції, ортологічний до білка Sef1p *C. famata* (DEHA0C17930g), повністю блокує здатність штамів *P. guilliermondii* до надсинтезу рибофлавіну. Результати комплементційного аналізу свідчать, що описана раніше мутація *rib83* інактивує цей транскрипційний фактор.

Ключові слова: рибофлавін, регуляція біосинтезу, дріжджі *P. guilliermondii*.

Pichia (Candida) guilliermondii є одним із представників видів дріжджів, що надсинтезують рибофлавін (РФ) за умов недостатнього забезпечення клітин залізом. До цієї групи дріжджів належать також *Debaryomyces hansenii*, *Debaryomyces subglobosus*, *Schwanniomyces occidentalis*, *Candida famata*, *Candida albicans* [3, 4, 10, 13, 14]. За послідовністю нуклеотидів штам *Pichia guilliermondii*, із якими проводилась робота, є дуже близькими (приблизно 0,4–0,6% нуклеотидних замінів) до *Candida guilliermondii* ATCC 6260, геном якого просеквеновано повністю. Тому при цитуванні робіт ми дотримуємося назви, яка вживається у тій чи іншій цитованій роботі [2, 4, 11, 13].

Здатність *P. guilliermondii* до схрещування дає змогу застосовувати методи гібридологічного аналізу для дослідження генетичних аспектів регуляції метаболізму [1]. Окрім того, встановлено нуклеотидну послідовність геному цих дріжджів і розроблено методи інсерційного мутагенезу та делеції генів [13]. Таким чином, *P. guilliermondii* є зручним модельним об'єктом для вивчення генетичних механізмів регуляції біосинтезу вітаміну В₂ і гомеостазу заліза.

У *P. guilliermondii* виділено 9 комплементційних груп мутантів (*rib80*, *rib81*, *hit1*, *red1-red6*), що надсинтезують РФ незалежно від вмісту заліза у середовищі, та дві групи мутантів (*rib83*, *rib84*), які нездатні до надсинтезу РФ за умов дефіциту заліза [3, 12]. Цікаво, що пошкодження будь-якого із цих генів призводить до дефектів не тільки в регуляції біосинтезу РФ, але і в транспорті заліза у клітини *P. guilliermondii*. Згадані мутації не ідентифіковано. Деякі із них (*rib80*, *rib81*, *hit1*) призводять до виникнення оксидативного стресу [6], що може свідчити про участь стресового активатора транскрипції Yap1p у регуляції біосинтезу РФ та метаболізму заліза у *P. guilliermondii*. У 2006 році було описано нездатний до надсинтезу РФ інсерційний мутант *C. famata*, що був дефектний за геном *SEF1* [9]. Оскільки обидва види дріжджів продукують підвищені кількості РФ за умов

дефіциту заліза, можна припустити, що ортолог транскрипційного фактора Sef1p задіяний у регуляції біосинтезу РФ також і у *P. guilliermondii*. У даній роботі описано конструювання і дослідження фенотипових характеристик штамів *P. guilliermondii* із делеціями генів, що кодують транскрипційні фактори Yap1p, Sef1p та доведено, що описана раніше мутація *rib83* інактивує транскрипційний фактор Sef1p.

Матеріали та методи

У роботі використовувалися бази даних *Candida (Pichia) guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* та *Candida albicans* http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/Saccharomyces_cerevisiae – <http://www.yeastgenome.org/>. Аналіз амінокислотних і нуклеотидних послідовностей проводили за допомогою пакету програм, доступних за адресами: <http://www.bioinformatics.org/sms/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/sequence-analysis/>, <http://tools.neb.com/NEBcutter2/>, <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>.

Для делеції генів використано ауксотрофний за уридином штам *P. guilliermondii* R66 *Mar hisX ura3* [11]. Дріжджі вирощували у синтетичному середовищі, як описано раніше [12]. При вирощуванні ауксотрофних мутантів вносили відповідні амінокислоти й аденін (40 мг/л) і уридин (400 мг/л). Отримання гібридів *P. guilliermondii* та основні принципи сегрегаційного аналізу описані в роботах А. А. Сибірського [1, 12]. Трансформацію дріжджів *P. guilliermondii* з використанням оцтовокислого літію проводили, як описано нами раніше [7]. Екстракцію і визначення негемінового заліза проводили за модифікованим методом Карап і Броді [2]. Вміст флавінів у культуральній рідині та в клітинах визначали флюорометрично на апараті ЕФ-3М.

Результати і їхнє обговорення

Ідентифікація та делеція генів транскрипційних факторів. У результаті пошуку гомологій до білка Sef1p *C. famata (D. hansenii : DEHA0C17930g)* у геномі *P. guilliermondii* виявлено кілька генів, що кодують подібні білки. Серед них найбільший інтерес становлять білки, гени яких перелічені у табл. 1. **Із них найбільш подібними є білки, що кодуються генами PGUG_03868.1, PGUG_00835.1, PGUG_05411.1.** Усі вони мають характерну послідовність, здатну формувати Zn(2)-Cys(6) двоядерний кластер і послідовності, притаманні транскрипційним факторам.

Таблиця 1

Потеційні білки *C. guilliermondii* ATCC 6260, що містять послідовності, характерні для білка *D. hansenii* DEHA0C17930g

Поліпептид/ген	Ідентичні амінокислотні залишки	Споріднені заміни
PGUG_03868.1	534/936	114/936
PGUG_00835.1	116/472	94/472
PGUG_05411.1	147/713	125/713
PGUG_00677.1	38/142	24/142
PGUG_00104.1	50/210	36/210

Проте поліпептид, що кодується геном PGUG_00835.1, є меншої довжини (складається із 621 амінокислотного залишка), а два інші є близькими за розміром до Sef1p *C. famata* – 821 та 825 амінокислотних залишків відповідно; при цьому поліпептид PGUG_03868.1 за рівнем подібності до Sef1p *C. famata* суттєво переважає PGUG_05411.1. Таким чином, саме ген PGUG_03868.1, розміщений у послідовності 1115630-1118095–4-го суперконтигу геному *C. guilliermondii* ATCC6260, кодує білок, що є найбільш вірогідним ортологом білка Sef1p *C. famata (DEHA0C17930g)*.

Фрагмент хромосомної ДНК довжиною 4,7 т.п.н., що містить ген PGUG_03868.1 (позначений *PgSEF1*) з промоторною і термінаторною послідовностями, ампліфікували за

допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із праймерами, що несли 5'-кінцеві EcoRI-сайти (SEF1 ATGAATTTCATATAGCTTAACTACTTC і SEF2r ACGAATTCGTTGATTTGTGTGACCAC), використовуючи геномну ДНК штаму *C. guilliermondii* ATCC6260 як матрицю. Отриманий фрагмент ДНК гідролізували по EcoRI-сайтах і лігували в EcoRI-сайт плазмиди pUC57.

Для конструювання делеційної касети усю послідовність сконструйованої плазмиди pSEF1, за винятком структурного гена *PgSEF1*, було ампліфіковано з використанням праймерів BseI AAAGATCTTTTAGGGTGAATTAGTG та RBS2 CTAGATCTAGTG ATGACTTTTTGGGG. Даний ПЛР-продукт очищали, гідролізували за допомогою ендонуклеази BglII і лігували з 1,5 т.п.н. BamHI-фрагментом плазмиди pGKURA3, що містить модифікований ген *URA3 S. cerevisiae*. Сконструйована рекомбінантна плазмиди pSEF1URA3 містила ген *URA3 S. cerevisiae*, розміщений між промоторною і термінаторною (~1,0 т.п.н. кожна) ділянками гена *PgSEF1*. EcoRI-фрагмент плазмиди pSEF1URA3 використовували як делеційну касету *sef1::URA3* для трансформації *ura3* мутанта (R-66) *P. guilliermondii* (рис. 1).

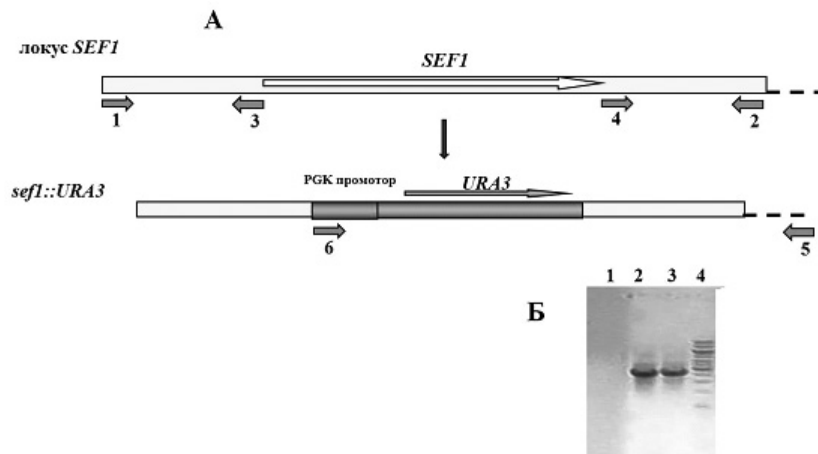


Рис. 1. Схема делеції гена *PgSEF1 P. guilliermondii*. А. Схема конструювання делеційної касети *sef1::URA3*. Положення структурних генів *SEF1* та *URA3* показано стрілками та відповідно підписано. Б. Електрофореграма продуктів ПЛР, отриманих при аналізі коректності делеції гена *PgSEF1*. Доріжка 1 – ДНК-сигнал, отриманий із реципієнтного штаму (праймери JB12 (№ 5) і Ura32r (№ 6); Доріжки 2, 3 – ДНК-сигнали, отримані з рекомбінантних клонів $\Delta sef1$ -1, $\Delta sef1$ -2, відповідно; доріжка 4 - 1 kb DNA ladder (Fermentas).

Для ідентифікації $\Delta sef1$ -мутантів *P. guilliermondii*, геномну ДНК прототрофних за уридином трансформантів тестували за допомогою ПЛР на присутність «гібридного» ДНК-сигналу, використовуючи праймери Ura32r CGGGATCCGGTAATAACTGATATAATT та JB12 GTTATGACACAAGAAGCAGATAATG (див. рис.1, Б).

Для ідентифікації гена, що кодує ортолог Yarp1p, використали пошук гомологій до двох білків: Yarp1p *S. cerevisiae* та ортолога Car1p, описаного у *C. albicans* [5, 15]. У результаті цього аналізу у *C. guilliermondii* ATCC 6260 в обидвох випадках було виявлено один і той самий білок PGUG_00664.1. Цей потенційний поліпептид має 165 (27%) ідентичних залишків і 84 (14%) споріднених заміни, порівняно із білком Yarp1p *S. cerevisiae*, а також 221 (42%) ідентичний залишок і 78 (16%) споріднених заміни, порівняно із білком Car1p *C. albicans*; у сумі це становить відповідно 41% та 58% гомології. Незважаючи на

невисокий сумарний ступінь подібності, наявність висококонсервативних послідовностей у N- та C-кінцевих ділянках дає підстави стверджувати, що ген PGUG_00664.1 (*PgYAP1*), розміщений у послідовності 1164199-1165587 + 1-го суперконтигу геному *C. guilliermondii* ATCC 6260, кодує білок, що є ортологом білків YAP1p *S. cerevisiae* та Cap1p *C. albicans*.

Фрагмент хромосомної ДНК *C. guilliermondii* ATCC6260, довжиною 3,4 т.п.н., що містить ген PGUG_00664.1 (позначений *PgYAP1*) з промоторною і термінаторною послідовностями, ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з праймерами, що несли 5' кінцеві XbaI-сайти (JB44 GGTCTAGACCGTGAACCTCTTTAT та JB45 CATCTAGATGAATCTTTGGAATAATCGAT) і клонували у XbaI-сайт вектора pUC19. За винятком структурного гена *PgYAP1*, усю послідовність сконструйованої плазмиди pGAP1 було ампліфіковано, використовуючи праймери, що несли 5' кінцеві BglII-сайти (JB46 CAAGATCTTGATTATATAGTTCGTGCATCA та JB47 TCAGATC TGATAAGTTTC GTAAAAGG), і використано для клонування 1,5 т.п.н. BamHI-фрагмента плазмиди pG-KURA3, що містить ген *URA3 S. cerevisiae* (див. вище). Отримана плазміда pGAP1URA3 містила ген *URA3 S. cerevisiae*, розміщений між промоторною (1,0 т.п.н.) і термінаторною (1,0 т.п.н.) ділянками гена *PgYAP1*. XbaI-фрагмент плазмиди pGAP1URA3 використовували як делеційну касету *yap1::URA3* для трансформації *ura3* мутанта (R-66) *P. guilliermondii*. За допомогою ПЛР аналізу серед прототрофних за уридином трансформантів ідентифікували мутанти, у геномі яких структурний ген *PgYAP1* було заміщено геном *URA3 S. cerevisiae* за механізмом гомологічної рекомбінації. Усі сконструйовані мутанти характеризувалися певними змінами фенотипу, як описано нижче.

Дослідження сконструйованих мутантів. За умов оптимального вмісту заліза у середовищі (3,6 мкМ), клітини сконструйованого мутанта $\Delta yap1-2$ містили негемінового заліза приблизно у два рази менше, ніж вихідний штам дикого типу. Незважаючи на це, сконструйований штам $\Delta yap1-2$ практично не відрізнявся від вихідного штаму R66 (дикого типу) за продуктивністю флавіногенезу за умов оптимального вмісту заліза у середовищі (рис. 2). Проте за умов дефіциту заліза (0,18 мкМ) або за наявності у середовищі іонів кобальту продуктивність флавіногенезу штаму $\Delta yap1-2$ була в середньому у 2 рази нижчою ніж у штаму дикого типу (див. рис. 2). Таким чином, делеція гена PGUG_00664.1 (*PgYAP1*) суттєво знижує, але не блокує повністю надсинтез РФ клітинами *P. guilliermondii*. Отже, фенотип сконструйованих мутантів $\Delta yap1-2$ є відмінним від фенотипу мутантів *P. guilliermondii*, що несуть мутацію *rib83*.

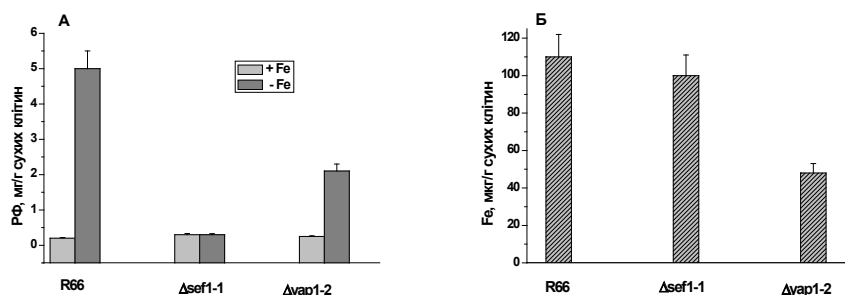


Рис. 2. Продуктивність флавіногенезу (А) та вміст заліза в клітинах (Б) сконструйованих мутантів *P. guilliermondii*.

За умов оптимального забезпечення залізом (3,6 мкМ) сконструйований штам $\Delta sef1-1$ також практично не відрізнявся від вихідного штаму R66 за продуктивністю флавіногенезу

та за вмістом заліза у клітинах (див. рис. 2). У той же час, мутант $\Delta sef1-1$ повністю втратив здатність до надсинтезу РФ за умов дефіциту заліза (0,18 мкМ) (рис. 2), що характерно для описаного раніше мутанта *rib83-LV-251* [2]. Тому було проведено генетичний аналіз сконструйованого нами мутанта *P. guilliermondii* $\Delta sef1-1$ (табл. 2). Для цього мутант *P. guilliermondii* $\Delta sef1 hisX$ було схрещено зі штамми *P. guilliermondii* L1, *P. guilliermondii* *rib81-130-1* та *P. guilliermondii* *rib83-LV-251*. Виявилось, що всі диплоїди, крім *rib83x* $\Delta sef1$ (вказано тільки мутації, що мають стосунок до регуляції біосинтезу РФ), зберігали здатність до надсинтезу РФ за умов дефіциту йонів заліза (див. табл. 2). Це свідчить про рецесивний характер мутації $\Delta sef1$. У той же час ні диплоїд *rib83x* $\Delta sef1$, ні отримані із нього гаплоїдні сегреганти не були здатні до надсинтезу РФ за умов дефіциту заліза.

Раніше було показано, що мутант *P. guilliermondii* *rib83* суттєво не відрізняється від штамів дикого типу за ознаками «швидкість поглинання заліза» та «продуктивність флавіногенезу» за умов фізіологічного забезпечення залізом [2]. Дефіцит заліза в середовищі приводив до зростання швидкості поглинання заліза і клітинами дикого штаму, і клітинами мутанта *rib83-LV-251*. Однак рівень цього зростання (співвідношення швидкості поглинання ^{55}Fe залізодефіцитними клітинами до швидкості поглинання цього металу залізовмісними клітинами) у мутанта *rib83* був у кілька разів менший, ніж у штаму дикого типу. Ця властивість проявляється також у присутності мутації *rib81*, яка посилює поглинання ^{55}Fe .

Таблиця 2

Вплив мутації $\Delta sef1$ на продуктивність флавіногенезу штамів *P. guilliermondii*

Штам*	Походження	Продукція рибофлавіну мкг/мг сухої ваги клітин	
		Вміст заліза у середовищі 3,60мкМ	Вміст заліза у середовищі 0,18мкМ
$\Delta sef1-1$	Дана робота	0,31±0,04	0,31±0,04
R-66	[11]	0,20±0,03	4,5±0,4
<i>rib83-LV-251</i>	[2]	0,31±0,04	0,5±0,05
L2	[12]	0,25±0,04	8,2±0,4
<i>rib81-130-1</i>	[12]	5,50±0,3	8,0±0,4
$\Delta sef1 / SEF1$	Дана робота	0,28±0,04	3,2±0,3
$\Delta sef1 RIB81 / SEF1 rib81$	Дана робота	0,50±0,05	6,3±0,4
$\Delta sef1 rib81$	Дана робота	0,21±0,03	0,23±0,03
$\Delta sef1 RIB83 / SEF1 rib83$	Дана робота	0,09±0,02	0,24±0,03
S1	Дана робота	0,24±0,03	0,30±0,04
S2	Дана робота	0,22±0,03	0,29±0,04
S3	Дана робота	0,25±0,04	0,31±0,04

Примітка. * – вказано тільки мутації та гени, що мають стосунок до регуляції біосинтезу РФ.

Клітини мутантів, які містили в одному гаплоїдному геномі обидві мутації *rib83* та *rib81*, і за умов дефіциту заліза в клітинах, і за умов оптимального забезпечення цим металом, не відрізнялися від штаму із мутацією *rib83* за швидкістю поглинання ^{55}Fe [2]. Таким чином, мутація *rib83* епістатує над мутацією *rib81* не тільки щодо флавіногенезу, а й щодо асиміляції заліза [2]. Необхідно зауважити, що у достатньо близького виду *C. albicans* ортологічний транскрипційний фактор *Sef1p* задіяний у регуляції транспорту заліза [8].

Отримані нами гаплоїдні сегреганти генотипу *rib81* $\Delta sef1$, подібно до раніше описаних сегрегантів *rib81 rib83*, також були нездатними до надсинтезу РФ за умов дефіциту заліза. Таким чином, отримані результати свідчать, що мутація *rib83* лежить у гені *SEF1*.

Підсумовуючи наші результати і наведені дані, можна стверджувати, що мутація *rib83* локалізована у гені *PgSEF1*, який кодує активатор транскрипції, задіяний у регуляції біосинтезу РФ, і поглинання заліза. Можливо, у всіх видів флавіногенних дріжджів ортоло-

ги Sef1р беруть участь у регуляції цих двох ланок метаболізму, проте ця гіпотеза потребує експериментальної перевірки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Сибирный А., Шавловский Г., Киановская Б., Наумов Г. Гибридизация и мейотическое расщепление у парафинусваивающих дрожжей *Pichia guilliermondii* Wickerham // Генетика. 1977. Т. 13. № 2. С. 314–321.
2. Стенчук Н. Н., Куцяба В. И., Киановская Б. В., Федорович Д. В. Влияние мутации *rib83* на биосинтез рибофлавина и ассимиляцию железа у дрожжей *Pichia guilliermondii* // Микробиология. 2001. Т. 70. С. 1–5.
3. Шавловский Г. М., Логвиненко Е. М. Сверхсинтез флавинов у микроорганизмов и его молекулярные механизмы // Прикл. биохимия и микробиология. 1988. Т. 24. № 4. С. 435–447.
4. Abbas C., Sibirny A. Genetic control of biosynthesis and transport of riboflavin and flavin nucleotides and construction of robust biotechnological producers // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2011. Vol. 75. N 2. P. 321–360.
5. Alarco A., Raymond M. The bZip transcription factor Cap1p is involved in multidrug resistance and oxidative stress response in *Candida albicans* // J. Bacteriol. 1999. Vol. 181. N 3. P. 700–708.
6. Boretsky Y., Protchenko O., Prokopiv T. et al. Mutations and environmental factors affecting regulation of riboflavin synthesis and iron assimilation also cause oxidative stress in the yeast *Pichia guilliermondii* // J. Basic Microbiol. 2007. Vol. 47. N 5. P. 371–377.
7. Boretsky Y., Pynyaha Y., Boretsky V. et al. Development of a transformation system for gene knock-out in the flavinogenic yeast *Pichia guilliermondii* // J. Microbiol. Methods. 2007. Vol. 70. N 1. P. 13–9.
8. Chen C., Noble S. Post-transcriptional regulation of the Sef1 transcription factor controls the virulence of *Candida albicans* in its mammalian host // PLoS Pathog. 2012. Vol. 8. N 11. P. 1–11.
9. Dmytruk K. V., Voronovsky A. Y., Sibirny A. A. Insertion mutagenesis of the yeast *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*) by random integration of linear DNA fragments. Curr. Genet. 2006. Vol. 50. N 3. P. 183–191.
10. Knight S., Lesuisse E., Stearman R. et al. Reductive iron uptake by *C. albicans*: role of copper, iron and TUP1 regulator // Microbiol. 2002. Vol. 148. N 1. P. 29–40.
11. Pynyaha Y., Boretsky Y., Fedorovych D. et al. Deficiency in frataxin homologue *YFHI* in the yeast *Pichia guilliermondii* leads to missregulation of iron acquisition and riboflavin biosynthesis and affects sulfate assimilation // Biometals. 2009. Vol. 22. N 6. P. 1051–1061.
12. Sibirny A. A. Chapter 7. *Pichia guilliermondii*. In Nonconventional Yeasts in Biotechnology. Heidelberg: Springer-Verlag. 1996. 489 p.
13. Sibirny A., Boretsky Y. Chapter VI: *Pichia guilliermondii*. In Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. Heidelberg: Springer. 2009. 438 p.
14. Tanner F., Voinovich C., Van Lanen J. Riboflavin production by *Candida* species // Science. 1945. Vol. 101. P. 180–181.
15. Wemmie J., Wu A., Harshman K., Parker C., Moye-Rowley W. Transcriptional activation mediated by the yeast AP-1 protein is required for normal cadmium tolerance // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. N 20. P. 14690–14697.

LOCALIZATION OF MUTATION *rib83* THAT BLOCKS OVER-SYNTHESIS OF RIBOFLAVIN BY YEAST *PICHA GUILLIERMONDII*

Y. Boretsky¹, D. Fedorovych¹, V. Boretsky¹, L. Fayura¹, Y. Pynyaga¹, A. Sibirny^{1,2}

¹*Institute of Cell Biology NAS of Ukraine
14/16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: boretsky@cellbiol.lviv.ua*

²*Department of Biotechnology and Microbiology, Rzeszow University
2, Cwiklinskiej St., Rzeszow 35-601, Poland*

P. guilliermondii genes potentially encoding transcription factors an orthologs of yeast Sef1p and Yap1p proteins were identified, cloned and deleted. Deletion of gene PGUG_00664.1 potentially encoding transcription factors Yap1p that controls response to oxidative stress caused 1,8–2,2 fold decrease of intracellular content of non-heme iron, and 2,5–3,5 fold in riboflavin production under iron limitation conditions when compare to the parental strain. Deletion of *P. guilliermondii* gene PGUG_03868.1 potentially encoding ortholog of *C. famata* transcription factors Sef1p (*DEHA0C17930g*) completely blocked over-synthesis of riboflavin by the recombinant strains. Using complementation analysis we show that the previously reported mutation *rib83* inactivates *P. guilliermondii* transcription factor Sef1p.

Keywords: riboflavin, regulation of biosynthesis, yeast *P. guilliermondii*.

ЛОКАЛИЗАЦІЯ МУТАЦІЇ *rib83*, БЛОКИРУЮЩОЇ СВЕРХСИНТЕЗ РИБОФЛАВІНА У ДРОЖЖЕЙ *PICHA GUILLIERMONDII*

Ю. Борецький¹, Д. Федорович¹, В. Борецький¹, Л. Фаюра¹, Ю. Пиняга¹, А. Сибірний^{1,2}

¹*Інститут біології клітки НАН України
ул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна
e-mail: boretsky@cellbiol.lviv.ua*

²*Кафедра біотехнології і мікробіології, Жешувський університет
ул. Цвєклінської, 2, Жешув, 35-601, Польща*

Гени *P. guilliermondii*, потенціально кодуючі транскрипційні фактори Sef1p і Yap1p, ідентифіковані, клоніровані і делетировані. Делетія гена PGUG_00664.1, який потенціально кодує активатор транскрипції генів антиоксидантної захисти Yap1p, приводить до зниженню флавіногенної активності в умовах дефіциту заліза в 2,5–3,5 рази і до зниженню вмісту негемінового заліза в клітках приблизно в 1,8–2,2 рази. Делетія гена PGUG_03868.1, який потенціально кодує активатор транскрипції, ортологічний білок Sef1p *C. famata* (*DEHA0C17930g*), повністю блокує здатність штамів *P. guilliermondii* до сверхсинтезу рибофлавіну. Результати комплементарного аналізу свідчать про те, що описана раніше мутація *rib83* інактивує цей транскрипційний фактор.

Ключові слова: рибофлавін, регуляція біосинтезу, дріжджі *P. guilliermondii*.

ГОМОЛОГИ ГЛОБАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ГЕНА *bldD* У
ACTINOPLANES: АНАЛІЗ *IN SILICO*

Н. Забуранний¹, Б. Осташ¹, Л. Горбаль¹, А. Лужецький², С. Шулга³, В. Федоренко¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: bohdanostash@gmail.com

²Гельмгольтц-інститут фармацевтичних досліджень,
Кампус Саарландського Університету
Будинок С2.3, 66123 Саарбрюкен, Німеччина

³Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
вул. Осиповського, 2а, Київ 04123, Україна

Продуктом глікопептидного антибіотика тейкопланіну, який використовують як “останню лінію оборони” проти мультирезистентних коків, є бактерія *Actinoplanes teichomyceticus*. Кластер генів біосинтезу цього антибіотика (*tcp*) клоновано вісім років тому. Тим не менше, на даний момент немає даних про регуляцію біосинтезу цієї сполуки і загалом про геномну організацію, оскільки до недавнього часу не проводилися генетичні маніпуляції зі штамми *A. teichomyceticus*. У актиноміцетів глобальні регуляторні *bld*-гени координують як морфогенез, так і синтез антибіотиків. У *Streptomyces coelicolor* ідентифіковано більше 10 *bld*-локусів, і вони формують так званий каскад *bld*-генів, який дає змогу стрептоміцетам адаптуватися до мінливих умов середовища. Ген *bldD* кодує білок, розміщений у кінці сигнального каскаду. Його продукт – ключовий репресор генів морфологічної диференціації та антибіотикоутворення протягом вегетативного розвитку. У статті ми опишемо аналіз геному *A. teichomyceticus* на присутність компонентів *bld*-каскаду та детальніший аналіз причетності BldD до регуляції біосинтезу тейкопланіну. У роботі використано раніше описані в геномах стрептоміцетів консенсусні послідовності операторів, з якими взаємодіє білок BldD. Декілька ймовірних операторів BldD знайдено у межах *tcp*-кластера, що свідчить про його регуляцію за допомогою BldD. Використовуючи підходи порівняльної геноміки, ми виявили усі гени BldD-каскаду в частково секвенованому геномі *A. teichomyceticus*. Загалом, наші дані вказують на те, що BldD-залежна регуляція присутня не лише у видах роду *Streptomyces*, але й у представників роду *Actinoplanes*.

Ключові слова: *Actinoplanes*, тейкопланін, BldD, аналіз геному.

Використання антибіотиків неминуче призводить до появи стійких до них штамів мікроорганізмів [1]. Тому, поряд із раціональним використанням відомих медпрепаратів, великого значення набуває дослідження усіх аспектів відкриття і продукції нових антибіотиків у актинобактерій – класу бактерій, із яких виділено найбільшу кількість медично важливих антибіотичних сполук [2, 3]. Вивчення генетичних механізмів регуляції їхнього утворення посідає чільне місце. Розуміння генетичних факторів, що впливають на синтез антибіотика, дає змогу розробити раціональні підходи до його надпродукції, а відтак – і економічно виправданого виробництва [3]. Однак, незважаючи на докладені зусилля, сучасне розуміння генетичних механізмів регуляції біосинтезу більшості класів антибіотиків дуже фрагментарне. Вивчення регуляції експресії генів продуцента тейкопланінів *Actinoplanes teichomyceticus* [4, 5] дасть змогу використати ці знання

для конструювання покращених продуцентів цього важливого класу глікопептидних антибіотиків. У цій роботі ми наводимо біоінформатичні докази існування каскаду регуляторних *bld*-генів у геномі *A. teichomyceticus*, що ймовірно задіяні і в контролі біосинтезу тейкопланінів.

Матеріали та методи

Геном *A. teichomyceticus* NRRL-B16726 секвеновано, використовуючи методику Illumina [6] у фірмі Seq-IT (Німеччина). Деталі секвенування геному *A. teichomyceticus* NRRL-B16726 буде опубліковано окремо. Амінокислотні послідовності білків BldD та продуктів інших генів, а також нуклеотидні послідовності генів отримано із www.streptomyces.org.uk та бази даних NCBI. Програми blast2seq та CLUSTALW для попарного та множинного порівняння використовували на веб-сайтах NCBI та www.ebi.ac.uk, відповідно. Вагові матриці для операторної послідовності BldD побудовано за допомогою програм MEME [7] і TFBS [8] та зображено за допомогою WebLogo [9]. Ортологію білків визначали на основі результатів реципрокних пошуків BLAST. PSIPRED використано для аналізу вторинної структури білка (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>).

Результати і їхнє обговорення

На даний час немає опублікованої послідовності геному *A. teichomyceticus*, тому ми його секвенували, використовуючи метод зворотної термінації (Illumina) із покриттям $\times 570$. У такому стані невідомою залишається послідовність 5% геному продуцента. Проте якість секвенування достатня для початкового аналізу та скринінгу ортологів *bld*-генів. Використовуючи послідовності *bld*-генів із модельного об'єкта генетики актиноміцетів *S. coelicolor*, ми змогли ідентифікувати ортологи всіх цих генів у штамі *A. teichomyceticus*. Результати представлено у таблиці.

Попарне порівняння *bld*-генів *A. teichomyceticus* та *S. coelicolor*

<i>bld</i> -гени із <i>A. teichomyceticus</i>	<i>bld</i> -гени із <i>S. coelicolor</i>	Ідентичність послідовності, %	e-значення	Синтенія
<i>bldA</i> 83 п.н.	<i>bldA</i> 87 п.н.	76	$4e^{-14}$	–
<i>bldB</i> 228 п.н.	<i>bldB</i> 297п.н.	42	$2e^{-13}$	–
<i>bldD</i> 492п.н.	<i>bldD</i> 504п.н.	67	$5e^{-71}$	+
<i>bldC</i> 213п.н.	<i>bldC</i> 207п.н.	83	$4e^{-38}$	+
<i>bldG</i> 360п.н.	<i>bldG</i> 360п.н.	64	$3e^{-49}$	+
<i>bldKA</i> 1011п.н.	<i>bldKA</i> 1032п.н.	42	$8e^{-88}$	+
<i>bldM</i> 852п.н.	<i>bldM</i> 612п.н.	82	$5e^{-32}$	+
<i>bldN</i> 948п.н.	<i>bldN</i> 795п.н.	68	$6e^{-93}$	–

З цього можна зробити висновок, що регуляторний каскад, у якому задіяні *bld*-гени, представлений не лише у стрептоміцетів, а й серед інших актинобактерій, таких як актиноплани. У подальшому ми зосередилися на аналізі гена *bldD*, оскільки він є глобальним негативним регулятором морфологічної диференціації стрептоміцетів, і показали його репресорну роль у біосинтезі антибіотиків [10]. Гомологи *bldD* виявлено в геномах інших актиноміцетів [11, 12, 13]. Наприклад, у *Saccharopolyspora erythraea* BldD регулює біосинтез еритроміцину, взаємодіючи з промоторами генів *ery*-кластера [13]. Отже, геном *A. teichomyceticus* містить ген, ймовірним продуктом якого є BldD-подібний білок, що на 67% ідентичний до ортолога з *S. coelicolor* (рис. 1), і ці гени перебувають у синтенічних ділянках геномів *A. teichomyceticus* та *S. coelicolor*. Цей регулятор є висококонсервативним серед актинобактерій. Як показав аналіз вторинної структури амінокислотних послідовностей за допомогою PsiPred, він містить ДНК-зв'язувальний мотив «спіраль-поворот-спіраль».



Рис. 1. Множинне порівняння ДНК-зв'язувального домену BldD із актинобактерій *Sacch. erythraea*, *Kitasatospora setae*, *A. teichomyceticus*, *A. missouriensis* і *Actinoplanes sp.* SE50/110. Прямокутником позначено α -спіралі, а стрілкою – β -структури.

Відомі операторні послідовності, що можуть розпізнаватися білком BldD (BldD-бокси) для *Actinoplanes* отримано із наявних джерел [10] для побудови вагових матриць (рис. 2, а). Вагову матрицю у вигляді WebLogo представлено на рис. 2, б.

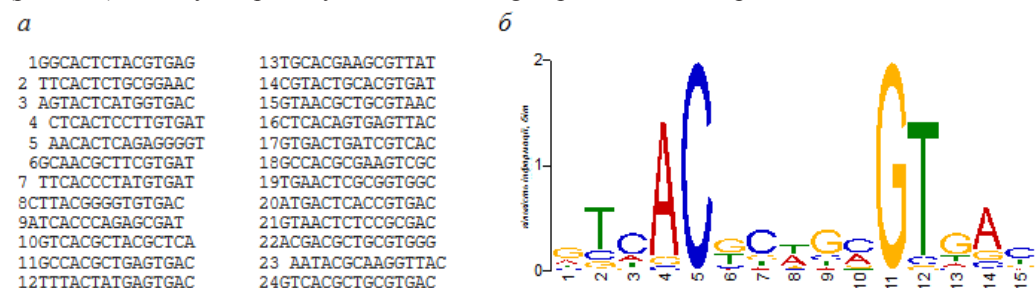


Рис. 2. BldD-бокси, що виявлені у доступних геномах *Actinoplanes* (а), та їхня вагова матриця у вигляді WebLogo (б). Вісь абсцис – позиція BldD-бокса, ординат – частота трапляння (у бітах).

Цю матрицю використано для пошуку операторних ділянок BldD у *tcp*-кластері за допомогою програми FIMO [14]. Так виявлено 3 потенційні BldD-бокси у промоторних ділянках генів *tcp9*, *tcp28* та *tcp29* (рис. 3). Перший є геном нерибосомної пептидсинтази, тоді як два останні – шлях-специфічними регуляторами біосинтезу тейкопланіну [15]. У промоторі гена *tcp28* знайдено мотив, розташований у ділянці між сайтами зв'язування білка-регулятора AdpA [16] та ймовірною точкою ініціації транскрипції гена. Цей факт вказує, що ген *bldD* може відігравати репресорну роль у синтезі тейкопланіну, як це показано для продуцента еритроміцину *Sacch. erythraea* [13].

Відомо, що BldD є білком, здатним до авторепресії [17]. Наш аналіз виявив сайти BldD-бокси у промоторі власного гена, що підтверджує припущення про таку авторегуляцію у досліджуваному штамі *A. teichomyceticus* (рис. 4).

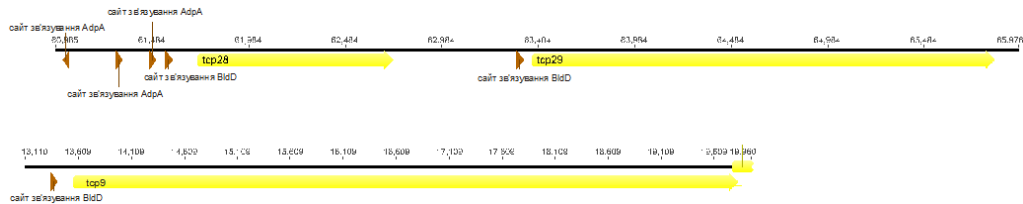


Рис. 3. Розташування BldD-боксів і операторної послідовності AdpA у *tcp*-кластері. Мотиви показані як стрілки. Масштабні лінійки вказано у парах нуклеотидів.

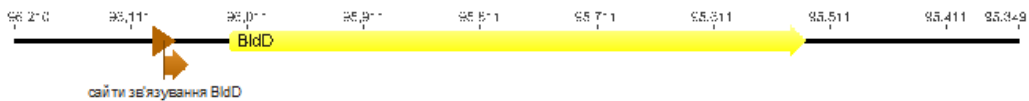


Рис. 4. Розташування BldD-боксів у промоторній ділянці гена *bldD*. Мотиви показані як стрілки. Масштабні лінійки вказані у парах нуклеотидів.

Отже, в результаті цієї роботи у геномі *A. teichomyceticus* ідентифіковано ортологи усіх *bld*-генів *S. coelicolor*. Наведено біоінформатичні докази того, що в *A. teichomyceticus* ортолог BldD *S. coelicolor* може бути задіяний у регуляції продукції тейкопланіну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Butler M. S., Cooper M. A. Antibiotics in the clinical pipeline in 2011 // J. Antibiot. 2011. Vol. 64. P. 413–425.
2. Hopwood D. A. Therapeutic treasures from the deep // Nat. Chem. Biol. 2007. Vol. 3. P. 457–458.
3. van Wezel G. P., McKenzie N. L., Nodwell J. R. Chapter 5. Applying the genetics of secondary metabolism in model actinomycetes to the discovery of new antibiotics // Methods Enzymol. 2009. Vol. 458. P. 117–141.
4. Jung H.-M., Jeva M., Kim S.-Y. et al. Biosynthesis, biotechnological production, and application of teicoplanin: current state and perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. Vol. 82. P. 57–69.
5. Somma S., Gastaldo L., Corti A. Teicoplanin, a new antibiotic from *Actinoplanes teichomyceticus* nov. sp. // Antimicrob. Agents Chemother. 1984. Vol. 26. P. 917–923.
6. Bentley D. R., Balasubramanian S., Swerdlow H. P. et al. Accurate whole genome sequencing using reversible terminator chemistry // Nature. 2008. Vol. 456. P. 53–59.
7. Bailey T. L., Elkan C. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers // Proc. Int. Conf. Intell. Syst. Mol. Biol. 1994. Vol. 2. P. 28–36.
8. Lenhard B., Wasserman W. W. TFBS: Computational framework for transcription factor binding site analysis // Bioinformatics. 2002. Vol. 18. P. 1135–1136.
9. Crooks G. E., Hon G., Chandonia J. M., Brenner S. E. WebLogo: a sequence logo generator // Genome Res. 2004. Vol. 14. P. 1188–1190.
10. denHengst C. D., Tran N. T., Bibb M. J. et al. Genes essential for morphological development and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* are targets of BldD during vegetative growth // Mol. Microbiol. 2010. Vol. 78. P. 361–379.
11. Ohnishi Y., Ishikawa J., Hara H. et al. Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350 // J. Bacteriol. 2008. Vol. 190. P. 4050–4060.
12. Omura S., Ikeda H., Ishikawa J. et al. Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: deducing the ability of producing secondary metabolites // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 12215–12220.

13. Chng C., Lum A. M., Vroom J. A., Kao C. M. A key developmental regulator controls the synthesis of the antibiotic erythromycin in *Saccharopolyspora erythraea* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 1346–1351.
14. Grant C. E., Bailey T. L., Noble W. S. FIMO: scanning for occurrences of a given motif // Bioinformatics. 2011. Vol. 27. P. 1017–1018.
15. Sosio M., Kloosterman H., Bianchi A. et al. Organization of the teicoplanin gene cluster in *Actinoplanes teichomyceticus* // Microbiol. 2004. Vol. 150. P. 95–102.
16. Ohnishi Y., Yamazaki H., Kato J. Y. et al. AdpA, a central transcriptional regulator in the A-factor **regulatory cascade that leads to morphological development and secondary metabolis-**min *Streptomyces griseus* // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2005. Vol 69. P. 431–439.
17. Elliot M. A., Locke T. R., Galibois C. M., Leskiw B. K. BldD from *Streptomyces coelicolor* is a non-essential global regulator that binds its own promoter as a dimer // FEMS Microbiol Lett. 2003. Vol. 8. P. 35–40.

Стаття: надійшла до редакції 20.12.12

доопрацьована 14.02.13

прийнята до друку 20.02.13

HOMOLOGUES OF GLOBAL REGULATORY GENE *bldD* IN *ACTINOPLANES*: ANALYSIS *IN SILICO*

N. Zaburannyi¹, B. Ostash¹, L. Horbal¹, A. Luzhetskyy², S. Shulga³, V. Fedorenko¹

¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: bohdanostash@gmail.com

²Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research, Saarl and Campus
Building C2.3, 66123 Saarbrücken, Germany

³Institute of Food Biotechnology and Genomics of the NAS of Ukraine
2a, Osypovskiyi St., Kyiv 04123, Ukraine

Actinoplanes teichomyceticus is the producer of glycopeptide antibiotic teicoplanin, which is used as a **“last line of defence” against multiresistant cocci. Gene cluster for biosynthesis of this compound (*tcp*)** was cloned eight years ago. Still, currently there are no data about **the regulation of biosynthesis of this antibiotic and about the overall genome organisation**, as until recently there were no report on successful genetic manipulations of *A. teichomyceticus*. In actinomycetes, global regulatory *bld*-genes coordinate the morphogenesis, but also antibiotic biosynthesis. There are more than 10 *bld* loci identified in model strain *S. coelicolor*, and they form so-called *bld* cascade, which permits Streptomycetes to adapt to variable environmental conditions. The *bldD*-encoded protein, is situated at the bottom of the **cascade. It’s product is a key repressor of the genes responsible for morphological differentiation and antibiotic biosynthesis during the vegetative growth.** In this paper, we describe the analysis of the *A. teichomyceticus* genome for presence of *bld* cascade components and more detailed analysis of the putative involvement of BldD in the teicoplanin biosynthesis regulation. Known operator consensus sequences for BldD were used, that were previously described for *Streptomyces* genomes. Several probable operator sequences for BldD were found in *tcp* cluster, which may point to the control of BldD over this biosynthetic pathway.

Using comparative genomics approaches, we were able to identify all genes of *bld* cascade in partially sequenced *A. teichomyceticus* genome. In all, our data suggest that BldD-dependent regulation is present not only in of *Streptomyces*, but also in the *Actinoplanes*.

Keywords: *Actinoplanes*, teicoplanin, BldD, genomeanalysis.

ГОМОЛОГИ ГЛОБАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ГЕНА *bldD* У *ACTINOPLANES*: АНАЛИЗ *IN SILICO*

Н. Забуранний¹, Б. Осташ¹, Л. Горбаль¹, А. Лужецкий², С. Шульга³, В. Федоренко¹

¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: bohdanostash@gmail.com

²Гельмгольц-институт фармацевтических исследований Саарланда,
Саарланд-кампус, д.С2.3, 66123 Саарбрюкен, Германия

³Институт пищевой биотехнологии и геномики НАНУ
ул. Осиповского, 2а, Киев 04123, Украина

Продуцентом гликопептидного антибиотика тейкопланина, использующегося как «последняя линия обороны» против мультирезистентных кокков, является бактерия *Actinoplanes teichomyceticus*. Кластер генов биосинтеза этого антибиотика (*tcp*) клонирован восемь лет назад. Однако в настоящее время отсутствуют данные не только о регуляции биосинтеза этого соединения, но и об организации генома *A. teichomyceticus*, поскольку до недавнего времени не проводились генетические манипуляции с этим видом. Глобальные регуляторные *bld*-гены координируют как морфогенез, так и синтез антибиотиков у актиномицетов. У модельного штамма *S. coelicolor* идентифицировано более 10 *bld*-локусов, которые формируют каскад *bld*-генов, играющий важную роль в его адаптации к изменчивым условиям среды. Ген *bldD* кодирует белок, расположенный в конце сигнального каскада. Его белковый продукт – ключевой репрессор генов морфологической дифференциации и антибиотикообразования в ходе вегетативного развития. В статье проведены биоинформатический анализ генома *A. teichomyceticus* с целью обнаружения компонентов *bld*-каскада и оценка возможного участия BldD в регуляции биосинтеза тейкопланина. В анализе использованы консенсусные последовательности операторов, с которыми взаимодействует белок BldD, обнаруженные ранее в геномах стрептомицетов. Несколько вероятных операторов-мишеней BldD найдены нами в кластере *tcp*, что указывает на участие транскрипционного фактора BldD в регуляции его экспрессии. Используя подходы сравнительной геномики, в частично секвенированном геноме *A. teichomyceticus* мы обнаружили все гены BldD-каскада. В целом, наши данные указывают на то, что BldD-зависимая регуляция существует не только в видах рода *Streptomyces*, но и в роде *Actinoplanes*.

Ключевые слова: *Actinoplanes*, тейкопланин, BldD, геномный анализ.

УДК 574.3:636.03

**СТАН ХВОЙНИХ РОСЛИН (НА ПРИКЛАДІ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ
PINUS SYLVESTRIS L.) У ЗОНІ РОЗТАШУВАННЯ ПТАХОФАБРИКИ**

М. Кейван, О. Тертична, О. Кейван, І. Масберг

*Інститут агроекології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ 03143, Україна
e-mail: marykeyvan@rambler.ru*

Встановлено, що морфометричні показники сосни звичайної *Pinus sylvestris* L. можуть бути біоіндикаторами стану атмосферного повітря. Морфометричні показники сосни звичайної варіюють у широкому діапазоні числових значень, при цьому рівень некротичного ураження хвої є найбільш інформативною ознакою. Мінімальне ушкодження хвої встановлене для дерев контрольної ділянки, в інших досліджуваних місцях було відзначено ушкодження хвої.

Ключові слова: біоіндикація, навколишнє середовище, сосна звичайна, морфометричні показники, птахофабрика.

Птахівництво – одна із розвинених галузей сільського господарства, яка характеризується як інтенсивним розвитком відносно невеликих приватних об'єктів з утримання птиці, так і розвитком надпотужних підприємств з утримання і відгодівлі птиці. Використання сучасних технологій призводить до зменшення впливу на навколишнє природне середовище, але не виключає його. Вивчення негативного впливу птахокомплексів на довкілля є актуальним і потребує уваги.

Нарощування обсягів виробництва яєць і м'яса птиці призводить до інтенсифікації виробництва, що проявляється у збільшенні та накопиченні відходів.

На сьогодні основною рисою інтенсивного тваринництва є утримання великої кількості тварин на невеликій площі. Щоб одержати при мінімальних витратах максимальну кількість продукції деякі господарі економлять площі, електроенергію, роблять дешевшим технологічний процес, не враховуючи природних потреб тварин, а найголовніше – наслідків виробництва для довкілля.

Встановлено, що функціонування птахофабрик призводить до забруднення повітря, яке відбувається внаслідок викидів газів із виробничих приміщень: пташників, забійних цехів, інкубаторів, санітарно-ветеринарних пунктів. Найбільші обсяги повітря з високим вмістом шкідливих речовин надходять із приміщень, де утримується птиця. Відсутність безвідходних технологій виробництва призводить до вилучення орних земель під місця складування і переробки пташиного посліду та підстилки для птиці. Дослідження впливу забрудненого повітря на живі організми, зокрема рослини, є надзвичайно актуальним.

Перевагами фітоіндикації перед інструментальними методами є відносно низька вартість, висока швидкість отримання інформації та можливість характеризувати стан середовища за тривалий проміжок часу.

Як біоіндикатори використовують різні групи організмів, і важлива роль у фітоіндикації стану навколишнього середовища належить саме деревним рослинам, особливо хвойним породам дерев [3]. Вони здатні поглинати й нейтралізувати частину атмосферних

поллютантів, затримувати частинки пилу, а також індикувати особливості забруднення відповідно до різноманіття відповідних реакцій.

Встановлено, що хвойні дерева є зручними біоіндикаторами стану повітря протягом цілого року. У лісознавстві давно розроблена оцінка стану навколишнього середовища на основі змін комплексу ознак у хвойних, не лише мінливих морфологічних, але й біохімічних [3].

Характерними ознаками хвойних дерев, які вказують на зміни газового складу атмосфери, є поява різного роду хлорозів і некрозів, зменшення розмірів низки органів (довжина хвої, пагони поточного року і минулих років, їх товщина, розмір шишок, скорочення розмірів і кількості закладених бруньок), зменшення галуження. Через менший приріст пагонів і хвої у довжину в забрудненій зоні спостерігається зближення відстані між хвоїнками (їх на пагоні більше, ніж у чистій зоні). Спостерігається потовщення самої хвої, скорочується тривалість її життя (1–3 роки в забрудненій зоні та 6–7 років – у чистій). Вплив забруднення зумовлює також стерильність насіння (зменшення його схожості). Всі ці ознаки не специфічні, але в сукупності дають досить об'єктивну картину [8].

Найчастіше пошкоджуються дуже чутливі молоді хвоїнки. Некроз може бути різним: червонувато-бурим, жовто-коричневим, буровато-сірим. Ці відтінки є інформативними якісними ознаками.

Метою роботи було дослідити вплив забрудненого повітря на стан хвойних дерев у зоні розташування птахофабрики.

Матеріали та методи

Місце проведення досліджень – ВАТ «Птахофабрика Київська», м. Київ.

Нині ВАТ «Птахофабрика Київська» спеціалізується на виробництві харчових яєць, м'яса птиці для подальшої переробки та реалізації. **Із дрібних яєць і ячної маси виробляється ячний порошок.** Крім перелічених видів продукції, птахофабрика реалізовує органічні добрива.

Виробничі потужності підприємства дають змогу виробляти:

- товарне яйце – понад 300 млн яєць на рік;
- повнораціонні корми – 100 тис. тонн на рік.

Крім цього, забійний цех дає 3 тис. голів на годину.

Підприємство пропонує:

- високоякісну продукцію ячну, збагачену селеном, каротиноїдами і вітаміном Е;
- куряче м'ясо.

Продуктивність птиці ВАТ «Птахофабрика «Київська» – 336 яєць від курки-несучки.

На центральній садибі птахофабрики розташовані 40 діючих пташників, у т.ч. один шестипверховий і два чотириповерхових. Місткість пташників 1560 тис. птахомісць. Крім того, є у наявності теплиця на 0,2 га і фруктовий сад на 23 га. Розмір санітарно-захисної зони 300 м.

Напрямок вітрів протягом року нестійкий. Зимом переважають вітри північно-західного, західного та південно-східного напрямку, а влітку – північно-західного, західного та північного напрямків.

За породним складом у лісах переважають хвойні дерева. Домінуючим видом є сосна звичайна.

Об'єктом наших досліджень були соснові насадження, що зазнавали впливу забрудненого повітря від викидів птахівничого господарства.

Стан забруднення атмосферного повітря визначали за комплексом морфологічних ознак (хвої, пагонів, бруньок) у сосни звичайної *Pinus sylvestris* L.

За тиждень до експерименту зрізали гілки умовно однорічної сосни звичайної, найбільш поширеної у цій місцевості. Гілки зрізали на висоті 2 м із частини крони, поверну-

тої до птахофабрики. Контролем слугували гілки з умовно одновікових дерев, зібраних на контрольній ділянці [2, 6, 8].

Хвою розглядали за допомогою лупи, досліджували хлорози, некрози кінчиків хвоїнок і всієї поверхні, їх відсоток і характер (точки, крапчастість, плямистість, мозаїчність). Вимірювали довжину хвої на пагоні минулого року, а також її ширину (всередині хвоїнки) за допомогою вимірювальної лупи. Повторність 10–20-кратна.

Обчислювали масу 1000 штук абсолютно сухих хвоїнок. Для цього відраховували 2 рази по 500 штук хвоїнок, висушували їх у термостаті до абсолютно сухого стану і зважували. Підраховували кількість хвоїнок на 10 см пагона. Вимірювали довжину приросту кожного року, починаючи від останнього, рухаючись послідовно по міжвузлях від року до року; вимірювали товщину осьового пагона (на прикладі дворічного); підраховували розгалуження і обчислювали його середнє значення.

Забруднення також впливає на стерильність насінин і на схожість насіння (зменшує схожість).

Характерною ознакою впливу є порушення нормального функціонування провідних судин, зменшення в 1,5–2 рази лінійних розмірів хвої та специфічні якісні морфологічні прояви: поява некротичних розсіяних плям діаметром 1–1,5 мм чи відмерлих верхівок. В останньому випадку зеленувато-жовта або жовтувато-сіра відмерла апікальна частина хвої відділена від здорової коричневим пояском завширшки 1–1,5 мм.

У хвойних деревних рослин гостре ураження зумовлює верхівковий некроз червонувато-коричневого або коричневого кольору, котрий може поширитися до основи хвоїнок.

Утворення некротичних плям на серединній частині хвої не є специфічною реакцією на атмосферні забруднювачі. Схожі патологічні зміни виникають при різних стресових впливах, спричинених абіотичними факторами [7].

Таким чином, найбільш чутливою реакцією хвої на стресові впливи антропогенної природи є закупорювання смоляних ходів і як наслідок цього процесу – некротизація верхівки хвої та її повне відмирання [1].

Для дослідження реакцій рослин на стресові фактори антропогенно навантажених територій і подальшої оцінки на їх основі стану довкілля було використано комплекс морфометричних методів [1].

У досліджуваних зонах відбирали хвою з п'яти дерев на чотирьох дослідних ділянках, далі працювали зі середніми даними, тобто брали середні значення хвоїнок на території санітарно-захисної зони птахофабрики та середні значення морфометричних показників на контролі.

Результати і їхнє обговорення

Вплив антропогенних факторів будь-якої інтенсивності має у рослин виражений морфологічний ефект. Це дає змогу проводити доволі точну неспецифічну біоіндикацію якості довкілля із використанням дендрометричних показників. Найбільш інформативними серед них можна вважати ті, що тісно корелюють із величиною первинної продукції та характеризують газообмін у системі «рослина – середовище». До таких, зокрема, належать морфометричні показники деревних рослин [5].

На хвої сосни звичайної поблизу джерела забруднення з'являються пошкодження: світло-зелені плями і некротичні точки; ознаки всихання.

Отримані дані показали, що на території санітарно-захисної зони птахофабрики відсоток хвоїнок з плямами й ознаками всихання становив 35%, тоді як на контрольній ділянці – 5% у 2011 році та 30% і 0% у 2012 році відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Морфометричні показники сосни звичайної *Pinus sylvestris* L., 2011 р.

Місце відбору проб	Довжина хвої, мм	Ширина хвої, мм	Кількість хвоїнок на 10 см, шт.	Вага 1000 хвоїнок, г	Некрози
Птахофабрика	49,4±5,6	1±0,00	292±0,85	10,18±0,01	30% – боковий некроз 5% – верхівковий
Контрольна ділянка	112±5,14	2±0,00	154±0,8	16,72±0,05	5% – верхівковий

Таблиця 2

Морфометричні показники сосни звичайної *Pinus sylvestris* L., 2012 р.

Місце відбору проб	Довжина хвої, мм	Ширина хвої, мм	Кількість хвоїнок на 10 см, шт.	Вага 1000 хвоїнок, г	Некрози
Птахофабрика	74,95±6,95	1±0,00	250±1,8	9,48±0,004	30% – верхівковий
Контрольна ділянка	86,2±6,8	1±0,00	40±0,5	18,32±0,04	Некроз відсутній

Результати дослідження показали збільшення кількості хвоїнок з плямами порівняно з хвоїнками, відібраними на контрольній ділянці.

За даними досліджень, простежується зниження абсолютних значень довжини хвої сосни звичайної в насадженнях із наближенням до птахофабрики і з підвищенням рівня забрудненості середовища. Також простежується збільшення кількості хвої на пагоні, що теж свідчить про забруднення повітря навколо птахофабрики, оскільки через менший ріст пагонів і хвої у довжину в забрудненій зоні спостерігається зближення відстані між хвоїнками (їх на пагоні більше, ніж у чистій зоні).

Нижчі значення показника абсолютно сухої ваги хвоїнок (9,48) на території СЗЗ птахофабрики вказують на те, що на сосну звичайну теж впливає діяльність птахопідприємства, тоді як на території контрольної ділянки значення цього показника було 18,32 (табл. 2).

Дослідженнями встановлено, що в сильніше забруднених районах пучки хвоїнок більш зближені і на 10 см пагона їх більше, ніж у чистій зоні.

Мінімальне ушкодження хвої встановлене для дерев контрольної ділянки, в інших досліджуваних точках було відзначено ушкодження хвої.

Прямо пропорційно відстані від СЗЗ птахофабрики змінюється кількість хвоїнок на 10 см пагона, а обернено пропорційно – довжина, ширина хвої, вага 1000 шт. хвоїнок, а також рівень некротичного ураження.

Фітомеліоративні особливості деревних хвойних рослин під впливом антропогенного навантаження мають важливе значення при моніторингових дослідженнях.

У особин сосни звичайної в умовах забруднення відбувається зміна морфометричних показників, зокрема ступінь некротичного ураження і його характер, довжина, ширина, їх вага, а також кількість на 10 см пагона.

За даними досліджень було виявлено зниження абсолютних значень довжини хвої сосни звичайної в насадженнях з наближенням до птахофабрики і з підвищенням рівня забрудненості середовища.

Відзначено збільшення кількості хвої на пагоні в межах санітарно-захисної зони птахофабрики, що свідчить про забруднення повітря навколо птахофабрики.

Встановлено, що морфометричні показники сосни звичайної варіюють у широкому діапазоні числових значень, при цьому рівень некротичного ураження хвої є найбільш інформативною біоіндикаційною ознакою.



Рис. 1. Усереднені дані морфометричних показників сосни звичайної *Pinus sylvestris* L. на території санітарно-захисної зони птахофабрики та контрольної ділянки, 2011 р.

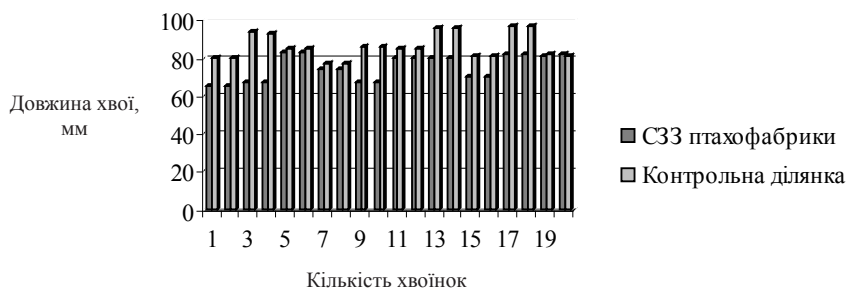


Рис. 2. Усереднені дані морфометричних показників сосни звичайної *Pinus sylvestris* L. на території санітарно-захисної зони птахофабрики та контрольної ділянки, 2012 р.

У результаті дослідження встановлено збільшення кількості хвоїнок із плямами, порівняно з хвоїнками, відібраними на контрольній ділянці.

Значення показника абсолютно сухої ваги хвоїнок менше порівняно з контролем, що вказує на забруднення атмосферного повітря на території санітарно-захисної зони птахофабрики.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Клейн Р. М. Методы исследования растений. М.: Колос, 1974. С. 166–193.
2. Клименко М. О., Прищепя А. М., Вознюк Н. М. Моніторинг довкілля: навч. посібник. Рівне: УДУВГП, 2004. 232 с.
3. Козловська Т. Ф., Никифоров В. В. Рослинний покрив як тест-об'єкт оцінки ступеня екологічного ризику забруднення атмосферного повітря прикар'єрних територій // Вісн. КрНУ ім. Михайла Остроградського. 2011. Вип. 42(69). Ч. 1. С. 49–45.
4. Лаптев О. О. Екологічна оптимізація біогеоценологічного покриву в сучасному урболандшафті. К.: Укр. екол. акад. наук, 1998. 208 с.
5. Мэнинг У. Биомониторинг загрязнения атмосферы с помощью растений. П.: Гидрометеоздат, 1985. 143 с.
6. Онищенко В. М. Стан та продуктивність штучних насаджень сосни звичайної, створених на староорних землях Центрального Полісся: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. К., 2004. 20 с.

7. Проблемы фитогигиены и охрана окружающей среды / Под ред. Э.И. Слепяна. К.: Вища школа, 1973. 160 с.
8. Руденко С. С. Загальна екологія: практичний курс: навч. посібник: у 2-х ч. Ч. 1. Чернівці: Книги – XXI, 2008. 308 с.

Стаття: надійшла до редакції 22.11.12

доопрацьована 11.02.13

прийнята до друку 12.02.13

STATE CONIFERS (FOR EXAMPLE *PINUS SYLVESTRIS* L.) IN THE AREA OF LOCATION POULTRY FARM

M. Keivan, O. Tertychna, O. Keivan, I. Masberh

*Institute of Agroecology and Natural Management of the NAAS of Ukraine
12, Metrologichna St., Kyiv 03143, Ukraine
e-mail: marykeyvan@rambler.ru*

A bioindication of air through pine *Pinus sylvestris* L. was estimated. Morphometric indices pine vary in a wide range of numerical values, the level of necrotic needles are the most informative bioindication sign. Minimal damage to pine trees established for the control plots, the other study locations were marked damaged needles.

Keywords: bioindication, environment, pine, morphometric parameters, poultry farm.

СОСТОЯНИЕ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SYLVESTRIS* L.) В ЗОНЕ РАЗМЕЩЕНИЯ ПТИЦЕФАБРИКИ

М. Кейван, О. Тертичная, Е. Кейван, И. Масберг

*Институт агроэкологии и природопользования НААН Украины
ул. Метрологическая, 12, Киев 03143, Украина
e-mail: marykeyvan@rambler.ru*

Установлено, что морфометрические показатели сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. могут быть биоиндикаторами состояния атмосферного воздуха. Морфометрические показатели сосны обыкновенной варьируют в широком диапазоне числовых значений, при этом уровень некротического поражения хвои является наиболее информативным биоиндикационным признаком. Минимальное повреждение хвои установлено для деревьев контрольного участка, в других исследуемых точках было отмечено повреждение хвои.

Ключевые слова: биоиндикация, хвойные растения, окружающая среда, морфометрические показатели, птицефабрика.

РІДКІСНІ ВИДИ КОМАХ НА ТЕРИТОРІЇ НПП ГУЦУЛЬЩИНА: СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ЗБЕРЕЖЕННЯ

В. Пророчук

*Національний природний парк «Гуцульщина»
вул. Дружби, 84, Косів, Івано-Франківська обл. 78600, Україна
e-mail: gutsulpark@rambler.ru*

Представлені дані про сучасний стан 38 рідкісних видів комах на території НПП «Гуцульщина». Проаналізовано їх поширення та розподіл за біотопами, розглянуто пріоритетні заходи щодо їх охорони. Виділено основні типи біотопів з найбільшою концентрацією рідкісних видів комах, котрі мають виняткове значення щодо їх збереження.

Ключові слова: НПП «Гуцульщина», Карпати, комах, рідкісні види, біотоп.

Однією з основних функцій особливо охоронюваних природних територій є збереження та підтримання біологічного різноманіття. Особливої уваги заслуговує найбагатший у таксономічному аспекті клас комах (Insecta), представники якого є невід'ємним компонентом усіх наземних екосистем. Завдяки великій кількості та різноманітності, комахи відіграють величезну роль у біосфері. Разом з тим, через антропогенні зміни навколишнього середовища багато видів комах опинилися у загрозовому стані та потребують особливої охорони. Зростання уваги щодо проблематики охорони рідкісних видів комах в Україні видно на прикладі Червоної книги, до другого видання якої було включено 173 види комах [12], а вже до третього – 221 вид [13]. Відомо що принципи охорони рідкісних видів безхребетних, зокрема комах, суттєво відрізняються від таких щодо хребетних тварин і мають низку характерних рис. Зокрема, охоронні заходи стосовно певних видів комах повинні бути спрямовані насамперед на збереження й підтримання біотопів, які є середовищем існування популяцій цих видів [6, 7].

Матеріали та методика

Основою для статті послужили матеріали власних досліджень, зібрані протягом 2003–2012 рр. на території НПП «Гуцульщина». Під час польових досліджень використовували загальноприйняті в ентомології методи [3, 4, 18]: візуальні спостереження, ручний збір комах повітряним сачком і методом косіння, закладання ґрунтових пасток Барбера, нічний збір комах на світло тощо.

Крім того, було опрацьовано та узагальнено дані, відображені в матеріалах «Літопису природи» парку [8, 9], отримані від низки науковців, що в різний час проводили дослідження ентомофауни на території НПП «Гуцульщина», а також дані літературних джерел [2, 10, 11].

У роботі використано такі скорочення: ЄЧС – Європейський червоний список; ок. – околиці; ПОНДВ – природоохоронне науково-дослідне відділення; ЧКУ – Червона книга України; ЧКУК – Червона книга Українських Карпат; BernC: II – Додаток II Бернської конвенції; IUCN – Червоний список загрожених видів тварин МСОП; категорії: CR – вид у критичному стані; EN – вид під загрозою зникнення; VU – вразливий; NT – близький до стану загрози; LC – вид практично поза загрозою; DD – недостатньо даних для оцінки статусу виду.

Результати і їхнє обговорення

На сьогоднішній день на території НПП «Гуцульщина» зареєстровано 38 видів з 33 родів, 21 родини і 4 рядів класу комах, що потребують охорони на національному та регіональному рівнях. У тому числі 30 видів є занесеними до Червоної книги України [13], 37 – до Червоної книги Українських Карпат [14], 8 – до Червоного списку МСОП [17], 6 – до Європейського червоного списку [15, 16] і 7 – до Додатку II Бернської конвенції [1].

Серед 38 видів комах з охоронним статусом, вказаних для НПП «Гуцульщина», наявність 33 видів не викликає сумнівів, а наявність 5 видів (*Anax imperator*, *Calosoma sycophanta*, *Bombus muscorum*, *Bombus pomorum*, *Nymphalis vaualbum*) потребує підтвердження новими знахідками.

Нижче наведено анотований список рідкісних видів комах, зареєстрованих на території НПП «Гуцульщина».

***Calopteryx virgo* (Linnaeus, 1758)** – Красуня діва (Odonata: Calopterygidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. **Західнопалеарктичний амфібіонтний реофільний вид**, локально поширений у Правобережній Україні, приурочений до річкових долин [13]. У НПП локально поширений на всій території, звичайний, місцями численний у навколводних біотопах, зокрема вздовж річок і потоків [10].

***Anax imperator* Leach, 1815** – Дозорець імператор (Odonata: Aeshnidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: NT. **Західнопалеарктичний амфібіонтний реофільний вид**, дуже локально поширений в Україні, приурочений до стоячих і слабо проточних водойм [13]. Наявність виду на території НПП потребує підтвердження новими знахідками.

***Cordulegaster bidentatus* Selys, 1843** – Кордулегастер двозубчастий (Odonata: Cordulegastridae). Статус: IUCN: NT; ЧКУ: **Зникаючий**; ЧКУК: NT. **Європейський монтанний амфібіонтний реофільний вид**, дуже локально поширений в Українських Карпатах [13]. На території НПП досить звичайний, трапляється вздовж невеликих гірських струмків, на лісових узліссях, просіках і галявинах, піднімаючись річковими долинами до 700–800 м н.р.м. Як зазначає В.О. Мартинов, територія НПП «Гуцульщина» є надзвичайно зручною для детального дослідження біології цього виду [10].

***Sympetrum pedemontanum* (Muller in Allioni, 1766)** – Бабка перев'язана (Odonata: Libellulidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. **Транс'євроазіатський амфібіонтний реофільний вид**. На території України локально поширений у Західному Лісостепу, на Донбасі, Передкарпатті та невеликих висотах у Карпатах, рідкісний [13]. На території НПП – дуже локально поширений та рідкісний, віддає перевагу водоймам із чистою водою та повільною течією [10].

***Calosoma sycophanta* (Linnaeus, 1758)** – Красотіл пахучий (Coleoptera: Carabidae). Статус: ЄЧС: V; ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: CR. **Західнопалеарктичний неморальний вид**. В Україні рідкісний і локальний, у Карпатському регіоні приурочений до рівнинних і передгірних широколистяних лісів, зокрема дібров [13]. **Наявність виду на території НПП потребує підтвердження новими знахідками**.

***Carabus auronitens escheri* Palliardi, 1825** – Турун золотисто-блискучий Ешера (Coleoptera: Carabidae). Статус: ЧКУК: NT. Ендемічний карпатський підвид середньоевропейського монтанного лісового виду. В Україні поширений виключно в Карпатах, де відносно звичайний у лісових біотопах [14]. На території НПП локально звичайний у букових, мішаних і шпилькових лісах.

***Carabus irregularis* Fabricius, 1792** – Турун нерегулярно-ямковий (Coleoptera: Carabidae). Статус: ЧКУК: NT. Середньо-європейський монтанний вид. В Україні поширений виключно в Карпатах, приурочений до гірських корінних лісових екосистем [14]. У НПП дуже локально поширений у старих букових і ялицево-букових лісах.

***Carabus intricatus* Linnaeus, 1761** – Турун заплутаний (Coleoptera: Carabidae). Статус: IUCN: LR/NT; ЄЧС: V; ЧКУК: LC. Європейський неморальний лісовий вид. В Україні широко розповсюджений і відносно звичайний у Карпатському регіоні, значно рідше трапляється у лісовій та лісостеповій зонах [14]. У НПП населяє передгірні й низькогірні дубові, дубово-букові та букові ліси, локально звичайний.

***Emus hirtus* (Linnaeus, 1758)** – Стафілін волохатий (Coleoptera: Staphylinidae) Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: VU. Західнопалеарктичний вид, локально поширений по всій території України, практично всюди рідкісний [13]. На території НПП відомий за поодинокими знахідками у Косівському ПОНДВ.

***Lucanus cervus* (Linnaeus, 1758)** – Жук-олень (Coleoptera: Lucanidae). Статус: BernC: III; ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: NT. Західнопалеарктичний неморальний сапроксилобійонтний вид. Локально поширений практично по всій території України, преферує старі широколистяні ліси [13]. На території НПП населяє передгірні діброви (Старокутське ПОНДВ), місцями, вздовж річкових долин трапляється і в поясі букових лісів, всюди рідкісний. Віддає перевагу старим деревостанам зі всихаючими та мертвими деревами.

***Osmoderma barnabita* (Motschulsky, 1845)** – Жук-самітник (Coleoptera: Scarabaeidae). Статус: IUCN: NT; ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: EN. Європейський неморальний лісовий сапроксилобійонтний вид. Дуже локально поширений у лісовій та лісостеповій зонах і Карпатському регіоні, де преферує старі широколистяні ліси зі всихаючими та мертвими, дуплистими деревами [14]. На території НПП відомий за поодинокими знахідками у Косівському ПОНДВ (ок. м. Косів і с. Соколівка).

***Anthaxia helvetica* Stierlin, 1868** – Антаксія ялицева (Coleoptera: Buprestidae). Статус: ЧКУК: NT. Європейський монтанний лісовий ксилобійонтний вид, приурочений до шпилькових лісів. На території України локально поширений на Поліссі, в Криму та Карпатах [14]. У НПП «Гуцульщина» виявлені 2 особини: у Старокутському ПОНДВ – в ялиново-дубовому лісі, і в Космацькому ПОНДВ – на схилі г. Грегит у ялиновому лісі [8].

***Aromia moschata* (Linnaeus, 1758)** – Вусач мускусний (Coleoptera: Cerambycidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: NT. Транспалеарктичний ксилобійонтний вид, широко розповсюджений на території України, локальний і здебільшого рідкісний [13]. У НПП виявлений у Косівському та Старокутському ПОНДВ, де приурочений до навколводних вербових заростей і алювіальних екотонів зі старими вербами.

***Rosalia alpina* (Linnaeus, 1758)** – Вусач альпійський (Coleoptera: Cerambycidae). Статус: IUCN: VU; BernC: II; ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: VU. Західнопалеарктичний неморально-монтанний ксилобійонтний вид. На території України дуже локально поширений на Волино-Поділлі, у Криму та Карпатах, преферує старі широколистяні та мішані ліси з буком [14]. У НПП достовірно зареєстрований у Косівському ПОНДВ (ок. с. Соколівка).

***Bombus muscorum* (Linnaeus, 1758)** – Джміль моховий (Hymenoptera: Apidae). Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: VU. Транспалеарктичний лучний вид, поширений по всій території України, але скрізь рідкісний [13]. Наявність виду на території НПП «Гуцульщина» потребує підтвердження новими знахідками.

***Bombus pomorum* (Panzer, 1805)** – Джміль яскравий (Hymenoptera: Apidae). Статус: ЧКУ: Вразливий. Західнопалеарктичний ксеротермофільний лучний вид, локально поширений у багатьох областях України [13]. Наявність виду на території НПП «Гуцульщина» потребує підтвердження новими знахідками.

***Xylocopa valga* Gerstaecker, 1872** – Ксилокопа звичайна (Hymenoptera: Apidae). Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: LC. Транспалеарктичний ксеротермофільний лісостепо-

вий вид, локально поширений по всій території України, за винятком Полісся [13]. У НПП відомий за поодинокими знахідками у Косівському ПОНДВ (ок. м. Косів і с. Соколівка).

***Papilio machaon* Linnaeus, 1758** – Махаон (Lepidoptera: Papilionidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. Транспалеарктичний полізональний евритопний вид, звичайний по всій території України [14]. На території НПП звичайний у різноманітних відкритих біотопах, у тому числі й антропогенно трансформованих.

***Iphiclides podalirius* (Linnaeus, 1758)** – Подалірій (Lepidoptera: Papilionidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. **Західнопалеарктичний неморальний лісо-лучний вид, широко розповсюджений і відносно звичайний по всій Україні [13]. У НПП трапляється в передгірних районах та річкових долинах і на гірських схилах південної експозиції, переважно серед чагарників і в садах населених пунктів.**

***Parnassius mnemosyne* (Linnaeus, 1758)** – Мнемозина (Lepidoptera: Papilionidae). Статус: BernC: II; ЄЧС: *; ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: NT. **Західнопалеарктичний лісо-лучний вид, дуже локально поширений на більшій частині України [13]. В НПП локально – звичайний вид, трапляється на всій території, на узліссях, галявинах і лісових луках, у межах поясу букових лісів.**

***Lycaena dispar rutilus* Werneburg, 1864** – Червінець непарний (Lepidoptera: Lycaenidae). Статус: IUCN: LR; BernC: II. Європейсько-сибірський гігрофільний лучний вид, широко розповсюджений на території України [14]. **На території НПП локально звичайний вид, приурочений до гігрофітних лук і екотонів, у межах поясу дубових лісів (Старокутське ПОНДВ).**

***Maculinea arion* (Linnaeus, 1758)** – Синявець аріон (Lepidoptera: Lycaenidae). Статус: IUCN: LR; BernC: II; ЄЧС: V; ЧКУК: NT. Європейсько-сибірський лучно-степовий ксерофільний вид, локально поширений на більшості території України [14]. У НПП поодинокі особини зареєстровані на сухих луках у передгір'ї та поясі букових лісів.

***Maculinea teleius* (Bergsträsser, [1779])** – Синявець телей (Lepidoptera: Lycaenidae). Статус: IUCN: LR; BernC: II; ЄЧС: E; ЧКУК: NT. **Транспалеарктичний гігрофільний лучний вид, дуже локально поширений на території України [14]. У НПП рідко та локально трапляється на гігрофітних луках у передгір'ї (Старокутське ПОНДВ).**

***Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758)** – Люцина (Lepidoptera: Riodinidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: VU. Неморальний лісо-лучний мезофільний вид, локально поширений по всій Україні [13]. У НПП відомий за поодинокими знахідками на лісових узліссях та галявинах, у межах поясів дубових і букових лісів.

***Apatura iris* (Linnaeus, 1758)** – Райдужниця велика (Lepidoptera: Nymphalidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. Транспалеарктичний лісовий вид. В Україні поширений у Карпатах, лісовій і на півночі лісостепової зони [13]. У НПП **всюди широко розповсюджений і звичайний.** Імаго часто трапляються на лісових дорогах, просіках та узліссях, по берегах водойм, місцями утворюючи скупчення до кількох десятків особин.

***Limenitis populi* (Linnaeus, 1758)** – Стрічка тополевої (Lepidoptera: Nymphalidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: NT. Транспалеарктичний лісовий вид, поширення якого подібне до попереднього [13]. **Проте на території НПП «Гуцульщина» він трапляється досить локально і рідко.** Приурочений до лісових екотонів у передгірних дібровах, але річковими долинами проникає й вище, в пояс букових лісів.

***Nymphalis vaualbum* ([Denis & Schiffermüller], 1775)** – Сонцевик фау-біле (Lepidoptera: Nymphalidae). Статус: ЧКУ: Неоцінений; ЧКУК: DD. Голарктичний лісовий вид, мешканець заплавних і низинних лісів, що спорадично трапляється у лісовій, лісостеповій та степовій зонах [13]. **Наявність виду на території НПП «Гуцульщина» потребує підтвердження новими знахідками.**

***Endromis versicolora* (Linnaeus, 1758)** – Шовкопряд березовий (Lepidoptera: Endromidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: NT. **Європейсько-сибірський лісовий вид**, широко розповсюджений на Поліссі та в Карпатах, локально у лісостепу [13]. На території НПП спорадично трапляється у лісах і на їхніх екотонах, переважно вздовж річкових долин, від низин і до верхньої межі лісу.

***Aglia tau* (Linnaeus, 1758)** – Павиноочка руда (Lepidoptera: Saturniidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. Західнопалеарктичний неморальний лісовий вид, широко розповсюджений і звичайний у Карпатах, локальний – у лісовій та лісостеповій зонах [13]. На території НПП – найбільш характерний, а в період лету – фоновий вид букових лісів усієї території. Звичайний, місцями – численний вид.

***Saturnia pavonia* (Linnaeus, 1758)** – Павиноочка мала (Lepidoptera: Saturniidae). Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: NT. **Європейсько-сибірський лісо-лучний вид**, широко, але локально розповсюджений по всій Україні [13]. У НПП відомий за поодинокими знахідками імаго на лісових узліссях та галявинах, луках і в садах, у межах поясів дубових і букових лісів.

***Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758)** – Бражник мертва голова (Lepidoptera: Sphingidae). ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: LC. **Палеотропічно-середземноморський вид – мігрант**. Нерезидентний представник лепідоптерофауни України, оскільки нездатний перезимувати у наших кліматичних умовах, у зв'язку з чим його охорона у нас є недоцільною [14]. На території НПП «Гуцульщина» відомий за поодинокими знахідками імаго у Старокутському та Косівському ПОНДВ.

***Proserpinus proserpina* (Pallas, 1772)** – Бражник прозерпіна (Lepidoptera: Sphingidae). IUCN: DD; BernC: II; HD: IV; ЄЧС: V; ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: VU. Західнопалеарктичний неморальний мезофільний вид, локально поширений по всій Україні [13]. На території НПП відомий за поодинокими знахідками на луках і лісо-лучних екотонах у межах поясів дубових та букових лісів.

***Peridea anceps* (Goeze, 1781)** – Зубниця дубова (Lepidoptera: Notodontidae). Статус: ЧКУК: VU. Неморальний лісовий мезофільний вид, локально поширений по всій Україні [14]. У НПП відомий за поодинокими знахідками імаго у дібровах Старокутського ПОНДВ.

***Pericallia matronula* (Linnaeus, 1758)** – Ведмедиця велика (Lepidoptera: Erebidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: VU. **Європейсько-сибірський лісо-лучний вид**, дуже локально поширений у лісовій та лісостеповій зонах і Карпатах [13]. У НПП локальний та нечисленний у лісах і на їхніх екотонах, у межах поясу букових лісів (Косівське та Шешорське ПОНДВ).

***Callimorpha dominula* (Linnaeus, 1758)** – Ведмедиця-господиня (Lepidoptera: Erebidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. **Західнопалеарктичний неморальний лісо-лучний вид**, локально розповсюджений на більшості території України [13]. У НПП локально звичайний на лісових узліссях та галявинах, у межах поясів дубових і букових лісів.

***Catocala fraxini* (Linnaeus, 1758)** – Стрічкарка блакитна (Lepidoptera: Erebidae). Статус: ЧКУ: Вразливий; ЧКУК: LC. Транспалеарктичний мезофільний лісовий вид, широко розповсюджений в Україні [13]. **На території НПП досить звичайний у різноманітних лісових і екотонних біотопах**, від низин до верхньої межі лісу.

***Catocala sponsa* (Linnaeus, 1767)** – Стрічкарка малинова (Lepidoptera: Erebidae). Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: NT. **Західнопалеарктичний мезофільний лісовий вид**, широко розповсюджений в Україні [13]. У НПП населяє передгірні діброви (Старокутське ПОНДВ).

***Euchalcia variabilis* (Piller, 1783)** – Евхальція різнобарвна (Lepidoptera: Noctuidae). Статус: ЧКУ: Рідкісний; ЧКУК: NT. Транспалеарктичний монтанний лісо-лучний гігрофільний вид, локально поширений і нечисленний в Українських Карпатах і на Донецькому кряжі [13]. У НПП відомий за поодинокими знахідками імаго на гірських луках та узліссях у долинах річок, у межах поясу букових лісів (Косівське ПОНДВ).

Серед комах, що занесені до ЧКУ [13], широко розповсюдженими та відносно звичайними на території парку є 9 видів (*Calopteryx virgo*, *Cordulegaster bidentatus*, *Papilio machaon*, *Iphiclides podalirius*, *Parnassius mnemosyne*, *Apatura iris*, *Aglia tau*, *Callimorpha dominula* і *Catocala fraxini*). Усі вони відносно звичайні, а деякі навіть численні, і сучасний стан їхніх популяцій на території НПП “Гуцульщина” не викликає занепокоєння. Те саме стосується і занесених до ЧКУК [14] *Carabus auronitens escheri*, *Carabus intricatus* та *Lycaena dispar rutilus*, а спеціальна охорона бражника «мертва голова» (*Acherontia atropos*), зважаючи на його нерезидентний статус у регіональній лепідоптерофауні, взагалі позбавлена сенсу. Натомість, справді рідкісними на території НПП “Гуцульщина” є 20 видів комах: *Sympetrum pedemontanum*, *Carabus irregularis*, *Emus hirtus*, *Lucanus cervus*, *Osmoderma barnabita*, *Anthaxia helvetica*, *Aromia moschata*, *Rosalia alpina*, *Xylocopa valga*, *Maculinea arion*, *M. teleius Hamearis lucina*, *Limenitis populi*, *Endromis versicolora*, *Saturnia pavonia*, *Proserpinus proserpina*, *Peridea anceps*, *Pericallia matronula*, *Catocala sponsa* та *Euchalcia variabilis*. Більшість із них є стенотопними та вузько-локальними, а як наслідок – дуже вразливими до змін навколишнього середовища. Саме для них, перш за все, необхідні розробка спеціальних заходів охорони та моніторинг чисельності.

На основі біотопної концепції охорони раритетної ентомофауни [5, 6], було виділено основні типи біотопів зі значною різноманітністю раритетної ентомофауни, які репрезентують оселища багатьох раритетних видів комах, а відповідно й відіграють ключову роль у їхньому збереженні. Це, насамперед, корінні передгірні широколистяні (дубові) ліси та їх екотони, корінні гірські широколистяні (букові) та мішані ліси з їх екотонами, а також гірські післялісові луки.

Власне, виключно з передгірними дібровами парку тісно пов’язані 4 види рідкісних комах (*Calosoma sycophanta*, *Lucanus cervus*, *Peridea anceps* та *Catocala sponsa*). Два останніх, крім того, є монофагами дуба. До екотонних біотопів поясу дубових лісів приурочені ще кілька раритетних видів комах, зокрема *Limenitis populi* та *Nymphalis vaualbum*. До гірських букових лісів тісно приурочені 6 раритетних видів комах (*Carabus irregularis*, *C. intricatus*, *Osmoderma barnabita*, *Rosalia alpina*, *Aglia tau* та *Pericallia matronula*). Виключно до корінних широколистяних (дубових і букових) лісів парку приурочені низка рідкісних видів жуків-ксило- та сапроксилобіонтів, що трофічно пов’язані зі старими й мертвими деревами і зникають перш за все через знищення їх оселищ та трофічної бази внаслідок санітарних рубок догляду [16]. Це, зокрема, такі раритети, як *Lucanus cervus*, *Osmoderma barnabita*, *Rosalia alpina* тощо. По одному рідкісному виду комах приурочені до старих шпилькових лісів (*Anthaxia helvetica*) та навколоводних вербових заростей (*Aromia moschata*). Загалом, з лісовими й екотонними біотопами парку тісно пов’язані 22 види комах, що потребують охорони, тобто більше половини усіх раритетних видів, що тут зареєстровані.

Деяко менше (12) рідкісних видів комах пов’язані з лучними біотопами. Зокрема, ксерофітні та мезоксерофітні луки й екотони населяють такі види, як *Xylocopa valga*, *Iphiclides podalirius*, *Maculinea arion* та *Proserpinus proserpina*. Для гігрофітних лучних і екотонних біотопів притаманні *Lycaena dispar rutilus* та *Maculinea teleius*. На мезофітних гірських луках і галявинах мешкають *Parnassius mnemosyne*, *Saturnia pavonia* та *Euchalcia*

variabilis. На всіх типах лук трапляється *Papilio machaon*. Зрештою, враховуючи те, що лісові та лучні біотопи на території НПП «Гуцульщина» часто межують, утворюючи мозаїку різноманітних екотонів, більшість видів ентомофауни здебільшого трапляється саме в екотонних стаціях.

Окрему, не менш важливу роль у підтриманні біорізноманіття парку відіграють водойми, зокрема гірські річки та струмки, що є стаціями для 4 рідкісних видів амфібіонтних комах із ряду Odonata.

Зважаючи на вищесказане, необхідною умовою збереження різноманіття ентомофауни та забезпечення охорони рідкісних і зникаючих видів комах на території НПП «Гуцульщина» є збереження та підтримання біотопів з високими видовим багатством і концентрацією раритетних видів. Насамперед, необхідне встановлення адекватного охоронного режиму в корінних широколистяних та мішаних лісах і їхніх екотонах, котрі становлять ядро різноманітності регіональної ентомофауни. Крім того, необхідні подальші дослідження ентомофауни парку з метою виявлення нових локалітетів рідкісних і зникаючих видів комах, а також ведення моніторингу стану їхніх популяцій.

На території НПП «Гуцульщина» зареєстровано 38 рідкісних видів комах, що потребують охорони на національному та регіональному рівнях. Серед них 30 занесені до Червоної книги України, 37 – до Червоної книги Українських Карпат, 8 – до Червоного списку МСОП, 6 – до Європейського Червоного списку і 7 – до Додатку II Бернської конвенції.

Широко розповсюдженими та відносно звичайними на території парку є 12 видів комах, що перебувають під охороною. Наявність 5 рідкісних видів потребує підтвердження. Решта 20 видів на території НПП «Гуцульщина» є справді рідкісними та потребують спеціальних заходів охорони.

Більше половини рідкісних видів парку тісно пов'язані з лісовими й екотонними біотопами, насамперед з передгірними дубовими та гірськими буковими лісами і їхніми екотонами. Саме ці біотопи відіграють ключову роль у збереженні раритетної ентомофауни.

Необхідними умовами збереження різноманіття ентомофауни НПП, в тому числі рідкісних і зникаючих видів, є підтримання заповідного режиму в усіх масивах корінних широколистяних та мішаних лісів, а також проведення моніторингових спостережень за станом популяцій раритетних видів комах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Безхребетні тварини під охороною Бернської конвенції / за ред. І. В. Загороднюка. К., 1999. 60 с.
2. Геряк Ю. М., Стефурак І. Л. Ноктуоїдні лускокрилі (Lepidoptera: Noctuoidea) Національного природного парку «Гуцульщина» // Роль природоохоронних установ у збереженні біорозмаїття, етнокультурної спадщини та збалансованому розвитку територій: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 10-річчю НПП «Гуцульщина» (м. Косів, Івано-Франківська обл., 18–19 травня 2012 р.). С. 112–115.
3. Дунаев Е. А. Методы эколого-энтмологического исследований. М.: МосгорСИОН, 1997. 44 с.
4. Дунаев Е. А., Боголюбов А. С. Методы сбора и учета численности насекомых: метод. пособие. М.: Экосистема, 1996. 25 с.
5. Канарський Ю. В. Проблема охорони раритетних видів комах і концепція Червоної книги // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: матеріали 10-ї наук. конф. молодих учених (Львів, 7–8 жовтня 2010 р.). Львів, 2010. С. 18–24.

6. *Канарський Ю. В.* Основні наземні біотопи рідкісних видів комах у Карпатському регіоні // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол.* 2010. Вип. 29. С. 119–125.
7. *Коваль Н. П., Мателешко О. Ю., Канарський Ю. В., Геряк Ю. М.* Рідкісні та зникаючі види комах на території Ужанського НПП: загальна ситуація і нові знахідки // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол.* 2011. Вип. 31. С. 29–38.
8. Літопис природи НПП «Гуцульщина». Т. I. 2004. 402 с.
9. Літопис природи НПП «Гуцульщина». Т. 5. 2008. 260 с.
10. *Мартинов А. В., Мартинов В. В.* Стрекозы (Insecta, Odonata) Национального природного парка «Гуцульщина» // *Природничий альманах. Біол. науки: зб. наук. праць.* Херсон: ПП Вишемирський, 2008. Вип. 10. С. 93–99.
11. *Різун В. Б.* Туруни Українських Карпат. Львів, 2003. 210 с.
12. Червона книга України. Тваринний світ / відп. ред. М. Щербак. К.: Укр. енциклопедія ім. М. П. Бажана, 1994. 464 с.
13. Червона книга України. Тваринний світ / за ред. А. Акімова. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 600 с.
14. Червона книга Українських Карпат. Тваринний світ / за ред. О.Ю. Мателешко, Л.А. Потіш. Ужгород: Карпати, 2011. 336 с.
15. European Red List of Butterflies / C. Van Swaay, A. Cuttelod, S. Collins, D. Maes, M. López Munguira, M. Šašić, J. Settele, R. Verovnik, T. Verstrael, M. Warren, M. Wiemers, I. Wynhof. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010. 47 p.
16. European Red List of Saproxyllic Beetles / Nieto A., Alexander K. N. A. Luxembourg: Publications Office of the EU, 2010. 56 p.
17. IUCN Red list of Threatened Species. Version 2010.4. www.iucnredlist.org.
18. *Metody sběru a preparace hmyzu* / red. dr. K. Nowak. Praha: Acad., 1969. 244 s.

Стаття: надійшла до редакції 29.11.12

доопрацьована 30.01.13

прийнята до друку 05.02.13

RARE INSECT SPECIES OF THE NNP «GUTSULSCHINA»: PRESENT STATE AND PROSPECTIVES FOR CONSERVATION

V. Prorochuk

National Nature Park «Hutsulshchyna»

84, Druzhby St., Kosiv, Ivano-Frankivsk Reg. 78600, Ukraine

e-mail: gutsulpark@rambler.ru

The data on the current status of 38 rare insect species of the NNP “Hutsulshchyna” are presented. The peculiarities of ecology, distribution and habitat dispersion of rare species with a priority measures for their protection are considered. The basic habitat types characterized by high concentration of rare insect species which have exceptional value on their safety are pointed out.

Keywords: NNP “Hutsulshchyna”, Carpathians, insects, rare species, habitat.

**РЕДКИЕ ВИДЫ НАСЕКОМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ НПП «ГУЦУЛЬЩИНА»:
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОХРАНЕНИЯ**

В. Пророчук

*Национальный природный парк «Гуцульщина»
ул. Дружбы, 84, Косов, Ивано-Франковская обл. 78600, Украина
e-mail: gutsulpark@rambler.ru*

Представлены данные о современном состоянии 38 редких видов насекомых на территории НПП «Гуцульщина». Проанализированы их распространение и распределение по биотопам, рассмотрены приоритетные мероприятия по их охране. Выделены основные типы биотопов с наибольшей концентрацией редких видов насекомых, имеющие исключительное значение для их сохранения.

Ключевые слова: НПП «Гуцульщина», Карпаты, насекомые, редкие виды, биотоп.

ВИДИ МУРАШОК І ЇХНЄ ПОШИРЕННЯ В УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТАХ

Т. Микитин

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ 76000, Україна
e-mail: mukutuntanja@rambler.ru

На території Українських Карпат трапляється 26 видів мурашок, які належать до 2 підродин і 8 родів. Проаналізовано їхню відносну чисельність і виділено сім зоогеографічних комплексів. У межах досліджуваної території переважають види, що належать до двох класів, причому більшість із них мають широкі, часто транспалеарктичні ареали.

Ключові слова: мурашки, *Formicidae*, еколого-біологічні особливості, зоогеографічні комплекси.

Мурашки – один із важливих компонентів наземних екосистем. У лісових біоценозах найпоширенішими із мурашок є види роду *Formica*. Біомаса цих комах у лісах південних зон дещо менша, ніж біомаса таких безхребетних тварин, як дощові черви [1], це свідчить про те, що мурашки роду *Formica* відіграють значну роль у функціонуванні екосистем, особливо в ґрунтоутворенні.

Мурашки характеризуються великим різноманіттям морфологічних ознак, біологічними і трофічними особливостями. Вони живляться насінням рослин, нектаром квітів, медвяною росою сисних комах, грибами та іншим, але переважна їх більшість є хижаками, які здатні впливати на структуру популяцій безхребетних, особливо лісових біоценозів. Це дає змогу використовувати їх для захисту лісових насаджень від шкідливих комах [4].

Завдяки гуртовому способу життя мурашки виступають в екосистемах як відносно автономний коадаптивний комплекс, структура якого визначається в першу чергу внутрішньо- та міжвидовими взаємовідносинами між самими мурашками, що робить їх зручним модельним об'єктом для проведення досліджень із моніторингу екосистем. Незважаючи на це, в екологічній літературі мурашки фігурують явно неадекватно своїй чисельності й ролі в екосистемах. Причина такого явища криється в таксономічній складності цієї групи комах, а визначення мурашок створює проблеми як для систематиків, так і для дослідників-екологів.

Усі сучасні види мурашок належать до родини *Formicidae* надродини *Formicoidea* ряду Перетинчастокрилих (*Hymenoptera*). У світі відомо понад 12,5 тис. видів мурашок, серед яких у фауні України поширено 140 видів.

Незважаючи на належний рівень вивчення мірмекофауни України [5, 6], в Українських Карпатах вона вивчена недостатньо [8, 9]. Метою досліджень було вивчити видовий склад мурашок Карпат, їхні екологічні особливості і приуроченість до різних біотопів.

Матеріали та методи

Робота ґрунтується на опрацюванні власних зборів мурашок протягом 2008–2012 рр., які охоплюють сім фізико-географічних областей Українських Карпат: Передкарпатська височина, Зовнішньокарпатська, Вододільно-Верховинська, Полонинсько-Чорногірська, Рахівсько-Чивчинська, Вулканічно-Карпатська, Закарпатська низовинна лісо-лучна. У кожній із них були закладені дослідні ділянки, де проводилися облік і вивчення екологіч-

них особливостей різних видів мурашок. Пробні ділянки були закладені в Берегівському (1), Буштинському (3), Ужгородському (3), Солотвинському (4), Івано-Франківському (4), Сколівському (2), Самбірському (3), Берегометському (2) та Чернівецькому (4) лісгоспах, загальна кількість – 26. Для отримання матеріалу використовували метод ручних зборів і метод пасток [2, 3].

Результати і їхнє обговорення

Видовий склад мурашок за фізико-географічними областями свідчить, що найбагатшими щодо різноманітності мірмекофауни є Передкарпатська височинна і Закарпатська низовинна лісо-лучна області. Найбідніший склад представлений у Полонинсько-Чорногірській і Вулканічно-Карпатській областях, що зумовлено лісо-рослинними умовами та різкими змінами висот і холоднішим типом клімату. Часто трапляються такі види: *Formica cinerea*, *F. fusca*, *F. polyctena*, *F. rufa*, *Lasius flavus*, *L. niger*, *Myrmica rubra* і *Tetramorium caespitum*. Трапляння *F. exsecta*, *F. gagates*, *F. lemani*, *F. picea*, *F. rufibarbis*, *Polyergus rufescens*, *Leptothorax acervorum*, *M. ruginodis* і *Solenopsis fugax* є достатньо низьким (табл. 1).

Таблиця 1

Видовий склад мурашок у Карпатському регіоні

Вид	Передкарпатська область (I)	Зовнішньокарпатська область (II)	Вододільно-Верховинська область (III)	Полонинсько-Чорногірська область (IV)	Рахівсько-Чивчинська область (V)	Вулканічно-Карпатська область (VI)	Закарпатська низовинна (VII)
<i>Camponotus herculeanus</i>	+	+	+	+	-	-	+
<i>C. ligniperda</i>	+	+	-	+	-	-	+
<i>C. piceus</i>	+	+	-	-	+	+	+
<i>C. vagus</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Formica cinerea</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. cunicularia</i>	+	+	-	-	+	+	+
<i>F. exsecta</i>	+	+	+	-	+	-	-
<i>F. fusca</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. gagates</i>	+	-	-	+	-	-	-
<i>F. lemani</i>	+	-	+	-	-	+	+
<i>F. picea</i>	+	+	-	-	+	-	+
<i>F. polyctena</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. pratensis</i>	+	-	+	+	+	+	+
<i>F. rufa</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>F. rufibarbis</i>	+	+	-	-	-	+	+
<i>F. sanguinea</i>	-	+	+	+	+	-	+
<i>F. truncorum</i>	+	+	-	+	+	+	+
<i>Lasius flavus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. fuliginosus</i>	+	-	+	-	+	+	+
<i>L. niger</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Polyergus rufescens</i>	+	-	+	+	-	-	-
<i>Leptothorax acervorum</i>	-	-	+	-	+	-	+
<i>Myrmica rubra</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. ruginodis</i>	+	-	-	-	-	+	+
<i>Solenopsis fugax</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>Tetramorium caespitum</i>	+	+	+	+	+	+	+
Кількість видів	24	19	17	15	19	16	23

За коефіцієнтом фауністичної подібності Жаккара фауністично-подібними є: Передкарпатська височинна і Закарпатська низовинна лісо-лучна (81%), Зовнішньокарпатська і Закарпатська низовинна лісо-лучна (75%), Рахівсько-Чивчинська і Закарпатська низовинна лісо-лучна (75%), Зовнішньокарпатська і Рахівсько-Чивчинська (73%), Передкарпатська височинна і Зовнішньокарпатська фізико-географічна області (72%) (табл. 2).

Таблиця 2

Коефіцієнт фауністичної подібності Жаккара мірмекофауни Українських Карпат

Фізико-географічні області	I	II	III	IV	V	VI	VII
I	–	72	58	56	65	60	81
II	72	–	50	55	73	52	75
III	58	50	–	60	64	50	60
IV	56	55	60	–	55	48	52
V	65	73	64	55	–	59	75
VI	60	52	50	48	59	–	70
VII	81	75	60	52	75	70	–

Мурашки на території Українських Карпат трапляються в семи зоогеографічних комплексах (табл. 3), які групуються у три фауногенетичні класи: зони хвойних лісів, зони мішаних і широколистяних лісів та субаридної зони Євразії. Таке поєднання враховує характер ареалів, екологічні особливості видів, що до них належать, а також загальну історію формування фаун указаних регіонів.

До класу зони хвойних лісів належать такі зоогеографічні комплекси:

1) бореальний (Б) – види, поширені на півночі Євразії та пов'язані переважно з тайгою; на рівнинах Європи вони доходять на південь до 55–50° пн. ш.;

2) транспалеарктичний (північний варіант, Ппн) – види, які зазвичай поширені від Атлантики до Тихого океану та населяють тайгу і північну частину зони мішаних лісів.

Клас зони мішаних і широколистяних лісів включає комплекси:

1) європейський лісовий (ЄЛ) – мезофільні та помірно термофільні види, які поширені переважно в зоні мішаних і широколистяних лісів Європи;

2) європейсько-західносибірський (ЄЗ) – види, поширені у Європі та Західному Сибіру (зазвичай також на Кавказі) й на схід доходять до Алтаю; при цьому їхні ареали можуть охоплювати кілька природних зон, проте вони вкрай рідкісні в тайзі, степах і Середземномор'ї;

3) європейсько-кавказький (ЄК) – переважно населяють широколистяні ліси Європи, Кавказу та Закавказзя;

4) транспалеарктичний (південний варіант, Ппд) – види, поширені від Атлантики до Тихого океану, проте мешкають головним чином у південній частині лісової та у лісостеповій зонах;

Клас субаридної зони Євразії включає давньосередземський комплекс (ДС) – види мають широкий ареал, який часто включає Середземномор'я, південь Європи, Кавказ, Малу, Передню та Середню Азію (тобто Давнє Середзем'я, за О. П. Семеновим-Тян-Шанським) [7].

Отримані результати досліджень (табл. 3, рис. 1) показали, що у фауні Карпатського регіону переважають види, що належать до двох «лісових» класів: зони хвойних і мішаних широколистяних лісів, причому більшість із них мають широкі, часто транспалеарктичні

ареали. Бореальний *Camponotus herculeanus* на території Українських Карпат трапляється на південній межі свого ареалу та має спорадичне поширення.

Таблиця 3

Видовий склад мірмекофауни і зоогеографічні області Українських Карпат

Вид	Частота трапляння мурашок		Зоогеографічна характеристика
	для Українських Карпат	для оптимальних біотопів	
<i>Camponotus herculeanus</i>	З	З	Б
<i>C. ligniperda</i>	З	З	ЕК
<i>C. piceus</i>	Р	З	ЕК
<i>C. vagus</i>	З	З	ЄЗ
<i>Formica cinerea</i>	З	М	ЕК
<i>F. cunicularia</i>	З	З	ЕК
<i>F. exsecta</i>	З	З	Ппн
<i>F. fusca</i>	М	М	Ппн
<i>F. gagates</i>	Р	З	ЄЛ
<i>F. lemani</i>	Р	З	Ппд
<i>F. picea</i>	З	З	Б
<i>F. polycтена</i>	М	М	Ппн
<i>F. pratensis</i>	З	З	Ппд
<i>F. rufa</i>	М	М	Ппн
<i>F. rufibarbis</i>	З	З	ЄЗ
<i>F. sanguine</i>	З	З	Ппд
<i>F. truncorum</i>	З	З	Ппн
<i>Lasius flavus</i>	М	М	Ппд
<i>L. fuliginosus</i>	З	З	ЄЗ
<i>L. niger</i>	М	М	Ппн
<i>Polyergus rufescens</i>	Р	Р	ЄЗ
<i>Leptothorax acervorum</i>	З	Р	Б
<i>Myrmica rubra</i>	М	М	Ппн
<i>M. ruginodis</i>	З	М	Ппн
<i>Solenopsis fugax</i>	З	З	ДС
<i>Tetramorium caespitum</i>	М	М	Ппд

Примітка. * Відносна чисельність: М – масові; З – звичайні; Р – рідкісні.

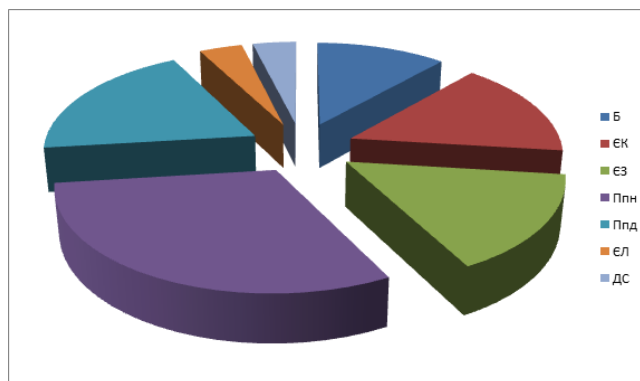


Рис. 1. Співвідношення зоогеографічних комплексів мурашок в Українських Карпатах. Зоогеографічні комплекси: Б – бореальний; ЕК – європейсько-кавказький; ЄЗ – європейсько-західносибірський; Ппн – транспалеарктичний (північний варіант); Ппд – транспалеарктичний (південний варіант); ЄЛ – європейський лісовий; ДС – давньосередземський комплекс.

На території Українських Карпат трапляється 26 видів мурашок, які належать до семи зоогеографічних комплексів, з переважанням видів, які характерні для зони хвойних і мішаних широколистяних лісів.

Найбагатшими за різноманітністю мірмекофауни є Передкарпатська височинна і Закарпатська низовинна лісо-лучна області. Найбідніший склад представлений у Полонинсько-Чорногірській і Вулканічно-Карпатській областях, що зумовлено семигумідним і гумідним кліматом.

Фауна мурашок Українських Карпат є багатого й різноманітною та потребує спеціального вивчення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Длусский Г. М. Методы количественного учета почвообитающих муравьев // Зоол. журн. 1965. С. 44.
2. Длусский Г. М. Муравьи пустыни. М.: Наука, 1981. 278 с.
3. Захаров А. А. Организация сообществ у муравьев. М.: Наука, 1991. 278 с.
4. Палій М. М. Лісова ентомологія: підручник. 2-ге вид., перероб. і доп. К.: Вид-во УСГА, 1993. 352 с.
5. Радченко А. Г. Мирмекофауна Украины: состояние изученности, зоогеографические особенности и вероятные пути формирования // Материалы коллоквиумов секции обществ. насекомых ВЭО, 1. Л., 1991. С. 190–199.
6. Радченко А. Г. Зональные и зоогеографические особенности мирмекофауны (Нупте-портета, Formicidae) Украины // Природничий альманах. Біол. науки. Вип. 10. 2008. С. 122–138.
7. Радченко О. Г. Фауна, зоогеографічні особливості та необхідність охорони мурашок Шацького національного природного парку // Наук. вісн. Волин. ун-ту. Розд. II. Тваринний світ. 2. Луцьк, 2009. С. 149–153.
8. Смаглюк Н. А. Рыжие лесные муравьи Украинских Карпат и их лесохозяйственное значение: автореф. дис. ... канд. биол. наук. К., 1971. 22 с.
9. Фасулаті К. К., Кижасва К. Я. Комахи Українських Карпат. К.: Наукова думка, 1966. С. 92–99.

Стаття: надійшла до редакції 07.07.12

доопрацьована 17.01.13

прийнята до друку 18.01.13

ANT SPECIES AND THEIR DISTRIBUTION IN THE UKRAINIAN CARPATHIANS

T. Mykytyn

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
201, Galytcka St., Ivano-Frankivsk 76000, Ukraine
e-mail: mukutuntanja@rambler.ru

26 species of ants belonging to 2 subfamilies and eight genera were found in the Ukrainian Carpathians. Their relative number was analysed and seven zoogeographical complexes were selected. Species classified into two classes, most of them are wide distributed, often transpalearctic areas, dominate within the study area.

Keywords: ants, *Formicidae*, ecological and biological features, zoogeographical complexes.

ВИДЫ МУРАВЬЕВ И ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ В УКРАИНСКИХ КАРПАТАХ**Т. Микитин**

*Прикарпатский национальный университет имени Василия Стефаника
ул. Галицкая, 201, Ивано-Франковск 76000, Украина
e-mail: mukutuntanja@rambler.ru*

На территории Украинских Карпат обнаружены 26 видов муравьев, которые относятся к 2 подсемействам и 8 родам. Проанализирована их относительная численность и выделено семь зоогеографических комплексов. В пределах исследованной территории преобладают виды, которые отнесены к двум классам, причем большинство из них имеют широкие, часто транспалеарктические ареалы.

Ключевые слова: муравьи, *Formicidae*, эколого-биологические особенности, зоогеографические комплексы.

ОСОБЛИВОСТІ ЕПІФІТНИХ БРІОФІТІВ В УМОВАХ УРБООКОСИСТЕМИ

З. Мамчур, І. Більська

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна
e-mail: irabilska@gmail.com*

Досліджено епіфітні мохи центральних частин міст Львова й Івано-Франківська та вивчено особливості їхнього поширення у прикореневій і стовбуровій частині форофітів. Виділено екологічні групи мохів стосовно головних чинників середовища, визначено їхні життєві форми та стратегії, здійснено оцінку видів за ступенем урбанofільності.

Ключові слова: епіфітні бріофіти, екологія, поширення, життєві форми, урбанofілія, м. Львів, м. Івано-Франківськ.

Урбанofікосистемі, окрім антропогенної трансформації природних фітоценозів, влас- тиві значні зміни низки кліматичних показників порівняно з природним середовищем: під- вищена посушливість клімату, порушені фізико-хімічні властивості атмосфери та ґрунту, надмірна заповишеність повітря, що сприяє накопиченню тепла. Особливо це стосується центральної частини міста, де немає природної рослинності. Фототрофний блок у центрі міст сформований здебільшого насадженими деревами, чагарниками (у скверах, парках, алеях, внутрішньобудинкових подвір'ях) і газонами.

Враховуючи, що екосистема міста не є однорідним середовищем, важливо дослідити бріофлору центральної частини, де найменш сприятливі умови для заселення мохоподіб- них. Особливість епіфітних бріофітів зумовлена передусім тим, що вони, поселившись на специфічному субстраті, повністю залежать від атмосферної вологи та її хімічних показни- ків, які в урбанізованому середовищі значно відрізняються від природних [25]. Субстрат, кора, на якому поселяються бріофіти, погано затримує вологу та поживні речовини, тому разом із атмосферною вологою епіфіти вбирають усі елементи, розчинені в ній, зокрема шкідливі речовини. Із літератури відомий термін «епіфітна пустеля» (le desert d'epiphytes) [20] – окремі ділянки міста (центральна частина, уздовж автотрас і поблизу промислових підприємств), у яких мохоподібні та лишайники не поселяються на форофітах. Такі «пес- телі» спостерігають у низці міст Європи та Північної Америки [12, 19–21].

Матеріали та методи

Матеріали збирали на форофітах різних порід у центральній частині міст Львова й Івано-Франківська. Збір епіфітних мохоподібних здійснено методом маршрутних дослі- джень. Життєві форми мохоподібних визначено за класифікацією форм росту бріофітів К. Гімінгама та Е. Робертсона (Gimingham, Robertson, 1950 див. [13]), яку доповнили К. Улич- на [13] й М. Бойко [1], та за Н. Поповою [10]; життєву стратегією визначено за методикою, яку запропонував М. Бойко [2]. Екологічні групи мохів виділяли на основі власних спосте- режень, використовуючи шкали, розроблені Я. Дідухом і Р. Дюлем [3, 16].

Результати і їхнє обговорення

У центральній частині міст зазвичай немає однорідних умов для поселення бріофі- тів [4, 17, 22]. Це замошені вулиці, площі з поодинокими деревами, на яких не завжди може сформуватися епіфітна рослинність (унаслідок побілення стовбурів, значного рекреацій-

ного навантаження, насадження молодих дерев, кора яких ще несприятлива для поселення бріофітів тощо). Тому наші дослідження бріофітів були приурочені головню до форофітів у скверах і вздовж вулиць у центральних частинах міст, але дещо віддалених від власне центру.

Своєрідні кліматичні умови та різні ступені антропогенного пресу в центрі міста і на певній відстані створили різні умови для розвитку епіфітних мохоподібних. У центрі м. Львова (форофіти на проспектах Свободи, Шевченка, площі Ринок та прилеглих вулицях, площах Франка, Петрушевича, Галицькій) епіфітні мохоподібні практично відсутні («епіфітна пустеля»), дуже рідко трапляються урбанотолерантні мохи (*Leskea polycarpa*, *Pylaisia polyantha*¹). Це пояснюється і несприятливістю кори форофітів, і значним забрудненням повітря, що було доведено ліхено- та бріоіндикаційними дослідженнями [6, 8].

Інша картина спостерігається на форофітах вулиць, не надто завантажених автотранспортом (напр., вул. Ген. М. Тарнавського), зелених насаджень (внутрішньоквартальних, скверах і парках). Епіфітні мохоподібні частіше трапляються у таких умовах, хоча там їм притаманне невисоке видове різноманіття і незначні показники проективного покриття й частоти трапляння. Найчастіше трапляються облигатні епіфіти *Leskea polycarpa*, *Orthotrichum diaphanum* у прикореневій і стовбуровій зоні форофітів. Ці види формують стійкі епіфітні обростання: серед килимової форми росту, утвореної *Leskea polycarpa*, *Pylaisia polyantha*, наявні також подушкові форми видів роду *Orthotrichum* та *Bryum capillare* з дернинною життєвою формою. У прикореневій ділянці на виступах коренів, де нанесений шар ґрунту, трапляється килим *Brachythecium salebrosum*. *Leskea polycarpa* підіймається по стовбуру кленів до 40-60 см. У тріщинах кори трапляються невеликі подушки *Orthotrichum diaphanum*, *O. speciosum*, *O. affine* (табл. 1).

Сприятливіші умови для обростань епіфітними мохоподібними спостерігали у парку ім. Івана Франка у Львові, який є пам'яткою садово-паркового мистецтва, розташований у центральній частині міста й охоплює площу 12 га. Видове різноманіття епіфітних мохів парку сягає 11 видів, причому 8 видів знайдено на *Fraxinus excelsior* L. і 10 – на *Acer pseudoplatanus* L. У стовбуровій зоні форофітів трапляється по 2–3 види мохів. Із облигатних епіфітів найчастіше трапляються килими з *Leskea polycarpa* і *Pylaisia polyantha*, які можуть підійматися порівняно високо по стовбурах (до 1,5–2 м), а також поодинокі подушки *Orthotrichum pumilum*.

У прикореневій зоні домінує килимова форма росту *Leskea polycarpa*, *Platygyrium repens*, *Hypnum cupressiforme* (інколи *Amblystegium serpens* і *Homomallium incurvatum*) із невеликими за розміром подушками *Orthotrichum pumilum*, *Dicranum montanum*. В основі форофітів, де наявний шар ґрунту, трапляються факультативні епіфіти: *Bryum capillare*, *Bryoerythrophyllum recurvirostrum*, *Syntrichia virescens*, для яких характерна життєва форма дернина. На стовбурах поодиноких дерев *Quercus robur* L. та *Populus nigra* L. бріофіти не сформували неперервного покриву, а лише заселили переважно великі тріщини кори цих дерев окремими куртинками, що зумовлено, очевидно, станом кори у старих за віком дерев (понад 200 років): низька водопроникність, сухість і злущуваність, особливо у місцях із меншою вологістю.

Місто Івано-Франківськ – розвинений промисловий центр із потужним автомобільним рухом, як наслідок – найбільше забруднення свинцеве (48%). У межах міста виявлено 5 зон небезпечного стану атмосферного повітря, що належать до ділянок із інтенсивним потоком транспорту [14]. У центрі Івано-Франківська, де обмежено рух автотранспорту, знайдено 10 видів епіфітних мохів. Так, на форофітах (*Tilia cordata* Mill., *Acer platanoi-*

1 Автори видів подані в таблиці 1 [18].

des L., *A. pseudoplatanus*, *Prunus divaricata* L., *Sorbus aucuparia* L. та *Juglans regia* L.), які ростуть на центральних вулицях (Галицькій, Січових Стрільців, Незалежності, Гетьмана Мазепи та Лесі Українки), де рівень забруднення досить високий унаслідок викидів автотранспорту, характерна майже повна відсутність мохоподібних. Окремі види, які тут трапляються, – це мохи із килимовою формою росту: *Leskea polycarpa* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Tilia cordata*, *Syringa vulgaris* L.), *Amblystegium serpens* (у прикореневій ділянці *Juglans regia* та *Sorbus aucuparia*), із вкрапленням подушок *Orthotrichum diaphanum* (у прикореневій ділянці *Juglans regia*).

На вул. Лесі Українки, де рух транспорту обмежений, у прикореневій ділянці *Juglans regia* знайдено *Leucodon sciuroides* – облігатний епіфіт, якого у Львові ми не знайшли. Цей вид у містах трапляється дуже рідко, його вважають дуже чутливим до антропогенного впливу, а в м. Талліні (Естонія) бріологи ще у 70-х років минулого століття зафіксували тенденцію до зникання *L. sciuroides* [5, 15].

У Парку воїнів-інтернаціоналістів, окрім *Pylaisia polyantha*, який виявлено у прикореневій та стовбуровій зоні *Tilia cordata*, *Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Sorbus aucuparia*, також знайдено низку інших видів мохів-епіфітів: *Orthotrichum affine* (у прикореневій ділянці *Tilia cordata* й *Acer pseudoplatanus*), *O. pallens* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Acer platanoides* та *Tilia cordata*), *O. patens* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Sorbus aucuparia* та *Tilia cordata*), *O. tenellum* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Tilia cordata* та *Acer platanoides*), *O. diaphanum* (у прикореневій ділянці *Tilia cordata*, *Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus* та *Sorbus aucuparia*), *Platygyrium repens* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Tilia cordata* та *Sorbus aucuparia*), *Hypnum pallescens* (у прикореневій ділянці *Acer pseudoplatanus*), *Leucodon sciuroides* (у прикореневій і стовбуровій ділянці *Tilia cordata*, *Acer platanoides*).

На хвойних породах дерев на досліджених територіях Львова й Івано-Франківська бріофітів не виявлено.

Проаналізувавши епіфітні мохи з центральної частини обох міст, можемо зробити такі висновки: загалом знайдено 21 вид (15 – у Львові та 12 – у Івано-Франківську). В Івано-Франківську виявлені види *Leucodon sciuroides*, *Orthotrichum tenellum*, *O. pallens*, *O. patens*, *Hypnum pallescens*, *Brachythecium albicans*, які не трапляються у центральній частині міста Львова, а лише у Львові – *Brachythecium salebrosum*, *Bryum capillare*, *Dicranum montanum*, *Homomallium incurvatum*, *Hypnum cupressiforme*, *Tortula virescens*, *Orthotrichum speciosum*.

У бріофітів розрізняють життєві форми: килими, подушки, дернини, плетиво та дендроїдну форму. У різних екологічних умовах можна спостерігати переважання тих чи інших типів життєвих форм. Для епіфітних бріофітів зазвичай характерні подушки і килимові форми. Це пояснюється високим ступенем пристосованості таких життєвих форм до відповідного субстрату. Низькі подушки (до 5 см) формують акрокарпні види роду *Orthotrichum*; килимові життєві форми утворюють плеврокарпні види бріофітів, серед яких розрізняють грубий килим (*Brachythecium albicans*, *B. salebrosum*, *Leucodon sciuroides*) і плоский килим (*Platygyrium repens*, *Pylaisia polyantha*, *Hypnum pallescens*, *H. cupressiforme*, *Amblystegium serpens*, *Homomallium incurvatum*, *Leskea polycarpa*) (рис. 1).

У спектрі життєвих форм в обох містах домінуючу позицію займають види із життєвою формою плоский килим. Ці біоморфи краще використовують і зберігають вологу в умовах поселення на стовбурах форофітів. У центральній частині м. Львова виявлено також життєву форму дернини, яку утворюють акрокарпні види, а саме низькі дернини (*Syntrichia virescens*, *Bryum capillare*, *Bryoerythrophyllum recurvirostrum*, *Dicranum montanum*).

Таблиця 1

Види епіфітних бріофітів у центральних частинах міст Львова й Івано-Франківська

Вид	Львів		Івано-Франківськ	
	вул. Ген. М. Тарнавського	парк ім. Івана Франка	вул. Галицька	Парк воїнів-інтернаціоналістів
<i>Amblystegium serpens</i> (Hedw.) Schimp		+	+	+
<i>Brachythecium albicans</i> (Hedw.) Schimp			+	+
<i>B. salebrosum</i> (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp., nom. cons.	+			
<i>Bryoerythrophyllum recurvirostrum</i> (Hedw.) P.C.Chen		+		
<i>Bryum capillare</i> Hedw.	+	+		
<i>Dicranum montanum</i> Hedw.		+		
<i>Homomallium incurvatum</i> (Schrud. ex Brid.) Loeske		+		
<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw.		+		
<i>H. pallescens</i> (Hedw.) P.Beauv				+
<i>Leskea polycarpa</i> Hedw.	+	+	+	+
<i>Leucodon sciuroides</i> (Hedw.) Schwägr.				+
<i>Orthotrichum affine</i> Schard. ex Brid.	+			+
<i>O. diaphanum</i> Schrad. ex Brid.	+		+	+
<i>O. pallens</i> Bruch ex Brid.				+
<i>O. patens</i> Bruch ex Brid.				+
<i>O. pumilum</i> Sw. ex anon.		+		
<i>O. speciosum</i> Nees	+			
<i>O. tenellum</i> Bruch ex Brid.				+
<i>Platygyrium repens</i> (Brid.) Schimp.		+		+
<i>Pylaisia polyantha</i> (Hedw.) Schimp.	+	+	+	+
<i>Syntrichia virescens</i> (De Not.) Ochyra		+		

З'ясування причини відсутності у центральній частині міста Івано-Франківська видів із життєвою формою дернина потребує ще додаткових досліджень, зокрема, виду *Bryum capillare*, який є характерним для низки урбоекосистем [8, 9].

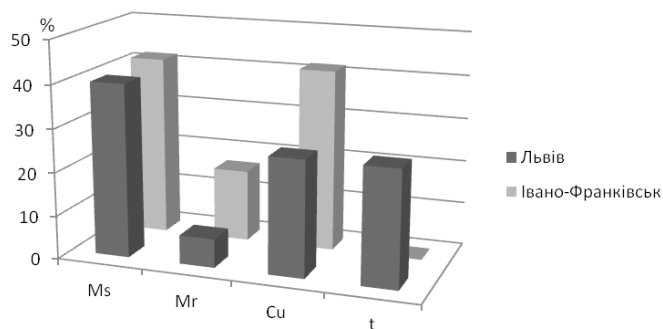


Рис. 1. Спектри життєвих форм епіфітних бріофітів у центральній частині Львова й Івано-Франківська: Ms – плоский килим, Mr – грубий килим; Cu – подушки; t – дернини [10].

За місцем заселення епіфітними мохоподібними форофітів виділяють дві групи: прикореневої ділянки, де домінує килимова форма росту (*Pylaisia polyantha*, *Amblystegium serpens*, *Leskea polycarpa*, *Platygyrium repens*, *Brachythecium salebrosum*) із незначними вкрапленнями дернинної форми (*Bryum capillare*, *Bryoerythrophyllum recurvirostrum*, *Syntrichia virescens*) і стовбурової, в якій, окрім *Leskea polycarpa* та *Pylaisia polyantha*, значний відсоток має також подушкова форма видів роду *Orthotrichum*.

Мохоподібні залежать від атмосферних опадів і вологості повітря. Серед епіфітних видів в урбоєкосистемі переважають ксеромезофіти, які здатні витримувати низькі температури взимку та спеку і дефіцит вологи влітку й мають ксероморфний вигляд – подушки, розміщені у тріщинах кори (види роду *Orthotrichum*), і килими (*Leskea polycarpa*, *Pylaisia polyantha*, *Platygyrium repens*, *Leucodon sciuroides*), які щільно прилягають до субстрату. Серед них теж можна провести диференціацію щодо умов зволоження: у вологіших поселяються *Pylaisia polyantha*, *Leskea polycarpa*, *Orthotrichum speciosum*, *Hypnum cupressiforme*, у сухіших – *Platygyrium repens* та інші види роду *Orthotrichum*. *Brachythecium albicans* є представником ксерофітів. Мезофітами є *Hypnum pallescens* (життєва форма килим) і *Dicranum montanum*, *Bryum capillare*, *Bryoerythrophyllum recurvirostrum* (дернинна життєва форма).

Різні види епіфітних мохів для існування потребують різної освітленості. Ультрагеліофіт *Brachythecium albicans* потребує добре освітлених умов росту і не трапляється в затінених місцях. Цим пояснюють, мабуть, його відсутність у досліджуваних парках Львова. *Pylaisia polyantha*, *Syntrichia virescens* і види роду *Orthotrichum* є геліофітами. *Pylaisia polyantha* зазвичай росте на поодиноких, добре освітлених деревах. Субгеліофітами є *Leskea polycarpa*, *Platygyrium repens*, *Brachythecium salebrosum* та гемісціофітами – *Amblystegium serpens*, *Bryum capillare*, *Dicranum montanum*, *Hypnum pallescens*, *H. cupressiforme*, *Bryoerythrophyllum recurvirostrum*. *Homomallium incurvatum* є сціофітом.

Епіфітні мохи є помірнотеплолюбними (*Leskea polycarpa*, *Platygyrium repens*, *Amblystegium serpens*, *Brachythecium salebrosum*), але є й такі, що можуть витримувати холод (*Pylaisia polyantha*, *Hypnum pallescens*, види роду *Orthotrichum*). Саме холодовитривалі мохи можуть поселятися на стовбуровій ділянці, де менш захищені від вітрів і морозів.

За життєвою стратегією у центральній частині урбоєкосистем переважають бріовіоленти (*Pylaisia polyantha*, *Platygyrium repens*, *Leskea polycarpa*), які швидко розвиваються, захоплюють значні площі, довго затримуються на них, домінують. Бріопатіентами екоотопними в урбоєкосистемі найчастіше є види роду *Orthotrichum*, які пристосувалися до існування в умовах недостатнього зволоження та живлення. Бріопатіенти ценотичні (види родів *Amblystegium*, *Brachythecium* та *Hypnum cupressiforme*, *H. pallescens*) поселяються частіше у прикореневій зоні, де є сприятливіші для бріофітів екологічні умови.

У статевій структурі епіфітних бріофітів центральних частин міст Львова й Івано-Франківська переважають однодомні види (13 видів, або 61,9%), трапляються також дводомні (8 видів, або 38,1%). Значну частину однодомних видів становлять представники родини *Orthotrichaceae* (58,3%).

Здатність до утворення спеціалізованих органів нестатевого розмноження притаманна 5 видам (23,8%). Розмноження виводковими гілочками спостерігається у *Platygyrium repens*, *Leucodon sciuroides*, листкородними виводковими тільцями – представників роду *Orthotrichum* (*O. diaphanum* та *O. pumilum*), виводковими нитками – *Bryum capillare*. Очевидно, що в умовах урбоєкосистем дводомні види колонізують форофіти саме за допомогою спеціалізованих вегетативних тілець [22].

На основі результатів аналізу поведінки епіфітних бріофітів в урбанізованих екосистемах виявлено групи видів, які різняться за реакцією на вплив урбанізованого середовища: крайньоурбанофобні, помірноурбанофобні, урбанонейтральні, помірноурбанофільні, крайньоурбанофільні [7, 26].

Спільними видами для обох урбоєкосистем є *Amblystegium serpens*, *Leskea polycarpa*, *Orthotrichum affine*, *O. diaphanum*, *Platygyrium repens*, *Pylaisia polyantha*. Такі найтипівіші

види мохоподібних називають ядром антропотолерантних видів [11], «bryophytes urbanos» [23, 24], урбанофільними (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика урбанофільних епіфітних бріофітів

Види	Реакція на:				Вид дерева	Статева структура	Спосіб розмноження	Життєва стратегія	Життєва форма
	світло	вологість	t	pH					
<i>Amblystegium serpens</i>	гемі-сціофіт	ксеро-мезофіт	—	суб-ацидофіл	<i>Juglans regia</i> , <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>Acer pseudoplatanus</i>	одно-домний	спорами	бріо-патієнт	плоский килим
<i>Leskea polycarpa</i>	суб-геліофіт	ксеро-мезофіт	помірно-тепло-	нейтрофіл	<i>Tilia cordata</i> , <i>Syringia vulgaris</i> , <i>Acer pseudoplatanus</i>	одно-домний	спорами	бріо-віолент	плоский килим
<i>Orthotrichum affine</i>	ультра-геліофіт	ксеро-мезофіт	любний холодо-толерантний	нейтрофіл	<i>Tilia cordata</i> , <i>Acer pseudoplatanus</i>	одно-домний	спорами	бріо-патієнт	подушка низька
<i>O. diaphanum</i>	ультра-геліофіт	ксеро-мезофіт	помірно-тепло-любний	- субацидофіл	<i>Juglans regia</i> , <i>Tilia cordata</i> , <i>Acer platanoides</i> , <i>A. pseudoplatanus</i> , <i>Sorbus aucuparia</i>	одно-домний	спорами, вегетативно	бріо-патієнт	подушка низька
<i>Platygyrium repens</i>	суб-геліофіт	ксеро-мезофіт	помірно-тепло-	нейтрофіл	<i>Tilia cordata</i> , <i>Sorbus aucuparia</i>	дво-домний	спорами, вегетативно	бріо-віолент	плоский килим
<i>Pylaisia polyantha</i>	геліофіт	мезофіт	любний холодо-толерантний	нейтрофіл	<i>Tilia cordata</i> , <i>Acer platanoides</i> , <i>A. pseudoplatanus</i> , <i>Sorbus aucuparia</i>	одно-домний	спорами	бріо-віолент	плоский килим

Урбанофільним видам властиві такі особливості: це переважно світлолюбні або ті, що витримують невелике затінення; стосовно вологості є ксеромезофітами (*Pylaisia polyantha* полюбає зволожені умови, тому заселяє зазвичай тріщини в корі дерев); стосовно температури – помірнотеплолюбні або холодотолерантні; обирають умови нейтральної або злегка слабкокислої реакції кори форофітів. Ці найтипівіші види бріофітів трапляються на корі більшості сприятливих для їхнього росту форофітів (види роду *Acer*, *Juglans regia*, *Sorbus aucuparia*, *Tilia cordata*, *Syringia vulgaris*), окрім хвойних. За статевою структурою переважають однодомні, що сприяє кращому утворенню спор, а дводомний *Platygyrium repens* розмножується вегетативно виводковими гілочками. За життєвою стратегією – бріо-опатієнти екотопні (види роду *Orthotrichum*), а види *Pylaisia polyantha*, *Platygyrium repens*, *Leskea polycarpa* в умовах урбоекосистеми поведуться як бріовіоленти. У спектрі життєвих форм домінують плоский килим і низькі подушки.

Крайньоурбанофільні *Leskea polycarpa*, *Amblystegium serpens*, *Pylaisia polyantha* та *Platygyrium repens* (у Львові та Івано-Франківську) – види, наявність яких вказує на типово міські умови і які є індикаторами урбанізованого середовища. Трапляються на деревах у всіх кварталах, у примігстральних насадженнях і, навпаки, часто відсутні на околицях або трапляються тут поодинокі. До помірноурбанофільних видів належать *Orthotrichum affine*, *O. diaphanum* в обох містах, *Orthotrichum speciosum*, *O. pumilum* – у Львові й *Orthotrichum pallens* і *O. patens* – в Івано-Франківську. Урбанонейтральну групу представляють *Bryum capillare*, *Hypnum cupressiforme* у Львові та *Brachythecium albicans* – у Івано-Франківську.

У центральній частині міста Івано-Франківська виявлено урбанофобні види: *Orthotrichum tenellum*, *Hypnum pallescens* і *Leucodon sciuroides*.

Отже, провідне місце в екологічній структурі епіфітної бріофлори центральної частини міст Львова й Івано-Франківська стосовно вологості займають ксеромезофіти, за освітленістю домінуючою групою є субгеліофіти й гемісціофіти, за температурним чинником виділені помірнотеплолюбні та холодовитривалі види. Життєві форми представлені килимами, подушками, зрідка дернинами. За життєвою стратегією виявлені бріовіоленти, бріопатієнти ценотичні та бріопатієнти екологічні; у статевій структурі домінуючу роль займають однодомні види мохів. Для міської зони характерне переважання родин *Orthotrichaceae*, *Hypnaceae*, *Leskeaceae*. Урбанофільне ядро становлять шість видів: *Amblystegium serpens*, *Leskea polycarpa*, *Orthotrichum affine*, *O. diaphanum*, *Platygyrium repens*, *Pylaisia polyantha*, які займають свої екологічні ніші в умовах урбоекосистеми.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойко М. Ф. Анализ бриофлоры степной зоны Европы. К.: Фитосоцицентр, 1999 а. 180 с.
2. Бойко М. Ф. Мохообразные в ценозах степной зоны Европы. Херсон: Айлант, 1999 б. 160 с.
3. Дідух Я. П., Плюта П. Г., Протопопова В. В. та ін. Екофлора України. К.: Фітосоціоцентр, 2000. Т. 1. 284 с.
4. Другова Т. П. Флора листостебельных мхов городов Мурманской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.05. М., 2009. 154 с.
5. Канукене Л., Тамм К. Мхи как индикаторы атмосферного загрязнения воздуха // Индикация природных процессов и систем. Вильнюс, 1976. С. 42–46.
6. Кондратюк С. Я., Кучерявий В. О., Крамарець В. О. та ін. Ліхеноіндикація забруднення повітря у м. Львові // Укр. ботан. журнал. 1991. Т. 48. № 2. С. 72–76.
7. Мамчур З. І., Проць Б. Г. Поведінка вищих рослин в умовах урбанізації (на прикладі урбоекосистеми м. Львова) // Укр. ботан. журнал. 1996. Т. 53. № 5. С. 611–614.
8. Мамчур З. І. Бріоіндикація забруднення повітря у місті Львові та на його околицях // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2005. Вип. 40. С. 59–67.
9. Машиалер А. В., Задорожная Д. В. Экобиоморфный анализ бриофлоры Донецкой области // Проблемы экологии та охорони техногенного регіону. Донецьк: ДонНУ, 2009. №1 (9). С. 67–71.
10. Попова Н. Н. Бриофлора Среднерусской возвышенности. I // Arctoa. 2002. Т. 11. С. 101–168.
11. Попова Н. Н., Хмелёв К. Ф. Флора мохообразных бассейна Среднего Дона // Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1988. 167 с.
12. Прудникова Л. Ю. Бриоіндикація: городские мхи и их использование для диагностики состояния окружающей среды // Технология качества жизни. 2001. Т. 1. № 1. С. 51–57.
13. Улична К. О. Форми росту мохоподібних Карпатського високогір'я // Укр. ботан. журнал. 1970. Т. 27. № 2. С. 189–196.
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. 22 с.
15. Dumytrava L. Epiphytic lichens and bryophytes as indicators of air pollution in Kyiv city (Ukraine) // Folia Cryptog. Estonica. 2009. Fasc. 46. P. 33–44.
16. Düll R. Zeigerwerte von Laub- und Lebermoosen. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa // Scripta Geobotanica. 1992. Vol. 18. S. 175–214.
17. Fudali E. Recent tendencies in distribution of epiphytic Bryophytes in urban areas: a wrocław case study (south-west Poland) // Polish Bot. J. 2012. Vol. 57. N 1. P. 231–241.
18. Hill M. O., Bell N., Buggeman-Nannenga M. A. et al. An annotated checklist of the mosses of Europe and Macaronesia // J. Bryology. 2006. Vol. 28. P. 198–267.
19. Lersen R. S., Bell J. N., James P. W. et al. Lichen and bryophyte distribution on oak in London in relation to air pollution and bark acidity // Environmental Pollution. 2007. Vol. 146. P. 332–340.

20. *LeBlanc F., Rao D.* Influence de l'atmosphère polluée des grandes agglomérations urbaines sur les epiphytes corticales // *Rev. Can. Biol.* 1961. N 20. P. 823–827.
21. *LeBlanc F., Desloover J.* Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal // *Canad. J. Bot.* 1970. N 48. P. 1485–1496.
22. *Sabovljevic M., Grdovic S.* Bryophyte Diversity Within Urban Areas: Case Study of the City of Belgrade (Serbia) // *Int. J. Bot.* 2009. N 5. P. 585–592.
23. *Soria A., Ron M.* Datos para el conocimiento de la flora briológica urbana de la ciudad de Logroño // *Anales Jard. Bot. Madrid.* 1990. Vol. 46 (2). P. 427–432.
24. *Soria A., Ron M.* Aportaciones al conocimiento de la brioflora urbana espacola // *Cryptogamie.* 1995. Vol. 16. N 4. P. 285–299.
25. *Richter S., Schütze P., Bruelheide H.* Modelling epiphytic bryophyte vegetation in an urban landscape // *J. Bryology.* 2009. Vol. 31. N 3. P. 159–168.
26. *Wittig R., Diesing D., Gödde M.* Urbanophob - Urbanoneutral - Urbanophil. Das Verhalten der Arten gegenüber dem Lebensraum Stadt // *Flora.* 1985. N 177. S. 265–282.

Стаття: надійшла до редакції 05.12.12

доопрацьована 22.01.13

прийнята до друку 22.02.13

EPHYPHYTIC BRYOPHYTES FEATURES IN URBAN ENVIRONMENT

Z. Mamchur, I. Bilska

*Ivan Franko National University of Lviv
1, Universytetska St., Lviv, 79000, Ukraine
e-mail: irabilska@gmail.com*

The researches on epiphytic mosses' composition and features of their distribution in phorofites' basal area and stem in the central part of Lviv and Ivano-Frankivsk have been conducted. The groups of mosses in relation to the main environmental factors, their life forms and strategies have been determined; the assessment of species according to the degree of their urbanophily was made.

Keywords: epiphytic bryophytes, ecology, distribution, life-forms, urbanophily, Lviv, Ivano-Frankivsk.

ОСОБЕННОСТИ ЭПИФИТНЫХ БРИОФИТОВ В УСЛОВИЯХ УРБОЭКОСИСТЕМЫ

З. Мамчур, И. Бильская

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Университетская, 1, Львов 79000, Украина
e-mail: irabilska@gmail.com*

Исследованы эпифитные мхи центральной части городов Львова и Ивано-Франковска и изучены особенности их распространения в прикорневой и стволовой части форофитов. Выделены экологические группы мхов по отношению к главным факторам среды, определены их жизненные формы и стратегии; проведена оценка видов по степени урбанофильности.

Ключевые слова: эпифитные бриофиты, экология, распространение, жизненные формы, урбанофилия, г. Львов, г. Ивано-Франковск.

УДК 598.243:591.543.43:502.72(477.83)

**МІГРАЦІЇ КУЛИКІВ (AVES: CHARADRII)
В ОРНІТОЛОГІЧНОМУ ЗАКАЗНИКУ «ЧОЛГІНСЬКИЙ»**

Ю. Струс, І. Шидловський

*Західно-Українська орнітологічна станція
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: yurastrus@gmail.com*

Протягом періоду досліджень у заказнику виявлено 35 видів куликів. Серед них 17 видів були регулярними мігрантами, 6 рідкісними пролітними і 12 – випадковими залітними видами. Найчисленнішими під час міграції виявились чайка (*Vanellus vanellus* L.), брижач (*Philomachus pugnax* L.), коловодник болотяний (*Tringa glareola* L.) та побережник чорногрудий (*Calidris alpina* L.). Виявлено роздільний проліт вікових груп у куликів, на прикладі коловодника болотяного та побережника чорногрудого. Середні темпи приросту маси, показники жирових запасів куликів у заказнику близькі до даних, отриманих в інших дослідженнях. Жирових запасів, накопичених куликами в заказнику, недостатньо для досягнення основних місць зимівлі для більшості видів.

Ключові слова: кулики, Charadrii, міграція, захід України.

Аналізові видового складу, динаміки міграції, біометрії куликів та жиронакопичення присвячено багато публікацій за кордоном [7, 12, 13, 15, 16, 18 та ін.]. Опублікованих досліджень щодо міграції куликів на заході України сьогодні є дуже мало, а наявні роботи стосуються особливостей динаміки міграції та біометрії окремих мігруючих видів [1, 5, 6, 19, 21]. Загальний аналіз динаміки видового складу та чисельності куликів у ході міграції досі не здійснено. Подібні дослідження в Україні були проведені лише в Азово-Чорноморському регіоні [4]. У цій роботі ми намагаємося заповнити прогалини у вивченні міграції куликів на заході України, використовуючи дані, зібрані Західно-Українською орнітологічною станцією у період з 1995 р. до 2012 р.

Матеріали та методи

Дослідження міграції куликів проведені протягом 1995–2012 рр. на території орнітологічного заказника «Чолгинський», що лежить на крайньому південно-західному відрозі Українського Розточчя, біля с. Чолгині в Яворівському р-ні Львівської області.

Протягом дослідного періоду проводили абсолютні обліки птахів на колишніх відстійниках сірковидобувного підприємства ВО «Сірка». Обліки охоплювали період як весняної, так і осінньої міграції, а в періоди найвищої інтенсивності міграції здійснювалися за пентадною схемою [9]. Переважно обліки проводили в ранковий час, рідше у вечірній. Обробку та представлення динаміки міграції куликів здійснено згідно з підходами, описаними П. Буссе [8, 9].

У серпні кожного року (крім 2006) в заказнику відловлювали куликів на мілководдях відстійників, використовуючи тунельні пастки [15], які стояли цілодобово і перевірялись кожні 2 години від 6 години ранку до 22 години вечора. Відлов куликів дав можливість повніше дослідити їхній видовий склад, а також вікову структуру мігруючих угруповань окремих видів. Відловлених куликів визначали за визначником Т. Пратера та ін. [17], киль-

цували та вимірювали у них низку біометричних показників, що було описано в оглядах міграції деяких видів у заказнику раніше [1, 19, 21].

Потенційна дальність польоту розрахована за формулою (1) Г. Кастро і Дж. Мейерса [11]:

$$R = 26,88 \cdot S \cdot L^{1,614} \cdot (M_1^{-0,464} - M_2^{-0,464}) \quad (1)$$

де R – потенційна дальність польоту, км; S – швидкість польоту, км/год; L – довжина крила, в см; M_1 – вага птаха без жирових запасів, г; M_2 – вага птаха з жировими запасами, г. Для розрахунків ми використовували швидкість польоту куликів, встановлену Л. Зварцом зі співавторами, котра дорівнює 60 км/год [22]. Вагу без жирових запасів вираховували як вагу 10% найлегших особин, вагу із жировими запасами – як вагу найважчих 10% особин.

Тривалість зупинки куликів розраховували як різницю в днях між датою першого і найпізнішого повторного відльотів. Темп приросту маси обчислений як різниця маси між першим і повторним відльотами, поділена на тривалість зупинки (г/день).

Результати і їхнє обговорення

За період досліджень 1995–2012 рр. в заказнику “Чолгинський” під час міграції нами зафіксовано 35 видів куликів. Серед них 17 видів були регулярними мігрантами, 6 рідкісними пролітними і 12 – випадковими залітними видами. Домінантними видами під час весняної міграції були (в порядку спадання домінування): чайка (*Vanellus vanellus* L.), брижач (*Philomachus pugnax* L.), побережник чорногрудий (*Calidris alpina* L.) та коловодник звичайний (*Tringa totanus* L.). Під час осінньої міграції доміантними видами були чайка, кульон великий (*Numenius arquata* L.), коловодник болотяний (*Tringa glareola* L.), брижач і побережник чорногрудий. Проте присутність кульона великого в першій п’ятірці домінуючих видів, ймовірно, пов’язана з тим, що для виду характерно затримуватися на місцях міграційних зупинок тривалий час (власні спостереження), відповідно, одні й ті ж самі птахи могли бути обліковані повторно кілька разів, що призвело до завищення чисельності цього виду. Як видно з табл. 1, видовий склад, домінування видів, а також чисельність куликів під час весняної та осінньої міграції істотно відрізняються. Помітно, що весняна міграція куликів у заказнику “Чолгинський” менш інтенсивна, ніж осіння. Це видно з низької чисельності досліджуваних птахів. Деякі види, зафіксовані на території заказника в літньо-осінній період, відсутні навесні. Серед звичайних видів це кулики, гніздові ареали яких розташовані за межами України на півночі, зокрема: побережник білохвостий (*Calidris temminckii* Leisl.), плавунець круглодзьобий (*Phalaropus lobatus* L.), побережник болотяний (*Limicola falcinellus* Pont.), кульон середній (*Numenius phaeopus* L.). Також навесні не зафіксовані на міграції рідкісні пролітні та залітні види: коловодник ставковий (*Tringa stagnatilis* Bechst.), побережник білий (*Calidris alba* Pall.), сивка звичайна (*Pluvialis apricaria* L.), кулик-сорока (*Haematopus ostralegus* L.), побережник ісландський (*Calidris canutus* L.), дерихвіст степовий (*Glareola nordmanni* Nordm.), плавунець плоскодзьобий (*Phalaropus fulicarius* L.), пісочник морський (*Charadrius alexandrinus* L.), баранець малий (*Limnocryptes minimus* Brünn.). Цікаво відмітити, що баранець звичайний (*Gallinago gallinago* L.), типовий під час осінньої міграції і гніздовий на заході України вид, навесні в заказнику був відзначений лише один раз, що ми пояснюємо вибором під час весняної міграції біотопів, відсутніх у заказнику (заболочені долини рік, весняні розливи і т.д.; власні спостереження). Весняні спостереження таких видів як: побережник червоногрудий (*Calidris ferruginea* Pall.), кульон великий, побережник малий (*Calidris minuta* Leisl.), коловодник лісовий (*Tringa ochropus* L.), набережник (*Actitis hypoleucos* L.), крем’яшник

(*Arenaria interpres* L.) і кулик-довгоніг (*Himantopus himantopus* L.) мають випадковий характер. Лише одна чи кілька особин цих видів були відзначені навесні в заказнику за 17 років спостережень.

Таблиця 1

Видовий склад і чисельне домінування куликів в орнітологічному заказнику “Чолгинський” під час міграції (на основі даних 1995–2011 рр.).

№	Вид	Сумарна чисельність особин, навесні	Домінування навесні, %	Сумарна чисельність особин, восени	Домінування восени, %
1	<i>Vanellus vanellus</i>	1785	47,3	48731	54,4
2	<i>Numenius arquata</i>	2	+	12316	13,7
3	<i>Tringa glareola</i>	34	0,9	6642	7,4
4	<i>Philomachus pugnax</i>	472	12,5	4034	4,5
5	<i>Calidris alpina</i>	452	12,0	2972	3,3
6	<i>Gallinago gallinago</i>	1	+	1903	2,1
7	<i>Recurvirostra avosetta</i>	174	4,6	1896	2,1
8	<i>Charadrius dubius</i>	42	1,1	1803	2,0
9	<i>Tringa totanus</i>	381	10,1	1364	1,5
10	<i>Charadrius hiaticula</i>	85	2,3	1301	1,5
11	<i>Tringa nebularia</i>	7	0,2	1252	1,4
12	<i>Tringa erythropus</i>	24	0,6	1096	1,2
13	<i>Calidris ferruginea</i>	1	+	984	1,1
14	<i>Calidris minuta</i>	3	+	767	0,9
15	<i>Actitis hypoleucos</i>	3	+	542	0,6
16	<i>Limosa limosa</i>	302	8,0	505	0,6
17	<i>Calidris temminckii</i>	–	–	354	0,4
18	<i>Tringa ochropus</i>	3	+	328	0,4
19	<i>Phalaropus lobatus</i>	–	–	216	0,2
20	<i>Pluvialis squatarola</i>	3	+	185	0,2
21	<i>Tringa stagnatilis</i>	–	–	108	0,1
22	<i>Limicola falcinellus</i>	–	–	105	0,1
23	<i>Arenaria interpres</i>	2	+	71	+
24	<i>Numenius phaeopus</i>	–	–	50	+
25	<i>Calidris alba</i>	–	–	38	+
26	<i>Pluvialis apricaria</i>	–	–	24	+
27	<i>Himantopus himantopus</i>	1	+	19	+
28	<i>Haematopus ostralegus</i>	–	–	9	+
29	<i>Calidris canutus</i>	–	–	5	+
30	<i>Lymnocyptes minimus</i>	–	–	5	+
31	<i>Charadrius alexandrinus</i>	1	+	3	+
32	<i>Glareola nordmanni</i>	–	–	1	+
33	<i>Phalaropus fulicarius</i>	–	–	1	+
34	<i>Limosa lapponica</i>	–	–	1	+
35	<i>Gallinago media</i>	–	–	1	+
	Всього	3778	100	89632	100

На нашу думку, значні відмінності у видовому складі куликів і їхній чисельності під час осінньої та весняної міграції можна пояснити чотирма основними причинами, які діють у сукупності.

По-перше, на заході України весняна міграція куликів відбувається у коротші терміни, лише протягом трьох весняних місяців, тоді як осіння – протягом п'яти місяців.

Навесні птахи намагаються якомога швидше досягти місць гніздування, аби встигнути зайняти кращу гніздову територію та загніздитись у період з оптимальними погодними умовами, що дає перевагу перед конкурентами та загалом підвищує успішність гніздування [20]. Це особливо важливо для арктичних видів куликів, сезон гніздування яких у високих широтах обмежений дуже коротким теплим періодом року. За літературними даними [3], приліт, наприклад, побережника малого на місця гніздування в Арктиці відбувається аж у кінці травня – на початку червня, а відліт вже у кінці другої половини серпня. У видів помірних широт (чайки, коловодника звичайного, грицика великого, баранця звичайного та ін.) у цей час вже виводяться і стають на крило пташенята (власні дані). Через такі часові обмеження північні види намагаються затримуватись на місцях міграційних зупинок на якомога коротший термін.

По-друге, вимоги до якості біотопу на місцях міграційних зупинок навесні є значно вищими, оскільки вони мають забезпечити для північних куликів найвищі темпи відновлення жирових запасів, щоби зменшити тривалість їхніх зупинок. Також біотопи мають бути достатньо багаті на корм, щоб у арктичних куликів була можливість швидко накопичити значну кількість жиру, потрібного для тривалих перельотів та на початкових етапах гніздування в Арктиці, де корму в цей час може бути дуже мало. Можливо, деякі види куликів, намагаючись задовольнити ці потреби, змінюють маршрути весняної міграції щодо осінніх, здійснюючи при цьому кільцеві міграції, оминаючи нашу територію. Значна частина птахів, мабуть, пролітає транзитом, без зупинок.

По-третє, окремі, звичайні гніздові види куликів на заході України навесні мігрують біотопами, подібними до гніздових. Цим ми пояснюємо відсутність (чи одиничні спостереження) навесні в заказнику “Чолгинському” таких видів як баранець звичайний, кульон великий, набережник, а також брижач. Ці види належать до гніздових на заході України та прилеглих територіях і, відповідно, ймовірно, що їхні весняні перелітні маршрути повинні пролягати через територію Західної України. Більше того, ми неодноразово спостерігали згадані види у відносно великій кількості навесні, в біотопах, близьких до гніздових (річкові русла, весняні розливи рік, торфові болота).

Четвертим важливим фактором, що визначає більше видове різноманіття і вищу чисельність куликів під час осінньої міграції, є наявність великої кількості молодих особин восени, які статистично збільшують ймовірність спостереження рідкісних і нетипових видів. Крім того, молоді птахи, можливо, є менш “досвідченими” і тому можуть робити частіші зупинки на пролітному маршруті й у менш оптимальних місцях, ніж дорослі птахи. Це все у сукупності дає можливість виявити більше видів восени, ніж навесні.

Динаміка видового та чисельного складу куликів у ході міграції.

Порівняння фенології міграції

Оскільки різні види куликів мігрують у різні терміни, їхня міграція в цілому є сильно розтягнутою в часі. Упродовж року видовий склад куликів у заказнику міняється, як і співвідношення кількості окремих видів (рис. 1). Як бачимо, під час весняної та осінньої міграції спочатку домінують ті види, що гніздяться на заході України чи на прилеглих територіях, а до кінця міграції їхня частка спадає і зростає кількість північних видів (виняток становить баранець звичайний). Така різна часова стратегія міграції куликів пов’язана з розміщенням їхніх гніздових ареалів.

У куликів із південніших широт (західна Україна) настання сприятливих для гніздування погодних умов навесні (танення снігів, підвищення температури, спад рівня води в гніздових біотопах, а також доступність корму) відбувається раніше (квітень-

травень), а отже, є можливість швидше розпочати гніздування. Оскільки ці кулики швидше починають до гніздування, то вони його і швидше закінчують. Як тільки пташенята стають самостійними, «південні» кулики мають змогу розпочинати осінню міграцію. Тому весняна й осіння міграції в цих видів починаються і закінчуються раніше, ніж у північних видів. У куликів північніших широт (особливо у тундряних) сприятливі погодні умови для гніздування настають значно пізніше (наприклад, у червні [3]). Відповідно, вони починають до гніздування пізніше, завершують гніздовий період і починають осінню міграцію теж пізніше.

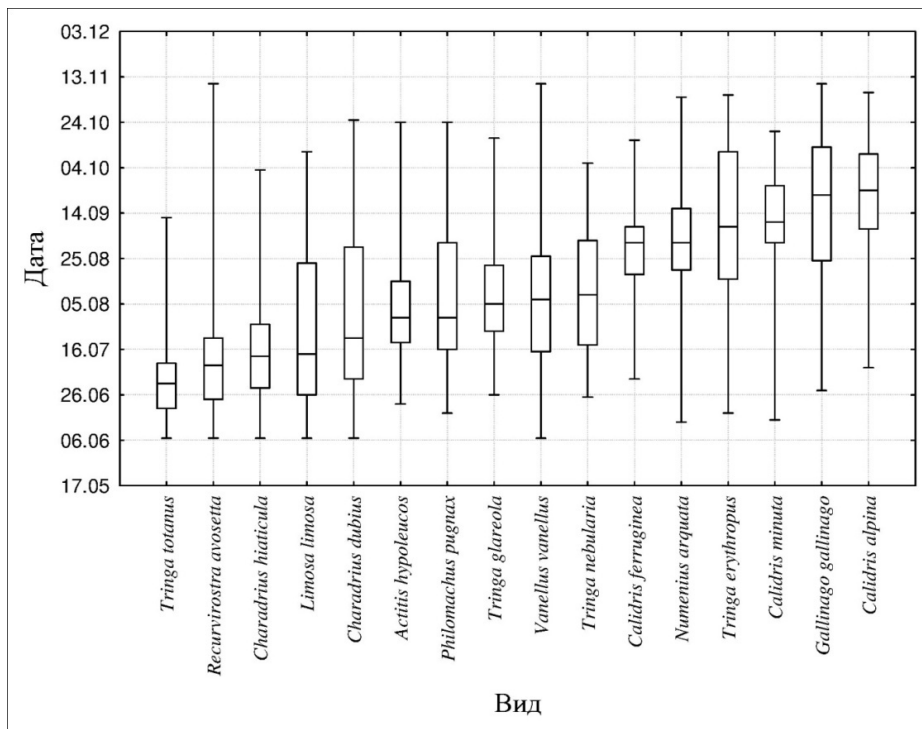


Рис. 1. Терміни проходження осінньої міграції найчисельніших видів куликів в орнітологічному заказнику «Чолгинський» (1995–2011 рр.). Поперечна риска – середня дата прольоту, прямокутник – проліт 50% особин, вертикальні лінії – проліт решти 50% особин.

Як видно з графіка загальної динаміки міграції куликів у заказнику «Чолгинський» (рис. 2), під час весняної міграції помітна лише одна чітка хвиля прольоту, яка припадає на період зі середини квітня до кінця травня, хоча міграція починається в перших числах березня. Під час осінньої міграції помітні декілька хвиль прольоту. Найбільшими є три: перша припадає на період з кінця червня до кінця липня, друга на серпень – кінець вересня, а третя відбувається у жовтні.

Перша хвиля міграції куликів формується за рахунок відльоту гніздових видів заходу України, а також дорослих особин більшості північних видів куликів. Друга хвиля формується міграцією переважно молодих особин, виведених у той же сезон. У період другої хвилі мігрує найбільша кількість куликів. Остання, найменша хвиля прольоту формується за рахунок міграції пізніх осінніх мігрантів: коловодника чорного (*Tringa erythropus* Pall.) та баранця звичайного.

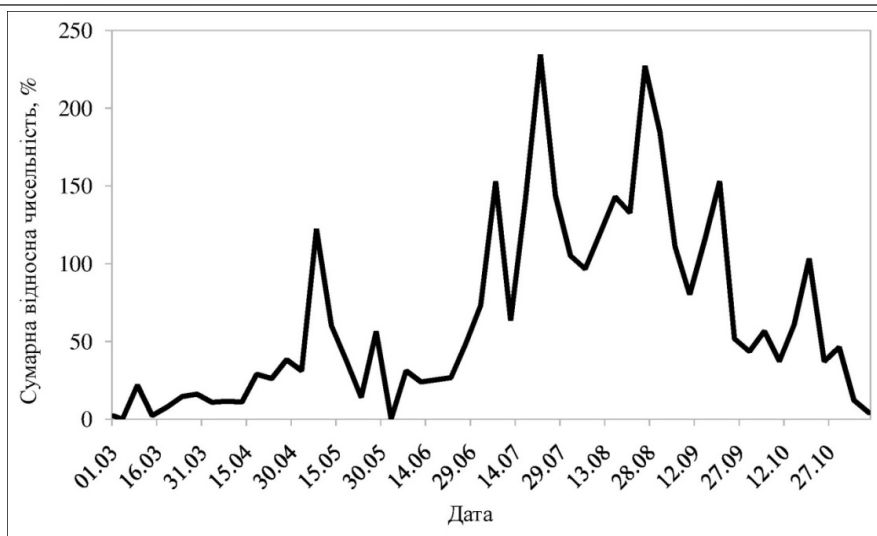


Рис. 2. Загальна динаміка міграції куликів в орнітологічному заказнику "Чолгинський" протягом 1995–2012 років.

Динаміка й фенологія міграції окремих видів, а також видовий склад і чисельне співвідношення куликів у заказнику найбільше збігаються з даними, отриманими в континентальних пунктах досліджень куликів у Східній Європі [7, 12–14, 18] та, меншою мірою, з даними з узбереж морів [4, 16]. Це можна пояснити як географічною близькістю заказника "Чолгинський" до східноєвропейських пунктів відлову та кільцювання, так і відмінностями біотопів на континентальних і морських пунктах досліджень.

Відмінності у фенології прольоту різних вікових категорій птахів

У багатьох видів куликів спостерігається роздільний у часі проліт дорослих і молодих птахів, що зумовлює наявність у динаміці міграції видів як мінімум двох хвиль прольоту. На роздільний проліт вікових груп може накладатись і роздільний проліт самців та самок, що додатково збільшує кількість хвиль міграції. Якщо ще врахувати й відмінності у фенології прольоту окремих популяцій куликів, то отримаємо досить запутану картину. Використання лише методу візуальних спостережень за видимою міграцією не дає змоги для більшості видів виокремити роздільний проліт вікових і статевих груп куликів через важкість або неможливість дистанційного визначення їхніх віку і статі. Вирішити цю проблему можна лише завдяки відлову куликів із подальшим визначенням віку птахів у руках.

Аналіз вікового розподілу відловлених особин коловодника болотяного показав, що на території заказника «Чолгинський» першими мігрують дорослі особини. Їхній проліт відбувається з кінця червня до кінця другої декади серпня. Починаючи з третьої декади серпня і пізніше можна спостерігати проліт лише молодих птахів (рис. 3). Міграція молодих особин цього виду починається ще на початку липня, але помітне зростання чисельності спостерігається значно пізніше, у кінці липня – на початку серпня.

Аналогічна ситуація спостерігається і у представника іншого роду куликів (*Calidris*), побережника чорногрудого (рис. 4). Міграція дорослих птахів цього виду триває від третьої декади липня до початку другої декади вересня. Міграція молодих птахів виду триває від початку другої декади серпня до кінця жовтня чи початку листопада.

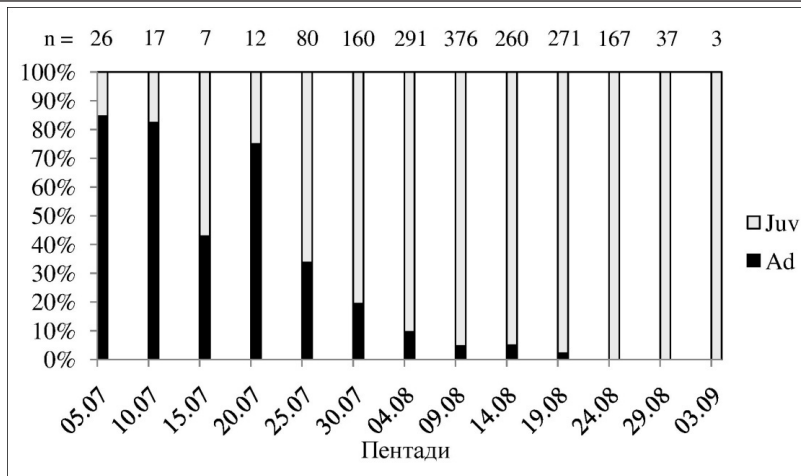


Рис. 3. Динаміка співвідношення кількості молодих і дорослих особин коловодника болотяного у відлогах протягом 1995–2012 років на території заказника «Чолгинський».

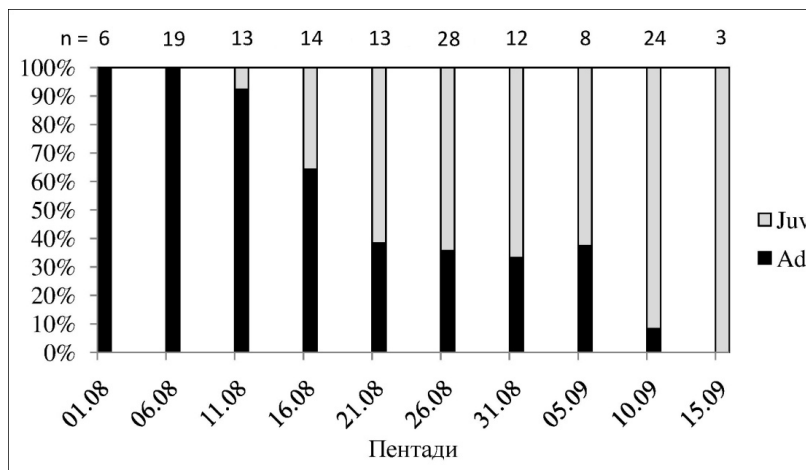


Рис. 4. Динаміка співвідношення кількості молодих і дорослих особин побережника чорногрудого у відлогах протягом 1995–2012 років на території заказника «Чолгинський».

Часова розмежованість прольоту дорослих і молодих куликів пов'язана з тим, що дорослі птахи відлітають із місць гніздування одразу після того, як пташенята стають самостійними. Молоді птахи ще якийсь час тримаються у гніздових стаціях і лише згодом збираються у зграї та відлітають.

Жирионакопичення та потенційні дальності перельоту куликів

У таких видів, як побережник червоногрудий, пісочник малий (*Charadrius dubius* Scop.), коловодник звичайний, побережник малий і коловодник болотяний потенційна дальність перельоту від заказника «Чолгинський» приблизно однакова і коливається в межах 2936–3042 км (рис. 5). Близькі показники властиві і для побережника білохвостого (2751 км), набережника (2812 км) та самок брижача (3236 км) і побережника чорногрудого (3241 км). Найменшими виявилися потенційні дальності перельоту у самців брижача (2380 км) та баранців звичайних (1921 км).

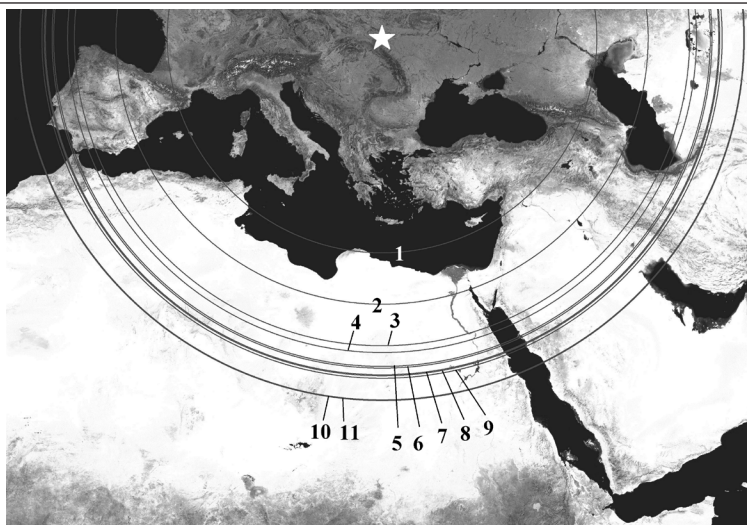


Рис. 5. Потенційні дальності перельоту куликів, відловлених у заказнику «Чолгинський»: числа позначають радіуси для різних видів: 1 – баранець звичайний; 2 – брижач (самці); 3 – побережник білохвостий; 4 – набережник; 5 – побережник червоногрудий; 6 – пісочник малий; 7 – коловодник звичайний; 8 – побережник малий; 9 – коловодник болотяний; 10 – брижач (самки); 11 – побережник чорногрудий. Зірочкою позначене місце розташування заказника «Чолгинський».

Більшість євразійських видів птахів, які перетинають територію Європи під час осінньої міграції, пролітають широким фронтом через Середземне море, причому багато з них летять у тому місці, де воно сягає найбільшої ширини. Так само у найширшому місці птахи перетинають і Сахару, хоч багато видів використовують для прольоту долину Нілу, де умови для них оптимальні. Більшість дальніх мігрантів здійснює переліт через найбільшу пустелю світу, де часто не можуть знайти ні корму, ані води. Частина їх зимує у Північній Африці, багато видів – у Тропічній Африці, але більшість – у Південній Африці. Усього в Африці на південь від Сахари проводить зиму понад 1/4 усіх видів птахів Палеарктики. У 42 видів євразійських куликів місця зимівель розташовані в Африці, де кількість місцевих видів куликів і, відповідно, конкуренція за ресурси є меншими [2].

Зокрема, щодо зимівель – пісочник великий трапляється у придатних біотопах на території всієї Африки. Проте в гирлі р. Сенегал і по узбережжях Південної Африки цей вид збирається у надзвичайно великі зграї, більшість представників з яких спостерігаються в Заїрі та належать до підвиду *Charadrius hiaticula tundrae*, у той час як підвид *Ch. h. hiaticula* зимує, головним чином, на узбережжях Західної Африки. Баранець звичайний зимує у Тропічній Африці аж до Танзанії. Набережник протягом зимового періоду широко розповсюджений по всій території Північної, Тропічної та Південної Африки, там же зимують: коловодники (звичайний, болотяний, ставковий, великий, лісовий) і грицик великий. Брижач та побережник червоногрудий зимують аж до крайнього півдня Африки. Побережники чорногрудий і білохвостий переважно зимують до Кенії, хоч відомі спостереження особин цього виду і в Західній Африці [2].

Більшість видів куликів, що зимують у Африці на південь від Сахари, з жировими запасами, накопиченими в заказнику (на заході України), не здатні перетнути пустелю за один переліт (рис. 5). Тому для них характерні місця зупинки для поповнення жирових

запасів на території Західної Європи, зокрема в межах Франції, Іспанії та Португалії, в країнах Середземномор'я, у першу чергу в Італії, а також Хорватії.

Проте при розрахунках потенційної дальності перельоту не беруться до уваги сила та напрямки вітрів на маршруті міграції, що може істотно збільшити відстань перельоту птахів навіть із недостатніми жировими запасами [10]. Звичайно ж, може бути і навпаки, але більшість птахів для значного й ефективного перельоту обирають сприятливі погодні умови.

У цілому темпи приросту маси куликів у заказнику «Чолгинський» (табл. 2) збігаються з даними, отриманими іншими дослідниками, як на континентальних пунктах досліджень, так і на морських.

Таблиця 2

Основні характеристики деяких видів куликів під час міграційної зупинки в орнітологічному заказнику «Чолгинський»

Вид	Середня тривалість зупинки, днів	Середні темпи приросту маси, г/день *	Середні темпи приросту маси, г/день **	Обсяг жирових запасів, % juv/ad
<i>Philomachus pugnax</i>	2,3	-1,08	–	♂ 25,2 ♀ 32,6
<i>Tringa totanus</i>	5,1	+0,71	+2,2	34/?
<i>Tringa glareola</i>	5,3	+0,78	+1,37	67/88
<i>Calidris alpina</i>	2,4	+0,8	+2,1	59/43
<i>Calidris minuta</i>	2,8	-0,2	+1,7	55/?
<i>Calidris temminckii</i>	2,1	-0,6	+1,6	50/?
<i>Calidris ferruginea</i>	2	+0,1	+3,0	50/?
<i>Gallinago gallinago</i>	11-14	–	–	37/33
<i>Actitis hypoleucos</i>	3,94	+0,13	+4,13	37/34

Примітки. * – темп приросту маси всіх птахів; ** – темп приросту маси лише птахів, які збільшили масу між повторними відльотами.

Підтвердженням наших досліджень щодо накопичення жирових запасів куликами та їхніх проміжних зупинок під час міграції слугують факти повторного відльоту куликів, закільцьованих у заказнику «Чолгинський» і відловлених у країнах Західної Європи. Зокрема, побережник червоногрудий (молодий птах), закільцьований 18.08.1999 р., був знайдений мертвим у Португалії через 11 днів (29.08.1999 р.), подолавши таким чином відстань у 2678 км.

Інші дані зворотів кільцювання свідчать також про переліт із зупинками. Зокрема, чайка закільцьована 23.08.2007 р. в заказнику «Чолгинський», була застрелена у Франції 29.12.2007 р., через 128 днів, подолавши відстань від місця кільцювання у 1763 км. Подібні результати отримані й щодо баранця звичайного, одного з яких закільцювали 04.09.1995 р. і вполували у Португалії 14.12.1995 р., через 101 день після кільцювання на відстані 2590 км. Інший був закільцьований 27.08.1999 р., а застрелений також у Франції через 140 днів – 14.01.2000 р., на відстані 1595 км. Кульон великий закільцьований 24.08.1997 р., знайдений мертвим у Хорватії через 132 дні (05.01.1998 р.) на відстані 706 км від місця кільцювання.

Отже, під час весняної та осінньої міграцій куликів, протягом періоду досліджень 1995-2012 рр. нам вдалося виявити 35 видів куликів, серед яких: 17 видів були регулярними мігрантами, 6 рідкісними пролітними і 12 – випадковими залітними видами. Найчисленнішими під час міграції виявилися чайка (*Vanellus vanellus* L.) з чисельним домінуванням навесні 47,3% та восени – 54,4%, брижач (*Philomachus pugnax* L.) – 12,5% та 4,5% відповідно, коловодник болотяний (*Tringa glareola* L.) – з домінуванням лише восени (7,4%) і побережник чорногрудий (*Calidris alpina* L.) – із чисельним домінуванням 12% навесні та 3,3% восени. Під час весняної та осінньої міграцій на досліджуваній території

спочатку домінують ті види, що гніздяться на заході України чи прилеглих територіях, а до кінця міграції їхня частка спадає і зростає кількість північних видів куликів.

Доведено роздільний проліт вікових груп у куликів, на прикладі коловодника болотяного та побережника чорногрудого, що пов'язано з особливостями біології їхнього розмноження.

Середні темпи приросту маси і показники жирових запасів куликів у заказнику «Чолгинський» близькі до даних, отриманих в інших пунктах досліджень. Для багатьох видів жирових запасів, накопичених у заказнику, недостатньо для досягнення основних місць зимівлі. Це підтверджується даними зворотів кільцювання, які доводять, що більшість куликів роблять додаткові міграційні зупинки у Європі, зокрема в межах Франції, Іспанії, Португалії, Італії та Хорватії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Струс Ю. Міграція баранця звичайного (*Gallinago gallinago* L.) в орнітологічному заказнику “Чолгинський” // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 230–238.
2. Міграції между Евразией и Африкой. – Интернет ресурс. Режим доступа: <http://www.ornithologist.ru/statii/m/st3.html>
3. Птицы Советского Союза / Под ред. Н.А. Гладкова, Г.П. Деметьева, Е.П. Спангенберга. М.: Советская наука, 1951. Т. 3. С. 326–334.
4. Черничко И. И., Черничко Р. Н. Миграции куликов на Молочном лимане // Бранта. 2003. Вып. 6. С. 137–164.
5. Шидловський І. В., Прушинський М. С. Матеріали до вивчення видимої весняної міграції чайки на Волині // Матеріали II конф. молодих орнітологів України. Чернівці, 1996. С. 208–210.
6. Шидловський І. Міграції коловодника болотяного на заході України // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Біологія. Екологія. 2003. Вип. 11. Т. 2. С. 209–213.
7. Baran M., Gwiazda R. Siewkowce Charadrii zbiornika Dobczyckiego – dynamika przelotu, struktura gatunkowa i liczebność w zależności od poziomu wody // Chrońmy Przyrodę Ojczyzną. 2006. N 62 (4). P. 11–35.
8. Busse P. Bird station manual. Gdansk, 2000. 264 p.
9. Busse P. Przedstawianie dynamiki wędrówek ptaków // Notatki Ornitologiczne. 1973. N 14. P. 68–75.
10. Butler R. W., Williams D., Warnock N., Bishop M. A. Wind assistance: a requirement for migration of shorebirds? // The Auk. 1997. N 114(3). P. 456–466.
11. Castro G., Myers J. P. Flight range estimate for shorebirds // Auk. 1989. N 106. P. 474–476.
12. Indykiewicz P. Spring and Autumn migration of Waders in the Notec river valley // The Ring. 1998. N 20. Vol. 1–2. P. 51–57.
13. Kozik R. Autumn migration of waders (Charadrii) in the middle Vistula valley in 2004–2005 // Ring. 2006. N 28 (1). P. 19–31.
14. Kruszyk R., Zbroński R. Migration of waders (Charadrii) at the sediment-ponds and floods of the coal-mines in Jastrębie Zdroj // Ring. 2002. N 24. P. 105–119.
15. Meissner W. Some notes on using walk-in traps // Wader Study Group Bull. 1998. N 86. P. 33–35.
16. Meissner W., Sikora A. Wiosenna i jesienna migracja siewkowców (Charadrii) na półwyspie Helskim // Notatki Ornitologiczne. 1995. N 36. P. 205–239.
17. Prater T. J., Marchant J. H., Vuorinen J. Guide to the identification and ageing of Holarctic Waders: BTO Guide. Tring: British Trust for Ornithology, 1977. 168 p.
18. Radovic D., Kralj J., Tutis V. Migration pattern and seasonal activity of waders at Draganic fishponds in NW Croatia // Wader Study Group Bull. 1999. N 90. P. 35–41.

19. *Strus I.* Migration of Wood Sandpipers *Tringa glareola* in the Cholgini ornithological reserve, Ukraine // Wader Study Group Bull. 2012. N 118(3). P. 153–162.
20. *Schroeder J., Hooijmeijer J., Both C., Piersma T.* The importance of early breeding in Black-tailed Godwits (*Limosa limosa*) // Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen Band. 2006. N 32. P. 239–241.
21. *Szydlowski I., Lysachuk T.* Preliminary data on autumn migration of Wood Sandpiper (*Tringa glareola*) in Western Ukraine // Ring. 1998. N 20(1–2). P. 117–121.
22. *Zwarts L., Ens B. J., Kersten M., Piersma T.* Moulting, mass, and flight range of waders ready to take off for long-distance migrations // Ardea. 1990. N 78. P. 339–363.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 26.12.12

прийнята до друку 03.01.13

MIGRATION OF WADERS (AVES: CHARADRII) IN THE “CHOLGINI” ORNITHOLOGICAL RESERVE

Y. Strus, I. Shydlovskyy

*West-Ukrainian Ornithological Station
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: yurastrus@gmail.com*

During the study period 35 species of waders were revealed in the «Cholgini» reserve. Among them 17 species were common migrants, 6 – rare migrants and 12 – vagrant species. The most numerous were Lapwing (*Vanellus vanellus* L.), Ruff (*Philomachus pugnax* L.), Wood Sandpiper (*Tringa glareola* L.) and Dunlin (*Calidris alpina* L.). Separate in time migration of juveniles and adults was revealed on the example of Wood Sandpiper and Dunlin. The average mass gain rates and amount of the fat reserves were similar to the data obtained in other studies. Amounts of the stored fat in waders in the “Cholgini” reserve are not enough for successful non-stop flight to the main wintering grounds in the majority of species.

Keywords: waders, Charadrii, migration, west Ukraine.

МИГРАЦИИ КУЛИКОВ (AVES: CHARADRII) В ОРНИТОЛОГИЧЕСКОМ ЗАКАЗНИКЕ «ЧОЛГИНСКИЙ»

Ю. Струс, И. Шидловский

*Западно-Украинская орнитологическая станция,
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: yurastrus@gmail.com*

За период исследований в заказнике выявлено 35 видов куликов. Среди них 17 видов были регулярными пролетными, 6 редкими пролетными и 12 – случайно залетными. Наиболее массовыми во время миграции оказались чибис (*Vanellus vanellus* L.), турухтан (*Philomachus pugnax* L.), фифи (*Tringa glareola* L.), чернозобик (*Calidris alpina* L.). Выявлен раздельный пролет возрастных групп у куликов на примере фифи и чернозобика. Средние темпы прироста массы, уровни жировых запасов куликов в заказнике оказались близкими к данным, полученным в других исследованиях. Жировых запасов, накопленных куликами в заказнике, недостаточно для достижения основных мест зимовок для большинства видов.

Ключевые слова: кулики, Charadrii, миграция, запад Украины.

МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 582.28 : [69.032.2 : 643]

**МІКРОСКОПІЧНІ ГРИБИ У ПРИМІЩЕННЯХ
БАГАТОПОВЕРХОВОГО ЖИТЛОВОГО БУДИНКУ М. КИЄВА**

Т. Кондратюк, А. Калініченко

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології»
вул. Володимирська, 64, Київ 01601, МСП-601, Україна
e-mail: takbiofak@ukr.net*

З пошкоджених матеріалів стін і з проб повітря приміщень п'ятиповерхового житлового будинку в м. Києві ізолювано мікроскопічні гриби 37 видів 21 роду відділів *Zygomycota*, *Ascomycota* та групи *Anamorphic fungi*. Серед переважаючих у комплексі представників *Anamorphic fungi* (28 видів 15 родів) у пробах із пошкоджених ділянок стін найчастіше траплялися гриби родів *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor* та *Rhizopus*. У пробах повітря домінували мікроміцети родів *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* та *Penicillium*. Із використанням коефіцієнта Сьоренсена-Чекановського показано, що головним джерелом надходження КУО грибів у повітря приміщень є місця пошкоджень внутрішніх поверхонь стін. Представники більшості ізолюваних авторами видів становлять потенційну небезпеку для здоров'я людини.

Ключові слова: мікроскопічні гриби, житлові приміщення, пошкодження.

У сучасних містах (зокрема, у мегаполісах) люди проводять переважну частину свого життя у приміщеннях, постійно перебуваючи в оточенні специфічного повітряного аерозолі, що складається з різних компонентів, таких як хімічні забруднювачі, інфекційні агенти й алергени. Серед них особливої уваги заслуговують мікроскопічні гриби, яким притаманні алергенні, патогенні та токсичні властивості. Дослідження вчених із різних країн підтверджують постійне зростання мікогенної сенсibiliзації. Доведено, що гриби є фактором розвитку сенсibiliзації у людей із генетичною схильністю до atopії. Особливо чутливими до негативного впливу мікроміцетів є діти і люди зі зниженим імунним статусом [1, 9].

Із 30-х років ХХ ст. розпочалося цілеспрямоване дослідження мікобіоти житлових приміщень (у домашньому пилі, повітрі, на стінах тощо) як фактора, що негативно впливає на здоров'я людини. Розвиток мікроміцетів на внутрішніх поверхнях приміщень, куди вони потрапляють із зовнішнього середовища, залежить від режимів температури та вологості, повітрообміну тощо. Збільшення вмісту вологи в матеріалах, що пов'язане з будівельними та експлуатаційними порушеннями, процесами старіння будівель, є найвагомим чинником розвитку мікроміцетів на внутрішніх поверхнях приміщень [12, 13, 17]. Деструктивна дія мікроміцетів на матеріали та виробу обумовлена, по-перше, агресивним впливом метаболітів грибів (органічних кислот, окисно-відновних та гідролітичних ферментів). По-друге, механічною руйнацією цих матеріалів: гриби проникають у мікротріщини та пори, сприяють їхньому розширенню та виникненню в них небезпечних напруг [3, 7].

При оцінці впливу на організм людини «грибного середовища» враховують: скільки та які гриби виявлені в оточенні людини, яким із них притаманні потенційно патогенні властивості, де вони можуть розвиватися. Проблему поширення потенційно патогенних

грибів почали серйозно розглядати лише в останнє десятиріччя. Кількість мікроскопічних грибів, що входять до переліку патогенних організмів, досить велика й налічує близько 800 видів, хоча нещодавно називали тільки 300–400 видів [18]. Даний перелік буде поповнюватися і надалі, оскільки постійно зростає кількість штучних матеріалів, що створюються людиною, розширюючи можливості мікроміцетів у колонізації нових субстратів, підвищується рівень забруднення навколишнього середовища, стимулюючи адаптацію грибів до змінених умов існування.

Питання необхідності встановлення кількісного та якісного складу мікроміцетів для оцінки санітарно-гігієнічного стану житлових приміщень, без сумніву, є актуальним і потребує вирішення.

Метою досліджень було виявити осередки розвитку мікроскопічних (плісневих) грибів на внутрішніх поверхнях приміщень житлового будинку, з'ясувати причини їхнього виникнення, отримати чисті культури мікроскопічних грибів та ідентифікувати їх, встановити кількісний вміст і якісний склад грибів у повітрі обстежених приміщень, охарактеризувати рівень потенційної небезпеки, пов'язаної з мікроскопічними грибами, яка загрожує здоров'ю людей.

Матеріали та методи

Матеріалом для досліджень слугували 28 проб повітря та 18 проб із пошкоджених стін і стель у 17 обстежених приміщеннях першого-п'ятого поверхів та підвалу у житловому п'ятиповерховому будинку. Проби відбирали з дотриманням умов стерильності. Для характеристики ступеня деструктивного процесу на поверхні обстежених матеріалів використовували умовний розподіл за двома стадіями: 1-ша стадія – тільки локальні ушкодження, яким притаманний стійкий рівноважний стан, коли біодеструкція активно не розповсюджується; 2-га стадія – прогресуючий (активний) стан деструктивного процесу [17]. Параметри вологісного режиму (вологеміст матеріалів поверхонь стін і відносну вологість повітря приміщень) визначали з використанням спеціальних вимірювальних приладів TESTO 606-1 та TESTO-610 (виробник Німеччина).

Для ізолювання мікроміцетів–пошкоджувачів зі стін і стель застосовували методи накопичувальної культури, відбитків та стандартні тверді агаризовані поживні середовища: картопляно-глюкозний агар (КГА), середовища Чапека-Докса (ЧД) та Сабуро (САБ). Використовували також прямий посів проб із місць ушкоджень: зволеним стерильною водою кінчиком голки торкалися поверхневих нальотів, зокрема міцелію мікроміцетів на поверхні стін, з подальшим висівом на поживні середовища.

При дослідженні мікобіоти повітря за основу брали методологію Васильєва зі співавт. [6]. Для порівняльного аналізу використовували метод седиментації колонієутворюючих одиниць (КУО) мікроорганізмів на поверхню поживних середовищ (КГА, ЧД та САБ) у відповідності до існуючих методик [19]. Чашки Петрі розміщували у приміщеннях за методом конверта [10], час експозиції становив 40–100 хв. Розрахунок КУО грибів в 1 м³ повітря здійснювали за відповідною формулою [14]: $X=5 a10^4 / r^2t$, де X – число КУО в 1 м³ повітря, a – число колоній, що утворилися; r – радіус чашки Петрі, см; t – час експозиції, хв.

Ідентифікацію ізолюваних чистих культур мікроскопічних грибів здійснювали з використанням визначників [4, 22, 24, 26]. При таксономічному аналізі дотримувалися 9-го видання Словника грибів [23]. Сучасні видові назви уточнювали за базою даних Міжнародного Мікологічного інституту CABI «Index fungorum» (www.speciesfungorum.org). Фотографування препаратів грибів здійснювали за допомогою мікроскопа Primo Star компанії Carl Zeiss при збільшенні $\times 100$, $\times 400$. Частоту трапляння видів (родів) грибів, виявлених у пробах, визначали у відсотках як відношення кількості проб, у яких даний вид (рід) тра-

п'явся, до загальної кількості проб [2]: $P = p/N \cdot 100$, (%), де p – кількість проб (зразків), у яких виявлено даний вид (рід); N – загальна кількість досліджених проб (зразків). При аналізі результатів, отриманих при дослідженні повітря, за зразок приймали одне приміщення (кімнату). Для порівняння мікобіот повітря та пошкоджених стін використовували коефіцієнт Сьоренсена-Чекановського, який визначали за формулою [11]: $C_{sc} = 2C/(a+b)$, де a – кількість видів мікобіоти повітря; b – кількість видів мікроміцетів, виявлених на пошкоджених поверхнях; c – кількість видів, спільних для повітря та поверхонь.

Результати і їхнє обговорення

У результаті проведених досліджень в обстеженій будівлі виявлено численні місця пошкоджень і надзвичайно великі площі руйнувань матеріалів стін приміщень. Вони різнилися за розташуванням, площею та проявами: спостерігалися великі здуття, тріщини та глибокі розриви матеріалів стін (фарби, штукатурки), відшарування, лущення, осипання поверхневих і глибоких шарів матеріалів (зокрема, цегли), плями затікань, каверни (кратероподібні розриви), плями та нальоти (нашарування), різні за розмірами, кольорами і щільністю (рис. 1). Пошкодження були наявні на всіх поверхнях будинку – від приміщень підвалу до 5-го поверху включно. Стіни в багатьох місцях вологі на дотик, штукатурка та цегла в місцях сильної руйнації мають нещільну ватоподібну консистенцію. В усіх місцях, де візуально спостерігали добре помітні пошкодження, вологовміст матеріалів перевищував 10%, що створює сприятливі умови для розвитку мікроскопічних грибів (табл. 1). Перезволоження матеріалів стін в обстеженій будівлі (табл. 1) обумовлене впливом цілої низки факторів. Зокрема, це часті протікання санітарно-технічного обладнання, яке вкрай застаріле – водопровідні та каналізаційні труби не замінювалася більше 45 років (обстежена будівля не зазнавала капітального ремонту з моменту здачі її в експлуатацію у 1965 р.), гідроізоляція навколо труб порушена, що призводить до наскрізного протікання води в глибині будівельних матеріалів. Отже, довготривалі експлуатаційні порушення, хронічне перезволоження матеріалів стін і стелі в обстежених приміщеннях, призвели до появи виражених ознак біопшкоджень внутрішніх поверхонь. *Стадія деструктивного процесу* в даному випадку характеризується як II – *прогресуюча (активна)*, будівля перебуває в аварійному стані. У приміщеннях підвалу ми констатували високі показники відносної вологості повітря (> 60–70%).

У пробах, відібраних в осередках руйнації матеріалів стін, нами виявлені різні мікроорганізми–пошкоджувачі: мікроскопічні гриби, бактерії та актиноміцети. Переважали серед пошкоджувачів мікроскопічні (плісневі) гриби. З відібраних проб у чисту культуру ізольовано мікроміцети, які після ідентифікації віднесено до 34 видів 21 роду. Виявлено також гриби, які утворювали тільки вегетативний міцелій: *Mycelia sterilia dark*, *Mycelia sterilia white* (табл. 2). Найчастіше із проб вилучали представників родів *Cladosporium* (60%), *Penicillium* (60%), *Mucor* (47%), *Rhizopus* (47%). За частотою трапляння серед видів превалювали *Aspergillus niger* (47%), *Rhizopus stolonifer* (40%), *A. versicolor* (33%), *Cladosporium sphaerospermum* (27%) (табл. 2). Результатом хронічного перенасичення будівельних матеріалів вологою є наявність у комплексі грибів–пошкоджувачів представників порядку *Mucorales* відділу *Zygomycota* (73%), які розвиваються тільки за умов високих показників вологості. у пробах, відібраних із перезвожених ділянок стін, характерною є наявність *Mucor plumbeus*, *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer*, а також видів *Penicillium* sp., *Cladosporium sphaerospermum*, *C. cladosporioides*, *Fusarium* sp., *Chrysonilia citophyla*. Вони утворюють на поверхні матеріалів візуально добре помітні пухнасті нальоти світло-сірого кольору, білі та біло-сірі нашарування. Виявлений нами факт розвитку мікроміцетів на поверхнях у тих місцях, де були добре помітні плями від затікань води, підтверджує дані літератури щодо безпосереднього зв'язку між осередками розвитку мікроскопічних грибів і місцями затікань у приміщеннях [7, 9, 12, 15, 16].



Рис. 1. Приклади ушкоджених стін у обстежених приміщеннях.

Таблиця 1

Показники вологості матеріалів у обстежених приміщеннях

Поверх будинку, приміщення	Місця проведення замірів (опис пошкоджень)	Вологовміст матеріалів стін, %
Підвал, коридор	Стіни (здуття, відшарування олійної фарби та штукатурки)	14,7–21,0
Підвал, технічне приміщення	Стеля (штукатурка втратила цілісність, відшаровується та обсипається, металева арматура перекриття наскрізь проржавіла, відшаровується)	19,1–22,6
Спуск у підвал	Кут стіни (здуття, відшарування фарби та штукатурки, темні плями)	47,1–50,1
Сходи на 2-й поверх	Стіна (здуття, відшарування фарби та штукатурки, темні плями)	33,6–39,5
2-й поверх, коридор	Стіна, праве крило (здуття, осипання матеріалів стін, вологих на дотик)	40,5–41,6
2-й поверх, житлові приміщення	Стіни, відшарування та осипання матеріалів, чорні плями	21,2–37,9
3-й поверх коридор, житлові приміщення	Стіни (здуття, осипання матеріалів стін, плями затікань)	48,1–52,4
3-й поверх, сходи перед дверима в коридор	Кут стіни (сіруватий і світло-рожевий наліт на поверхні)	65,3–70,4
4-й поверх, коридор	Стіни (кратероподібні розриви фарби – каверни)	44,3–48,0
5-й поверх	Стіни (здуття, осипання будівельних матеріалів)	30,2–35,5

Високий рівень зволоження матеріалів стін у місцях затікань води призвів до розвитку мікроскопічних грибів разом із бактеріями, зокрема спороутворювальними. Це свідчить про значну інтенсивність деструктивних процесів, які відбуваються в матеріалах обстежених приміщень, оскільки розвиток різних мікроорганізмів (у даному випадку грибів і бактерій) посилює й інтенсифікує фізико-хімічні процеси руйнування при міграції вологи в товщі будівельних матеріалів [20].

У місцях візуально добре помітних плям від затікань, на ділянках стін із глибокими здуттями, розривами та кавернами руйнацію матеріалів спричиняли від 4 до 7 видів мікроскопічних грибів. З осередків зруйнованих матеріалів стін із майже чорними плямами і нальотами ізолювали мікроміцети *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium shaerospermum*, види родів *Penicillium* (*P. aurantiogriseum*, *Penicillium* sp.), *Paecilomyces lilacinus*, *Rhizopus stolonifer*, *Stachybotrys chartarum*, *Ulocladium botrytis*.

Чисельність мікроскопічних грибів у приміщеннях є одним із найважливіших показників якості повітря. Цей показник оцінюється за кількістю КУО в 1 м³ повітря. Аналіз результатів досліджень проб повітря в обстежених нами приміщеннях свідчить, що кількість мікроскопічних грибів в окремих точках замірів становила від 617 до 4320 КУО/м³, тобто в усіх випадках перевищувала значення 500 КУО/м³. За даними ВООЗ концентрацію спор у повітрі житлових приміщень у 500 КУО/м³ прийнято вважати пороговою, перевищення якої може призвести до виникнення стійкої сенсibiliзації та нападів бронхіальної астми у людей, генетично схильних до atopії [15].

Кількість грибів у повітрі приміщень різнилася залежно від поверху будівлі та стану внутрішніх поверхонь. Найбільшу концентрацію мікроміцетів у повітрі констатували у приміщеннях із вираженими ознаками біопшкоджень поверхонь стін (здуттями, плямами, нальотами).

Мікроскопічні гриби повітря обстежених приміщень були представлені видами, які належать до відділів *Zygomycota* і *Ascomycota*, та групи анаморфних, або мітоспорових грибів (*Anamorphic fungi*). Останні становили основну частину серед усіх виявлених видів. Після ідентифікації ізолювані чисті культури мікроміцетів повітря приміщень віднесено нами до 33 видів 19 родів, виявлено також *Mycelia sterilia white*, *Mycelia sterilia orange* (рис. 2, 3).



Рис. 2. Мікроскопічні гриби в повітрі обстежених приміщень.

Серед представників мікобіоти повітря за частотою трапляння домінували роди *Cladosporium* (85,7%), *Alternaria* (85,7%), *Penicillium* (78,6%) та *Aspergillus* (71,4%), що збігається з даними літератури щодо домінування цих родів у мікобіоті приміщень, які зазнали біопшкоджень, незалежно від континентів і країн, у яких проведено дослідження [13, 15, 25].

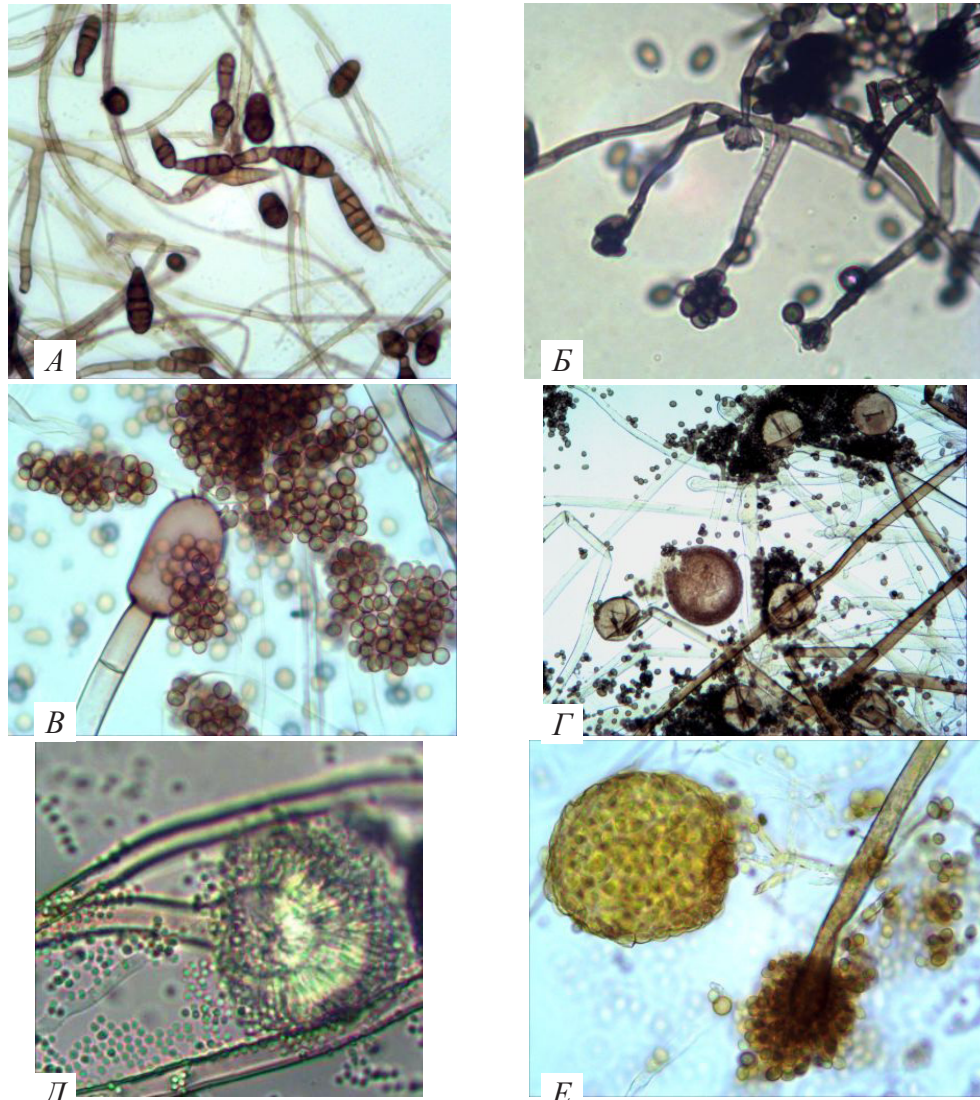


Рис. 5. Приклади ізолюваних чистих культур мікроскопічних грибів із проб повітря приміщень: А – *Alternaria alternata*; Б – *Stachybotrys chartarum*, В – *Mucor plumbeus*, Г – *Rhizopus stolonifer*, Д – *Aspergillus ochraceus*, Є – *Eurotium herbariorum* (А, Б, Д, Є – $\times 400$; В, Г – $\times 100$).

Більшість виявлених нами мікроскопічних грибів (табл. 2) відомі як агенти різноманітних деструктивних процесів, зокрема на будівельних матеріалах (штукатурці, фарбі, цеглі, бетоні тощо). У досліджених пробах нами констатовано наявність грибів, які є найактивнішими потужними деструкторами та входять у набори тест-культур ГОСТ із визначення грибовійкості різноманітних виробів і матеріалів (9.048-89, 9.049-91 та ін.): *Aspergillus niger*, *A. ustus*, *Raecilomyces variotii*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Trichoderma viride* та ін.

Проведені дослідження свідчать, що місця пошкоджень внутрішніх поверхонь стін є одним із головних джерел надходження КУО грибів у повітря приміщень. Коефіцієнт Сьоренсена-Чекановського при порівнянні видового складу мікобіоти повітря та пошкоджених поверхонь становить: $C_{sc}=0,895$.

Таблиця 2

Мікроскопічні гриби, ізолювані з пошкоджених матеріалів і повітря приміщень

Види мікроскопічних грибів		Матеріали стін	Повітря
Відділ Zygomycota			
Порядок Mucorales			
Родина Mucoraceae			
1	◆ <i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	+	+
2	◆ <i>M. plumbeus</i> Bonord.	+	+
Родина Rhizopodaceae			
3	◆ <i>Rhizopus stolonifer</i> var. <i>stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	+	+
4	◆ <i>Rhizopus</i> sp.	+	+
Відділ Ascomycota			
Порядок Sordariales			
Родина Chaetomiaceae			
5	◆ <i>Chaetomium globosum</i> Kunze	+	+
6	<i>Chaetomium</i> sp.	–	+
Порядок Eurotiales			
Родина Trichocomaceae			
7	◆ <i>Eurotium herbariorum</i> (F.H. Wigg.) Link (<i>Aspergillus glaucus</i> (L.) Link)	+	+
Порядок Hypocreales			
Родина Nectriaceae			
8	◆ <i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw. (<i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld.)	+	+
9	◆ <i>Haematonectria haematococca</i> (Berk. et Broome) Samuels et Rossmann (<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.) Anamorphic fungi	+	+
10	◆ <i>Acremonium strictum</i> W. Gams	+	+
11	◆ <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	+	+
12	<i>Aspergillus candidus</i> Link	–	+
13	◆ <i>A. flavus</i> Link	+	+
14	◆ <i>A. niger</i> var. <i>niger</i> Tiegh.	+	+
15	◆ <i>A. ochraceus</i> G. Willh.	+	+
16	<i>A. repens</i> (Corda) Sacc.	+	+
17	◆ <i>A. terreus</i> Thom	+	–
18	◆ <i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church	+	+
19	◆ <i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	+	+
20	◆ <i>Botryotrichum piluliferum</i> Sacc. et Marchal	+	+
21	◆ <i>Chrysonilia sitophila</i> (Mont.) Arx	+	+
22	◆ <i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	+	+
23	◆ <i>C. herbarum</i> (Pers.) Link	+	+
24	◆ <i>C. shaerospermum</i> Penz.	+	+
25	◆ <i>Geotrichum candidum</i> Link	+	+
26	◆ <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	+	+
27	◆ <i>P. variotii</i> Bainier	+	+
28	◆ <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	+	+
29	◆ <i>P. brevicompactum</i> Dierckx	+	–
30	<i>Penicillium</i> spp.	+	+
31	◆ <i>Phoma putaminum</i> Speg.	+	–
32	<i>Phoma</i> sp.	–	+
33	◆ <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Sacc.) Bainier	+	+
34	◆ <i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) S. Hughes	+	+
35	◆ <i>Trichoderma viride</i> Pers.	+	+
36	<i>Tritirachium roseum</i> J.F.H. Beyma	+	–
37	◆ <i>Ulocladium botrytis</i> Preuss	+	+
38	<i>Mycelia. sterilia</i> (dark)	+	–
39	<i>Mycelia sterilia</i> (orange)	–	+
40	<i>Mycelia. sterilia</i> (white)	+	+

Примітка. ◆ – загальновідомі як агенти деструктивних процесів різноманітних виробів і матеріалів.

Усього з ушкоджених поверхонь стін і з повітря ізолювано 37 видів мікроскопічних грибів. У комплексах мікроміцетів обстежених приміщень були наявні представники, які, за даними літератури та відповідних санітарних правил, є визнаними джерелами алергенів, а також умовно-патогенними видами [5, 8, 15, 18, 21, 22, 24]. Існує кілька класифікацій мікроорганізмів за групами біологічного ризику, до яких входять і гриби. В Україні на сьогодні чинними є Державні санітарні правила ДСП 9.9.5.035-99 [8], відповідно до яких гриби *Aspergillus flavus* входять до III групи патогенності, *A. niger*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium aurantiogriseum* та *Rhizopus stolonifer* – до IV групи, яка включає 22 види 13 родів мікроскопічних грибів. У санітарних правилах СП 1.3.2322-08 [21], які прийняті в Росії та максимально наближені до міжнародних нормативних документів, перелік видів грибів III та IV групи патогенності значно розширений. Так, до IV групи віднесено 68 родів мікроскопічних грибів, більшість із яких включає всі види родів *Acremonium*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Ulocladium* та ін. Отже, розвиток мікроскопічних грибів на матеріалах стін становить загрозу здоров'ю мешканців обстеженої будівлі, оскільки загальновідомо, що у вологих приміщеннях, уражених плісневими грибами, люди найчастіше хворіють респіраторними захворюваннями (риніт, фарингіт, синусит), у них зафіксовано часті прояви астми, нейродермітів, ураження слизової оболонки рота і носа [5, 15, 16].

Отримані нами результати підтверджують дані літератури щодо якісного та кількісного складу мікобіоти повітря приміщень із вираженими ознаками біопшкодження поверхонь, а саме: різноманіття видового складу мікроміцетів із домінуванням за частотою трапляння чотирьох родів (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*); наявності серед ізолюваних грибів потенційно небезпечних для здоров'я людини; перевищення порогової концентрації мікроскопічних грибів (понад 500 КУО в 1 м³) у повітрі досліджуваних приміщень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антропова А. Б. Микромицеты как источник аллергенов в жилых помещениях г. Москвы: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.24, 14.00.36. М., 2005. 24 с.
2. Антропова А. Б., Мокеева В. Л., Биланенко Е. Н. и др. Аэромикота жилых помещений г. Москвы // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37. Вып. 6. С. 1–11.
3. Барина К. В., Власов Д. Ю., Щипарев С. М. и др. Органические кислоты микромицетов, изолированных с каменистых субстратов // Микология и фитопатология. 2010. Т. 44. Вып. 2. С. 137–142.
4. Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергиллы. К.: Наук. думка, 1988. 204 с.
5. Богомолова Е. В., Кирицели И. Ю., Миненко Е. А. Потенциально опасные микромицеты жилых помещений // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. Вып. 6. С. 506–512.
6. Васильев О. Д., Гоик В. Г., Светлов Д. А., Васильева А. О. Методология исследования микобиоты помещений // Проблемы мед. микологии. 2002. Т. 4. № 2. С. 66–67.
7. Власов Д. Ю., Зеленская М. С., Софронова Е. В. Микобиота каменистого субстрата в городской среде // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38. Вып. 4. С. 13–22.
8. Державні санітарні правила ДСП 9.9.5.035-99 «Безпека роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності». К., 1999. 92 с.
9. Козлова Я. И. Микогенная аллергия у жителей помещений, пораженных микромицетами: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.24. СПб., 2008, 22 с.
10. Кочемасова З. Н., Ефремова С. А., Рыбакова А. М. Санитарная микробиология и вирусология. М.: Медицина, 1987. С. 134–153.

11. Леонтьев Д. В. Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений. Харьков: ПП «Ранок-НТ», 2008. 110 с.
12. Лихачев А. Н. Колонизация микромицетами техногенных субстратов в зданиях // Успехи мед. микологии. Т. 3. М.: Нац. академия микологии, 2004. С. 93–96.
13. Лугаускас А., Яскелявичюс Б. Микологическое состояние жилых помещений г. Вильнюса // Микол. и фитопатол. 2009. Т. 43. Вып. 3. С. 207–215.
14. Мамонова И. В. Критерии миграционной активности плесневых грибов в помещении // Микол. и фитопатол. 1993. Т. 27. Вып. 1. С. 23–28.
15. Марфенина О. Е., Фомичева Г. М. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции. / Микология сегодня. Т. 1. / под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микологии, 2007. С. 235–266.
16. Митрофанов В. С., Козлова Я. И. Плесени в доме: обзор // Проблемы мед. микологии. 2004. Т. 6. № 2. С. 10–18.
17. Огарков Б. Н., Огаркова Г. Р., Полонская Л. Б., Антонова Л. В. Проблема биоповреждений строительных конструкций и материалов гражданских каменных зданий в г. Иркутске // Эколог. проблемы биодegradации промышл., строит. материалов и отходов производств / под ред. проф. В.Ф. Смирнова. Пенза, 1998. С. 12–16.
18. Озерская С. М., Иванушкина Н. Е., Кочкина Г. А. Патогенные грибы: категоризация биологического риска и разнообразие / В кн.: Успехи мед. микологии / Под ред. Ю. В. Сергеева. М.: Нац. академия микологии, 2007. Т. 1. С. 268–282.
19. Петрова-Никитина А. Д., Мокеева В. Л., Чекунова Л. Н. Акарологическое и микологическое обследование помещений как основа профилактики аллергических заболеваний (задачи и принципы): метод. пособие. М.: Ойкос, 2002. 31 с.
20. Ребрикова Н. Л., Карпович Н. А. Микроорганизмы, повреждающие настенную живопись и строительные материалы // Микология и фитопатология. 1988. Т. 22. Вып. 6. С. 531–537.
21. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций». М.: Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2008. 50 с.
22. Самтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / пер. с англ. К.Л. Тарасова, Ю.Н. Ковалева; под ред. д-ра мед. наук И. Р. Дорожковой. М.: Мир, 2001. 468 с.
23. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi. 9th ed./ P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers – Egham: CABI Bioscience; Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2001. 624 p.
24. Hoog G. S., Guarro J., Gene J., Figueras M. J. Atlas of clinical fungi. 2nd edition, 2000. 1126 p.
25. Piecková E., Jesenská Z. Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans // Ann Agric Environ Med. 1999. Vol. 6. P. 1–11.
26. Samson R. A., Hoekstra E. S., Frisvad J. C. Introduction to food and airborne fungi. Seventh edition. Wageningen, the Netherlands, printed by Ponsen and Looyen, 2004. 389 p.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 08.01.13

прийнята до друку 11.01.13

**MICROSCOPIC FUNGI IN ROOMS OF MANY STOREYED
RESIDENTIAL BUILDING OF KYIV CITY**

T. Kondratyuk, A. Kalinichenko

*«Institute of Biology» «Educational and Scientific Centre»
Taras Shevchenko National University of Kyiv
64, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: takbiofak@ukr.net*

Microscopic fungi of 37 species belonging to 21 genera of two divisions *Zygomycota* and *Ascomycota* as well as *Anamorphic fungi* group are isolated from damaged walls and air samples of rooms of five storey residential building in Kyiv city. Fungi of the genera *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor* and *Rhizopus* were the commonest among members of anamorphic fungi (totally of 28 species of 15 genera) in samples from damaged walls. Micromycetes of the genera *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Penicillium* dominated in the air samples. The places with damaged inner walls found to be the main source of colony forming fungal individual origin in room air. Representatives of the majority of species isolated found to form potential threat for human health.

Keywords: microscopic fungi, apartment, damaging influence.

**МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ПОМЕЩЕНИЯХ
МНОГОЭТАЖНОГО ЖИЛОГО ДОМА Г. КИЕВА**

Т. Кондратюк, А. Калиниченко

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ОНЦ «Институт биологии»
ул. Владимирская, 64, Киев 01601, ГСП-601, Украина
e-mail: takbiofak@ukr.net*

С поврежденных материалов стен и проб воздуха помещений пятиэтажного жилого дома в г. Киеве изолированы микроскопические грибы 37 видов 21 рода отделов *Zygomycota*, *Ascomycota* и группы *Anamorphic fungi*. Среди преобладающих в комплексе представителей *Anamorphic fungi* (28 видов 15 родов) в пробах с поврежденных участков стен наиболее часто встречались грибы родов *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor* и *Rhizopus*. В пробах воздуха доминировали микромицеты родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* и *Penicillium*. С использованием коэффициента Серенсена-Чекановского показано, что основным источником поступления КОЕ грибов в воздух обследованных помещений являются места повреждений внутренних поверхностей стен. Представители большинства изолированных видов являются опасными для здоровья человека.

Ключевые слова: микроскопические грибы, жилые помещения, повреждения.

УТВОРЕННЯ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ ЗА ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

О. Мороз

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

Показано, що сірковідновлювальні бактерії у середовищі Кравцова-Сорокіна з сіркою синтезують у півтора разу менше гідроген сульфід, ніж сульфатвідновлювальні бактерії в аналогічному середовищі зі сульфатами. Сірковідновлювальні бактерії порівняно із сульфатвідновлювальними бактеріями виявилися більш стійкими до високих концентрацій солей важких металів. Найбільш токсичними для сірковідновлювальних бактерій є іони свинцю, нікелю, кобальту і кадмію. Продемонстровано, що підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сіркоредакції в результаті збільшення у середовищі концентрації донора електронів цього процесу, а також густини засіву клітин сприяє підвищенню ефективності зв'язування іонів важких металів гідроген сульфідом, утвореним бактеріями. За наявності у середовищі 2 мМ Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} та Cu^{2+} вони повністю зв'язуються гідроген сульфідом у вигляді нерозчинних сульфідів. Доведено, що сірковідновлювальні бактерії перспективні для використання у біотехнологіях очищення стічних вод, збагачених органічними сполуками, від гідроген сульфідів та важких металів.

Ключові слова: сірковідновлювальні бактерії, дисиміляційна сіркоредакція, гідроген сульфід, важкі метали.

Сірковідновлювальні бактерії, представники роду *Desulfuromonas*, здійснюють дисиміляційне відновлення сульфур, а також сполук, що містять полі- або дисульфідні зв'язки (полісульфід, цистин, окиснений глутатіон) до гідроген сульфід, окиснюючи при цьому органічні субстрати (етанол, ацетат, пропанол, піруват, лактат, пропіонат, вищі жирні кислоти, глутамат) до CO_2 і H_2O [20]. Утворений бактеріями гідроген сульфід пригнічує процеси анаеробного дихання у мікроорганізмів; механізм його дії полягає у пошкодженні метало- та дисульфідвмісних білків [1, 12]. Гідроген сульфід порушує мітохондріальне дихання у еукаріот у зв'язку з деполіаризацією мітохондріальних мембран або інгібуванням цитохромоксидази – ключового ферменту дихального ланцюга [13].

Загочлені кар'єри та стоки промислових підприємств поряд із гідроген сульфідом, сульфатами та іншими агресивними сполуками сульфур містять великі кількості важких металів, радіонуклідів, а також їхніх сполук [6]. Залежно від концентрації важкі метали можуть впливати на мікроорганізми як стимулятори (невисокі концентрації, стимулюють метаболізм у зв'язку з порушенням бар'єрної функції мембрани і збільшенням надходження поживних речовин у клітину), помірні інгібітори або виявляють токсичну дію. Нестача металів у середовищі є причиною порушення функціонування ферментних систем, до складу яких входять металоферменти, тоді як їх надлишок призводить до витіснення або заміщення необхідних іонів з активних центрів ферментів, зв'язування з функціональними групами (наприклад, із гідроксильними, карбоксильними, фосфатними, аміногрупами, сульфгідрильними групами) багатьох важливих клітинних метаболітів, блокування транспортних систем, модифікації активної конформації та денатурації білкових молекул

і нуклеїнових кислот, зміни поверхневого заряду й електрофізіологічних властивостей плазматичної мембрани, руйнування поверхневих структур клітинної стінки, інгібування реплікації ДНК, синтезу РНК, білка, рибофлавіну, вітаміну B₁₂, пригнічення дихання, порушення функції цитоплазми, процесів фотосинтезу й азотфіксації [2, 6].

Зв'язування металів біомасою мікроорганізмів буває активним (воно відоме як біоаккумуляція та залежить від метаболічної активності клітин) і пасивним (воно відоме як сорбція (біосорбція), або комплексація, і відбувається в основному на рівні мембрани клітини) [15]. Крім акумуляції та сорбції, існують інші види взаємодії мікроорганізмів з металами: мобілізація, утворення летких сполук та іммобілізація, наприклад, осадження сполук металів у формі нерозчинних сульфідів [6, 18]. Сульфід металів нетоксичні, можуть бути легко видалені з розчину. Існує досвід промислового використання подібних осадів для виділення металів [10]. Дисиміляційні металовідновлювальні бактерії, до яких належать сірководновлювальні бактерії, можуть ферментативно відновлювати Fe (III), U (VI), Cr (VI), Mn (IV), Tc (VI), Pd (II) та ін. і при цьому переводити їх у менш токсичні малорозчинні форми [17]. Утворення сульфідів металів – це основний шлях, за допомогою якого сірководновлювальні бактерії усувають важкі метали з водного доквілля, тому ці бактерії є перспективними для використання в технологічних схемах очищення стічних вод від гідроген сульфідів і важких металів [18].

Вивчення біогенезу гідроген сульфідів сірководновлювальними бактеріями у техногенних водоймах на території Прикарпатського сірководобувного регіону, забруднених токсичними сполуками сульфуру та важкими металами, важливе для розробки ефективних і рентабельних біологічних шляхів регулювання рівня небезпечних забруднювачів доквілля. Метою роботи було дослідити умови утворення максимальної кількості гідроген сульфідів сірководновлювальними бактеріями, виділеними з води Яворівського озера, і оцінити ефективність їх потенційного використання у біотехнологічних процесах очищення вод, збагачених органічними сполуками, від гідроген сульфідів та важких металів.

Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були сірководновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* Yavor-12, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5, *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6. Штами виділені з води Яворівського озера, ідентифіковані і зберігаються в колекції кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка [5, 9].

Клітини сірководновлювальних бактерій вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна [3] без солі заліза (II) у формі FeCl₂ × 4 H₂O та без сульфатів такого складу (г/л): NaH₂PO₄ × 12 H₂O – 0,84; K₂HPO₄ – 0,5; NH₄Cl – 0,16; MgCl₂ × 6 H₂O – 0,1; C₃H₅O₃Na – 2,0. Суху сірку стерилізували при 0,5 атм, у середовище вносили не менш ніж 0,1 г/л (3,5 мМ). Сульфатвідновлювальні бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без солі Мора такого складу (г/л): Na₂SO₄ × 10 H₂O – 0,5; NaH₂PO₄ × 12 H₂O – 0,84; K₂HPO₄ – 0,5; NH₄Cl – 0,16; MgSO₄ × 7 H₂O – 0,1; C₃H₅O₃Na – 2,0. Перед висівом у середовище вносили 0,05 мл стерильного розчину Na₂S × 9 H₂O (1%), для доведення рН середовища до 7,2 використовували стерильний 10 н розчин NaOH. Бактерії вирощували за анаеробних умов упродовж 10 діб у пробірках, об'ємом 25 мл, доверху заповнених середовищем і щільно закритих гумовими корками, в атмосфері аргону при 30°C.

Для перевірки здатності сірко- і сульфатвідновлювальних бактерій відновлювати елементну сірку та сульфати до гідроген сульфідів клітини вносили в середовище у кількості 10% (об'ємна частка) до початкової концентрації 10⁸ КУО/мл. На 2, 5 та 10-ту доби культивування визначали біомасу. Клітини осаджували при 6000 об/хв впродовж 15 хв, відділяли, а у супернатанті визначали вміст гідроген сульфідів.

Біомасу визначали за мутністю суспензії клітин шляхом її фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 340 нм, у кюветі з оптичним шляхом 3 мм і розраховували за формулою: $C, \text{ г/л} = (E_{340} \times n) / K$, де E – екстинкція при 340 нм; n – фактор розведення; K – коефіцієнт перерахунку, отриманий за калібрувальною кривою залежності екстинкції від маси сухих клітин, визначеної ваговим методом, рівний 0,72 і 0,19 для сірко- та сульфатвідновлювальних сіркобактерій, відповідно.

Концентрацію гідроген сульфід у культуральній рідині, відокремленій від клітин центрифугуванням при 6 тис. об/хв впродовж 15 хв, визначали спектрофотометричним методом, основою якого є реакція взаємодії n -аміно-диметиланіліну (N, N -диметил- n -феніламін дигідрохлориду) та гідроген сульфід утворенням метиленою сині [21].

Для дослідження впливу різних концентрацій лактату на утворення гідроген сульфід сірковідновлювальні бактерії висівали у середовище Кравцова-Сорокіна без сульфатів зі сіркою, у якому вміст лактату натрію було збільшено у чотири (8 г/л), шість (12 г/л), вісім (16 г/л), десять (20 г/л), одинадцять разів (22 г/л) порівняно із його стандартним вмістом у середовищі (2 г/л). Початкова концентрація клітин – 10^8 КУО/мл. На 2, 5, 10-ту доби росту визначали біомасу та вміст гідроген сульфід.

З метою визначення впливу різної кількості клітин при засіві на сіркоредукцію для засіву використовували біомасу густиною 0,5, 1, 2, 3 г/л (контроль: 0,05 г/л). На 2, 5 та 10-ту доби культивування визначали біомасу та вміст гідроген сульфід.

Для визначення мінімальних інгібуючих рід концентрацій солей важких металів сульфат- і сірковідновлювальні бактерії осаджували центрифугуванням (центрифуга ОС-6М) впродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, ресуспендували у стерильному розчині NaCl (0,9%) та за стерильних умов інкубували впродовж 1 год із різними об'ємами стерильних 1 М водних розчинів $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $FeCl_2 \times 4 H_2O$, $CdCl_2 \times H_2O$, $MgCl_2 \times 6 H_2O$, $CuCl_2$ за концентрацій у інкубаційній суміші 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, осаджували центрифугуванням впродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, двічі відмивали стерильним фізіологічним розчином і висівали у пробірки об'ємом 25 мл, доверху заповнювали середовищем зі сульфатами чи сіркою і щільно закривали гумовими корками. Культивували при 30°C за початкової концентрації клітин 10^8 КУО/мл. Після 10 діб росту визначали біомасу.

Для визначення впливу солей важких металів на ріст і рівень утворення гідроген сульфід сірковідновлювальними бактеріями клітини осаджували центрифугуванням впродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, ресуспендували у стерильному розчині NaCl (0,9%), за стерильних умов інкубували впродовж 1 год зі стерильними розчинами $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $FeCl_2 \times 4 H_2O$, $CdCl_2 \times H_2O$, $MgCl_2 \times 6 H_2O$, $CuCl_2$ за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, осаджували центрифугуванням впродовж 20 хв при 6 тис. об/хв, двічі відмивали стерильним розчином NaCl (0,9%) і висівали у середовища стандартного або оптимізованого складу (густина засіву – 0,05 чи 3 г/л), після 10 діб росту визначали біомасу і вміст гідроген сульфід у культуральній рідині. Визначали рівень зв'язування Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} та Cu^{2+} продукованим клітинами сірковідновлювальних бактерій гідроген сульфідом. Для цього бактерії вирощували впродовж 10 діб у середовищах стандартного чи оптимізованого складу зі солями важких металів: $Pb(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $CoCl_2$, $FeCl_2 \times 4 H_2O$, $CdCl_2 \times H_2O$, $MgCl_2 \times 6 H_2O$, $CuCl_2$ за концентрацій 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів концентрацією 0,05 г/л, що становить близько 10^8 КУО/мл, або в окремих експериментах (культивування за оптимізованих умов) – 3 г/л. Після 10-ї доби росту визначали біомасу. Суміш клітин і сульфідів металів осаджували центрифугуванням впродовж 20 хв при 6 тис.

об/хв, у культуральній рідині визначали якісно наявність катіонів металів [4] і кількісно вміст гідроген сульфід, сумарну концентрацію якого розраховували як суму концентрацій вільного гідроген сульфід та зв'язаного у формі металосульфід (MeS). Вміст металосульфідів визначали ваговим методом, для цього суміш клітин і MeS зважували, масу сульфід металу вираховували як різницю між масою суміші та сухих клітин (вирощених після інкубації зі сіллю металу) і компонентів середовища. Відносну концентрацію (%) зв'язаного гідроген сульфідом катіону металу розраховували, виходячи зі співвідношення молярних концентрацій утвореного металосульфід й іона металу, внесеного до середовища на початку культивування бактерій, приймаючи її за 100%.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами з використанням програми "Microsoft Excel 2003". Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стьюдента, достовірною вважалася різниця при рівні значимості $p \leq 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Як і сульфатвідновлювальні бактерії, сірководновлювальні бактерії як продуценти гідроген сульфід є перспективними для застосування у біотехнологіях очищення стічних вод, які містять органічні сполуки у поєднанні з агресивними для довкілля сполуками сульфуру, від важких металів [8]. Однак закономірності дисиміляційної сіркоредакції, а також чутливість сірководновлювальних бактерій до важких металів залишаються маловивченими.

При рості у середовищі Кравцова-Сорокіна сірководновлювальні бактерії *D. acetoxidans* Yavor-12 нагромаджують майже таку ж біомасу, як і сульфатвідновлювальні бактерії *D. desulfuricans* IMB K-6 (2,97 та 3,01 г/л на 10 добу відповідно), але рівень утворення ними гідроген сульфід виявився у півтора разу нижчим, ніж сульфатвідновлювальними бактеріями (рис. 1), що, можливо, пов'язано з особливостями метаболізму *D. acetoxidans* Yavor-12, зокрема, з нижчою розчинністю сірки у середовищі порівняно зі сульфатами. Елементна сірка малорозчинна у воді, тонкодисперсна елементна сірка з водою утворює колоїдний розчин [11, 16]. У водному середовищі сірка також може перебувати у гідрофільній формі, наприклад, у формі політіонатів ($O_3S-S_n-SO_3$) [16] або у вигляді полісульфідів, які утворюються при розчиненні елементної сірки у водному розчині сульфід [11, 16]. Колоїдна або розчинна сірка є субстратом для полісульфідредуктази – ключового ферменту сіркового дихання [11, 19]. Донором електронів процесів сульфат- і сіркоредакції є органічні сполуки, зокрема, лактат натрію, метаболізм якого у досліджуваних бактерій відмінний: неповне окиснення лактату з утворенням ацетату і CO_2 у сульфатвідновлювальних бактерій і повне його окиснення з утворенням CO_2 у сірководновлювальних бактерій, що є причиною утворення різної кількості відновних еквівалентів [7]. Рівень утворення гідроген сульфід під час росту бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна, яке містить однакову кількість сульфат-іонів чи сірки (3,5 мМ), можливо, залежить від окисно-відновного потенціалу акцептора електронів, який вищий у окисно-відновної пари HSO_3^- / HS^- ($E_0' = -0,12$ В) і нижчий у S^0 / HS^- ($E_0' = -0,27$ В) [7]. Використання акцепторів електронів з вищим окисно-відновним потенціалом дає бактеріям змогу здійснювати анаеробне дихання із запасанням більшої кількості енергії у вигляді електрохімічного протонного потенціалу і в результаті реакцій електронтранспортного фосфорилування отримувати вищий вихід АТФ.

Раніше нами з водойми Яворівського сіркового родовища виділено 10 чистих культур сірководновлювальних бактерій, які за морфологічними, культуральними та фізіологічними особливостями віднесено до роду *Desulfuromonas* [9]. Штами *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 виявилися найбільш активними продуцентами гідроген

сульфіду. За 10 діб росту клітини штамів *D. acetoxidans* Yavor-12, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 нагромаджували майже однакову біомасу (2,98; 2,91 та 3,05 г/л відповідно). За цей час клітини штаму *D. acetoxidans* Yavor-12 утворювали 1,65 мМ гідроген сульфід, а штамів *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 – у 1,1 і 1,2 разу більше: до 2,06 мМ (рис. 2).

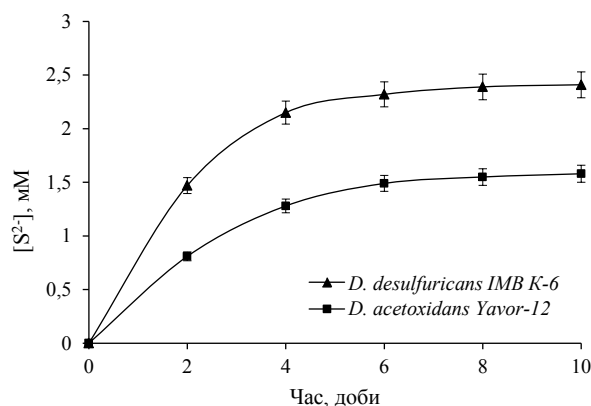


Рис. 1. Утворення гідроген сульфід сульфат- і сірководновловальними бактеріями під час росту в середовищі зі сульфатами або сіркою.

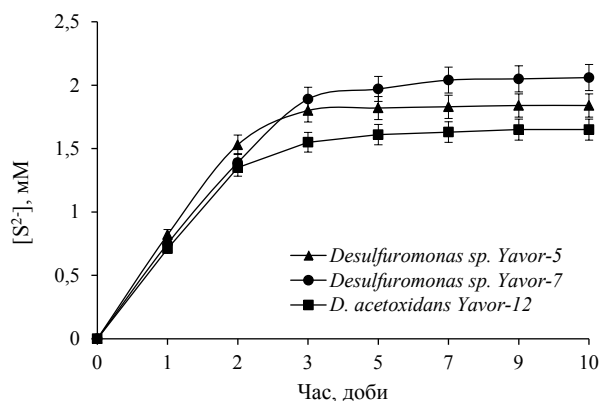


Рис. 2. Утворення гідроген сульфід сірководновловальними бактеріями під час росту в середовищі зі сіркою.

Збільшення вмісту лактату натрію у середовищі – у чотири (8 г/л), шість (12 г/л), вісім (16 г/л), десять (20 г/л), одинадцять разів (22 г/л) порівняно із його стандартним вмістом у середовищі (2 г/л) стимулювало процес сіркоредакції, здійснюваний сірководновловальними бактеріями (рис. 3), однак не пропорційно до зростання вмісту лактату в середовищі. Найбільша кількість гідроген сульфід (2,49 мМ) та біомаса (3,16 г/л) виявлені при культивуванні *D. acetoxidans* Yavor-12 у середовищі, яке містило 12 г/л лактату натрію. Подальше підвищення концентрації лактату натрію до 16, 20 та 22 г/л у середовищі культивування не сприяло збільшенню вмісту гідроген сульфід та росту сірководновловальних бактерій. Хоча збільшення вмісту донора електронів сіркоредакції призводило до підвищення кількості утвореного бактеріями гідроген сульфід, це підвищення було незначним, можливо, у зв'язку з токсичністю гідроген сульфід для бактерій.

При збільшенні кількості клітин при засіві у 10, 20, 40 і 60 разів спостерігали вищий вихід біомаси та вищий рівень утвореного клітинами гідроген сульфіду (рис. 4). Найбільшу кількість гідроген сульфіду (2,63 мМ) виявлено у середовищі, де початкова концентрація клітин становила 3 г/л, що майже у 1,5 разу більше, ніж у контрольному варіанті.

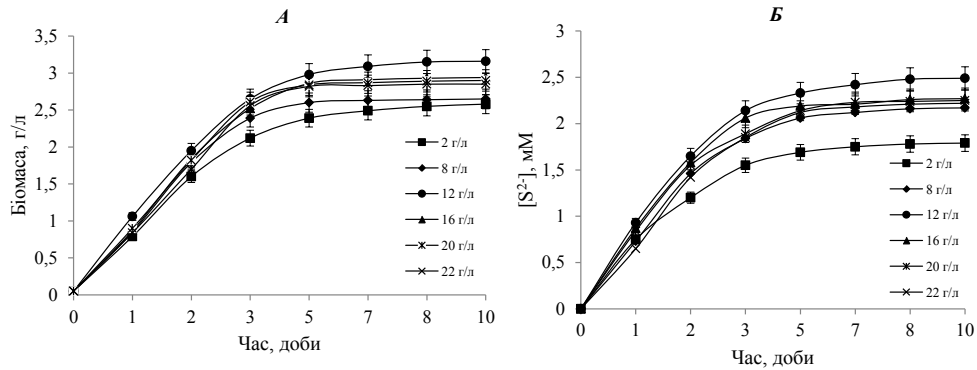


Рис. 3. Біомаса (А) та утворення гідроген сульфіду (Б) *D. acetoxidans* Yavor-12 під час росту в середовищі з різними концентраціями лактату натрію.

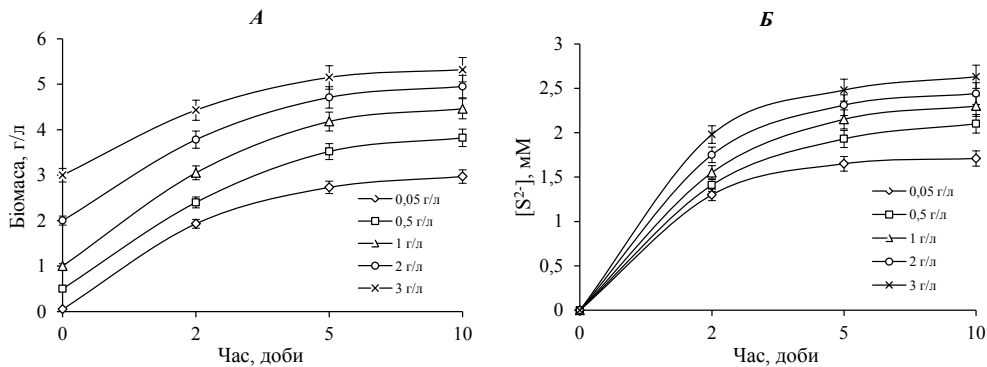


Рис. 4. Біомаса (А) та утворення гідроген сульфіду (Б) *D. acetoxidans* Yavor-12 під час росту в середовищі з різною кількістю клітин при засіві.

За оптимізованих умов культивування (середовище зі збільшеним у шість разів вмістом лактату натрію, густина засіву – 3 г/л) спостерігали підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сіркоредакції у сірквідновлювальних бактерій (рис. 5). Найвищу біомасу (5,55 г/л) і найбільшу кількість гідроген сульфіду (3,25 мМ) порівняно з іншими досліджуваними штамми нагромаджували клітини *Desulfuromonas* sp. Yavor-7.

Токсичність іонів важких металів та гідроген сульфіду за високих концентрацій є значною перешкодою використання бактерій циклу сульфуру в очисних технологіях. Найчастіше достатньо п'яти хвилин для повного поглинання металів бактеріями, проте цей час може коливатися від кількох секунд до години після контакту з токсикантом [6, 15, 18]. Тому для вивчення впливу солей важких металів на ріст і рівень утворення гідроген сульфіду сульфат- і сірквідновлювальними бактеріями клітини інкубували впродовж 1 години зі солями важких металів за стерильних умов і культивували впродовж 10 діб у середовищі зі сульфат-іонами чи сіркою без іонів металів, щоб уникнути утворення у культуральній рідині їх нерозчинних сульфідів.

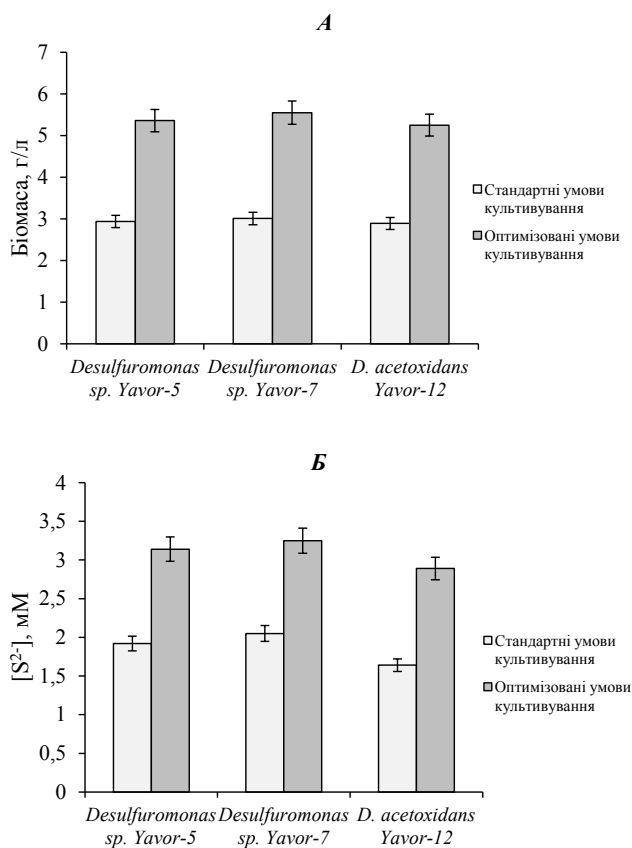


Рис. 5. Біомаса (А) та утворення гідроген сульфідів (Б) сірковідновлювальними бактеріями після 10 діб росту за стандартних і оптимізованих умов культивування.

Соли важких металів за концентрацій 0,5–1,5 мМ не здійснювали значного негативного впливу на нагромадження біомаси *D. desulfuricans* ІМВ К-6 та *D. acetoxidans* Yavor-12. Встановлено мінімальні інгібуючі ріст концентрації солей важких металів для сульфатвідновлювальних і сірковідновлювальних бактерій: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (2 і 3 мМ), ZnCl_2 (3 і 4 мМ), NiCl_2 (2 і 3 мМ), CoCl_2 (2 і 3 мМ), $\text{FeCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ (3 і 3 мМ), $\text{CdCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ (2 і 3 мМ), $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ (3 і 3 мМ), CuCl_2 (3 і 4 мМ) (табл. 1). Як видно з отриманих результатів, штам *D. acetoxidans* Yavor-12 виявився більш стійким до високих концентрацій солей важких металів, ніж *D. desulfuricans* ІМВ К-6, що демонструє перевагу сірковідновлювальних бактерій порівняно зі сульфатвідновлювальними бактеріями у разі їх потенційного застосування у біотехнологіях очищення стічних вод від важких металів.

Взаємодія гідроген сульфідів з іонами важких металів, результатом якої є утворення нерозчинних сульфідів металів, є основним способом усунення їх із середовища. Для вивчення рівня зв'язування іонів важких металів гідроген сульфідом, продукованим клітинами штаму *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, бактерії вирощували в середовищі стандартного складу у присутності солей важких металів за концентрацій 0,5–4 мМ. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів, початкова концентрація клітин у середовищі становила 0,05 г/л. За впливу іонів усіх досліджуваних металів за концентрацій 2–4 мМ ріст бактерій

та утворення ними гідроген сульфідом значно пригнічувалися (табл. 2). Найбільш токсичними для сірководновловальних бактерій виявилися іони плюмбуму, нікелю, кобальту й кадмію. За наявності у середовищі 0,5–1,5 мМ іонів металів ефективність їхнього зв'язування гідроген сульфідом сягала 100%. Рівень зв'язування іонів металів, внесених на початку культивування за концентрації 2 мМ, утвореним бактеріями гідроген сульфідом не перевищував 82,5%, оскільки його кількості виявилось недостатньою для повної взаємодії з іонами металів.

Таблиця 1

Вплив солей важких металів на нагромадження біомаси сульфат- і сірководновловальними бактеріями після 10 діб росту в середовищі зі сульфатами або сіркою (г/л)

Штам	Концентрація солі, мМ	Pb(NO ₃) ₂	ZnCl ₂	NiCl ₂	CoCl ₂	FeCl ₂ x 4 H ₂ O	CdCl ₂ x H ₂ O	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	CuCl ₂
<i>D. desulfuricans</i> ІМВ К-6	0	3,18±0,13	3,20±0,09	3,11±0,04	3,22±0,14	3,20±0,11	3,17±0,13	3,25±0,11	3,27±0,07
	2	1,34±0,11*	1,84±0,09	1,54±0,10*	1,41±0,04*	1,80±0,07	1,51±0,08*	1,83±0,06	1,86±0,02
	2,5	0,96±0,07*	1,69±0,15	1,42±0,04*	1,05±0,09*	1,60±0,11	1,14±0,12*	1,77±0,19	1,78±0,14
	3	0,86±0,09*	1,36±0,18*	1,28±0,09*	0,93±0,14*	1,31±0,08*	0,92±0,07*	1,21±0,12*	1,35±0,18*
	4	0,78±0,08*	1,16±0,05*	0,94±0,11*	0,84±0,08*	1,08±0,06*	0,85±0,12*	1,13±0,16*	1,18±0,09*
<i>D. acetoxidans</i> Yavor-12	0	3,04±0,04	2,95±0,07	3,08±0,11	2,98±0,06	3,04±0,12	3,08±0,15	2,99±0,13	3,07±0,04
	2	2,51±0,08	2,61±0,07	2,50±0,09	2,59±0,07	2,59±0,07	2,55±0,09	2,55±0,13	2,64±0,11
	2,5	2,28±0,07	2,38±0,10	2,25±0,08	2,34±0,08	2,31±0,08	2,32±0,07	2,44±0,17	2,33±0,17
	3	0,89±0,09*	1,94±0,04	0,98±0,05*	0,99±0,18*	1,52±0,16*	0,96±0,09*	1,25±0,11*	1,72±0,08
	4	0,84±0,04*	1,21±0,09*	0,91±0,04*	0,89±0,16*	1,14±0,07*	0,93±0,08*	1,14±0,08*	1,37±0,15*

Примітка. * – p≤0,05.

За умов культивування клітин штаму *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 у середовищі зі збільшеним у шість разів вмістом донора електронів сіркоредукції – лактату натрію, при густині засіву 3 г/л бактерії утворювали в 1,6 разу більше гідроген сульфідом, ніж за стандартних умов культивування (див. рис. 5). Припускали, що підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сіркоредукції у бактерій дасть змогу вилучити зі середовища більшу кількість іонів важких металів, осаджених у формі сульфідів. Бактерії вирощували у середовищі оптимізованого складу у присутності солей важких металів за концентрацій 2–3 мМ. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів концентрацією 3 г/л. За наявності у середовищі 2 мМ іонів важких металів ефективність їхнього зв'язування гідроген сульфідом виявилася рівною 100% (табл. 3). За концентрації іонів металів 2,5 мМ рівень зв'язування металів утвореним бактеріями гідроген сульфідом сягав 80,8–90,0%.

Таким чином, доведено, що підвищення інтенсивності процесу дисиміляційної сіркоредукції в результаті збільшення у середовищі концентрації донора електронів процесу, а також густини засіву клітин сприяє підвищенню ефективності зв'язування іонів важких металів утвореним бактеріями гідроген сульфідом. За наявності у середовищі 2 мМ Pb²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Fe²⁺, Cd²⁺, Mg²⁺ та Cu²⁺ вони повністю зв'язуються утвореним сірководновловальними бактеріями гідроген сульфідом у вигляді нерозчинних сульфідів. Сірководновловальні бактерії перспективні для використання у технологіях, спрямованих на біоремедіацію забруднених органічними сполуками та важкими металами водних ресурсів.

Таблиця 2

Утворення гідроген сульфідів і сульфідів металів *Desulfurohalobium* sp. Уагов-7 після 10 діб
росту в середовищі зі солями важких металів за стандартних умов культивування

Соли металів	Вміст солі, мм	[S ²⁻], мм	Біомаса, г/л	[MeS], мм	Рівень зв'язування металу, %	Якісний аналіз наявності катіонів	Соли металів	Вміст солі, мм	[S ²⁻], мм	Біомаса, г/л	[MeS], мм	Рівень зв'язування металу, %	Якісний аналіз наявності катіонів
Pb(NO ₃) ₂	0	2,02±0,05	2,95±0,03	—	—	—	—	0	2,06±0,03	3,14±0,05	—	—	—
	2	1,39±0,05	2,45±0,07	1,37±0,01	68,5±0,1	+	—	2	1,56±0,03	2,64±0,08	1,54±0,03	77,0±0,2	+
	3	0,85±0,02*	1,37±0,02*	0,84±0,01	53,2±0,4	+	FeCl ₂ x 4 H ₂ O	2,5	1,38±0,07	2,42±0,03	1,37±0,09	54,8±0,2	+
	4	0,81±0,03*	0,82±0,03*	0,80±0,01	28,0±0,2	+	—	4	0,95±0,02*	1,54±0,05*	0,93±0,05	31,0±0,5	+
ZnCl ₂	0	2,05±0,08	3,04±0,01	—	—	—	—	0	2,06±0,06	2,97±0,16	—	—	—
	2	1,67±0,04	2,65±0,03	1,65±0,07	82,5±0,5	+	—	2	1,42±0,07	2,65±0,07	1,42±0,01	71,0±0,3	+
	3	1,17±0,04	1,88±0,06	1,15±0,06	38,3±0,3	+	CdCl ₂ x H ₂ O	2,5	1,32±0,09	2,31±0,06	1,31±0,03	52,4±0,2	+
	4	0,98±0,07*	1,09±0,05*	0,97±0,07	24,3±0,1	+	—	3	0,92±0,01*	1,26±0,07*	0,90±0,06	30,0±0,4	+
NiCl ₂	0	2,03±0,07	2,99±0,01	—	—	—	—	0	2,10±0,07	2,75±0,03	—	—	—
	2	1,42±0,05	2,53±0,04	1,41±0,06	70,5±0,6	+	—	2	1,59±0,07	2,35±0,03	1,57±0,05	78,5±0,4	+
	3	0,95±0,08*	1,35±0,07*	0,93±0,07	31,0±0,3	+	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	2,5	1,46±0,06	2,23±0,07	1,46±0,06	58,4±0,3	+
	4	0,86±0,07*	0,89±0,09*	0,85±0,01	21,3±0,5	+	—	3	0,98±0,06*	1,35±0,06*	0,97±0,04	32,3±0,5	+
CoCl ₂	0	2,08±0,07	2,82±0,01	—	—	—	—	0	2,09±0,01	2,85±0,09	—	—	—
	2	1,41±0,06	2,51±0,03	1,40±0,08	70,0±0,3	+	—	2	1,65±0,06	2,45±0,15	1,64±0,06	82,0±0,2	+
	3	0,96±0,07*	1,29±0,14*	0,94±0,03	31,3±0,5	+	CuCl ₂	2,5	1,55±0,09	2,22±0,18	1,54±0,06	61,6±0,7	+
	4	0,89±0,07*	0,83±0,12*	0,89±0,05	22,3±0,7	+	—	3	1,24±0,07*	1,30±0,02*	1,24±0,02	41,3±0,2	+
								4	0,98±0,04*	0,97±0,06*	0,97±0,05	24,3±0,8	+

Примітки. * – p≤0,05; “+” – наявність іона металу; “-” – відсутність іона металу.

Таблиця 3

Утворення гідроген сульфідів і сульфідів металів *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 після 10 діб росту в середовищі зі солями важких металів за оптимізованих умов культивування

Соли металів	Вміст солі, мМ	[S ²⁻], мМ	Біомаса, г/л	[MeS], мМ	Рівень зв'язування металу, %	Якісний аналіз наявності катіонів
Контроль	0	3,16±0,02	5,32±0,04	—	—	—
Pb(NO ₃) ₂	2	2,18±0,05	4,43±0,06	2,00±0,02	100,0±0,5	—
	2,5	2,11±0,06	4,06±0,06	2,09±0,08	83,6±0,4	+
	3	1,32±0,06*	2,47±0,06*	1,31±0,03	43,7±0,6	+
ZnCl ₂	2	2,27±0,05	4,64±0,03	2,00±0,04	100,0±0,3	—
	2,5	2,25±0,02	4,14±0,04	2,24±0,05	89,6±0,06	+
	3	1,62±0,02	2,82±0,02	1,61±0,02	53,7±0,01	+
NiCl ₂	2	2,24±0,03	4,45±0,03	2,00±0,05	100,0±0,1	—
	2,5	2,09±0,02	4,09±0,05	2,08±0,09	83,2±0,3	+
	3	1,47±0,06*	2,42±0,04*	1,45±0,03	48,3±0,9	+
CoCl ₂	2	2,10±0,07	4,34±0,05	2,00±0,09	100,0±0,3	—
	2,5	2,03±0,05	4,23±0,03	2,02±0,07	80,8±0,8	+
	3	1,49±0,05*	2,52±0,02*	1,48±0,06	49,3±0,2	+
FeCl ₂ x 4 H ₂ O	2	2,36±0,04	4,43±0,02	2,00±0,09	100,0±0,2	—
	2,5	2,11±0,04	4,23±0,04	2,10±0,03	84,0±0,4	+
	3	1,56±0,09*	2,55±0,06*	1,55±0,04	51,7±0,5	+
CdCl ₂ x H ₂ O	2	2,16±0,05	4,38±0,05	2,00±0,03	100,0±0,7	—
	2,5	2,05±0,03	4,05±0,04	2,03±0,07	81,2±0,4	+
	3	1,41±0,07*	2,18±0,03*	1,40±0,02	46,7±0,5	+
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	2	2,45±0,04	4,64±0,05	2,00±0,07	100,0±0,5	—
	2,5	2,19±0,05	4,43±0,08	2,17±0,04	86,8±0,5	+
	3	1,57±0,08*	2,55±0,06*	1,55±0,04	51,7±0,8	+
CuCl ₂	2	2,28±0,05	4,66±0,04	2,00±0,08	100,0±0,3	—
	2,5	2,27±0,04	4,21±0,05	2,25±0,09	90,0±0,2	+
	3	1,58±0,09*	2,65±0,08*	1,57±0,03	52,3±0,1	+

Примітки. * – $p \leq 0,05$; “+” – наявність іона металу; “—” – відсутність іона металу.

Окрім ферментативного відновлення ряду важких металів зі змінною валентністю [14], ці бактерії у процесі відновлення елементної сірки утворюють гідроген сульфід, який осаджує широкий спектр важких металів до нерозчинних сульфідів, вилучаючи їх таким чином з природного кругообігу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Галушка А. А., Гудзь С. П. Структурно-функціональні зміни в клітинах мікроорганізмів при дії гідроген сульфідів // Біологічні студії. 2009. Т. 3. № 2. С. 141–148.
2. Бухтіяров А. Є. Резистентність гетеротрофних морських бактерій Одеського прибережжя до важких металів: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Севастополь, 2006. 19 с.
3. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М.: Наука, 1972. С. 190–221.
4. Крешков А. П. Основы аналитической химии. М.: Госхимиздат, 1961. Кн. 1. 636 с.
5. Перетятко Т. Б., Гнатуш С. О., Гудзь С. П. Сульфатвідновлювальні бактерії водойм Яворівського сіркового родовища // Мікробіол. журн. 2006. Т. 68. № 5. С. 87–93.
6. Перетятко Т., Гудзь С., Галушка А. Використання металів як кінцевих акцепторів електронів сульфатвідновлювальними бактеріями // Біологічні студії. 2009. Т. 3. № 3. С. 141–158.

7. Современная микробиология. Прокариоты / под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005. Т. 1. 654 с.
8. Франк Ю. А., Лушников С. В. Биотехнологический потенциал сульфатредуцирующих бактерий // Экология и промышленность. 2006. Т. 1 С. 10–13.
9. Юринець Х. Є., Мороз О. М., Кулачковський О. Р., Звір Г. І. Морфологія і фізіологія сірководновловальних бактерій озера Яворівське // VIII Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів “Молодь і поступ біології”. Львів. 2012. С. 267–268.
10. Hao O. J. Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate-reducing bacteria // Environmental technologies to treat sulfur pollution. Principles and engineering / P. N. L. Lens, P. L. Hulshoff eds. London: IWA publishing, 2000. P. 393–414.
11. Hedderich R., Klimmek O., Kroger A. et al. Anaerobic respiration with elemental sulfur and with disulfides // FEMS Microbiol. Reviews. 1999. Vol. 22. P. 353–381.
12. Hydrogen sulfide: human health aspects [Electronic resource]. World health organization. Geneva. 2003. Available from: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad53.htm>.
13. Julian D., April K. L., Patel S. et al. Mitochondrial depolarization following hydrogen sulfide exposure in erythrocytes from a sulfide-tolerant marine invertebrate // J. Experim. Biol. 2005. Vol. 208. N 21. P. 4109–4122.
14. Lovley D. R. Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction // Microbiol. Rev. 1991. Vol. 55. P. 259–287.
15. McEldowney S. Microbial biosorption of radionuclides in liquid effluent treatment // Appl. Biochem. and Biotechnol. 1990. Vol. 5. P. 159–179.
16. Schauder R., Müller E. Polysulfide as a possible substrate for sulfur-reducing bacteria // Arch. Microbiol. 1993. Vol. 160. P. 377–382.
17. Tebo B. M., Obratsova A. Y. Sulfate-reducing bacterium grows with Cr (VI), U (VI), Mn (IV), and Fe (III) as electron acceptors // FEMS Microbiology Letters. 1998. Vol. 162. P. 193–198.
18. White C., Sayer J. A., Gadd G. M. Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: key biogeochemical processes for treatment of contamination // FEMS Microbiol. Ecol. 2000. Vol. 33. P. 197–208.
19. Widdel F., Hansen T. The dissimilatory sulfate- and sulfur-reducing bacteria // **The prokaryotes** / A. Balows ed. N.Y.: Springer-Verlag, 1992. P. 583–624.
20. Widdel F., Pfennig N. The genus *Desulfuromonas* and other gram-negative sulfur-reducing eubacteria // **The prokaryotes** / A. Balows, H. Truper, M. Dworkin et al. eds. N.Y.: Springer-Verlag, 1992. Vol. 4. P. 3379–3389.
21. Pat. 6340596 B1 USA, Int. U.G 01 N 33 / 00. Reagent composition for measuring hydrogen sulfide and method for measuring hydrogen / M. Sugiyama. Assignee Fujirebio Inc. № 09/248,316. Fil. 02.11.1999. Date of pat. 22.01.2002.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.12

доопрацьована 12.02.13

прийнята до друку 13.02.13

HYDROGEN SULFIDE PRODUCTION BY SULFUR REDUCING BACTERIA UNDER INFLUENCE OF HARD METALS**O. Moroz**

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

Sulfur reducing bacteria in Kravtsov-Sorokin medium with sulfur synthesized hydrogen sulfide at 1.5 fold less than sulfate reducing bacteria in analogous medium with sulfates it was shown. Sulfur reducing bacteria when compared with sulfate reducing bacteria appeared more resistance to high concentrations of hard metals salts. Most toxic to sulfur reducing bacteria are plumbum, nickel, cobalt and cadmium ions. Increasing of dissimilatory sulfur reduction intensity as result of rising of process donor electrons concentration in medium and also cells density during sowing contribute to increasing of binding efficiency of hard metals ions by produced by bacteria hydrogen sulfide was shown. At presence in medium 2 mM Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} and Cu^{2+} it bind completely by hydrogen sulfide in form of no soluble sulfides. It was proved, that sulfur reducing bacteria are perspective to using in biotechnologies of purification of wastewaters with organic compounds from hydrogen sulfide and hard metals.

Keywords: sulfur reducing bacteria, dissimilatory sulfur reduction, hydrogen sulfide, hard metals.

ОБРАЗОВАНИЕ ГИДРОГЕН СУЛЬФИДА СЕРОВОССТАНАВЛИВАЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕЙ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ**O. Мороз**

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

Показано, что серовосстанавливающие бактерии в среде Кравцова-Сорокина с серой синтезируют в полтора раза меньше гидроген сульфида, чем сульфатвосстанавливающие бактерии в аналогичной среде с сульфатами. Серовосстанавливающие бактерии по сравнению с сульфатвосстанавливающими бактериями оказались более устойчивыми к высоким концентрациям солей тяжёлых металлов. Наиболее токсичными для серовосстанавливающих бактерий оказались ионы плумбума, никеля, кобальта и кадмия. Показано, что повышение интенсивности процесса диссимиляционной сероредукции в результате увеличения в среде концентрации донора электронов этого процесса, а также густоты посева клеток увеличивает эффективность связывания ионов тяжёлых металлов гидроген сульфидом, образованным бактериями. При наличии в среде 2 мМ Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} и Cu^{2+} они полностью связываются гидроген сульфидом в форме нерастворимых сульфидов. Доказано, что серовосстанавливающие бактерии перспективны для использования в биотехнологиях очистки сточных вод, содержащих органические соединения, от гидроген сульфида и тяжёлых металлов.

Ключевые слова: серовосстанавливающие бактерии, диссимиляционная сероредукция, гидроген сульфид, тяжёлые металлы.

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

УДК 546.76:636.4

**ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО, БІЛКОВОГО ТА ВУГЛЕВОДНОГО
ОБМІНІВ У ОРГАНІЗМІ СВИНОМАТОК І ПОРОСЯТ ЗА УМОВ
ЗГОДОВУВАННЯ ХРОМ ХЛОРИДУ**

Р. Іскра

*Інститут біології тварин НААН
вул. В.Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: iskra_r@ukr.net*

У проведених дослідженнях встановлено, що за умови згодовування свиноматкам хром хлориду в кількості 300 мкг Сг/кг корму, в сироватці їхньої крові за 5 днів до опоросу знизився вміст холестеролу, на 20-ту добу після опоросу – тригліцеролів, а на 3-тю добу після відлучення поросят – підвищився вміст білка та зросла активність аланінамінотрансферази. В еритроцитах свиноматок на 5-ту добу після опоросу зростала активність гексокінази і лактатдегідрогенази, а в лейкоцитах – лише гексокінази. В еритроцитах 5-добових поросят дослідної групи, які споживали хром із молоком свиноматки, зростала активність гексокінази, лактатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, 20-добових – гексокінази і лактатдегідрогенази. У сироватці крові поросят дослідної групи на 20-ту добу життя знизився вміст тригліцеролів, а на 5-ту і 33-тю доби – збільшився вміст білка та зросла активність аланінамінотрансферази.

Ключові слова: хром хлорид, свині, ліпідний обмін, білковий обмін, вуглеводний обмін.

Хром (Cr^{3+}) – один із маловивчених мінеральних елементів, проте відіграє важливу роль у процесах життєдіяльності людей і тварин, нормальному функціонуванні вуглеводного, ліпідного та білкового обміну [9]. Відомо, що хром у складі хромодуліну активує дію інсуліну шляхом сприяння зв'язуванню гормону з рецепторами на поверхні клітини [11]. Достатній вміст Сг в організмі підтримує нормальний рівень глюкози та інсуліну в крові. Численні дослідження на людях [3], щурах [6], конях [8] і свинях [12] підтвердили можливість впливу добавок Сг на регуляцію толерантності до глюкози і резистентності до інсуліну. Крім цього, відомо, що Сг активує ензими, стабілізує білки та нуклеїнові кислоти, підвищує імунітет і стимулює кровотворення [11]. Було виявлено, що при додаванні Сг до раціону щурів збільшується вміст амінокислот у тканинах, а також посилюється їх включення в білки міокарда [10]. Дослідженнями також виявлено зниження рівня загального холестеролу, LDL-холестеролу і тригліцеролів у крові людей після додавання до їх раціону сполук хрому [7]. Однак відповідь організму на дію хрому залежить від його кількості, сполуки, в якій він міститься, та способу задавання. Мало вивченою є фізіолого-біохімічна реакція організму новонароджених нащадків за умови додавання до раціону сполук хрому їх матерям. Тому метою досліджень було з'ясувати вплив хром хлориду, який згодовували з комбікормами свиноматкам на деякі показники ліпідного, білкового і вуглеводного обміну в їхньому організмі й організмі новонароджених поросят.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на свиноматках великої білої породи та їх новонароджених поросят. Було сформовано дві групи тварин – контрольна і дослідна, по три свиноматки

у кожній. За два тижні до опоросу дослідній групі свиноматок, на відміну від контрольної, почали згодовувати комбікорм з додаванням хром хлориду в кількості 300 мкг Cr/kg комбікорму протягом 45 діб. Матеріалом для дослідження була кров, відібрана від свиноматок за 15 і 5 діб до опоросу та на 5-ту і 20-ту доби після опоросу. Крім цього, було взято кров від п'яти поросят з кожної групи у 5- і 20-добовому віці та на третю добу після їх відлучення (33 доба життя). У сироватці крові досліджували вміст холестеролу, тригліцеролів, білка, глюкози й активність аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), у лізаатах еритроцитів, лімфоцитів і нейтрофільних гранулоцитів – активність гексокінази (ГК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) за загальноприйнятими методиками [1]. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL із використанням t-критерію Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що за дії хром хлориду в крові свиноматок дослідної групи за 5 діб до опоросу знижувався вміст холестеролу на 33,5% ($P<0,05$) та на 20-ту добу після опоросу – тригліцеролів на 54,2% ($P<0,01$) (табл. 1). У поросят, які народжені від свиноматок дослідної групи й отримували хром із молоком, на 20-ту добу життя вміст тригліцеролів також знизився на 32,4% ($P<0,05$).

Таблиця 1

Вміст холестеролу і тригліцеролів у крові свиноматок і поросят за дії хром хлориду

Період досліджень	Група	Свиноматки, n=3		Поросята, n=5	
		холестерол	тригліцероли	холестерол	тригліцероли
15 діб до опоросу	К	1,67±0,16	1,16±0,09	–	–
	Д	1,79±0,08	0,99±0,08	–	–
5 діб до опоросу	К	2,03±0,21	0,48±0,06	–	–
	Д	1,35±0,12*	0,55±0,09	–	–
5 діб після опоросу (5 доба життя)	К	1,99±0,09	0,31±0,04	1,71±0,23	0,62±0,11
	Д	1,93±0,16	0,37±0,03	2,02±0,17	0,45±0,06
20 діб після опоросу (20 доба життя)	К	2,63±0,14	0,72±0,08	2,07±0,05	0,68±0,08
	Д	2,06±0,38	0,33±0,02**	2,24±0,08	0,46±0,05*
3 доби після відлучення (33 доба життя)	К	1,43±0,20	0,25±0,04	2,48±0,07	0,70±0,08
	Д	1,53±0,11	0,22±0,02	2,45±0,11	0,65±0,06

Примітка. У цій і наступних таблицях вірогідні різниці показників дослідної групи порівняно з контролем: * – $P<0,05$, ** – $P<0,01$, *** – $P<0,001$.

Отримані дані підтверджують дослідження інших авторів, які встановили, що при годівлі кроликів Cr-дефіцитною дієтою у крові зростали рівні холестеролу і тригліцеролів, однак добавки Cr до раціону призводили до зниження їх рівня [2].

Дослідженнями виявлено збільшення рівня білка у крові тварин за дії хрому, про що свідчать отримані результати підвищення його вмісту у крові свиноматок дослідної групи на 3-тню добу після відлучення поросят (на 37,7%, $P<0,05$) і у крові поросят на 5- (на 24,4%, $P<0,01$) і 33-тню (на 27,0%, $P<0,05$) доби життя (табл. 2). Очевидно, вплив Cr на білоксинтезуючу функцію опосередкований анаболічною дією інсуліну. Дослідженнями інших авторів було виявлено збільшення амінокислот і глюкози в клітинах скелетних м'язів щурів, які інкубували з хром піколінатом [5].

За дії хром хлориду виявлено зростання активності АлАТ у крові свиноматок на 3-тню добу після відлучення (на 132,6%, $P<0,01$) та у крові поросят на 5-ту (на 28,0%, $P<0,01$) і 33-тню (на 16,3%, $P<0,05$) доби життя (табл. 2). Слід відзначити подібну вікову залежність синтезу білка й активності АлАТ у крові дослідних тварин, що свідчить про інтенсифікацію білкового обміну за впливу хром хлориду як у свиноматок, так і у поросят. Оскільки

зростання активності аланінамінотрансферази не виходить за фізіологічні норми, тому це не розглядається як патологічний процес, а як активізація підвищеного переамінування аланіну з утворенням нових амінокислот, які використовуються як субстрати для метаболічних процесів, зокрема біосинтезу білка з акумуляцією енергії у вигляді АТФ. Ці зміни у крові тварин дослідної групи визначають вищий рівень анаболічних процесів, які забезпечують формування вищої продуктивності тварин. Проте слід відзначити, що активність АсАТ вірогідно не змінювалася у крові свиноматок і поросят дослідної групи стосовно контрольної.

Таблиця 2

Показники білкового обміну у сироватці крові свиноматок і поросят за дії хром хлориду

Період досліджень	Група	Свиноматки, n=3			Поросята, n=5		
		Білок, мг/мл	АлАТ, мкмоль ⁻¹ год. мл	АсАТ, мкмоль ⁻¹ год. мл	Білок, мг/мл	АлАТ, мкмоль ⁻¹ год. мл	АсАТ, мкмоль ⁻¹ год. мл
15 дів до опоросу	К	66,46±2,05	0,32±0,07	0,17±0,07	—	—	—
	Д	62,21±3,18	0,39±0,05	0,17±0,03	—	—	—
5 дів до опоросу	К	63,70±3,88	0,52±0,07	0,18±0,02	—	—	—
	Д	70,80±4,57	0,52±0,09	0,11±0,05	—	—	—
5 дів після опоро- росу (5 доба життя)	К	61,27±4,22	0,58±0,06	0,24±0,01	47,52±2,16	0,75±0,05	0,31±0,04
	Д	59,45±4,93	0,55±0,06	0,35±0,05	59,13±2,67**	0,96±0,03**	0,21±0,04
20 дів після опоросу (20 доба життя)	К	71,84±8,81	0,63±0,07	0,28±0,04	59,56±1,80	0,73±0,06	0,30±0,06
	Д	75,62±2,79	0,56±0,04	0,20±0,03	62,03±4,16	0,76±0,04	0,32±0,07
3 доби після відлучення (33 доба життя)	К	61,29±4,68	0,46±0,02	0,11±0,02	57,63±3,38	0,86±0,03	0,32±0,03
	Д	84,40±5,14*	1,07±0,10**	0,16±0,03	73,20±3,89*	1,00±0,05*	0,33±0,03

Відомо, що основна функціональна ознака хрому – підсилювати ефекти інсуліну щодо перетворення глюкози. Однак у дослідженнях не виявлено вірогідних змін вмісту глюкози в крові свиноматок дослідної групи стосовно контрольної (табл. 3). Глюкоза, яка надходить в еритроцити, окиснюється в анаеробному гліколізі та пентозофосфатному шляху. Так, в еритроцитах свиноматок на 5-ту добу після опоросу за дії хром хлориду виявлено зростання активності ГК на 80,0% (P<0,05) та ЛДГ на 70,4% (P<0,01). У той же час активність Г-6-ФДГ у гемолізатах свиноматок дослідної групи вірогідно не змінювалася. Таким чином, отримані результати свідчать про активацію анаеробного гліколізу за дії хрому в гемолізатах свиноматок на 5-ту добу після опоросу.

Таблиця 3

Показники вуглеводного обміну в крові свиноматок за дії хром хлориду (M±m, n=3)

Період досліджень	Група	Показники			
		Глюкоза, ммоль/л	ГК, мкмоль НАДФН / хв • мг білка	ЛДГ, мкмоль НАДФ ⁺ /хв • мг білка	Г-6-ФДГ, мкмоль НАДФН /хв • мг білка
15 дів до опоросу	К	5,45±0,24	0,07±0,02	0,78±0,07	1,85±0,02
	Д	5,70±0,12	0,05±0,02	0,74±0,06	1,74±0,10
5 дів до опоросу	К	5,10±0,57	0,06±0,01	0,72±0,08	1,53±0,11
	Д	4,30±0,51	0,06±0,01	0,97±0,09	1,62±0,15
5 дів після опоросу	К	3,51±0,55	0,05±0,01	0,71±0,05	2,40±0,17
	Д	3,61±0,73	0,09±0,01*	1,21±0,09**	2,76±0,13
20 дів після опоросу	К	4,30±0,42	0,06±0,01	2,47±0,42	1,05±0,36
	Д	4,55±0,75	0,07±0,01	2,71±0,25	1,01±0,04
3 доби після відлучення	К	5,40±0,39	0,06±0,01	3,19±0,38	1,16±0,35
	Д	4,90±0,41	0,07±0,01	3,26±0,45	1,10±0,25

У лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах свиноматок дослідної групи (табл. 4) гексокіназна активність підвищувалася за 5 днів до опоросу, відповідно на 50,0% ($P<0,05$) і 66,7% ($P<0,01$), на 5-ту добу після опоросу – в нейтрофільних гранулоцитах на 50,0% ($P<0,05$), а на 3-тю добу після відлучення поросят – у лімфоцитах на 100,0% ($P<0,05$).

Таблиця 4

Активність ензимів вуглеводного обміну в лейкоцитах свиноматок за дії хрому ($M\pm m, n=3$)

Період досліджень	Група	ГК,		ЛДГ,	
		мкмоль НАДФН/хв • мг білка		мкмоль НАД ⁺ /хв • мг білка	
		лімфоцити	нейтрофіли	лімфоцити	нейтрофіли
15 днів до опоросу	К	0,02±0,002	0,05±0,006	5,14±0,28	13,78±0,95
	Д	0,02±0,003	0,04±0,005	5,15±0,20	13,10±1,21
5 днів до опоросу	К	0,02±0,002	0,06±0,007	12,51±1,21	19,29±1,25
	Д	0,03±0,001*	0,10±0,005**	10,43±0,89	23,16±2,19
5 днів після опоросу	К	0,02±0,004	0,02±0,001	11,45±1,23	14,94±1,29
	Д	0,03±0,003	0,03±0,003*	9,68±0,98	13,71±1,10
3 доби після відлучення	К	0,01±0,001	0,02±0,001	5,37±0,62	7,16±0,85
	Д	0,02±0,002*	0,02±0,003	6,63±0,91	9,00±0,64

Активізація фосфорилування глюкози є одним із факторів, які зумовлюють зростання функціональної активності лейкоцитів тварин. Адже відомо, що такі функції нейтрофільних гранулоцитів як хемотаксис, дегрануляція, фагоцитоз забезпечуються енергією, головним чином, за рахунок гліколітичного розщеплення моносахаридів [4]. Тому підвищення каталітичної активності ГК в лейкоцитах, очевидно, є важливим фактором в енергозабезпеченні клітинних функцій та становленні їх захисної здатності. Лактатдегідрогеназна активність лейкоцитів за дії хрому хлориду вірогідно не змінювалася, що свідчить про можливу активацію перетворення пірувату шляхом окиснювального декарбокислювання та метаболізму в циклі трикарбонових кислот.

У поросят 5-добового віку за дії хрому виявлено зниження вмісту глюкози на 23,5% ($P<0,05$), що свідчить про інтенсифікацію її надходження у клітини, де вона використовується як енергетичний субстрат (табл. 5). Крім цього, за дії хрому зростала активність ГК в гемолізатах поросят 5- (на 66,7%, $P<0,05$) і 20-добового віку (на 100,0 %, $P<0,01$). Аналогічно зростала активність ЛДГ в еритроцитах поросят дослідної групи на 5-ту (на 154,0%, $P<0,01$) і 20-ту (на 40,8%, $P<0,05$) доби життя, що свідчить про активацію гліколізу в еритроцитах поросят 5–20-добового віку. У той же час, активність Г-6-ФДГ зростала в еритроцитах поросят 5-добового віку на 35,8% ($P<0,05$), що свідчить про активацію в цей віковий період ще й окисного шляху перетворення глюкози.

Таблиця 5

Показники вуглеводного обміну в крові поросят ($M\pm m, n=5$)

Вік поросят, доба	Група	Показники				
		Глюкоза, ммоль/л	ГК,		ЛДГ,	
			мкмоль НАДФН/хв • мг білка	мкмоль НАД ⁺ /хв • мг білка	Г-6-ФДГ, мкмоль НАДФН/хв • мг білка	
5	К	5,79±0,26	0,03±0,007	2,24±0,22	3,02±0,15	
	Д	4,43±0,31**	0,05±0,005*	5,69±0,99**	4,10±0,35*	
20	К	4,43±0,46	0,01±0,001	3,68±0,14	2,13±0,14	
	Д	4,24±0,70	0,02±0,002**	5,18±0,50*	1,94±0,23	
33	К	5,64±0,99	0,01±0,001	3,85±0,52	0,91±0,09	
	Д	4,94±0,68	0,01±0,001	3,80±0,34	0,95±0,06	

За умови введення до раціону свиноматок хрому хлориду в кількості 300 мкг Ст/кг корму в їх організмі та організмі новонароджених поросят інтенсифікується білковий об-

мін, що можемо стверджувати за зростанням вмісту білка й активності АлАТ, вуглеводний – за збільшенням гексокінази, лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази активності еритроцитів і лейкоцитів, та ліпідний обмін – за зниженням вмісту холестеролу і тригліцеролів у крові. Таким чином, можна вважати, що регуляцію обміну речовин в організмі поросят раннього віку можна здійснювати шляхом введення до раціону вагітних свиноматок добавок хрому.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні обміну речовин у поросят у більш пізні періоди їхнього розвитку за умови введення до раціону свиноматок сполук хрому.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Влізло В. В., Федорук П. С., Ратич І. Б.* та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: ВМС, 2012. 764 с.
2. *Abraham A. S., Sonnenblick M., Eini M.* The action of chromium on serum lipids and on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits // *Atherosclerosis*. 1982. Vol. 42. P. 185–195.
3. *Anderson R. A.* Chromium in the prevention and control of diabetes // *Diabetes & Metabolism*. 2000. Vol. 26. P. 22–27.
4. *Brown E. J.* Phagocytosis // *Bioessays*. 1995. Vol. 17. N 2. P. 109–117.
5. *Evans G. W., Bowman T. D.* Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization // *J. Inorganic Biochem.* 1992. Vol. 48. P. 243–250.
6. *Kim D. S., Kim T. W., Kang J. S.* Chromium picolinate supplementation improves insulin sensitivity in Goto-Kakizaki diabetic rats // *J. Trace Elements in Medicine and Biology*. 2004. Vol. 17. P. 243–247.
7. *Lefavi R. G., Wilson G. D., Keith R. E.* et al. Lipid-lowering effect of a dietary chromium (III)-nicotinic acid complex in male athletes // *Nutrition Research*. 1993. Vol. 13. P. 239–249.
8. *Pagan J. D., Jackson S. G., Duren S. E.* The effect of chromium supplementation on metabolic response to exercise in thoroughbred horses. In: *Proceedings of Alltech's 11th Annual Symposium, Biotechnology in the Feed Industry*, Lyons P., Jacques K. A. (eds.), Nottingham University Press, UK, 1995. P. 249–256.
9. *Pechova A., Pavlata L.* Chromium as an essential nutrient: a review // *Veterinarni Medicina*. 2007. N 52 (1). P. 1–18.
10. *Roginski E. F., Mertz W.* Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet // *J. Nutrition*. 1969. Vol. 97. P. 525–530.
11. *Vincent J. B.* The Nutritional Biochemistry of Chromium (III). Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. 280 p.
12. *Wenk C., Gebert S., Pfirter H.* Chromium supplements in the feed for growing pigs: influence on growth and meat quality // *Archives of Animal Nutrition*. 1995. Vol. 48. P. 71–81.

Стаття: надійшла до редакції 05.10.12

доопрацьована 11.02.13

прийнята до друку 12.02.13

**LIPID, PROTEIN AND CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES
IN SOWS AND PIGLETS UNDER FEEDING CHROME CHLORIDE****R. Iskra**

*Institute of Animal Biology UAAS of Ukraine
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine
e-mail: iskra_r@ukr.net*

It was found that feeding sows chromium chloride in dose 300 mg Cr / kg of feed in their blood serum for 5 days before farrowing decreased content of cholesterol, 20 days after farrowing - glycerol, and on the 3rd day after weaning piglets – increased protein content and activity of alanine amino transferase. In erythrocytes sows at the 5 th day after farrowing increased activity of hexokinase and lactate, and leukocytes – only hexokinase. Erythrocytes in a 5-day-pigs of the experimental group who consumed milk from chrome sows, increased activity of hexokinase, lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, 20 days old – hexokinase and lactate dehydrogenase. Serum piglets of research group at the 20 th day of life reduced glycerol content, and at 5- and 33-rd day– increased protein content and activity of alanine aminotransferase.

Keywords: chromium chloride, pigs, lipid metabolism, protein metabolism, carbohydrate metabolism.

**НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО, БЕЛКОВОГО И УГЛЕВОДНОГО
ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ СВИНОМАТОК И ПОРОСЯТ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ
ХЛОРИДА ХРОМА****Р. Іскра**

*Институт биологии животных НААН Украины
ул. В.Стуса, 38, Львов 79034, Украина
e-mail: iskra_r@ukr.net*

В проведенных исследованиях установлено, что при скормливание свиноматкам хлорида хрома в количестве 300 мкг Cr / кг корма в сыворотке их крови за 5 суток до опороса снизилось содержание холестерина, на 20-е сутки после опороса – триглицерола, а на 3-и сутки после отлучения поросят – повысилось содержание белка и активность аланинаминотрансферазы. В эритроцитах свиноматок на 5-е сутки после опороса возростала активность гексокиназы и лактатдегидрогеназы, а в лейкоцитах – лишь гексокиназы. В эритроцитах 5-суточных поросят опытной группы, которые потребляли хром с молоком свиноматки, возростала активность гексокиназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 20-суточных – гексокиназы и лактатдегидрогеназы. В сыворотке крови поросят опытной группы на 20-е сутки жизни снизилось содержание триглицерола, а на 5-е и 33-и сутки – увеличилось содержание белка и активность аланинаминотрансферазы.

Ключевые слова: хлорид хрома, свиньи, липидный обмен, белковый обмен, углеводный обмен.

ДИХАННЯ ІЗОЛЬОВАНИХ АЦИНУСІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ

Б. Манько, Д. Волошин, В. Манько

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

З використанням електрода Кларка досліджено залежність дихання ізольованих ацинусів підшлункової залози щурів від умов перемішування їхньої суспензії у полярнографічній комірці. Суспензію ізольованих ацинусів отримували з використанням колагенази. Клітини у складі ізольованих ацинусів після виділення зберігали структурну і функціональну інтактність: 0,1%-ний розчин трипанового синього не фарбував понад 95% клітин препарату, а карбахолін у концентрації 1 чи 10 мкмоль/л стимулював їхню секрецію, внаслідок чого амілазна активність середовища інкубації зростала у 5 і 6,5 разу відповідно. Початкова швидкість дихання ацинусів була однаковою за обох способів перемішування суспензії, однак за використання магнітної мішалки суттєво знижувалася з часом. Протонофор FCCP збільшував швидкість дихання на 46,7 і 50,3% відповідно за використання магнітної та пропелерної мішалки. Водночас незначна за амплітудою інтенсифікація дихання внаслідок дії карбахоліну маскувалася плавним зниженням швидкості за використання магнітної мішалки, яке розвивається з часом і не залежить від вмісту O_2 . Отже, для адекватної реєстрації ефектів і аналізу дії різних регуляторів на швидкість дихання ізольованих ацинусів підшлункової залози дослідження необхідно проводити за умови стабільності базальної швидкості споживання кисню. Цього можна досягнути, зокрема, використовуючи пропелерну мішалку.

Ключові слова: панкреатичні ацинуси, споживання кисню, карбахолін, магнітна мішалка, пропелерна мішалка.

Клітинне дихання є важливим процесом, за швидкістю якого можна судити про інтенсивність мітохондріальних окисних процесів. Останнім часом спостерігається зростання зацікавленості процесами дихання інтактних клітин [1, 2, 4, 7, 9]. Використання цілісних клітин дає змогу дослідити взаємозв'язки між диханням та іншими клітинними процесами, які неможливо встановити, використовуючи препарати ізольованих мітохондрій.

Ізольовані ацинарні панкреатичні **вже тривалий час використовують для дослідження** клітинного дихання [8, 10]. Але досі не проведено стандартизації умов дослідження дихання на ізольованих панкреатичних ацинусах, які є кращою моделлю, ніж ізольовані панкреатичні. Так, зокрема, ізольовані ацинуси є більш чутливі до дії секретогогів (наприклад, карбахоліну) [11] завдяки, мабуть, збереженню міжклітинних контактів і нативної орієнтації поляризованих клітин у їхньому складі. Тому нашою метою було дослідити закономірності споживання кисню суспензією ізольованих панкреатичних ацинусів за дії карбахоліну та різних умов перемішування суспензії.

Матеріали та методи

Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, і законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Досліди виконували на білих нелінійних щурах-самцях масою 200–300 г. Тварин утримували у стаціонарних умовах

віварію за постійної температури на основному раціоні. Декапітацію наркотизованих хлороформом тварин здійснювали в лабораторії, ізольовано від інших.

Суспензію ізольованих панкреатичних ацинусів отримували з використанням колагенази (тип 4, 220 од./мл) за модифікованим методом Вільямса і співавт. [11], як це описано раніше [9]. Клітини підраховували за допомогою камери Горяєва. Для оцінки цілісності плазматичної мембрани клітини фарбували трипановим синім (0,1%-ний розчин). Амілазну активність середовища інкубації ацинусів визначали за методом Каравея [5]. Після виділення ацинуса зберігали у базовому позаклітинному середовищі у відкритій конічній колбі за кімнатної температури, струшуючи з частотою 120 циклів за хв. У колбу подавали свіже повітря з-поза об'єму колби, як і під час інкубації з колагеназою.

Швидкість споживання кисню визначали полярографічним методом за допомогою установки, зібраної на базі електрода Кларка, полярографа YSI 5300, цифрового вольтметра, комп'ютера та скляної термостатованої закритої комірки об'ємом 1,6 мл, за температури 37°C.

У полярографічну комірку вносили суспензію інтактних панкреатичних ацинусів (приблизно 1,6–2 млн клітин) у базовому позаклітинному середовищі, що містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 10,0; БСА – 2,5 мг/мл; соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл; рН 7,4. Перемішування суспензії у полярографічній комірці здійснювали за допомогою магнітної або пропелерної мішалки (рис. 1). Швидкість дихання розраховували, вважаючи, що в 1 мл розчинено 200 нмоль O₂ [6].

Кожен експеримент повторювали як мінімум на трьох окремих препаратах ізольованих клітин, отриманих із різних тварин (n≥3). Необхідні статистичні розрахунки проводили за допомогою

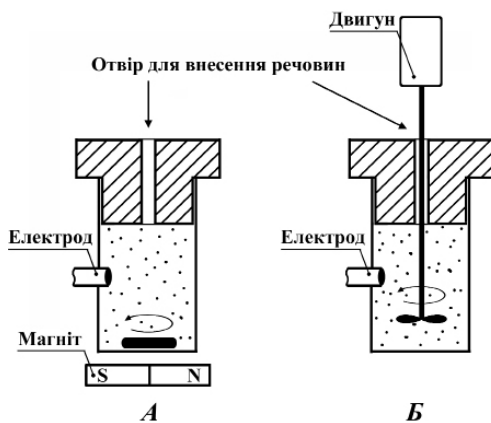
Рис. 1. Схема полярографічної комірки за використання магнітної (А) та пропелерної (Б) мішалок.

комп'ютера з використанням пакету програм *Microsoft Office Excel*. Цифрові результати подані як $M \pm m$. Вірогідність різниці середніх арифметичних двох вибірок (Р) визначали за парним t-тестом Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Для оцінки структурної та функціональної інтактності клітин у складі ацинусів визначали проникність їхньої плазматичної мембрани й активність секретованої амілази. Після виділення частка трипан-негативних клітин у складі ацинусів становила понад 95%. Крім цього, амілазна активність середовища інкубації ізольованих ацинусів була незначною. Отже, в ході отримання препарату ацинусів плазматична мембрана абсолютної більшості клітин не порушується.

За дії карбахоліну в концентрації 0,1 мкмоль/л амілазна активність середовища інкубації ацинусів збільшилася приблизно удвічі, однак вірогідність цих змін не досягла першого рівня значимості (P=0,08, n=5; рис. 2). За концентрації карбахоліну 1 мкмоль/л амілазна активність середовища інкубації підвищувалася на 400%, а у концентрації 10 мкмоль/л – на 568% (P≤0,01, n=5; рис. 2). Ці дані близькі до отриманих іншими авторами [11].



Це дає нам підстави стверджувати, що клітини у складі ізолюваних ацинусів після їхнього виділення зберігають здатність відповідати секреторною активністю на дію карбахоліну.

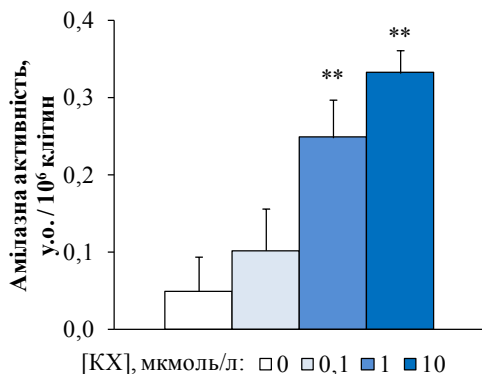


Рис. 2. Вплив карбахоліну на секрецію амілази ізолюваними панкреатичними ацинусами: секрецію амілази оцінювали за різницею між амілазною активністю середовища до та після 5 хв інкубації ацинусів з карбахоліном (КХ) за температури 37°C; ** – статистично вірогідна різниця щодо контролю з $P \leq 0,01$; $n=5$.

Підтвердженням функціональної нативності панкреатитів у складі отриманих ацинусів служить також і реєстрація їхнього дихання.

Початкова швидкість споживання кисню за перемішування суспензії ацинусів магнітною мішалкою становила $0,258 \pm 0,018$ нмоль O_2 / (с $\times 10^6$ клітин), $n=15$. Але з'ясувалося, що швидкість дихання суспензії ізолюваних ацинусів, як і ізолюваних ацинарних клітин підшлункової залози [10], залежить від вмісту O_2 у середовищі (або від тривалості досліду). На графіку залежності швидкості дихання суспензії ацинусів від вмісту O_2 у комірці (рис. 3) можна виділити кілька фаз. Протягом першої фази (від 270 до 210 нмоль O_2 у комірці) швидкість дихання суттєво не змінювалася. Після цього наставала фаза практично лінійного, але плавного, зниження швидкості дихання, яке тривало приблизно до 45 нмоль O_2 у середовищі. У діапазоні 45–8 нмоль відбувалось різке, практично до нуля, зниження швидкості дихання. Варто додати, що дихання пермеабілізованих ацинарних панкреатитів у діапазоні 270–45 нмоль O_2 взагалі не змінювалось [9].

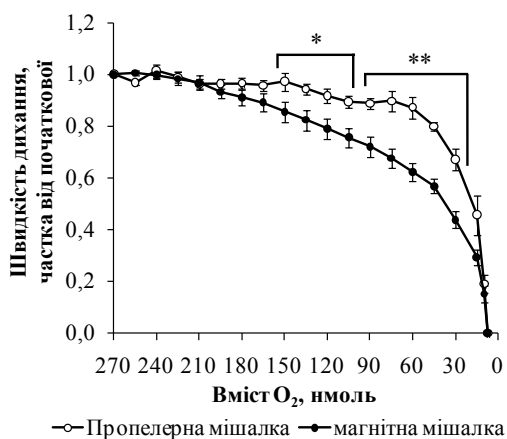


Рис. 3. Залежність швидкості споживання кисню інтактними ацинусами підшлункової залози від його вмісту в полярографічній комірці за різних способів перемішування суспензії; * – статистично вірогідна різниця з $P \leq 0,05$; ** – з $P \leq 0,01$; $n=3$ (магнітна мішалка) або 5 (пропелерна мішалка).

За використання пропелерної мішалки початкова швидкість споживання кисню виявилася такою самою і становила $0,264 \pm 0,019$ нмоль O_2 / (с $\times 10^6$ клітин), але залежність від вмісту O_2 у середовищі інкубації була дещо інакшою (рис. 3). Зокрема, перша фаза зниження швидкості дихання, яка тривала приблизно до 60 нмоль O_2 , була менш вираженою,

ніж за використання магнітної мішалки. Швидкість дихання у цій точці становила $87 \pm 4\%$ від початкової (за використання магнітної мішалки – лише $62 \pm 3\%$). Тобто, ця фаза в обох випадках є не стільки чутливою до вмісту O_2 у полярографічній комірці, скільки залежить від способу перемішування суспензії.

Друга фаза – фаза різкого зниження швидкості дихання – є однаковою за використання обох типів мішалок і спричинена, очевидно, сповільненням дифузії кисню у клітини за низького його вмісту у комірці. Отже, за використання пропелерної мішалки, на відміну від магнітної, швидкість дихання ізольованих панкреатичних ацинусів є відносно стабільною впродовж тривалого часу експерименту.

На наступному етапі ми порівняли вплив стимуляторів клітинного дихання на швидкість споживання кисню ізольованими панкреатичними ацинусами за різних способів перемішування суспензії. Внесення протонофора FCCP (за вмісту O_2 у комірці 240–180 нмоль) у концентрації 0,5 мкмоль/л спричинило значне збільшення швидкості дихання ацинусів в обох випадках: на 46,73% за використання магнітної мішалки ($P \leq 0,001$, $n=7$; рис. 4) і на 50,33% – за використання пропелерної ($P \leq 0,01$, $n=4$; рис. 4). Між ефектами FCCP не виявлено статистично вірогідної різниці. В обох випадках ефект FCCP суттєво не знижувався протягом O_2 -нечутливої фази дихання. Отже, спосіб перемішування суспензії ацинусів суттєво не впливає на інтенсивність FCCP-стимульованого дихання.

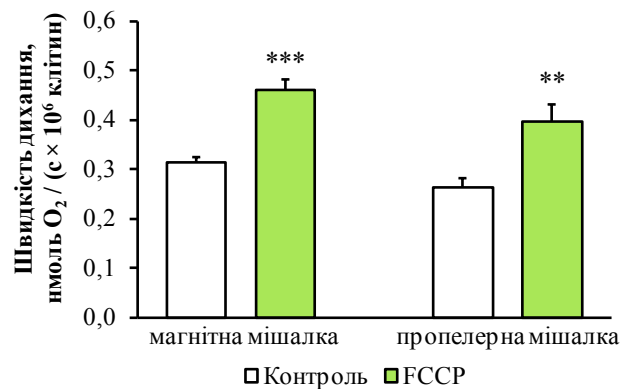


Рис. 4. Вплив FCCP на швидкість споживання кисню інтактними панкреатичними ацинусами за різних способів перемішування суспензії: ** – статистично вірогідна різниця щодо контролю з $P \leq 0,01$; *** – з $P \leq 0,001$; $n=7$ (за використання магнітної мішалки) та 4 (пропелерної мішалки).

Ефект FCCP є досить значним, виникає практично негайно після його внесення у комірку, тому немає практичної потреби здовжувати тривалість досліду. Як наслідок, використання магнітної мішалки суттєво не впливає на результати дослідження. Однак незначні зміни інтенсивності дихання можуть суттєво маскуватися і, таким чином, залежати від способу перемішування суспензії. Карбахолін, наприклад, інтенсифікує дихання зрізів підшлункової залози лише приблизно на 10% [3], внаслідок стимуляції секреторної активності ацинарних клітин і, відтак, зростання енергетичних потреб. Для дослідження впливу карбахоліну на дихання інтактних панкреатичних ацинусів за різних способів перемішування суспензії ми додавали його безпосередньо у полярографічну комірку в концентраціях 1 або 10 мкмоль/л.

Виявилось, що за використання магнітної мішалки карбахолін у концентрації 1 мкмоль/л не впливав на швидкість споживання кисню, принаймні, протягом 2–3 хв (рис. 5, В). Можливі пізніші ефекти карбахоліну в цьому експерименті виявити не вдалося – внаслідок,

цілком імовірно, зниження швидкості дихання суспензії ацинарних панкреатитів з часом. За дії карбахоліну в концентрації 10 мкмоль/л швидкість споживання кисню спочатку зростала – від $0,26 \pm 0,02$ до $0,32 \pm 0,01$ нмоль O_2 / (с \times млн клітин), тобто на 23,44% ($P \leq 0,001$, $n=15$; рис. 5, А і В). Після першої фази інтенсифікації, яка тривала 33 ± 3 с, наступала фаза 2, котра характеризувалася зниженням швидкості дихання (рис. 5, А). У першу хвилину фази 2 зафіксовано різке зменшення швидкості споживання кисню до $0,25 \pm 0,02$ нмоль O_2 / (с \times млн клітин), рис. 5, В. Надалі у цьому досліді швидкість продовжувала плавно знижуватися.

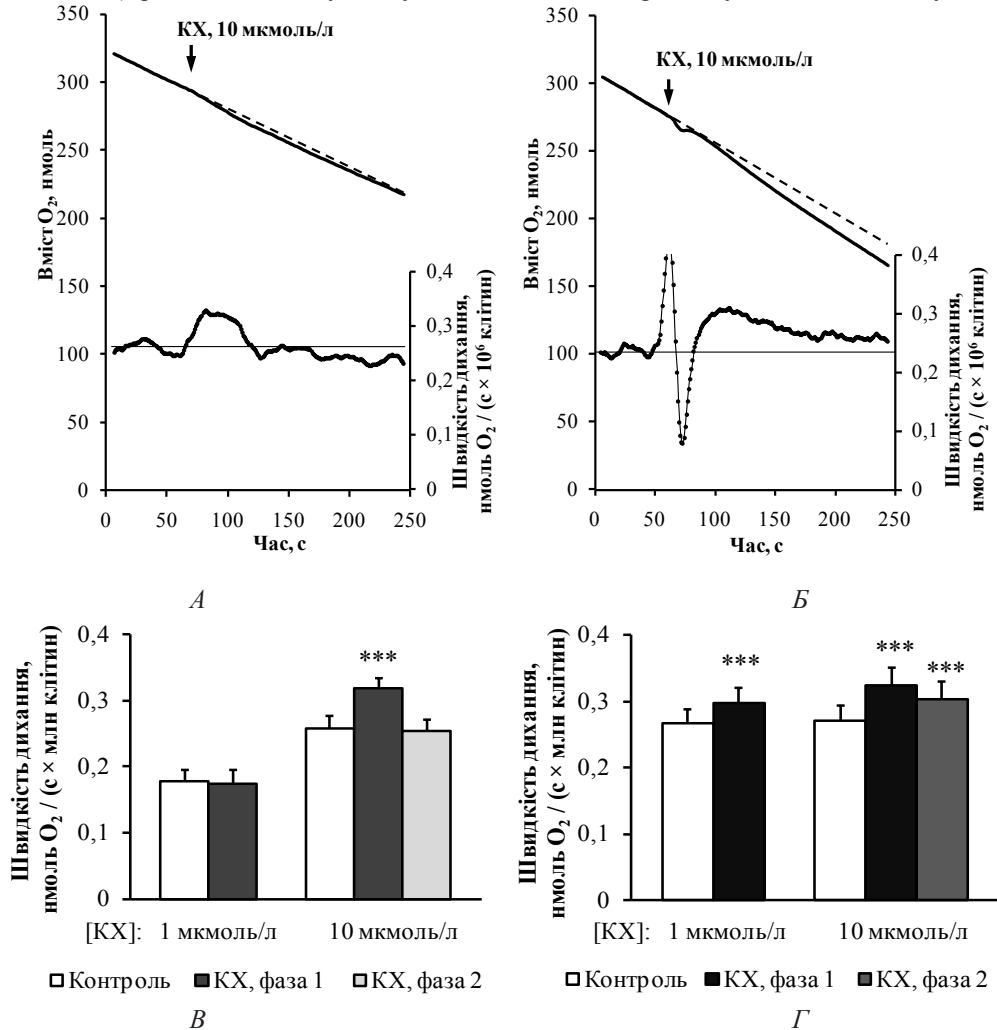


Рис. 5. Вплив карбахоліну на дихання ізолюваних ацинусів підшлункової залози; у комірку вносили 1 або 10 мкмоль/л карбахоліну (КХ); А, Б – оригінальний запис споживання кисню панкреатичними ацинусами (зверху) та розраховані миттєві швидкості дихання (знизу), тонка чорна лінія відображає середній рівень швидкості дихання у контролі; В, Г – усереднені значення, швидкість дихання у контролі розраховували як середню протягом 1 хв до внесення карбахоліну, у фазі 1 – як середню протягом тривалості фази, у фазі 2 – протягом 1 хв після завершення фази 1; за внесення 1 мкмоль/л карбахоліну фаза 2 не виникала; у досліді використовували магнітну (А, В) або пропелерну (Б, Г) мішалку; *** – статистично вірогідна різниця щодо контролю з $P \leq 0,001$; $n=3$ (В, 1 мкмоль/л) або 15 (В, 10 мкмоль/л), 8 (Г, 1 мкмоль/л) або 6 (Г, 10 мкмоль/л).

Трохи інші дані було отримано за використання пропелерної мішалки. Карбахолін у концентрації 1 мкмоль/л підвищував швидкість дихання на 11,54% ($P \leq 0,001$, $n=8$; рис. 5, Г), що тривало протягом усього досліджу. За внесення цього секретораго у вищій концентрації (10 мкмоль/л) зареєстровано початкову інтенсифікацію дихання на 20,14% ($P \leq 0,001$, $n=9$). У частині експериментів ($n=6$; ці дані представлені на рис. 5, Б, Г) приблизно через 1 хв спостерігалася друга фаза дії карбахоліну, тобто деяке зниження його стимулюючого впливу на дихання. Однак у цьому випадку, на відміну від дослідів із магнітною мішалкою, швидкість дихання залишалася вищою, ніж у контролі, на 11,51% ($P \leq 0,001$, $n=6$). У інших трьох експериментах друга фаза не виникала, тобто швидкість дихання суттєво не знижувалась.

Недоліком використання пропелерної мішалки є необхідність відкривати поліграфічну комірку для внесення досліджуваних речовин, оскільки отвір для їхнього внесення зайнятий стрижнем пропелерної мішалки. Це призводить до виникнення досить значного артефакту дослідження у вигляді «стрибка» поглинання O_2 (рис. 5, Б), внаслідок порушення герметичності комірки та короточасного припинення перемішування. Щоб усунути цей артефакт, необхідно розділити канали для стрижня мішалки і внесення речовин.

Отже, використання пропелерної мішалки дало змогу виявити ті ефекти карбахоліну, які маскувалися поступовим зниженням інтенсивності дихання, спричиненим використанням магнітної мішалки. Таке зниження не перешкоджає дослідженню короточасних впливів речовин, що спричиняють сильну інтенсифікацію дихання (наприклад, FCCP), але не дає можливості адекватно дослідити динаміку незначних змін дихання. За описаного способу використання пропелерної мішалки можна досягти стабільності базальної швидкості споживання кисню ізольованими ацинусами підшлункової залози, що є необхідною умовою для адекватної реєстрації ефектів різних речовин-регуляторів і аналізу їх дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Великопольська О. Ю., Манько Б. О., Манько В. В. Ендоплазматично-мітохондріальна Ca^{2+} -функціональна одиниця: залежність дихання секреторних клітин від активності ріанодин- та IP_3 -чутливих Ca^{2+} -каналів // Укр. біохім. журнал. 2012. Т. 84. № 5. С. 76–88.
2. Мерлавський В. М., Манько Б. О., Іккерт О. В., Манько В. В. Енергетичні процеси ізольованих гепатоцитів за різної тривалості дії інсуліну // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2010. Т. 4. № 3. С. 15–22.
3. Bauduin H., Colin M., Dumont J. E. Energy sources for protein synthesis and enzymatic secretion in rat pancreas in vitro // *Biochim. Biophys. Acta*. 1969. Vol. 174. P. 722–733.
4. Brand M. D., Nicholls D. G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells // *Biochem. J*. 2011. Vol. 435. P. 297–312.
5. Caraway W. T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids // *Am. J. Clin. Pathol.* 1959. Vol. 32. P. 97–99.
6. Carpenter J. H. New measurements of oxygen solubility in pure and natural water // *Limnol. Oceanogr.* 1966. Vol. 11. P. 264–277.
7. Horbay R. O., Manko B. O., Manko V. V. et al. Respiration characteristics of mitochondria in parental and giant transformed cells of the murine Nemeth-Kellner lymphoma // *Cell Biol. Int.* 2012. Vol. 36. P. 71–77.
8. Kosowski H., Schild L., Kunz D., Halangk W. L. Energy metabolism in rat pancreatic acinar cells during anoxia and reoxygenation // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. Vol. 1367. P. 118–126.
9. Manko B. O., Klevets M. Yu., Manko V. V. An implication of novel methodology to study pancreatic acinar mitochondria under *in situ* conditions // *Cell biochem. funct.* 2012. DOI:

- 10.1002/cbf.2864.
10. Schulz H. U., Pross M., Meyer F. et al. Acinar cell respiration in experimental acute pancreatitis // Shock. 1995. Vol. 3. P. 184–188.
 11. Williams J. A., Korc M., Dormer R. L. Action of secretagogues on a new preparation of functionally intact, isolated pancreatic acini // Am. J. Physiol. 1978. Vol. 235. P. 517–524.

Стаття: надійшла до редакції 27.12.12

доопрацьована 14.02.13

прийнята до друку 27.02.13

RESPIRATION OF ISOLATED ACINI OF RAT PANCREAS

B. Manko, D. Voloshyn, V. Manko

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

Dependence of respiration of isolated rat pancreatic acini on conditions of their suspension stirring in the polarographic cell was investigated using Clark electrode. The suspension of isolated acini was obtained using collagenase. Cells within isolated acini retained the structural and functional intactness after isolation: 0.1% solution of trypan blue did not stain more than 95% of the cells of the preparation, while carbachol in concentrations of 1 or 10 μM stimulated their secretion, resulting in 5- or 6.5-fold increase of amylase activity in the incubation medium, respectively. The initial respiration rate of acini was equal at both methods of suspension stirring, but due to application of a magnetic stirrer the rate significantly decreased with time. Protonophore FCCP increased the respiration rate by 46.7 and 50.3% while using a magnetic or propeller stirrer, respectively. However, the carbachol-induced intensification of respiration was masked by a smooth decline of the respiration rate at magnetic stirrer application. This decline develops over time and is not dependent on the content of O_2 in chamber. Thus, polarographic studies of isolated pancreatic acini should be conducted in conditions of stability of the basal oxygen consumption rate to adequately register and analyze effects of various regulators on the cellular respiration rate. This can be achieved, in particular, using propeller stirrer.

Keywords: pancreatic acini, oxygen consumption, carbachol, magnetic stirrer, propeller stirrer.

ДЫХАНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ АЦИНУСОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

Б. Манько, Д. Волошин, В. Манько

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

С использованием электрода Кларка исследована зависимость дыхания изолированных ацинусов поджелудочной железы крыс от условий перемешивания

их суспензии в полярографической ячейке. Суспензию изолированных ацинусов получали с использованием коллагеназы. Клетки в составе изолированных ацинусов после выделения сохраняли структурную и функциональную интактность: 0,1%-ный раствор трипанового синего не красил более 95% клеток препарата, а карбахолин в концентрации 1 или 10 мкмоль/л стимулировал их секрецию, вследствие чего амилазная активность среды инкубации увеличилась в 5 и 6,5 раза соответственно. Начальная скорость дыхания ацинусов была одинаковой при обоих способах перемешивания суспензии, однако при использовании магнитной мешалки существенно снижалась со временем. Протонофор FCCP увеличивал скорость дыхания на 46,7 и 50,3% соответственно при использовании магнитной и пропеллерной мешалки. В то же время незначительная по амплитуде интенсификация дыхания вследствие действия карбахолина маскировалась плавным снижением скорости при использовании магнитной мешалки, которое развивается со временем и не зависит от содержания O_2 . Итак, для адекватной регистрации эффектов и анализа воздействия различных регуляторов на скорость дыхания изолированных ацинусов поджелудочной железы исследования необходимо проводить при условии стабильности базальной скорости потребления кислорода. Этого можно достичь, в частности, используя пропеллерную мешалку.

Ключевые слова: панкреатические ацинусы, потребление кислорода, карбахолин, магнитная мешалка, пропеллерная мешалка.

ІНГІБІТОР ТРАНСПОРТУВАЛЬНИХ Ca^{2+} -АТФАЗ ЕОЗИН У НЕ ВПЛИВАЄ НА ДИХАННЯ І ОКИСНЕ ФОСФОРИЛЮВАННЯ У ПЕЧІНЦІ ЩУРА

Н. Купиняк, О. Іккерт, В. Манько

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

Відомо, що катіони Ca^{2+} задіяні до регуляції енергетичних процесів у мітохондріях багатьох тканин. Важливу роль у підтриманні цитозольної концентрації Ca^{2+} відіграють Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулуму. Тому досліджено вплив інгібітора Ca^{2+} -помп еозину Y на процеси дихання й окисного фосфорилювання у печінці щурів. Швидкість поглинання кисню визначали полярографічним методом з використанням електрода Кларка. З'ясувалося, що після перфузії печінки щура еозин Y-вмісним розчином (20 мкмоль/л) швидкість поглинання кисню у досліджуваних метаболічних станах (S_4 , S_3 , і S_4^{ATP}) за Чансом і Вільямсом, дихальний контроль (ДК, відношення швидкості дихання у стані S_3 до швидкості дихання у стані S_4^{ATP}) та показники окисного фосфорилювання (АДФ/О, T_p , V_f) суспензії ізольованих мітохондрій не змінювались ні за окиснення НАД- (піруват, α -кетоглутарат), ні ФАД-залежних субстратів (сукцинат). Це не зумовлено наявністю гематогапатичного бар'єру, оскільки після інкубації з еозином Y гомогенату печінки щурів (де, крім мітохондрій, наявні везикули ендоплазматичного ретикулуму) показники його дихання та окисного фосфорилювання не змінювались. Додавання еозину Y безпосередньо у полярографічну комірку теж не впливало на процеси дихання та окисного фосфорилювання гомогенату печінки. Це дає підстави зробити висновок, що за умов досліді інгібування еозином Y Ca^{2+} -помп плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів суттєво не впливає на енергетичні процеси у мітохондріях.

Ключові слова: печінка, еозин Y, мітохондріальне дихання, субстрати окиснення.

Мітохондрії – це клітинні органели, які забезпечують синтез АТФ у клітині, але вони відіграють важливу роль у Ca^{2+} -сигналізації. Зокрема, виконують функції внутрішньоклітинного депо Ca^{2+} і здатні впливати на характер та поширення Ca^{2+} -сигналу в цитозолі [21]. Акумуляція Ca^{2+} у матриксі мітохондрій забезпечується електрофоретичним уніпортером внутрішньої мітохондріальної мембрани. Цей процес модулює Ca^{2+} -залежні клітинні процеси. Прикладом цього є те, що пригнічення акумуляції Ca^{2+} у мітохондріях перетворює $\text{I}\Phi_3$ -індуковані локальні Ca^{2+} -сигнали на глобальне збільшення $[\text{Ca}^{2+}]$ у цитозолі клітин підшлункової залози [22]. Крім того, мітохондрії сприяють більшому спустошенню клітинних депо Ca^{2+} і, тим самим, – активації за фізіологічних умов депокерованих Ca^{2+} -каналів плазматичної мембрани [20]. І, нарешті, вони підтримують усі АТФ-залежні процеси, у тому числі й роботу Ca^{2+} -помп плазматичної мембрани й ендоплазматичного ретикулуму.

Усі процеси транспортування Ca^{2+} у мітохондрії або з них тісно пов'язані з їхнім енергетичним станом [7, 17]. Перш за все, робота Ca^{2+} -уніпортера визначається мітохондріальним мембранним потенціалом і концентраційним градієнтом катіонів Ca^{2+} [11]. Мітохондріальний мембранний потенціал генерується внаслідок активності електрон-транспортного ланцюга внутрішньої мембрани мітохондрій.

Між інтенсивністю окисних процесів у мітохондріях і величиною мітохондріального мембранного потенціалу наявні зворотні негативні зв'язки. Тому зменшення мембранного потенціалу в ході електрофоретичної акумуляції Ca^{2+} спричиняє інтенсифікацію дихання мітохондрій [3]. Крім того, іони Ca^{2+} активують Ca^{2+} -залежні ферменти матриксу мітохондрій – піруватдегідрогеназний і α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекси та НАД-ізоцитратдегідрогеназу [18]. Ці три ферменти каталізують реакції окиснення субстратів зі спряженим відновленням їхнього коферменту НАД.

Є дані, що катіони Ca^{2+} активують F_1 - і F_0 -комплекси АТФ-синтази [23]. Можливо, така активація АТФ-синтази здійснюється за участю Ca^{2+} -чутливого білка, який зв'язується з F_1 - чи F_0 -субодиницями синтази, що веде до посилення синтезу АТФ [8]. Синтез АТФ зростає вже при незначних підвищеннях внутрішньомітохондріальної концентрації Ca^{2+} [13].

Отже, у клітині існує взаємозалежність між Ca^{2+} -осциляціями й енергетичними процесами. Однак на сьогодні не до кінця досліджений внесок різних Ca^{2+} -транспортувальних систем у регуляцію енергетичних процесів у клітині. Тому метою нашої роботи було оцінити роль Ca^{2+} -помп плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулу, використовуючи їхній інгібітор еозин Y, у регуляції енергетичного забезпечення клітин.

Матеріали та методи

Досліди виконані на білих нелінійних щурах-самцях масою 200–250 г. Тварин утримували в стаціонарних умовах віварію при постійній температурі на основному раціоні. Тварин наркотизували хлороформом, після чого декапітували, робили розтин черевної порожнини і швидко відділяли печінку.

Ін'єкцію та декапітацію здійснювали в лабораторії, ізольовано від інших тварин. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, і Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Мітохондрії печінки щурів виділяли методом диференційного центрифугування [14], який дає змогу зберегти нативність ізольованих органел. Для цього печінку після виділення зважували та перфузували розчином такого складу (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 4,7, CaCl_2 – 1, MgCl_2 – 1, глюкоза – 5, HEPES – 10; рН 7,4. Охолоджену і відперфузовану печінку подрібнювали через прес і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма зі швидкістю 800 об/хв за 3 вертикальних ходи товкачика у співвідношенні 1 г тканини до 8 мл середовища гомогенізації. Середовище гомогенізації містило (ммоль/л): сахарозу – 250, EGTA – 1, HEPES – 10; рН 7,2. Гомогенат центрифугували 3 хв при 150 г та 5 хв при 300 г без зупинки центрифуги для осадження уламків клітин і ядер. Мітохондріальну фракцію отримували з надосадової рідини центрифугуванням супернатанту протягом 15 хв при 4500 г при температурі 0–2°C. Отриманий осад мітохондрій ресуспензували середовищем виділення у співвідношенні 1 г тканини до 0,1 мл середовища. Отриману суспензію мітохондрій використовували для подальших досліджень. Концентрацію мітохондріального білка вимірювали за методом Лоурі [15].

Швидкість поглинання кисню реєстрували полярографічним методом за температури 26°C. Для цього у полярографічну комірку, що містила розчин відповідного субстрату окиснення, вносили 100 мкл суспензії мітохондрій, концентрація білка у комірці становила 5–7 мг/мл. Середовище містило (ммоль/л): сахарози – 250, K_2HPO_4 – 2, EGTA – 0,1, CaCl_2 – 1, HEPES – 10; рН 7,2. Як субстрати окислення використовували піруват (5 ммоль/л), α -кетоглутарат (5 ммоль/л), сукцинат (5 ммоль/л). Дихання стимулювали додаванням 320 нмоль АДФ (кінцева концентрація у комірці 200 мкмоль/л). Внесенням у комірку інгібітора першого пункту спряження ротенону (10 мкмоль/л) за окиснення сукци-

нату усували надходження ендогенних НАД-залежних субстратів, а внесенням інгібітора другого пункту спряження ТТФА (10 мкмоль/л) за окиснення пірувату й α -кетоглутарату – використання ФАД-залежних субстратів (ендогенного сукцинату).

За полярограмами визначали швидкість дихання у станах S_4 , S_3 і $S_4^{ATФ}$ за Чансом та Вільямсом [9], розраховували дихальний контроль (ДК, відношення швидкості дихання у стані S_3 до швидкості дихання у стані $S_4^{ATФ}$), ефективність (АДФ/О), час (T_p) і швидкість (V_p) окисного фосфорилування.

Математично-статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням пакету програм Microsoft Excel. Вірогідність різниці між статистичними групами визначали за Стьюдентом. За статистично достовірні приймали зміни з $P < 0,05$ [2].

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що флуоресцентний індикатор еозин Y (2,4,5,7-тетра-бромфлуоресцеїн) інгібує Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулуку [6]. Тому з метою оцінки ролі Ca^{2+} -помп у регуляції процесів енергетичного забезпечення клітини на першому етапі дослідження ми здійснювали перфузію печінки позаклітинним розчином, який містив еозин Y (20 мкмоль/л).

З'ясувалося, що за таких умов досліду еозин Y не впливав на процеси дихання та окисного фосфорилування мітохондрій за окиснення як ФАД-, так і НАД-залежних субстратів. Зокрема, швидкість поглинання кисню у стані S_3 за окиснення сукцинату в контролі становила $66,07 \pm 12,63$ нг-ат. O / (мг білка \times хв), а в досліді – $58,18 \pm 9,19$ нг-ат. O / (мг білка \times хв); $P > 0,05$, $n=6$. За окиснення НАД-залежних субстратів (пірувату й α -кетоглутарату) статистично достовірних змін також не зареєстровано (рис. 1). Однак чітко простежується залежність швидкості поглинання кисню від субстрату окиснення. Зокрема, найвищою швидкість була за окиснення сукцинату, що узгоджується з даними інших авторів [4].

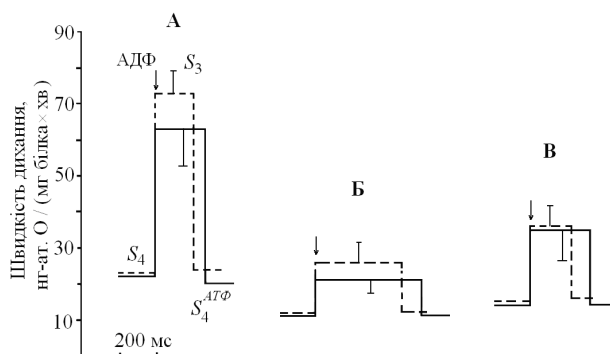


Рис. 1. Дихання мітохондрій після перфузії печінки еозин Y-вмісним розчином за окиснення сукцинату (А), пірувату (Б) й α -кетоглутарату (В): штрихова лінія – контроль; суцільна лінія – дослід (печінку перфузували еозин Y-вмісним розчином у концентрації 20 мкмоль/л); стан S_4 – у комірку з екзогенними субстратами вносили 100 мкл суспензії мітохондрій; стан S_3 – для стимуляції окисного фосфорилування додавали екзогенний АДФ; після вичерпування екзогенного АДФ встановлювався рівноважний стан $S_4^{ATФ}$; блокатори І (ротенон, 10 мкмоль/л) та ІІ (ТТФА, 10 мкмоль/л) пунктів спряження вносили в комірку одночасно зі субстратом окиснення.

За перфузії печінки розчином еозину Y були відсутні й зміни у процесах окисного фосфорилування (табл. 1). Проте значення показників окисного фосфорилування, як і показників дихання, залежали від субстрату окиснення. Найменш інтенсивним для клі-

тини виявилось використання пірувату, оскільки за цих умов швидкість і ефективність фосфорилування були найнижчими і, відповідно, тривалість цього процесу – найбільшою (табл. 1). Порівнюючи результати, отримані при окисненні сукцинату й α -кетоглутарату, можна зробити висновок, що ефективність фосфорилування була вищою за використання α -кетоглутарату, але решта показників дихання й окисного фосфорилування не відрізнялись. Це зумовлено різною кількістю пунктів спряження, задіяних у синтез АТФ при окисненні ФАД- та НАД-залежних субстратів, і узгоджується з теорією гормонально-субстратно-нуклеотидних систем регулювання енергетичних процесів [1].

Таблиця 1

Показники окисного фосфорилування мітохондрій печінки щурів після її перфузії еозин Y-вмісним розчином ($M \pm m$; $n=6$)

Субстрати	АДФ/О, нмоль АДФ / нг ат. О		ДК, S_3/S_4^{ATP}		V_p нмоль АДФ / (мг білка \times с)		T_p мг білка \times с	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Сукцинат	1,53 \pm 0,25	1,52 \pm 0,12	2,93 \pm 0,36	3,16 \pm 0,45	104 \pm 23,7	90,8 \pm 18,2	277 \pm 72,9	296 \pm 104
Піруват	1,96 \pm 0,38	1,52 \pm 0,09	1,85 \pm 0,18	1,78 \pm 0,18	52,0 \pm 14,6	33,0 \pm 3,64	486 \pm 94,3	606 \pm 65,7
α -кетоглутарат	3,02 \pm 0,27	2,4 \pm 0,28	2,04 \pm 0,47	2,35 \pm 0,51	110 \pm 28,7	89,6 \pm 26,9	257 \pm 70,2	343 \pm 78,6

Отже, перфузія печінки щурів розчином еозину Y не впливає на процеси енергетичного забезпечення ізольованих мітохондрій печінки. Ми припустили, що це може бути зумовлено наявністю гематогепатичного бар'єру – як чинника, що регулює надходження екзогенних речовин у печінку [16], або швидкоплинності змін внутрішньомітохондріального рівня Ca^{2+} . Тому на наступному етапі досліджень, з метою перевірки цих версій, як модельний об'єкт ми використали гомогенат печінки, в якому крім мітохондрій наявні везикули ендоплазматичного ретикулуму.

З'ясувалося, що після попередньої інкубації гомогенату печінки щурів з еозином Y (20 мкмоль/л) швидкість поглинання кисню при використанні ФАД- та НАД-залежних субстратів теж не змінювалася статистично достовірно (рис. 2).

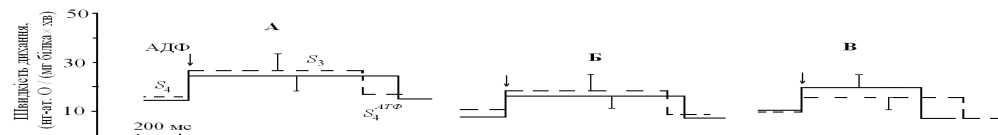


Рис. 2. Поглинання кисню гомогенатом печінки щурів після попередньої інкубації з розчином еозину Y за окислення сукцинату (А), пірувату (Б) та α -кетоглутарату (В): штрихова лінія – контроль, суцільна лінія – дослід (гомогенат, попередньо проінкубований 5 хв з еозином Y у концентрації 20 мкмоль/л); стан S_4 – у комірку з екзогенними субстратами вносили 100 мкл гомогенату; після додавання екзогенного АДФ встановлюється стан S_3 ; вичерпування екзогенного АДФ спричиняє перехід системи у рівноважний стан S_4^{ATP} ; [ротенон]=10 мкмоль/л, [ТТФА]=10 мкмоль/л.

Статистично достовірних змін показників окисного фосфорилування попередньої інкубації гомогенату з еозином не виявлено. Отже, відсутність змін у процесах мітохондріального дихання за перфузії печінки еозином Y не зумовлена непроникністю цього інгібітора через гематогепатичний бар'єр.

Таблиця 2

Показники окисного фосфорилування у печінки щурів при додаванні до гомогенату печінки еозину Y (20 мкмоль/л) ($M \pm m$; $n=3$)

Субстрати	АДФ/О, нмоль АДФ / нг ат. О		ДК, S_3/S_4^{ATP}		V_p нмоль АДФ / (мг білка \times с)		T_p мг білка \times с	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Сукцинат	1,32 \pm 0,20	0,99 \pm 0,22	1,63 \pm 0,03	1,79 \pm 0,28	35,4 \pm 12,9	22,0 \pm 3,13	730 \pm 225	961 \pm 125
Піруват	2,22 \pm 0,14	2,35 \pm 0,54	2,31 \pm 0,39	2,02 \pm 0,15	39,3 \pm 10,0	42,9 \pm 22,0	619 \pm 215	677 \pm 221
α -кето- глутарат	2,08 \pm 0,03	2,38 \pm 0,14	2,89 \pm 1,21	2,87 \pm 0,92	32,9 \pm 7,18	49,7 \pm 15,8	763 \pm 189	505 \pm 191

У наступній серії ми перевірили припущення, чи не спричинена відсутність змін у диханні мітохондрій за перфузії печінки (чи попередньої інкубації гомогенату) еозин Y-вмістним розчином швидкоплинністю змін внутрішньомітохондріального рівня Ca^{2+} . Для цього еозин Y (20 мкмоль/л) додавали безпосередньо до розчину у полярографічній комірці. Однак у цій серії, як і у попередніх, за окиснення сукцинату, пірувату чи α -кетоглутарату статистично достовірних змін дихання та окисного фосфорилування нами не встановлено (рис. 3).

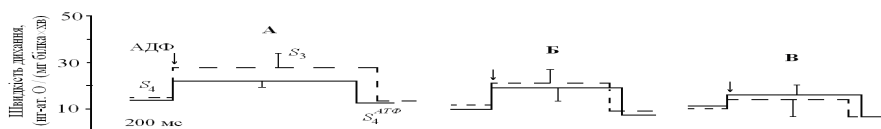


Рис. 3. Вплив додавання еозину Y до розчину в полярографічній комірці на поглинання кисню гомогенатом печінки щурів за окислення сукцинату (А), пірувату (Б) та α -кетоглутарату (В): штрихова лінія – контроль, суцільна лінія – дослід (у комірку одночасно з гомогенатом вносили розчин еозину Y в концентрації 20 мкмоль/л); стан S_4 – у комірку з екзогенними субстратами вносили 100 мкл гомогенату; стан S_3 встановлюється після додавання екзогенного АДФ; після вичерпування екзогенного АДФ встановлювався рівноважний стан S_4^{ATP} ; [ротенон]=10 мкмоль/л, [ТТФА]=10 мкмоль/л.

Аналізуючи отримані результати, ми зробили висновок, що інгібування Ca^{2+} -помп ендоплазматичного ретикулуму та плазматичної мембрани еозином Y у концентрації 20 мкмоль/л не впливає на енергетичні процеси у печінці щурів за активації ФАД- та НАД-залежних шляхів окиснення субстратів.

Таблиця 3

Показники окисного фосфорилування мітохондрій печінки щурів при додаванні еозину Y в полярографічну комірку ($M \pm m$; $n=3$)

Субстрати	АДФ/О, нмоль АДФ / нг ат. О		ДК, S_3/S_4^{ATP}		V_p нмоль АДФ / (мг білка \times с)		T_p мг білка \times с	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Сукцинат	1,08 \pm 1,58	1,28 \pm 0,20	2,01 \pm 0,30	1,92 \pm 0,20	30,0 \pm 6,86	29,8 \pm 6,57	861 \pm 291	745 \pm 137
Піруват	1,77 \pm 0,04	2 \pm 0,16	2,27 \pm 0,28	2,27 \pm 0,11	38,6 \pm 6,43	38,4 \pm 7,58	499 \pm 85,0	551 \pm 149
α -кето- глутарат	2,84 \pm 0,59	1,98 \pm 0,22	2,01 \pm 0,10	2,39 \pm 0,16	36,7 \pm 21,1	33,3 \pm 4,46	541 \pm 182	592 \pm 61,9

Механізми взаємозв'язку між ендоплазматичним ретикуломом і мітохондріями до сьогоднішнього дня залишаються дискусійними. Проте ні у кого не викликає сумнівів, що такий зв'язок наявний. Мітохондрії є близько розташованими до місць вивільнення Ca^{2+} із ендоплазматичного ретикулуму, тому можуть конкурувати з Ca^{2+} -помпами ендоплазматичного ретикулуму у зменшенні цитозольної концентрації Ca^{2+} [19]. Це, властиво, і лежить в основі функціонального (фізіологічного) зв'язку між цими двома органелами.

Не з'ясованим залишається і питання стосовно ролі різних Ca^{2+} -транспортувальних систем ендоплазматичного ретикулуму в реалізації ендоплазматично-мітохондріального зв'язку. Слід взяти до уваги те, що лише частина мітохондріальної поверхні перебуває в тісному контакті (є ко-локалізованою) з ендоплазматичним ретикуломом [24]. Не відомо також, які Ca^{2+} -транспортувальні системи наявні у колокалізованих мембранах цих органел, зокрема у мембрані ендоплазматичного ретикулуму – $\text{I}\Phi_3$ -чутливі чи ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали чи, можливо, Ca^{2+} -помпи. На жаль, прямих методів, які б дали змогу встановити це, поки що не існує.

Крім цього, зростання $[\text{Ca}^{2+}]$ у місцях контакту мітохондрій з ендоплазматичним ретикуломом має бути достатньою для активації уніпортера мітохондрій і мітохондріальних Ca^{2+} -залежних дегідрогеназ, які активуються Ca^{2+} у мікромольних концентраціях [10]. Цілком можливо, що інгібування Ca^{2+} -помпи ендоплазматичного ретикулуму, навіть якщо вона наявна у колокалізованих із мітохондріями мембранах, є недостатньою, щоб активувати ці процеси.

Для з'ясування цього припущення потрібно провести дослідження, використовуючи інші специфічні модулятори Ca^{2+} -транспортувальних систем ендоплазматичного ретикулуму та мітохондрій. Оскільки існує припущення, що еозин Y може пригнічувати активність і Ca^{2+} -уніпортера мітохондрій гладеньком'язових клітин матки [5].

Отже, інгібування Ca^{2+} -помпи еозином Y у концентрації 20 мкмоль/л не зумовлює змін енергетичних процесів у печінці щурів за активації як ФАД-, так і НАД-залежних шляхів окиснення субстратів. Очевидно, таке інгібування не збільшує рівня цитозольного Ca^{2+} до величин, необхідних для активації Ca^{2+} -залежних дегідрогеназ у матриксі мітохондрій, або у місцях контакту зовнішньої мембрани мітохондрій з мембраною ендоплазматичного ретикулуму відсутня Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулуму, як це було показано на фіброблестах щурів [12].

Список використаної літератури

1. Гордій С., Шостаковська І., Доліба М. та ін. Адренергічні та холінергічні механізми регуляції ефективності дихання секреторних клітин // Фізіол. журн. 1994. Т. 40. № 2. С. 46–56.
2. Деркач М., Гумецький Р., Чабан М. Курс варіаційної статистики. К.: Вища школа, 1977. 206 с.
3. Доліба М. Холінергічна регуляція транспорту кальцію, окисного фосфорильовання в мітохондріях печінки і підшлункової залози: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.13. Л., 1988. 19 с.
4. Кондрашова М. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани // Биохимия. 1991. Т. 56. №3. С. 388-405.
5. Костерин С., Браткова Н., Бабич Л. и др. Влияние ингибиторов энергозависимых Ca^{2+} -транспортирующих систем на кальциевые насосы гладкомышечной клетки // Укр. біохім. журн. 1996. Т. 68. № 6. С. 50–61.

6. Слинченко Н., Браткова Н., Костерин С. и др. Влияние эозина Y на каталитическую и функциональную активность Mg^{2+} , АТФ-зависимого кальциевого насоса плазматической мембраны гладкомышечных клеток // Биохимия. 1998. Т. 63. № 6. С. 812–819.
7. Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition // *Physiol. Rev.* 1999. Vol. 79 (4). P. 1127–1155.
8. Boerries M., Most P., Gledhill J. Ca^{2+} -dependent interaction of S100A1 with F_1F_0 -ATPase leads to an increased ATP content in cardiomyocytes // *Mol. Cell. Biol.* 2007. Vol. 27. P. 4365–4373.
9. Chance B., Williams G. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. The steady state // *J. Biol. Chem.* 1955. Vol. 217. P. 409–427.
10. Denton R., Richards D., Chin J. Calcium ions and the regulation of NAD^+ -linked isocitrate dehydrogenase from the mitochondria of rat heart and other tissues // *Biochem. J.* 1978. Vol. 176. P. 899–906.
11. Csordás G., Várnai P., Golenár T. et al. Calcium transport across the inner mitochondrial membrane: molecular mechanisms and pharmacology // *Mol. Cell Endocrinol.* 2012. Vol. 353 (1–2). P. 109–113.
12. García-Pérez C., Schneider T., Hajnóczky G. et al. Alignment of sarcoplasmic reticulum-mitochondrial junctions with mitochondrial contact points // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2011. Vol. 301 (5). P. 1907–1915.
13. Jouaville L., Pinton P., Bastianutto C. et al. Regulation of mitochondrial ATP synthesis by calcium: evidence for a long-term metabolic priming // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96(24). P. 13807–13812.
14. Jonson D., Lardy H. In *Methods in enzymology*. New York. 1967. Vol. 10. P. 94–102.
15. Lowry O., Rosebrough N., Farr A. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.
16. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease // *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 2001. Vol. 161 (III–XIII). P. 1–151.
17. Mallilankaraman K., Cárdenas C., Doonan P. et al. MCUR1 is an essential component of mitochondrial Ca^{2+} uptake that regulates cellular metabolism // *Nat. Cell Biol.* 2012. Vol. 14 (12). P. 1336–1343.
18. McCormack J., Denton R. Role of calcium ions in the regulation of intramitochondrial metabolism. Properties of the Ca^{2+} -sensitive dehydrogenases within intact uncoupled mitochondria from the white and brown adipose tissue of the rat // *Biochem. J.* 1980. Vol. 190. P. 95–105.
19. Montero M., Brini M., Marsault R. et al. Monitoring dynamic changes in free Ca^{2+} concentration in the endoplasmic reticulum of intact cells // *EMBO J.* 1995. Vol. 14 (22). P. 5467–5475.
20. Parekh A. Store-operated Ca^{2+} entry: dynamic interplay between endoplasmic reticulum, mitochondria and plasma membrane // *J. Physiol.* 2003. Vol. 547. P. 333–348.
21. Rizzuto R., Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca^{2+} : molecular determinants and functional consequences // *Physiol. Rev.* 2006. Vol. 86. P. 369–408.
22. Tinel H., Cancela J., Mogami H. et al. Active mitochondria surrounding the pancreatic acinar granule region prevent spreading of inositol trisphosphate-evoked local cytosolic Ca^{2+} -signals // *EMBO J.* 1999. Vol. 15 (18). P. 4999–5008.
23. Territo P., French S., Balaban R. Simulation of cardiac work transitions, in vitro: effects of simultaneous Ca^{2+} and ATPase additions on isolated porcine heart mitochondria // *Cell Calcium.* 2001. Vol. 30 (1) P. 19–27.
24. Walter L., Hajnóczky G. Mitochondria and endoplasmic reticulum: the lethal interorganelle cross-talk // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2005. Vol. 37 (3). P. 191–206.

THE INHIBITOR OF Ca^{2+} -ATPASE EOSIN Y DOESN'T INFLUENCE ON RESPIRATION AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN THE RATS LIVER

N. Kupynyak, O. Ikkert, V. Manko

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

It is known that Ca^{2+} cations are engaged in regulation of energy processes in mitochondria of many tissues. PMCA and SERCA play an important role in support of cytosolic Ca^{2+} concentration. Therefore, the effect of eosin Y – inhibitor of PMCA and SERCA on the mitochondrial respiratory function and oxidative phosphorylation in rat liver were investigated. Mitochondrial respiratory function was measured with polarography (Clark electrode) using pyruvate, α -ketoglutarate and succinate as substrates. It was shown that after perfusion of rat liver with eosin Y-containing solution (20 microM) oxygen consumption (state S_4 , state S_3 , state S_4^{ATP}), respiratory control index (the ratio state S_3 : state S_4^{ATP}) and oxidative phosphorylation (ADP/O ratio, T_r and V_p) indexes of isolated mitochondria did not change either in oxidation of NAD- or FAD-dependent substrates. It was not due to the existence of hematohepatic barrier, because after incubation of rat liver homogenate with eosin Y, (where except mitochondria are endoplasmic reticulum vesicles) oxygen consumption and oxidative phosphorylation indexes did not change. Finally, the addition of eosin Y directly in the polarographic chamber also had no effect on the processes of respiration and oxidative phosphorylation of rat liver homogenate. This suggests that under the experimental conditions inhibition of PMCA and SERCA of hepatocytes by eosin Y did not significantly reflected on the energy processes in the mitochondria.

Keywords: liver, eosin Y, mitochondrial respiration, substrate oxidation.

ИНГИБИТОР ТРАНСПОРТНЫХ Ca^{2+} -АТФАЗ ЭОЗИН Y НЕ ВЛИЯЕТ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Н. Купиняк, О. Иккерт, В. Манько

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

Известно, что катионы Ca^{2+} задействованы в регуляции энергетических процессов в митохондриях многих тканей. Важную роль в поддержании цитозольной концентрации Ca^{2+} играют Ca^{2+} -насосы плазматической мембраны и эндоплазматического ретикулума. Поэтому исследовано влияние ингибитора Ca^{2+} -насосов эозина Y на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования в печени крыс. Скорость поглощения кислорода определяли полярографическим методом с использованием электрода Кларка. Показано, что после перфузии печени крысы

раствором, содержащим эозин Y (20 мкмоль/л), скорость поглощения кислорода в метаболических состояниях (S_4 , S_3 и $S_4^{ATФ}$) по Чансу и Вильямсу, дыхательный контроль (отношение скорости поглощения кислорода в состоянии S_3 скорости поглощения кислорода в состоянии $S_4^{ATФ}$), а также показатели окислительного фосфорилирования (ADP/O , T_F , V_F) суспензии изолированных митохондрий не менялись ни при окислении НАД- (пируват, α -кетоглутарат), ни ФАД-зависимых субстратов (сукцинат). Это не обусловлено наличием гематогепатического барьера, так как после инкубации гомогената печени крыс (где, кроме митохондрий, есть везикулы эндоплазматического ретикулула) с эозином Y, показатели дыхания и окислительного фосфорилирования не изменялись. И, наконец, добавление эозина Y непосредственно в полярографическую ячейку также не влияло на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования гомогената печени. Это позволяет сделать вывод, что в условиях эксперимента ингибирование эозином Y Ca^{2+} -насосов плазматической мембраны и эндоплазматического ретикулула гепатоцитов существенно не влияет на энергетические процессы в митохондриях.

Ключевые слова: печень, эозин Y, митохондриальное дыхание, субстраты окисления.

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.19:631.524.86

ВАРІОВАННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ У РІЗНИХ ЗА СТІЙКІСТЮ ДО ВОВЧКА (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) ЗРАЗКІВ СОНЯШНИКУ

Т. Чигрин, О. Задорожна

*Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва
пр. Московський, 142, Харків 61060, Україна
e-mail: olzador@ukr.net*

Активність каталази (КАТ) (КФ1.11.1.6) досліджених зразків соняшнику (*Helianthus annuus* L.) перевищувала цей показник у стандарту сприйнятливості до вовчка (*Orobanche cumana* Wallr.). За інокуляції зразків у більшості випадків спостерігали збільшення активності каталази. Активність КАТ варіює залежно від генотипу зразка. Гетерозис за активністю каталази спостерігали лише в окремих комбінаціях у гібридів Сх1012А/Х536В, Сх2111А/Х711В. Закономірного зв'язку між наявністю гена Og_5 і активністю каталази не виявлено.

Ключові слова: *Helianthus annuus*, *Orobanche cumana*, стійкість, активність каталази, генотип.

Під час впливу різних патогенів на рослини відбувається активація окисно-відновних процесів, що супроводжується утворенням пероксиду водню та інших активних форм кисню. Рослина має фізіологічну антиоксидантну систему, до складу якої входять окисно-відновні ферменти поліфенолоксидаза, пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза та інші. Ця система має важливе значення в захисних реакціях рослин проти патогенів. Унаслідок функціонування цієї системи утворюються захисні сполуки і формується системний імунітет [9]. Розпізнавання патогенів включає в себе низку індуючих захисних механізмів, які роблять свій вклад у стійкість рослин. У місці інфікування відбувається синтез антимікробних речовин, фітоалексинів, синтез гідролітичних ферментів, які атакують патогени [19]. Такі реакції відбуваються внаслідок транскрипційної активності генів, які відіграють певну роль у захисті рослин. Стійкість рослин до патогенів часто залежить від можливості рослини відреагувати на ранніх етапах інфікування з утворенням некрозу тканин, який обумовлений головним чином хінонами (окисненими фенолами) [22]. Швидкість окиснення фенолів обумовлюється активністю ферментів, зокрема поліфенолоксидази (ПФО) (КФ 1.10.3.1) та пероксидази (ПОД) (КФ 1.11.1.7). Відомі роботи з визначення активності поліфенолоксидази соняшнику залежно від стійкості до патогенів [5] і паразитів [11]. Стійкі форми соняшнику, як правило, мають вищі показники активності цього ферменту. У ПОД також більш високі показники активності у стійких генотипів пшениці, ячменю, овочевих та інших культур [2, 11]. Активність пероксидази змінюється залежно від стійкості генотипу. У стійких зразків під впливом патогена активність пероксидази збільшується, а у сприйнятливих не змінюється або навіть зменшується [1, 12, 14, 16].

Відповідь рослин на біотичний і абіотичний стрес супроводжується вивільненням активних форм кисню, включаючи перекис водню, який виконує певні захисні функції. Підтримання певного гомеостазу активного кисню під час біотичного й абіотичного стресу відбувається за допомогою каталази (КАТ) (КФ1.11.1.6). Відомо, що активність каталази

вища у стійких зразків [21]. Активність каталази соняшнику під час біогічного стресу вивчена дуже обмежено.

Відомо, що активність каталази соняшнику (*Helianthus annuus* L.) варіює залежно від патогена [14]. Так при тривалому впливі збудника несправжньої борошнистої роси (*Plasmopara helianthi* Novot. f. *helianthi*) активність каталази поступово збільшується і перевищує показники здорових рослин. При інфікуванні збудником іржі (*Puccinia helianthi* Schw.) інокульовані зразки мають менші показники активності каталази, ніж контрольні. Під час інокуляції активність каталази збільшувалася. При інфікуванні рослин збудником сірої гнилі (*Phomopsis helianthi* Munt.) спостерігається спочатку збільшення, а потім зменшення активності каталази.

Крім зазначених патогенів соняшнику, слід зазначити шкідливий голопаразит вовчок (*Orobanchе cumanа* Wallr.). Втрати врожаю насіння соняшнику, внаслідок ураження вовчком, становлять 50–90% як у країнах Середземномор'я, так і у країнах Східної Європи [7, 16]. Для диференціації стійких і нестійких до вовчка генотипів використовуються різні вегетаційні, біохімічні, гістологічні та молекулярні методи [10]. Очікується можливість диференціації зразків соняшнику за стійкістю до вовчка й активністю окисно-відновних ферментів, зокрема ПФО, ПОД, КАТ. Відомо про різну активність ПФО, ПОД у різних за стійкістю ліній і гібридів соняшнику [11,12].

У зв'язку з цим метою нашої роботи було визначити активність каталази у ліній і гібридів соняшнику, різних за стійкістю до вовчка, та спробувати диференціювати зразки за цими показниками.

Матеріали та методи

Матеріалом для досліджень були лінії соняшнику селекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН: стерильні материнські (♀) Сх503А, Сх908А, Сх1002А, Сх1006А, Сх1010А, Сх1012, Сх2111А, Сх2552А, Сх4021А, фертильні батьківські (♂) Х114В, Х526В, Х711В, Х720В, Х762В, Х908В, PR64А71 та гібриди Сх503А/Х114В, Сх908А/Х762В, Сх1006А/Х720В, Сх1012А/Х526В, Сх2111А/Х711В. Лінії характеризувалися різною стійкістю до вовчка за даними вегетаційного аналізу [6, 7] та відрізнялися за наявністю генів стійкості до п'яти рас вовчка Og_5 [4].

Активність каталази визначали у проростків із тривалістю вегетації 14 діб. Проростки отримували шляхом пророщування насіння в умовах штучного клімату при освітленні 4000 лк, світловому періоді 16 год на добу і температурі $24\pm 2^\circ\text{C}$. Досліджували проростки, одержані з насіння, висіяного разом із насінням вовчка (інокульовані) та проростки, одержані з насіння, висіяного без нього (контроль).

У дослід добирали проростки довжиною близько 15 см. Брالی наважку 500 мг зеленого матеріалу та розтирали у фарфоровій ступці з 0,06 М фосфатним буфером (рН 7,0). Отриману ферментну витяжку центрифугували 10 хв при 5000 об/хв на центрифугу ЦУМ-1 (Завод фізичних приладів, Киргизька РСР) і аналізували активність каталази фотокolorиметричним методом [20] на фотоелектроcolorиметрі КФК-2-УХЛ 4.2 (РРФСР) при довжині хвилі 405 нм. У кювету вносили 0,2 мл ферментної витяжки, 2 мл реакційної суміші, що містила 0,06 М фосфатного буферу, рН 7,0 та 0,06 М розчин перекису водню у співвідношенні 1:1. Кювету інкубували 10 хв при 37°C на водяній бані, після чого додавали 1 мл 4% розчину молібдату амонію для зупинки реакції. Вимірювання проводили проти контролю реактивів. Активність КАТ визначали в умовних одиницях на г сірої тканини (ум.од./г тк.) та обробляли стандартними методами варіаційної статистики [3].

Результати і їхнє обговорення

За результатами досліджень встановлено різну активність каталази у ліній та гібридів соняшнику (табл. 1).

Активність каталази у більшості материнських і батьківських ліній достовірно відрізнялася від стандарту сприйнятливості. Після інокуляції у більшості зразків спостерігали тенденцію до збільшення активності каталази або достовірне її збільшення (у ліній Сх503А, Сх1006А, Сх2111А, Х526В). Міра збільшення активності каталази при інокуляції становила від 12 до 130% (табл. 1). Слід зазначити, що міра збільшення активності каталази не залежала від наявності гена Or_5 , що характеризує стійкість до п'яти рас вовчка і показника стійкості, визначеного вегетаційним методом. Це свідчить про те, що наявність гена Or_5 не може характеризувати стійкість до всіх рас вовчка та інших патогенів, і що стійкість, визначена вегетаційним методом, не завжди збігається з потенційною стійкістю даного зразка.

Аналіз активності каталази у гібридів F_1 виявив гетерозис лише у гібридів Сх1012/Х526В, Сх2111/Х711В. Інформація про активність окисно-відновних ферментів ліній порівняно з гібридами дуже обмежена [13, 15]. У більшості випадків в цих дослідженнях спостерігали гетерозис за показниками активності ферментів. На думку дослідників, це дає можливість прогнозувати стійкість рослин до негативних чинників [18].

Таблиця 1

Активність каталази у ліній і гібридів соняшнику (ум.од./г тк.)

Назва лінії, ♀, ♂, гібриду	Стійкість, визначена вегетаційним методом	Наявність інформації про ген Or_5	Активність КАТ зразків, ум.од./г тк.		Зміна активності КАТ інокульованих зразків, %
			контрольних	інокульованих	
Сх503А	середня	or_5	6,3±0,5*	8,8±0,5*.*	+40
Х114В	середня	or_5	3,4±0,5*	4,3±0,5*	+26
Сх503А/Х114В (Борей)			3,2±0,4*	2,7±0,5	-15
Сх908А	низька	or_5	2,0±0,4	3,1±0,5	+48
Х762В	висока	or_5	7,7±2,0*	4,5±0,6*	-6
Сх908А/Х762В (Кий)			4,6±0,5*	5,6±0,7*	+21
Сх1006А	висока	$Or_5 or_5$	2,6±0,4	6±0,7*.*	+130
Х720В	висока	$Or_5 or_5$	7,1±1,3*	8,0±0,6*	+12
Сх1006А/Х720В (Оскіл)			3,1±0,3*	3,5±0,5	+13
Сх1012А	середня	or_5	2,7±0,6	3,6±0,7*	+33
Х526В	висока	$Or_5 or$	1,9±0,3	3,5±0,4*.*	+84
Сх1012А/Х526В (Сайт)			6,6±0,4*	4,9±0,5*	-26
Сх2111А	середня	or_5	3,4±0,6*	5,8±0,6*.*	+71
Х711В	висока	$Or_5 or$	2,8±0,4	1,3±0,2*	-5,4
Сх2111А/Х711В (Погляд)			6,2±0,5*	6,1±0,6*	-2
Сх2552А	середня	or_5	10,0±0,7*	11,3±0,8*	+13
Сх4021А	середня	or_5	8,8±0,7*	8,2±1,1*	-7
Сх1002А	висока	Or_5	4,0±0,5	4,0±0,8*	0
Сх1010А	середня	or_5	3,5±0,6*	3,6±0,6*	+10
Х908А	ст. сприйн.	or_5	2,0±0,4	3,1±0,5	+55
PR64А71	ст. стійкості	Or_5	5,6±0,6*	6,5±0,7*	16

Примітки: * різниця за показником активності каталази між зразком та стандартом сприйнятливості достовірна при $P < 0,05$; ** різниця за показником активності пероксидази між інокульованим та не інокульованим зразком достовірна при $P < 0,05$; Or_5 – наявність домінантного алеля гена Or_5 ; or_5 – наявність рецесивного алеля гена Or_5 .

У наших дослідженнях для всіх гібридних комбінацій гетерозис не спостерігали. На нашу думку, це пояснюється підбором пар для гібридної комбінації, при якому не врахували активність ферментів ліній і нових молекулярних механізмів даних гібридних комбінацій, які обумовлені диференціальною експресією генів, що призводить до фенотипових змін [23].

При аналізі середніх показників активності каталази у досліджених ліній і гібридів спостерігали незначний гетерозис у контрольному варіанті (10%) та проміжне успадкову-

вання в дослідному (рис. 1). За інокуляції спостерігали тенденцію збільшення активності КАТ у материнських форм на 60%, незначне зменшення у батьківських форм (7%) і гібридів (2%).

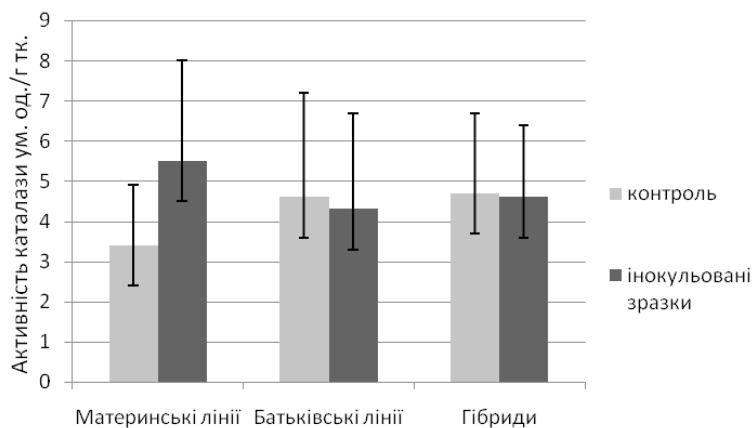


Рис. 1. Середня активність каталази у ліній і гібридів соняшнику, ум. од./г тк.

Таким чином, проведене визначення активності КАТ зразків соняшнику свідчить про залежність цих показників від генотипу зразка. Активність каталази досліджених зразків соняшнику перевищувала цей показник у стандарту сприйнятливості. Це дає змогу за активністю каталази проводити експрес-оцінку на стійкість до вовчка та диференціювати сприйнятливі зразки від зразків із різним ступенем стійкості. За активністю каталази у більшості випадків можна судити про потенційну стійкість зразків до вовчка. За інокуляції зразків у більшості випадків спостерігали збільшення активності каталази. Гетерозис за активністю каталази спостерігали тільки в окремих комбінаціях у гібридів Sx1012A/X536B, Sx2111A/X711B. Закономірного зв'язку між наявністю гена Or_5 і активністю каталази не виявлено.

Результати, описані у статті, покладені в основу корисної моделі «Спосіб прискореного визначення стійкості зразків соняшнику до вовчка (*Orobanche cumana* Wallr.)», номер заявки у 2012 12046

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Авраменко Р. С. Изучение качественных особенностей различных по устойчивости к заразице сортов подсолнечника: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.12. Воронеж, 1973. 23 с.
2. Аксенова В. А., Кожанова О. Н. О механизме активирования пероксидазы у устойчивых и восприимчивых растений при заражении // Физиология растений. 1976. Т. 23. Вып. 2. С. 391–396.
3. Вольф В. Г. Статистическая обработка опытных данных. М.: Колос, 1966. 255 с.
4. Задорожна О. А. Ідентифікація у соняшнику гена стійкості до вовчка Or_5 за допомогою молекулярних маркерів // Аграрний вісн. Причорномор'я. 2012. Вип. 61. С. 158–163.
5. Зайчук В. Ф., Попов П. С., Калинченко Т. В. Активність полифенолоксидазы в корзниках подсолнечника // Масличные культуры. 1986. № 3. С. 30.
6. Каталог гібридів соняшнику селекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва / В. В. Кириченко, К. М. Макляк, В. П. Коломацька та ін. Харків, 2010. 44 с.

7. Каталог рабочей коллекции самоопыленных линий подсолнечника Института растениеводства им. В.Я. Юрьева / В.В. Кириченко, З.К. Аладина, А.Д. Гуменюк и др. Харьков, 1996. 88 с.
8. Кириченко В. В. Селекция и семеноводство подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Харьков: Ин-т растениеводства, 2005. 385 с.
9. Мельничук М. Д., Дьячкова О. О., Смирнова С. О. та ін. Зміни активності пероксидази, каталази і поліфенолоксидази рослин перцю та тютюну, інфікованих вірусом тютюнової мозаїки // Физиология и биохимия культ. растений. 2003. Т. 35. № 1. С. 43–47.
10. Чигрин В. В., Шутова Е. А., Саутич М. А. Изменение активности пероксидазы у устойчивых и восприимчивых сортов пшеницы при заражении стеблевой ржавчиной // Физиология растений. 1973. Т. 20. Вып. 1. С. 79–85.
11. Чигрин Т. В., Задорожна О. А., Петренко В. П. Активність поліфенолоксидази у різних за стійкістю до вовчка (*Orobanche cumana* Wallr.) генотипів соняшника // Физиология и биохимия культ. растений. 2012. Т. 44. № 4. С. 355–360.
12. Чигрин Т. В., Задорожна О. А. Активність пероксидази у батьківських ліній та гібридів соняшнику при інокуляції вовчком // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 15. № 1008. С. 109–115.
13. Antonova T. S., Terborg S. J. The role of peroxidase in the resistance of sunflower against *Orobanche cumana* in Russia // Weed Research. 1996. Vol. 36. N 2. P. 113–121.
14. Buze-Dragomir L., Niculescu M. Researches on the catalase and Peroxidase activity at sunflower plants, infected by phytopatogenic fungi // Annals of the University of Craiova. 2010. Vol. 15. P. 1–8.
15. Eizenberg H., Plakhine D., Hershenhorn J. et al. Resistance to broomrape (*Orobanche* spp.) in sunflower (*Helianthus annuus* L.) is temperature dependent // J. Exp. Bot. 2003. Vol. 54. N 385. P. 1305–1311.
16. Hernandez J. A., Diaz-Vivancos P., Rubio M. et al. Long-term plum pox virus infection produces an oxidative stress in a susceptible apricot, *Prunus armeniaca*, cultivar but not in a resistant cultivar // Physiologia Plantarum. 2006. Vol. 126. Is.1. P. 140–152.
17. Honiges A., Wegmann K., Ardelean A. Orobanche Resistance in sunflower // Helia. 2008. Vol. 31. N 49. P. 1–12.
18. Korn M., Gartner T., Erban A. et al. Predicting *Arabidopsis* freezing tolerance and heterosis in freezing tolerance from metabolite composition // Molecular Plant. 2010. Vol. 3. N 1. P. 224–235.
19. Lamb C. J., Lawton M. A., Dron M. et al. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack // Cell. 1989. Vol. 56. P. 215–224.
20. Luhová L., Lebeda A., Hedererová D. et al. Activities of amine oxidase, peroxidase and catalase in seedlings of *Pisum sativum* L. under different light conditions // Plant Soil Environ. 2003. Vol. 49. N 4. P. 151–157.
21. Magbanua Z. V., Moraes C. M., Brooks T. D. et al. Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*? // Mol. Plant Microbe Interact. 2007. Vol. 20. 6. P. 697–706.
22. Mona C. M. Active Oxygen Species in Plant Defense against Pathogens // Plant. Physiol. 1994. Vol. 105. P. 467–472.
23. Song G.-S., Zhai H.-L., Peng Y.-G. et al. Comparative transcriptional profiling and preliminary study on heterosis mechanism of super-hybrid rice // Molecular Plant. 2010. August. P. 1–14.

CATALASE ACTIVITY VARIATION IN SUNFLOWER ACCESSIONS DIFFERENTED BY BROOMRAPE (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) RESISTANCE**T. Chigrin, O. Zadorozhna**

*Plant Production Institute n.a.V.Ya.Yuriev
142, Moskovsky Ave., Kharkiv 61060, Ukraine
e-mail: olzador@ukr.net*

Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) activity of investigated sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines and hybrids exceeded the activity in the line-standard susceptible to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). CAT activity depended on the genotype. Increasing of CAT activity under inoculation was revealed in most cases. The heterosis of CAT activity only in some combinations of hybrids was detected. We have shown no correlation between Og_5 presence and CAT activity.

Keywords: Helianthus annuus, Orobanche cumana, resistance, catalase activity, genotype.

ВАРЬИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ У РАЗНЫХ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАРАЗИХЕ (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) ОБРАЗЦОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА**Т. Чигрин, О. Задорожная**

*Институт растениеводства имени В. Я. Юрьева
пр. Московский, 142, Харьков 61060, Украина
e-mail: olzador@ukr.net*

Активность каталазы (КАТ) (КФ1.11.1.6) исследованных образцов подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) превышала этот показатель у стандарта восприимчивости к заразихе (*Orobanche cumana* Wallr.). При инокуляции образцов в большинстве случаев наблюдали увеличение активности КАТ. Активность КАТ варьировала в зависимости от генотипа образца. Гетерозис по активности КАТ был лишь в отдельных комбинациях у гибридов Сх1012А/Х536В, Сх2111А/Х711В. Закономерная связь между наличием гена Og_5 и активностью каталазы не выявлена.

Ключевые слова: Helianthus annuus, Orobanche cumana, устойчивость, активность каталазы, генотип.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА РІВНОВАГА НАСІННЯ *FRAXINUS EXCELSIOR* L. В УМОВАХ МІСЬКОГО СЕРЕДОВИЩА

Г. Россихіна-Галича

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
Науково-дослідний інститут біології
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

У насінні ясеня звичайного (*Fraxinus excelsior* L.) з урбофітоценозу м. Дніпропетровська визначено вміст ТБК-активних продуктів і рівні активності супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1), каталази (КФ 1.11.1.6) і пероксидази (КФ 1.11.1.7). Установлено зростання вмісту продуктів ліпопероксидації й активності каталази в 1,1–1,3 рази та зниження активності СОД у 2–3 рази й пероксидази в 1,6–2,6 рази в насінні міського фітоценозу порівняно з умовним контролем. Зроблено висновок про активацію процесів пероксидації й активності каталази в насінні ясеня звичайного як пристосувальну реакцію рослинного організму до екологічних умов антропогенно забруднених урбофітоценозів.

Ключові слова: *Fraxinus excelsior* L., аерополітанти, супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидаза, малоновый діальдегід.

Міські урбоценози є прикладом комплексного впливу негативних природних і антропогенних стресорів на ріст і розвиток рослин, їхню здатність до репродукції. Репродуктивна стратегія є головним чинником реалізації адаптивних можливостей виду, його ефективного відтворення та розповсюдження. Виявлення видів рослин, що мають високий рівень екологічної адаптації та пластичності до умов урбосередовища, – важливе завдання сучасності [7]. Актуальними на даний час стають питання реконструкції та відновлення міських насаджень. У зв'язку з цим важливим є вивчення впливу міського середовища на насінневе розмноження та продуктивність рослин, що дає змогу оцінити фізіологічну пластичність біологічного виду за певних екологічних умов, визначити толерантність видів рослин до дії негативних факторів і запропонувати асортимент стійких рослин для озеленення промислового міста [15].

Деякі аспекти стану насіння деревних рослин в умовах міста є вивченими, наприклад, зменшення морфометричних характеристик насіння [2, 6, 20], появи великої кількості пустого насіння [4], зниження вмісту в насінні крохмалю, сахарози та жирів [2], зниження активності амінотрансфераз і зміни їх ізоферментного складу [3], редукція вмісту легкорозчинних білків та пригнічення активності інгібіторів протеїназ [18], зростання пулу відновленого глутатіону й активності глутатіон-S-трансферази і глутатіон-редуктази [19], але адаптивні особливості стану прооксидантно-антиоксидантної рівноваги насіння деревних рослин в умовах урбосередовища вивчені недостатньо. Захисні механізми рослин не просто забезпечують виживання організмів, а й спрямовані на реалізацію онтогенетичної програми при тривалому впливі забруднюючого чинника. Значну роль у реакціях-відповідях рослин на несприятливі умови середовища відіграють саме окисно-відновні процеси, зокрема реакції, що відбуваються за участю кисневих радикалів. У клітинах існує динамічна рівновага (про-/антиоксидантна) між утворенням активних форм кисню (АФК) та їх ліквідацією, яка здійснюється за допомогою багатокомпонентної

системи антиоксидантного захисту. До її найважливіших високомолекулярних компонентів, які безпосередньо знешкоджують АФК, є СОД, каталаза та пероксидази. Оскільки роботи, що розглядають зміни про-/антиоксидантної рівноваги в насінні деревних рослин в умовах міського середовища, практично відсутні, то нашою метою було дослідити активність ключових антиокисно-відновних ферментів і вміст ТБК-активних продуктів у репродуктивних органах ясеня звичайного.

Матеріали та методи

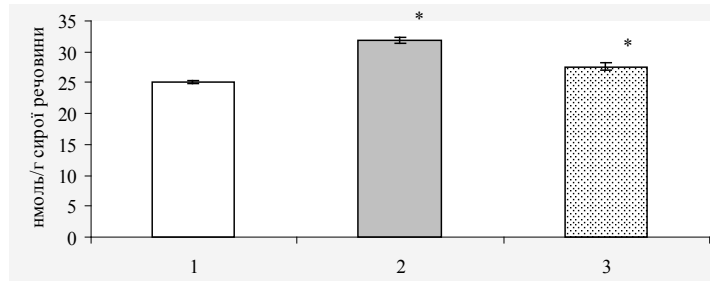
Як тест-об'єкт було обрано один із найбільш поширених на території м. Дніпропетровська, видів ясеня (*Fraxinus L.*) – ясень звичайний (*Fraxinus excelsior L.*). Для визначення фізіолого-біохімічних показників з дорослих рослин ясеня збирали стигле насіння на ділянках: I – Ботанічний сад Дніпропетровського національного університету ім. О. Гончара (умовний контроль), II – пр. Гагаріна, III – вул. Г. Сталінграда. Усереднена проба для кожної ділянки формувалась із насіння від 5–10 дерев одного вікового стану, яке висушували за кімнатної температури до постійної ваги. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних продуктів спектрофотометричним методом [16], що ґрунтується на визначенні концентрації забарвленого комплексу, який утворюється в результаті реакції малонового діальдегіду (МДА) з 2 молекулами тіобарбітурової кислоти у кислому середовищі при температурі 99–100°C. Ферментативну активність СОД (КФ 1.15.1.11) оцінювали за рівнем гальмування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію у присутності нікотинамідаденіндинуклеотиду та феназинметасульфату [12]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за кількістю розкладеного пероксиду водню під дією ферменту [13], а бензидин-пероксидази (КФ 1.11.1.7) – за швидкістю реакції окислення бензидину до утворення продукту синього кольору згідно з методом, описаним А. Н. Бояркіним [10]. Статистичну обробку даних проведено за допомогою статистичного пакету Microsoft Excel 2000, різницю між вибірками вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що зростання деревних рослин в урбофітоценозах, які характеризуються підвищеним вмістом газоподібних поллютантів у повітрі та важких металів у ґрунтах, пов'язане з низкою наслідків, що виявляються не лише на морфологічному, але і на фізіологічному рівні [5]. Для оцінки фізіологічного стану насіння *Fraxinus excelsior L.* проводили визначення рівня ТБК-активних продуктів, які відображають вміст МДА. Дослідження показало, що його вміст збільшувався в умовах урбоекосистеми в 1,3–1,1 разу у зразках II та III ділянки відповідно (див. рисунок).

Відомо, що одним із продуктів вільнорадикального окислення біополімерів є МДА, який слугує маркером окисного стресу. МДА утворюється при атакуванні синглетним киснем ($O_2^{\cdot-}$) та гідроксил-радикалом ($\cdot OH$) молекул поліненасичених жирних кислот, зокрема лінолевої в 9-, 12-, 13-, 16-положеннях для $\cdot OH$, та в 9-, 10-, 21-, 13-, 15-, 16-положеннях для $O_2^{\cdot-}$ [8]. Можна припустити, що суттєве зростання вмісту МДА у насінні ясеня звичайного із забруднених ділянок свідчить про те, що аерополлютанти індукували інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів і, як наслідок, інтенсифікацію прискорення старіння. Слід зазначити, що отримані нами результати узгоджуються з даними К. Тянь [17] і J.M. Sung [33] для насіння *Glycine max L.*, а також С. Bailly зі співавторами [23] для насіння *Helianthus annuus*. Ці автори показали, що прискорене старіння індукує накопичення МДА.

Ці зміни відображаються на рівні протекторних сполук насіння ясеня звичайного. Так, комплекс умов м. Дніпропетровська з високим рівнем техногенного забруднення [21] призводить до зміни активності ключових ферментів-антиоксидантів (СОД, КАТ і ПО) з утворенням пероксиду водню та молекулярного кисню.



Вміст малонового діальдегіду в стиглому насінні *Fraxinus excelsior* L., зібраному на ділянках: 1 – ботанічний сад (умовний контроль); 2 – пр. Гагаріна; 3 – вул. Г. Сталінграда. * – достовірна різниця зі значенням контролю.

Основну роль у зниженні рівня супероксидного радикала відіграє супероксид-дисмутаза, яка каталізує реакцію дисмутації $O_2^{\cdot-}$ з утворенням пероксиду водню та молекулярного кисню. Літературні дані свідчать про тісний зв'язок між стійкістю рослин до того чи іншого впливу та підвищеною активністю СОД, тобто посиленою здатністю клітин і тканин знешкоджувати активні форми кисню [1, 9]. Нами встановлено у репродуктивних органах *Fraxinus excelsior* L. із антропогенно забруднених територій достовірно зниження активності даного ферменту в 2,8 (II) та 1,7 (III) рази порівняно з контрольним насінням (табл. 1). Відомо, що зниження активності ферменту може відбуватись у разі обробки рослин важкими металами [26, 30], сольового стресу [27, 31], інокуляції патогенами [25], при старінні клітин [22, 29] та ін. Спадання активності СОД може бути пов'язане зі зниженням пулу даного ферменту (посиленою його витратою на гасіння радикалів $O_2^{\cdot-}$), а також зі зниженням синтезу і підвищенням деградації його молекул. В інактивації та деградації СОД можуть брати участь АФК – гідроксильні радикали та пероксид водню [24]. Зокрема, H_2O_2 може відновлювати Cu^+ , який, взаємодіючи з новою молекулою пероксиду водню, утворює $Cu^{2+}OH^{\cdot}$ [1]. Цей зв'язаний *in situ* радикал OH^{\cdot} викликає окисну модифікацію амінокислотних послідовностей в активному центрі ферменту, що призводить до його інактивації [24].

Активність бензидин-пероксидази, що каталізує розкладання пероксиду водню, зокрема, утвореного СОД з $O_2^{\cdot-}$, за участю різних субстратів, у насінні ясеня достовірно знижувалась у 2,6 (II точка відбору проб) та 1,6 (III точка відбору проб) рази щодо контрольного насіння (табл. 1). З урахуванням літературних даних це можна пояснити тим, що у разі хронічної дії поллютантів на рослину в тканинах насіння ясеня звичайного починають діяти інші ферменти антиоксидантного захисту, які допомагають бензидин-пероксидазі розщеплювати пероксид [11].

Відомо, що пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів, що призводить до стійкості рослин [11, 32]. Такі ферменти розщеплення пероксиду, як каталаза, можуть моделювати гомеостаз пероксиду і, відповідно, його сигнальну здатність. Каталаза каталізує розщеплення пероксиду водню до кисню та води, запобігаючи його токсичному ефекту, проте, на відміну від пероксидаз, вона не потребує відновленого субстрату для активності [11, 28]. Зниження активності каталази призводить до утворення реакційно агресивного ініціатора ПОЛ – гідроксильного радикала – і може бути діагностичною ознакою чутливості рослин до антропогенних навантажень [14]. В умовах дії комплексного антропогенного стресу активність каталази насіння *Fraxinus excelsior* L. збільшується щодо контрольних зразків в 1,3–1,1 рази відповідно II і III точкам відбору проб (див. таблицю).

Вплив аерополлютантів на активність СОД (ум. од./г тк.),
 каталази (мккатал/г тк.) та пероксидази (ум. од./г тк.)
 у насінні ясеня звичайного з різних районів м. Дніпропетровська

Ділянка	Активність СОД, М±m	P<0,05	Активність каталази, М±m	P<0,05	Активність пероксидази, М±m	P<0,05
I (К)	27,01±3,62	–	2,77±0,01	–	10,59±0,36	–
II	9,54±1,15	0,04	3,60±0,06	0,04	4,10±0,10	0,003
III	16,00±0,98	0,05	3,13±0,07	0,03	6,64±0,27	0,001

Таким чином, отримані результати свідчать, що досліджувані фізіолого-біохімічні показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги беруть участь у підтримці гомеостазу насіння ясеня звичайного з урбофітоценозу м. Дніпропетровська. Аерополлютанти справляють негативний вплив на репродуктивні органи *Fraxinus excelsior* L., свідченням чого є збільшення вмісту МДА. Показано, що в метаболічних процесах і реакціях, пов'язаних із захистом і стійкістю клітин насіння до дії поллютантів, беруть участь антиоксидантні ферменти: СОД, КАТ і ПО. Зареєстрований факт зниження активності СОД, ПО та збільшення КАТ вказує на активну роботу цих ензимів у знешкодженні активних форм кисню.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48. № 6. С. 465–474.
2. Бессонова В. П., Юсыпова Т. И. Семенное возобновление древесных растений и промышленные поллютанты (SO₂ и NO₂). Запорожье: Запорожский гос. ун-т, 2001. 193 с.
3. Більчук В. С. Вплив техногенного забруднення на активність і компонентний склад амінотрансфераз репродуктивних органів деревних рослин // Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. (Дніпропетровськ, 2005). С. 6.
4. Воронин В. И. Действие серосодержащих эмиссий на пихту сибирскую в Южном Прибайкалье: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Иркутск, 1989. 19 с.
5. Гарифзянов А. Р., Горелова С. В., Иванищев В. В. Физиологические реакции *Tilia Cordata* Miller. в условиях урбоэкосистемы // Развитие современной экологии [Електрон. ресурс]. Режим доступа: ecotext.ru/12.html
6. Грицай З. В., Денисенко О. Г. Насіннева продуктивність деревних рослин в умовах забруднення довкілля викидами металургійного підприємства // Вісн. Дніпропетровськ. ун-ту. Сер. біол. Екол. 2011. Вип. 19. Т. 2. С. 40–44.
7. Журавлева А. Н. Эколого-биологическое состояние и особенности размножения растений в условиях урбанизированной среды: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08. Тольятти, 2012. 18 с.
8. Казначеева М. М. Дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи часнику сорту «Дюшес» // Вісн. Запорізьк. ун-ту. 2010. № 1. С. 136–140.
9. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Сорос. обзор. журн. 1999. № 9. С. 20–26.
10. Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
11. Пацула О., Демків О. Каталаза та адаптація рослин соняшника до токсичної дії кадмію та свинцю // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 225–230.
12. Перслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 20–23.

13. Пleshков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
14. 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.
15. Приймак О. П. Вплив викидів автотранспорту на насінневу продуктивність декоративних квіткових рослин // Екологічні питання співіснування: людина – рослина: матеріали Всеукр. конф. (Дніпропетровськ, 2009). С. 154–159.
16. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. К.: Фотосоціоцентр, 2001. 200 с.
17. Тянь К., Сунн С., Лэй И. Гибель клеток и метаболизм активных форм кислорода в зародышевых осях семян сои при ускоренном старении // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 1. С. 37–45.
18. Філонік І. О. Вплив техногенного забруднення Дніпропетровська на показники білково-амінокислотного обміну і системи протеолізу у насінні гіркого каштану звичайного та клену гостролистого // Рослини та урбанізація: матеріали I міжнар. наук.-практ. конф. (Дніпропетровськ, 2007). С. 159–160.
19. Хроміх Н. О. Стан глутатіон-залежної системи *Aesculus hippocastanum* за умов антропогенного забруднення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 58. С. 265–270.
20. Шупранова Л. В. Наслідки впливу комплексного забруднення міського середовища на стан генеративного потомства деревних рослин // Екологічні питання співіснування: людина – рослина: матеріали Всеукр. конф. (Дніпропетровськ, 2009). С. 283–286.
21. Шупранова Л. В., Кучма В. М. Видові особливості змін деяких показників насіння деревних порід в умовах міського середовища // Інтродукція, селекція та захист рослин: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Донецьк, 2012). С. 235.
22. Abarca D., Martin M., Sabater B. Differential leaf response in young and senescent plants // *Physiol. Plant.* 2001. Vol. 113. P. 409–415.
23. Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Come D. Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds // *Physiol. Plant.* 1998. Vol. 104. P. 646–652.
24. Casano L. M., Gomez L. D., Lascano H. R. et al. Inactivation and degradation of CuZn-SOD by active oxygen species in wheat chloroplasts exposed to photooxidative stress // *Plant Cell Physiol.* 1997. Vol. 38. P. 433–440.
25. Hernandez J., Rubio M., Olmos E. et al. Oxidative stress induced by long-term plum pox virus infection in peach (*Prunus persica*) // *Physiol. Plant.* 2004. Vol. 122. P. 489–495.
26. Mishra A., Choudhuri M. A. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice // *Biol. Plant.* 1999. Vol. 42. P. 409–415.
27. Muthukumarasamy M., Dutta Gupta S., Panneerselvam R. Enhancement of peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase activities by triadimefon in NaCl stressed *Raphanus sativus* L. // *Biol. Plant.* 2000. Vol. 43. P. 317–320.
28. 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.
29. Sairam R. K., Singh D. K., Srivastava G. C. Changes in activity of activity of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages // *Biol. Plant.* 2003. Vol. 47. P. 61–66.
30. Sandalio L., Dalurzo H., Gomez M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *J. Exp. Bot.* 2001. Vol. 52. P. 2115–2126.
31. Santos C., Campos A., Azevedo H., Caldeira G. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism // *J. Exp. Bot.* 2001. Vol. 52. P. 351–360.

32. *Schutzendubel A., Polle A.* Plants responses to abiotic stress: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization // *J. Exp. Bot.* 2002. Vol. 53. N 372. P. 1351–1365.
33. *Sung J. M.* Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during ageing // *Physiol. Plant.* 1996. Vol. 97. P. 85–89.

Стаття: надійшла до редакції 22.11.12

доопрацьована 05.02.13

прийнята до друку 07.02.13

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE OF THE *FRAXINUS EXCELSIOR* SEEDS IN THE CONDITIONS OF URBAN ENVIRONMENT

A. Rossihina-Galicha

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Research Institute of Biology
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

The accumulation of TBA-active products as well as levels of superoxide dismutase (КФ 1.15.1.1), catalase (КФ 1.11.1.6) and peroxidase (КФ 1.11.1.6) activity was defined in the European ash seeds from the Dnepropetrovsk urban-phytocenosis. The increase of the lipoperoxidation products content and catalase activity in 1,1-1,3 times as well as the decrease in SOD activity and peroxidase in 2–3 times in the urban-phytocenosis seeds relatively the conditional control is ascertained. It is concluded that activation of peroxidation processes and activity of superoxide dismutase in the seeds is the adaptive response of plant organism to environmental conditions of anthropogenic pollution of urbophytocenoses.

Keywords: *Fraxinus excelsior* L., aeropollutants, superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase, TBA-active products.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ СЕМЯН *FRAXINUS EXCELSIOR* L. В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

A. Россихина-Галычая

*Днепропетровский национальный университет
имени Олеса Гончара, НИИ биологии
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

В семенах ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior* L.) из урбофитоценоза г. Днепропетровска определяли накопление ТБК-активных продуктов и уровни активности супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6) и пероксидазы (КФ 1.11.1.7). Установлено увеличение содержания продуктов липопероксидации и активности каталазы в 1,1–1,3 раза, а также снижение активности СОД и пероксидазы в 2–3 раза в семенах городского фитоценоза относительно условного контроля. Сделан вывод, что активация процессов пероксидации и активности супероксиддисмутазы в семенах ясеня обыкновенного является приспособительной реакцией растительного организма к экологическим условиям антропогенно загрязненных урбофитоценозов.

Ключевые слова: *Fraxinus excelsior* L., аэрополлютанты, супероксиддисмутазы (СОД), каталаза, пероксидаза, ТБК-активные продукты.

ВПЛИВ ГЕРБІЦИДІВ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ГІБРИДУ КУКУРУДЗИ БІЛОЗІРСЬКИЙ 295СВ

В. Більчук, Г. Россихіна-Галича, Т. Легостаєва, Ю. Шмагайло

*Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара, НДІ біології
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Досліджено вплив ґрунтових гербіцидних препаратів (Харнес, Мерлін) на активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, пероксидази та накопичення продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у листках проростків кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ на ранніх стадіях онтогенезу. Встановлено, що адаптивна здатність гібриду до гербіцидного стресу реалізується завдяки підвищенню активності оксидоредуктаз. Встановлено наявність взаємозв'язку між активностями ферментів і рівнем накопичення ТБК-активних продуктів.

Ключові слова: кукурудза, СОД, каталаза, пероксидаза, малоновий діальдегід, гербіцидний стрес.

У розвитку загального адаптаційного синдрому організмів до абіотичних і біотичних стресорів середовища, в тому числі і гербіцидів, однією з перших неспецифічних реакцій є посилення процесів перекисного окислення ліпідів, яке призводить до перебудови метаболізму рослин як на рівні клітин, так і всього організму [3, 6]. Тому зміщення про-/антиоксидантної рівноваги в напрямі активації ПОЛ є інформативнішим показником для оцінки ступеня впливу різних факторів на організм. Підтримка стаціонарного фізіологічно нормального рівня вільнорадикальних процесів у клітині забезпечується завдяки функціонуванню антиоксидантної системи, до якої належать ферментативні та низькомолекулярні компоненти [7, 8, 10, 11, 14]. Провідну роль в елімінації кисневих радикалів і перериванні вільнорадикальних реакцій відіграє СОД [9, 18, 20]. Основні функції регуляторної діяльності клітини виконують пероксидаза та каталаза, які забезпечують нормальних хід окиснювальних процесів за дії несприятливих умов. Наявність в організмі кількох ферментів, які виконують одну і ту ж каталітичну функцію, – є цінною властивістю, яка розширює адаптаційні можливості організму, що особливо важливо для життєздатності рослин за стресових умов [4, 10, 11, 16, 17]. Стан антиоксидантної системи за дії гербіцидів у тканинах рослин на різних стадіях онтогенезу висвітлено недостатньо [1, 4, 5, 12, 18]. Залишаються недослідженими спрямованість і співрозмірність змін фізіолого-біохімічних показників, що характеризують життєздатний функціональний стан рослин.

Тому метою роботи є одержання кількісної оцінки змін активності основних антиоксидантних ферментів і нагромадження ТБК-активних продуктів у листках проростків в умовах дії гербіцидного забруднення і визначення кореляційних залежностей між цими показниками.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були проростки кукурудзи середньостиглого гібриду Білозірський 295СВ на ранніх стадіях онтогенезу. Насіння гібридної кукурудзи вирощували протягом 2 діб у рулонах фільтрувального паперу на дистильованій воді.

На 3-тю добу проростки переносили на розчини ґрунтових гербіцидних препаратів у концентраціях, максимально наближених до виробничих Харнес (2,9 ммоль/л) і Мерлін (1,2 ммоль/л). У фотосинтезуючих частинах проростків – листках – визначали активність СОД за рівнем гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію [21], каталази за кількістю розкладеного перекису водню [15], пероксидази за швидкістю реакції окиснення бензидину згідно з А.Н. Бояркіним [13] та вміст ТБК-активних продуктів (ТБКАП) за М.М. Мусієнком зі співавт. [19]. Статистичну обробку даних і кореляційно-регресивний аналіз здійснено за допомогою програми Microsoft Statistica 6.0, розбіжності між вибірками вважали значущими при $p < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Результати аналізу фізіолого-біохімічних показників гібриду Білозірський 295СВ в умовах дії досліджуваних ґрунтових гербіцидів показали наявність зміщення про-/антиоксидантної рівноваги в напрямку активації ПОЛ. Про це свідчать результати накопичення ТБК-активних продуктів у листках проростків. Так, вміст ТБКАП у листках проростків підвищувався в 1,1–1,2 разу залежно від тривалості дії ксенобіотиків і типу гербіцидів. Істотна інтенсифікація процесу ПОЛ відбувалася за дії препарату Харнес. Максимальну кількість ТБКАП зареєстровано на 3-тю добу дії гербіцидів. З подовженням тривалості експозиції до 5 діб відзначали зниження даного показника (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни вмісту ТБК-активних продуктів у листках гібриду Білозірський 295СВ за дії препаратів Харнес і Мерлін, ммоль/г сирової речовини

Варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	1 доба	3 доба	5 доба
Контроль	248,4±11,8	283,9±16,4	270,2±11,5
Харнес (2,9 ммоль/л)	322,9±13,2	369,1±13,3	324,2±11,3
Мерлін (1,2 ммоль/л)	298,1±14,1	369,1±14,2	351,2±11,3

Підтримка гомеостазу клітин гібриду Білозірський 295СВ забезпечується завдяки підвищенню активності одного з основних антиоксидантних ферментів – СОД в 1,1–1,5 разу. Найбільше значення активності ензиму, яке зафіксоване на 3-тю добу впливу препаратів, збігається з терміном підвищення вмісту ТБК-активних продуктів (табл. 2).

Таблиця 2

Зміни активності супероксиддисмутази в листках гібриду Білозірський 295СВ за дії препаратів Харнес і Мерлін, ум.од./г сирової речовини•хв.

Варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	1 доба	3 доба	5 доба
Контроль	20,3±0,3	21,0±0,1	20,8±0,1
Харнес (2,9 ммоль/л)	23,3±0,1	27,3±0,1	24,9±0,1
Мерлін (1,2 ммоль/л)	26,4±0,05	32,2±0,06	29,2±0,06

Незважаючи на підвищений рівень активності СОД, антиоксидантний захист у листках проростків не був би достатньо ефективним без участі інших антиоксидантів – пероксидази та каталази, які включаються у процес детоксикації продуктів пероксидації (табл. 3, 4).

Аналіз результатів визначення активності пероксидази в листках проростків за дії гербіцидних препаратів свідчить про достовірне збільшення рівня цього показника в 1,3–1,8 разу, порівняно з контролем. Крива залежності пероксидазної активності від тривалості дії гербіцидів проходить через максимум на 5-ту добу гербіцидного стресу (табл. 3). Слід зазначити, що для проростків гібриду підвищення активності ензиму за дії препарату Мерлін було істотним, порівняно з дією гербіциду Харнес.

Таблиця 3

Зміни активності пероксидази в листках гібриду Білозірський 295СВ за дії препаратів Харнес і Мерлін, ум.од./г сирової речовини•хв

Варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	1 доба	3 доба	5 доба
Контроль	26,35±0,16	35,88±0,25	43,6±0,11
Харнес (2,9 ммоль/л)	39,53±0,33	46,64±0,31	47,96±0,14
Мерлін (1,2•ммоль/л)	36,89±0,33	53,82±0,31	65,4±0,24

У ході адаптації до негативної дії продуктів ПОЛ в умовах гербіцидного забруднення бере участь і каталаза, яка пришвидшує процес розкладання пероксиду водню на молекулярний кисень і воду [3, 16, 17]. Каталазна активність у всіх варіантах дослідів була вищою, ніж у контролі, в 1,3–1,4 разу (табл. 4). Підвищення активності каталази свідчить про стійкість рослинного організму до стресу [16, 17]. Активність антиоксидантів залишалась на підвищеному рівні протягом експерименту.

Таблиця 4

Зміни активності каталази в листках гібриду Білозірський 295СВ за дії препаратів Харнес і Мерлін, ммоль Н₂О₂/г сирової речовини•хв.

Варіант	Тривалість дії гербіцидів		
	1 доба	3 доба	5 доба
Контроль	8,3±0,04	8,7±0,02	9,3±0,07
Харнес (2,9 ммоль/л)	10,7±0,03	10,9±0,02	11,6±0,02
Мерлін (1,2•ммоль/л)	10,7±0,04	12,2±0,02	13,0±0,05

Подальший аналіз взаємозв'язку фізіолого-біохімічних показників у листках проростків кукурудзи за дії гербіцидів виявив деякі особливості. За рівнем коефіцієнта кореляції між вмістом ТБКАП й активністю оксидоредуктаз можна стверджувати факт участі всіх компонентів захисту в процесі знешкодження активних форм кисню. Особливістю для гібриду Білозірський є наявність позитивного прямого зв'язку між вмістом ТБК-продуктів і активністю СОД, каталази та пероксидази (табл. 5) за дії препарату Харнес. Взаємозв'язок між рівнем ТБК і пероксидазною активністю ($r=0,74$) є близький до функціонального. За дії препарату Мерлін за показником коефіцієнта кореляції усі взаємозв'язки є функціональними і значимими (табл. 6).

Таблиця 5

Кореляційні залежності між активністю оксидоредуктаз і вмістом ТБК-активних продуктів у листках кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ за дії препарату Харнес

Показник	ТБК	СОД	Каталаза	Пероксидаза
ТБК	–	0,97	0,85	0,74
СОД	0,97	–	0,86	0,73
Каталаза	0,85	0,86	–	0,83
Пероксидаза	0,74	0,73	0,83	–

Деякі розбіжності у значеннях коефіцієнта кореляції між накопиченням ТБК й активністю каталази і ТБК–пероксидази за дії різних препаратів вказують на особливості участі компонентів антиоксидантного захисту в детоксикації продуктів ПОЛ. Зниження значення $r=0,74$ для залежності вміст ТБК – активність пероксидази, ймовірно, свідчить про участь ферменту в інших процесах метаболізму одночасно з реакцією окиснення органічних сполук (фенолів, амінів та ін.) у присутності пероксиду водню [2].

Регресивні залежності між вмістом ТБК-активних продуктів і активністю антиоксидантів вказали на мінливість рівня взаємозв'язку між цими показниками за коефіцієнтом детермінації (R^2). Найвищий рівень сполученості виявлено для показників накопичення ТБК-продуктів і активністю СОД упродовж дії досліджуваних гербіцидів.

Позитивний корелятивний зв'язок високого ступеня ($R^2=0,88$) відзначено між рівнем утворення ТБК-активних продуктів і активністю каталази в умовах дії гербіциду Мерлін. Слід зазначити, що відповідні коефіцієнти детермінації в умовах дії Харнесу були дещо нижчими, ніж для препарату Мерлін, що підтверджує токсичність останнього (табл. 7). Поряд із цим, необхідно відзначити низький рівень коефіцієнта детермінації для взаємозв'язку нагромадження ТБК-продуктів і активністю пероксидази (0,54 за дії Харнеса та 0,74 за дії Мерліну), що свідчить про наявність у ферменту додаткових функцій, не пов'язаних із детоксикацією пероксиду водню. Підтвердженням цього є низький рівень зв'язку між активністю СОД і пероксидази за умов гербіцидного стресу. Проте спостерігається тісний взаємозв'язок між активністю СОД і каталази за стресових умов, що свідчить про включення каталази в детоксикаційний процес рослинного метаболізму за дії ксенобіотиків.

Таблиця 6

Кореляційні залежності між активністю оксидоредуктаз і вмістом ТБК-активних продуктів у листках кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ за дії препарату Мерлін

Показник	ТБК	СОД	Каталаза	Пероксидаза
ТБК	–	0,98	0,94	0,86
СОД	0,98	–	0,92	0,75
Каталаза	0,94	0,92	–	0,91
Пероксидаза	0,86	0,75	0,91	–

Наведені результати досліджень активності СОД і накопичення ТБК-активних продуктів у листках проростків дали можливість встановити, що на початковому етапі стресового впливу гербіцидних препаратів наявний слабкий ($r=0,65$) рівень сполученості між цими показниками.

Таблиця 7

Значення коефіцієнта детермінації між активністю оксидоредуктаз і вмістом ТБК-активних продуктів у листках кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ за дії препаратів Харнес і Мерлін

Взаємозв'язок між показниками	Коефіцієнт детермінації	F	$p \leq 0,05$	
ТБК(x)–СОД(y)	0,94	Харнес	60,08	0,001
		Мерлін		
ТБК(x)–СОД(y)	0,96	Харнес	85,44	0,001
		Мерлін		
ТБК(x)–КАТ(y)	0,72	Харнес	10,35	0,032
		Мерлін		
ТБК(x)–КАТ(y)	0,88	Харнес	29,06	0,005
		Мерлін		
ТБК(x)–ПЕР(y)	0,54	Харнес	4,79	0,094
		Мерлін		
ТБК(x)–ПЕР(y)	0,74	Харнес	11,50	0,027
		Мерлін		
СОД(x)–ПЕР(y)	0,53	Харнес	4,59	0,098
		Мерлін		
СОД(x)–ПЕР(y)	0,57	Харнес	5,21	0,085
		Мерлін		
СОД(x)–КАТ(y)	0,74	Харнес	11,24	0,028
		Мерлін		
СОД(x)–КАТ(y)	0,84	Харнес	20,74	0,010
		Мерлін		
ПЕР(y)–КАТ(x)	0,69	Харнес	8,85	0,041
		Мерлін		
ПЕР(y)–КАТ(x)	0,82	18,22	0,013	

Однак із продовженням тривалості експозиції (упродовж 3–5 діб) кореляційний зв'язок посилюється ($r=0,90-0,97$). Аналогічна тенденція спостерігається і для залежності між активністю каталази та вмістом ТБК-активних продуктів, а також між активністю СОД і каталази, що свідчить про посилення корелятивного зв'язку зі збільшенням тривалості інтоксикації. На відміну від цього, результати кореляційного аналізу між активністю пероксидази та накопиченням ТБКАП дали можливість виявити зниження рівня сполученості цих показників зі збільшенням тривалості впливу гербіцидів (табл. 8).

Отже, можна стверджувати, що токсична дія гербіцидів на проростки кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ проявляється в істотному порушенні прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, що підтверджується відповідним посиленням накопиченням ТБК-продуктів, яке корелює з підвищенням активності оксидоредуктаз. Варіювання рівня спорідненості між цими показниками вказують на зміни у функціонуванні компонентів антиоксидантного захисту.

Таблиця 8

Значення коефіцієнтів детермінації та кореляції між активністю оксидоредуктаз і вмістом ТБК-активних продуктів у листках кукурудзи гібриду Білозірський 295СВ за різної тривалості дії гербіцидів

Тривалість дії гербіцидів, доба	Коефіцієнт детермінації	Коефіцієнт кореляції	$p \leq 0,05$
		ТБК(x)–СОД(y)	
1	0,42	0,65	0,55
3	0,81	0,90	0,29
5	0,96	0,97	0,13
		ТБК(x)–ПЕР(y)	
1	0,98	0,99	0,09
3	0,84	0,92	0,26
5	0,75	0,87	0,33
		ТБК(x)–КАТ(y)	
1	0,89	0,95	0,21
3	0,87	0,93	0,24
5	0,99	0,99	0,03
		СОД(x)–ПЕР(y)	
1	0,56	0,75	0,46
3	0,99	0,99	0,02
5	0,90	0,95	0,20
		СОД(x)–КАТ(y)	
1	0,74	0,86	0,33
3	0,99	0,99	0,04
5	0,98	0,99	0,09
		КАТ(x)–ПЕР(y)	
1	0,96	0,98	0,12
3	0,99	0,99	0,02
5	0,79	0,89	0,30

Отже, проростки гібриду Білозірський 295СВ є стійкими до гербіцидного забруднення завдяки включенню в стресових умовах трьох компонентів антиоксидантного захисту і наявності прямого корелятивного зв'язку високого ступеня між активністю оксидоредуктаз і рівнем продуктів ПОЛ. Істотне посилення зазначеного зв'язку (ТБК–СОД) після 1-добової експозиції пояснюється, на нашу думку, синтезом нових ізоформ ензиму.

Одночасне дослідження багатьох показників антиоксидантного захисту і продукції ПОЛ дають можливість виявити індивідуальний вклад кожного компонента в загальний антиоксидантний потенціал рослинних організмів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Адаптогенез растений к пестицидам / Н.А. Рябченко, Н.П. Коцюбинская, Е.В. Домашнева и др. Днепропетровск: Пороги, 2000. 193 с.
2. Андреева В. А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 1988. 128 с.
3. Барбой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. 420 с.
4. Винниченко О. М. Захисні механізми рослин за дії гербіцидів // Наукові записки Тернопіль. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. біол. 2002. № 3 (18). С. 90–92.
5. Винниченко О. М., Більчук Г. 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.
6. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовск. общ. образов. журнал. 2000. Т. 6. № 12. С. 13–19.
7. Возможное регуляторное влияние ПОЛ на активность H^+ -АТФ-азы плазмалеммы в условиях стресса / А.П. Веселов, Л.Н. Курганова, А.В. Лихачева и др. // Физиология растений. 2002. Т. 49. № 3. С. 385–389.
8. Гришко В. Н., Сыщиков Д. В. Пероксидное окисление липидов и функционирование некоторых антиоксидантных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом // Укр. біохім. журнал. 1999. Т. 71. № 3. С. 51–57.
9. Губаренко Ю. Ю., Більчук В. С. Стан антиоксидантної системи в меристемах кукурудзи за дії сполук кадмію та гіпертермії // Strategiczne pytania swiatowej nauki: materialy VI miedzynarodowej naukowo-praktycznej konf. (Przemysl, 2010). С. 65–67.
10. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Е.Л. Кордюм, К.М. Сытник, В.В. Бараненко и др. К.: Наук. думка, 2005. 278 с.
11. Косаківська І. В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. К.: Сталь, 2003. 192 с.
12. Костышин С. С., Руденко С. С., Морозова Т. В. Ксенобиотики и антиоксидантная система организмов // Ксенобиотики и живые системы: материалы III Междунар. науч. конф. (Минск, 2008). С. 78–81.
13. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова, 3-е изд. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
14. Платонова А. А., Костышин С. С. Вміст малонового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів у проростках гороху за дії іонів кадмію // Физиология и биохимия культурных растений. 2000. Т. 32. № 2. С. 146–150.
15. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1968. 183 с.
16. Половникова М. Г. Экофизиология стресса / Марийский гос. ун-т. Йошкар-Ола, 2010. 200 с. [Электронный ресурс].
17. 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.
18. Россихіна Г. С. Супероксиддисмутазна активність різних за стійкістю ліній кукурудзи при комбінованій дії гербіциду 2,4-Д амінна сіль та ґрунтової посухи // Strategiczne pytania swiatowej nauki: materialy VI Miedzynarodowej naukowo-praktycznej konf. 2010. (Przemysl, 2010). С. 40–42.

19. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М.М. Мусієнко, Т.В. Паршикова, П.С. Славний. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 200 с.
20. *Стороженко В. О.* Ключові антиоксидантні ферменти фотосинтетичного апарату вищих рослин за дії стресових чинників // Физиология и биохимия культурных растений. 2004. Т. 36. № 1. С. 36–42.
21. *Чевари С., Чаба И., Секей Й.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лабораторное дело. 1985. № 11. С. 678–681.

Стаття: надійшла до редакції 22.11.12

доопрацьована 24.01.13

прийнята до друку 19.02.13

THE INFLUENCE OF HERBICIDES ON FUNCTION OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF MAIZE HYBRID BILOZIRSKIJ 295CV

V. Bilchuck, A. Rossihina-Galicha, T. Legostajeva, J. Shmagajlo

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Research Institute of Biology
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

It has been investigated influence of soil herbicide preparations (Harnes, Merlin) on activity of superoxidismutase, peroxidase, catalase and accumulation of peroxide oxidation lipid products (POL) in vegetative parts of maize seedlings of hybrid Belozerskij 295CV on early ontogenesis stages. It has been established that adaptation ability of hybrid to herbicide stress realizes by activity increase of all oxidoreductases. Close correlation between enzyme activities and accumulation of TBK-active products in ontogenesis process is revealed.

Keywords: maize, SOD, catalase, peroxidase, malonyl dialdehyde, herbicide stress.

ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГИБРИДА КУКУРУЗЫ БЕЛОЗЕРСКИЙ 295СВ

В. Бильчук, А. Россихина-Гальчая, Т. Легостаева, Ю. Шмагайло

*Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара,
НИИ биологии
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: anna-rossihina@rambler.ru*

Исследовано влияние почвенных гербицидных препаратов (Харнес, Мерлин) на активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, пероксидазы и накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в вегетативных частях проростков кукурузы гибрида Белозерский 295СВ на ранних стадиях онтогенеза. Установлено, что адаптивная способность гибрида к гербицидному стрессу реализуется за счет повышения активности оксидоредуктаз. Установлено наличие тесной взаимосвязи между активностями ферментов и накоплением ТБК-активных продуктов в процессе онтогенеза.

Ключевые слова: кукуруза, СОД, каталаза, пероксидаза, малоновый диальдегид, гербицидный стресс.

**ВПЛИВ ЧЕРВОНОГО СВІТЛА НА АКТИВНІСТЬ
САХАРОЗОФОСФАТСИНТАЗИ І САХАРОЗОСИНТАЗИ
У ЛИСТКАХ ТОМАТІВ (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.)**

А. Щоголев, В. Жмурко

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, Харків 61022, Україна
e-mail: zhmurko@univer.kharkov.ua*

У вегетаційних дослідях вивчали активність сахарозофосфатсинтази (СФС) і сахарозосинтази (СС) у листках росади сорту томатів ранніх строків дозрівання Кременчуцький та сорту пізніх строків дозрівання Асе 55 vf за активації фітохромів червоним (ЧС, 660 нм) і далеким червоним (ДЧС, 730 нм) світлом та їх комбінацією (ЧС+ДЧС). Встановлено, що активність ферментів у обох сортів змінювалася залежно від довжини хвилі червоного світла. Реакція сортів за активністю СФС і СС на цей чинник різнилася. Припускається, що активність досліджених ферментів підлягає фітохромному контролю.

Ключові слова: томати (*Lycopersicon esculentum* Mill.), фітохром, сахарозофосфатсинтаза, сахарозосинтаза, вуглеводний обмін.

Система фітохромів є головною у сприйнятті рослинами інформаційного світлового сигналу. Її активація червоним світлом різної довжини хвилі (у діапазоні 600–750 нм) обумовлює «аналіз» рослиною якості, кількості, тривалості й періодичності та напряму освітлення, тривалості фотоперіоду. Залежно від отриманої інформації, у рослині адекватно змінюється перебіг фізіолого-біохімічних процесів, що обумовлюється експресією світлозалежних генів, які визначають реалізацію програми росту і розвитку [12–15].

У реалізації програми розвитку рослин беруть участь вуглеводи. Вони, за сучасних уявлень, виконують не тільки енергетичну і пластичну функцію. Встановлено, що вуглеводи здатні виступати у ролі сенсорів та сигналів, які задіяні у експресії/репресії низки генів, котрі регулюють перебіг фізіолого-біохімічних процесів, а також тих, які детермінують ріст і розвиток рослин [2, 7, 12, 16–18].

Серед вуглеводів у пластичному й енергетичному обміні рослин, а також у сигнальних їх функціях вагоме місце належить сахарозі. Вона є носієм активованих гексоз, які легко включаються до метаболізму без додаткових енергетичних витрат, джерелом для синтезу моносахаридів і сахаронуклеотидів, енергетичним ресурсом для різноманітних біосинтетичних процесів [6, 7, 17].

Викладене вище дає підставу вважати, що дослідження окремих аспектів обміну вуглеводів у рослин за активації фітохромів має вагоме значення для поглиблення уявлень про механізми реалізації фітохромних ефектів у рослинному організмі.

Однією з центральних ланок обміну вуглеводів у рослин є синтез і розщеплення сахарози. Ці процеси здійснюються функціонально поєднаними ферментами СФС і СС. Активність цих ферментів у рослин різних видів, залежно від впливу чинників середовища, досить детально досліджена [6–8]. Виявлена залежність активності СФС від тривалості дня у рослин різних фотоперіодичних груп [2].

Раніше нами показано, що у рослин томатів відкритого ґрунту, вирощених із росади з активованими фітохромами, змінюються кількості різних форм вуглеводів [10], темпи

розвитку та продуктивність [4, 9]. Активація фітохромів також змінює активність амілаз у листках розсади томатів [3]. Проте у літературі відсутні дані щодо впливу активації системи фітохромів на активність СФС і СС у листках рослин томатів. Ці дані є вагомими для поглиблення уявлень про фітохромну регуляцію активності ферментів вуглеводного обміну. Тому вивчення цього питання було метою наших досліджень.

Матеріали та методи

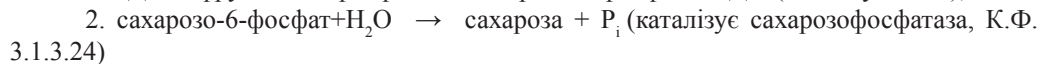
У досліджах використовували томати (*Lycopersicon esculentum* Mill.) – сорт ранніх строків дозрівання Кременчуцької селекції Інституту овочівництва і баштанництва НААНУ та сорт пізніх строків дозрівання Асе 55 vf селекції компанії Asgrow (США). Використання різних сортів обумовлене можливістю прояву генотипових відмінностей між ними за реакцією на активацію фітохромів.

Рослини вирощували у факторостатній камері кафедри фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна у ґрунтовій культурі. Використовували 0,3-літрові пластикові посудини зі сумішшю чорнозем:пісок – 3:1. У кожному варіанті досліджу було по 30 рослин (одна рослина на посудину). Освітлювали рослини люмінесцентними лампами у комбінації з лампами розжарювання (3:1 за потужністю). Інтенсивність освітлення на рівні верхніх листків рослин – 18–20 кЛк, тривалість фотоперіоду 18 год, температура $26 \pm 1/20 \pm 1^\circ\text{C}$ (день/ніч). Рослини регулярно поливали і підживлювали мінеральними добривами.

Рослини опромінювали у фазі 3–4 справжніх листків на початку темного періоду по 15 хв протягом 15 діб. Схема досліджу: 1) – контроль (неопромінені рослини), 2) – опромінення ЧС (660 нм), 3) – опромінення ДЧС (730 нм), 4) – опромінення ЧС+ДЧС (15+15 хв). Джерелом ЧС слугувала світлодіодна матриця, яка включала 24 світлодіоди з максимумом випромінювання 660 ± 3 нм, джерелом ДЧС – випромінювач зі світлофільтром УФС-1 (максимум пропускання 730 ± 2 нм) [5].

Для визначення активності ферментів використовували повністю розвинені листки (другі від верхівки), відібрані у 10–15 рослин. Зразки листків відбирали на початку світлового періоду (о 9⁰⁰) та через три години (о 12⁰⁰) для визначення можливих змін активності ферментів протягом світлового періоду. Листки ополіскували дистильованою водою, ретельно промокали фільтрувальним папером для видалення вологи, подрібнювали ножицями з нержавіючої сталі, ретельно перемішували для одержання середнього зразка і брали необхідну для аналізу наважку.

Активність сахарозофосфатсинтази (СФС) – (УДФ-глюкоза:D-фруктозо-6-фосфат-2-α-глюкозилтрансфераза, К.Ф. 2.4.1.14) визначали за [7, 8]. Метод ґрунтується на визначенні вмісту сахарози, що утворюється в реакціях:



Ферментний препарат одержували шляхом гомогенізації 1 г листків з 8 мл трис-НСІ буферу (рН 7,5) з додаванням 1мМ ЕДТА, 10 мМ MgCl₂. Екстракт центрифугували при 10 000 g 10 хв. Надосадову рідину використовували як ферментний препарат. Всі операції виконували при 4°C. Інкубаційна суміш (0,3 мл) містила: 50 мкл цитратного буферу (рН 7,5); 50 мкл MgSO₄ 90 мкМоль; 50 мкл УДФГ 60 мкМоль; 50 мкл глюкозо-6-фосфат 240 мкМоль; 50 мкл фруктозо-6-фосфат 60 мкМоль; 50 мкл ферментного препарату. Контрольна суміш містила такі ж компоненти, але у ній фермент до інкубації інактивували шляхом прогрівання на киплячій водянній бані 1 хв. Інкубацію проводили 60 хв при 35°C, по завершенні якої фермент інактивували, як і в контролі.

Вміст сахарози у контролі та після інкубації визначали резорциновим методом. Для цього пробірки з 50 мкл інкубаційної суміші та 50 мкл 5 н NaOH поміщали на 5 хв на киплячу водяну баню. Після охолодження у пробірки додавали 0,5 мл резорцину, 3,5 мл 30% HCl, нагрівали на водяній бані 20 хв при 80°C. Оптичну щільність розчину вимірювали на фотоелектроколориметрі КФК-2МП при довжині хвилі 540 нм. Активність ферменту виражали у мкМоль синтезованої сахарози на 1 г маси сирової речовини за годину.

Активність сахарозсинтази (UDP-глюкоза:D-фруктоза-2- α -D-глюкозилтрансфераза, К.Ф. 2.4.1.13) визначали за [7, 8]. Вона проявляє гідролітичну та синтетичну активність. Гідролітичну активність визначали відповідно до реакції: сахароза + УДФ \rightarrow УДФ-глюкоза + D-фруктоза. Метод ґрунтується на визначенні вмісту сахарози, який зменшується відповідно до наведеної реакції.

Ферментний препарат СС одержували так, як вказано вище для препарату СФС. Інкубаційна суміш для визначення активності СС (0,2 мл) містила: 50 мкл цитратного буферу (рН 6,4); 50 мкл УДФ 10 мкМоль; 50 мкл сахарози 20 мкМоль; 50 мкл ферментного препарату. Контрольна суміш містила такі ж компоненти, але фермент до інкубації інактивували шляхом прогрівання на киплячій водяній бані 1 хв. Інкубацію проводили при 35°C 15 хв, по завершенні якої фермент інактивували як і в контролі.

Вміст сахарози визначали, як описано вище при визначенні активності СФС. Активність СС виражали в мкМоль розщепленої сахарози на 1 г маси сирової речовини за годину.

Було проведено три серії дослідів, у яких активність ферментів визначали через 12 діб після початку опромінення рослин. Біохімічні аналізи виконані у триразовій аналітичній повторності. Результати оброблені статистично. На рисунках наведені середні значення та їхні стандартні відхилення. Істотність різниці у активності ферментів щодо контролю оцінювали за критерієм Стьюдента (t) на рівні значущості $P \leq 0,05$ та $P \leq 0,01$ [1].

Результати і їхнє обговорення

Результати дослідження активності СФС у листках розсади сорту ранніх строків дозрівання Кременчуцький наведені на рис. 1. Показано, що на початку світлового періоду (9⁰⁰) за впливу ЧС активність ферменту суттєво підвищувалася (майже удвічі), порівняно з контролем. Через три години (12⁰⁰) активність СФС знижувалася практично до рівня активності у контролі. За впливу ДЧС та ЧС+ДЧС її активність як о 9⁰⁰, так і о 12⁰⁰ була однаковою і при цьому неістотно нижчою, ніж у контролі (рис. 1).

У листках розсади сорту томату пізніх строків дозрівання Асе 55 vf (рис. 2) активність СФС за впливом ЧС і ЧС+ДЧС о 9⁰⁰ істотно підвищувалася, а за впливу ДЧС – не змінювалася. О 12⁰⁰ активність цього ферменту в контролі та у варіантах опромінення ЧС і ДЧС істотно зростала, а у варіанті опромінення ЧС+ДЧС, навпаки, незначно знижувалася, порівняно з активністю о 9⁰⁰. Імовірно, це може бути пов'язано зі зростанням інтенсивності утворення сахарози по мірі збільшення тривалості періоду фотосинтезу. Тим не менше, за всіх варіантів активації фітохромів, активність СФС о 12⁰⁰ була такою ж, як і у контролі (рис. 2).

Таким чином, результати вивчення активності СФС у листках томатів різних строків дозрівання показали, що вона залежить від активації фітохромів. У обох сортів ця залежність більшою мірою проявляється на початку світлового періоду.

Аналіз результатів визначення активності СФС у досліджуваних сортів показав, що вони різняться за характером її зміни протягом часу від 9 до 12 год світлового періоду. У сорту ранніх строків дозрівання активність ферменту за цей проміжок часу практично

не змінюється у контролі та за опромінення ДЧС і ЧС+ДЧС, але знижується за дії ЧС. Водночас у сорту пізніх строків дозрівання активність ферменту в контролі та за впливу ЧС і ДЧС з 9⁰⁰ до 12⁰⁰ зростає, а за впливу ЧС+ДЧС – знижується. Ймовірно, що ці відмінності між сортами можуть бути пов'язані з їхніми генотиповими особливостями в інтенсивності утворення сахарози протягом фотосинтезу й особливостями прояву реакції на активацію системи фітохромів.

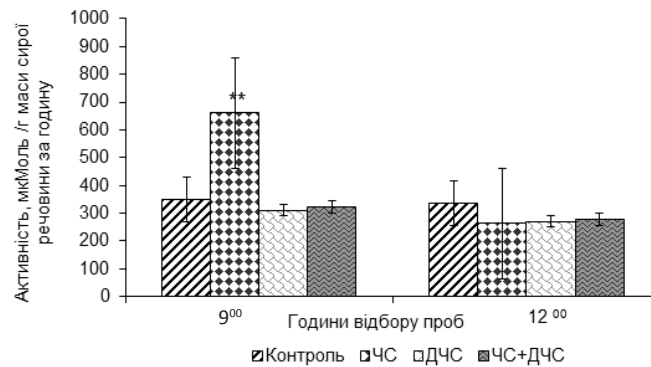


Рис. 1. Активність сахарозофосфатсинтази у листках розсади сорту томатів ранніх строків дозрівання Кременчуцький за активації фітохромів, мкМоль синтезованої сахарози/г маси сирої речовини за годину. * – різниця з контролем істотна при $P \leq 0,01$.

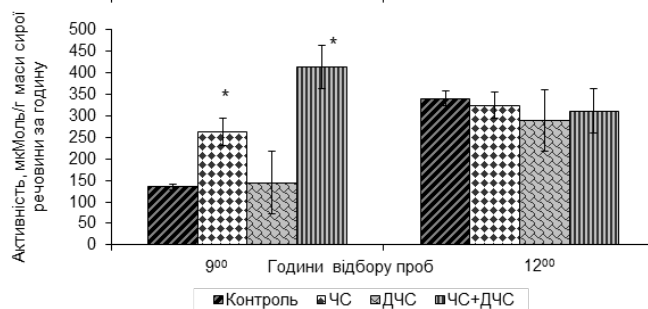


Рис. 2. Активність сахарозофосфатсинтази у листках розсади сорту томатів пізніх строків дозрівання Асе 55 vF за активації фітохромів, мкМоль синтезованої сахарози/г маси сирої речовини за годину. * – різниця з контролем істотна при $P \leq 0,05$.

Визначення активності СС у листках розсади сорту ранніх строків дозрівання Кременчуцький показало (рис. 3), що опромінення рослин ЧС, ДЧС та ЧС+ДЧС обумовлювало зниження її активності на початку світлового періоду (9⁰⁰), порівняно з нею у неопромінених рослин. О 12⁰⁰ активність ферменту за активації фітохромів зростала, а у контролі, навпаки знижувалася, порівняно з активністю о 9⁰⁰. Разом з тим, активність СС за дії ЧС і ДЧС була такою ж, а за впливу ЧС+ДЧС – нижчою, ніж у контролі (рис. 3).

У листках розсади сорту пізніх строків дозрівання Асе 55 vF (рис. 4) активність СС на початку світлового періоду (о 9⁰⁰) за активації фітохромів була нижчою, ніж у контролі. У період з 9⁰⁰ до 12⁰⁰ активність ферменту в усіх варіантах дослідження знижувалася. При цьому за дії ЧС і ДЧС проявлялася лише тенденція до зменшення активності, водночас ЧС+ДЧС обумовило її істотне зниження, порівняно з контролем (рис. 4).

Таким чином, у листках розсади обох сортів на початку світлового періоду активація фітохромів викликала зниження активності СС. По мірі подовження його тривалості цей ефект проявлявся лише за опромінення рослин ЧС+ДЧС.

Аналіз результатів проведених дослідів показує, що активність СФС і СС у листках розсади в обох досліджуваних сортів за впливу активації фітохромів червоним світлом змінюється. При цьому зміна активності ферментів залежить від довжини хвилі червоного світла. У досліджуваних сортів по-різному проявляються зміни у характері активності ферментів, залежно від довжини хвилі червоного світла. Викладене дає підстави вважати, що активність СФС та СС підлягає фітохромному контролю.

На нашу думку, зміни в активності СФС і СС протягом світлового періоду (у наших дослідах з 9⁰⁰ до 12⁰⁰) можна пояснити тим, що в цих умовах відбувається зміна співвідношення інтенсивності процесів синтез/розщеплення сахарози, у яких беруть участь функціонально поєднані ферменти – СФС та СС. Той факт, що у досліджуваних сортів по-різному змінюється активність ферментів за активації фітохромів червоним світлом різної довжини хвилі, ймовірно, пов'язаний із генотиповими відмінностями між ними за здатністю синтезу тих чи інших форм фітохромів.

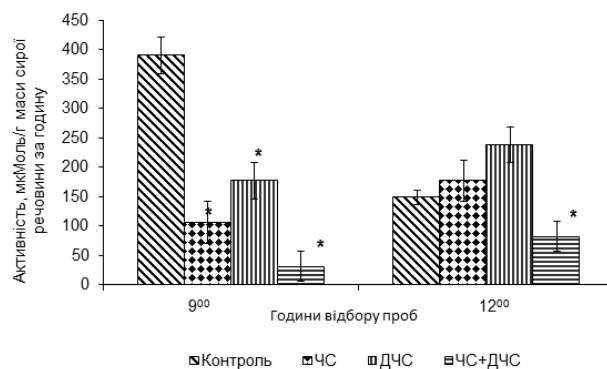


Рис. 3. Активність сахарозсинтази у листках розсади сорту ранніх строків дозрівання Кременчуцьких за активації фітохромів, мкМоль гідролізованої сахарози/г маси сирої речовини за годину. * – різниця з контролем істотна при $P \leq 0,05$.

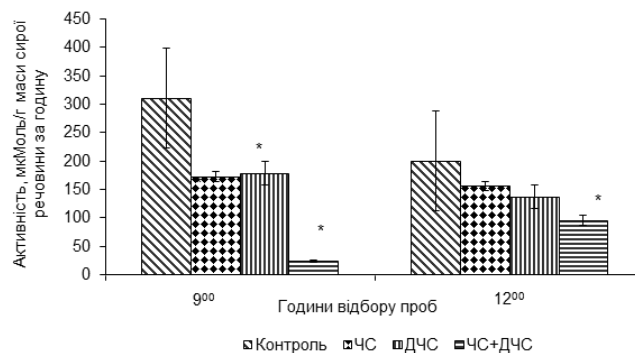


Рис. 4. Активність сахарозсинтази у листках розсади сорту пізніх строків дозрівання Ace 55 vf за активації фітохромів, мкМоль гідролізованої сахарози/г маси сирої речовини за годину. * – різниця з контролем істотна при $P \leq 0,05$.

Відомо, що різні види рослин синтезують різні форми фітохромів у певному співвідношенні, від чого залежить і рівень поглинання червоного світла у діапазоні 660–730 нм, а відтак і активація тих чи інших форм фітохромів [11, 14]. Різні види рослин по-різному реагують на вплив ЧС, ДЧС та їх поєднання [13, 16]. Не виключено, що це властиво і різним сортам (генотипам) рослин. Відповідно, це може обумовлювати різний рівень активації тієї чи іншої форми фітохромів, а відтак і різний рівень прояву його ефекту на фізіолого-біохімічні процеси.

Підвищення активності СФС під впливом ЧС на початку світлового періоду (9^{00}) у обох сортів може бути обумовлене тим, що опромінення на початку темного періоду сприяє переходові значної кількості неактивної форми фітохромів (Φ_k) у його активну форму (Φ_{dk}), а це може бути чинником зростання активності ферменту. Підвищення активності СФС на початку світлового періоду (9^{00}) у сорту пізніх строків дозрівання Асе 55 vf за впливу ДЧС, ймовірно, можна пояснити його здатністю утворювати більшу кількість РНУА, на відміну від сорту ранніх строків дозрівання Кременчуцький. Ця форма фітохромів може активуватися за дії ДЧС [16], що, ймовірно, й обумовлює підвищену активність СФС у сорту Асе 55 vf, на відміну від сорту Кременчуцький.

Однією з причин зниженої гідролітичної активності СС на початку світлового періоду в обох досліджених сортах за активації фітохромів може полягати у такому. Система фітохромів є вагомою складовою біологічного годинника рослин, тому її активація синхронізує перебіг внутрішніх фізіолого-біохімічних процесів зі зміною світлових умов у доквітлі [11, 13, 14]. Ми схилиємося до думки, що активація фітохромів у кінці світлового періоду в наших дослідах зумовила їхню дію в напрямі переважання рівня синтетичних процесів над гідролітичними, у тому числі і синтезу сахарози над її гідролізом. З цієї причини гідролітична активність сахарозосинтази на початку світлового періоду (9^{00}) знижувалася. Зазначимо, що о 12^{00} за впливу ЧС і ДЧС проявлялася тенденція до зростання активності цього ферменту в сорту Кременчуцький і зниження в сорту Асе 55 vf, що, ймовірно, пояснюється генотиповими відмінностями між ними. За впливу ЧС+ДЧС у ці години активність СС була нижчою, ніж у контролі в обох сортах, що можна пояснити посиленням синтезу сахарози на фоні істотного інгібування її гідролізу за рахунок активації РНУА та переходу РНУ В у неактивну форму під впливом ДЧС, який діяв відразу після опромінення ЧС.

Таким чином, одержані результати дають підстави припустити, що одна з центральних ланок обміну вуглеводів у листках рослин томатів (синтез і розщеплення сахарози), у якій вагома роль належить функціонально пов'язаним ферментам – СФС та СС, підлягає фітохромному контролю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Доспехов Б. А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка его данных. М.: Колос, 1972. 205 с.
2. Жмурко В. В. Фотоперіодизм рослин: фізіолого-біохімічні та генетичні аспекти. – Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: в 2 т. НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, Укр. т-во фізіологів рослин: голов. ред. В.В. Моргун. К.: Логос, 2009. Т. 1. С. 537–565.
3. Жмурко В. В., Щоголев А. С. Вплив червоного світла на активність амілолітичного комплексу у листках томатів // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: в 2 т. НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, Укр. т-во фізіологів рослин: голов. ред. В.В. Моргун. К.: Логос, 2009. Т. 1. С. 637–641.

4. Жмурко В. В., Щёголев А. С., Ярош Т. Г. Влияние активации фитохромов на продуктивность и раннеспелость томатов открытого грунта // Управление продукционным процессом в агротехнологиях 21 века: реальность и перспективы. Белгород: Отчий край, 2010. С. 145–148.
5. Патент на винахід №77206, A01G7/04. Спосіб вирощування розсади овочевих культур у захищеному ґрунті / В.В. Жмурко, А.С. Щоголев. Опубл. 15.11.2006, Бюл. № 11.
6. Сакало В. Д. Роль и регуляция ключевого фермента биосинтеза сахарозы – сахарозофосфатсинтазы // Физиология и биохимия культ. растений. 2002. Т. 34. № 6. С. 463–474
7. Сакало В. Д., Курчий В. М. Роль эндогенной сахарозы в регуляции активности сахарометаболизирующих ферментов в сахарной свекле // Физиология и биохимия культ. растений. 2007. Т. 39. № 1. С. 78–81.
8. Сакало В. Д., Курчий В. М. Регуляция углеводного метаболизма эндогенной сахарозой в онтогенезе листьев сахарной свеклы // Физиология и биохимия культ. растений. 2007. Т. 39. № 6. С. 506–513.
9. Щёголев А. С., Жмурко В. В. Действие красного света на продуктивность томатов // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2006. №1 (8). С. 77–81.
10. Щёголев А. С., Жмурко В. В. Влияние красного света на содержание углеводов в листьях томатов // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2008. 7, №814. С. 205–210.
11. Clapham D., Dormling I., Ekberg I. et al. Latitudinal cline for requirement for far-red light for the photoperiodic control of bud set and extension growth in *Piceaabies* // Physiologia Plantarum. 1998. Vol. 102. P. 71–78
12. Corbesiert L., Coupland G. The quest for florigen: a review of recent progress // J. Exp. Bot. 2007. Vol. 57. N 13. P. 3395–3403.
13. Lagercrantz U. At the end of the day: a common molecular mechanism for photoperiod responses in plants? // J. Exp. Bot. 2009. Vol. 60. No9. P. 2501–2515.
14. Mathews S. Phytochrome Evolution in Green and Nongreen plants // J. Heredity. 2005. Supl. 96(3). P. 197–204.
15. Nagy F., Eberhard S. Phytochromes control photomorphogenesis by differentially regulated, interacting signaling pathways in higher plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. Vol. 53. P. 329–355.
16. Niittylä T., Messerli G., Trevisan M. et al. A previously unknown maltose transporter essential for starch degradation in leaves // Science. 2004. Vol. 303. P. 87–89.
17. Rolland F., Moore B., Sheen J. Sugar sensing and signaling in plants // The Plant Cell. 2002. Vol. 14. P. 185–205.
18. Smith A. M., Zeeman S. C., Thorneycroft D., Smith S. M. Starch mobilization in leaves // J. Exp. Bot. 2003. Vol. 54. N 382. P. 577–583.

Стаття: надійшла до редакції 14.12.12

доопрацьована 20.02.13

прийнята до друку 26.02.13

**EFFECT OF RED LIGHT ON THE ACTIVITY OF SUCROSE PHOSPHATE
SYNTHASE AND SUCROSE SYNTHASE IN TOMATO LEAVES
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.)**

A. Schogolev, V. Zhmurko

*V.N. Karazin Kharkov National University
4, Svobody Sq., Kharkov 61020, Ukraine
e-mail: zhmurko@univer.kharkov.ua*

In vegetative experiments the sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SS) activity in leaves of tomato cultivar Kremenchug with early maturing and cultivar Ace 55 vf with late maturing under phytochrome activation by red (660 nm), far-red (730 nm) light and their combination (660 + 730 nm) have been investigated. The enzyme's activity have shown to alter in both cultivar depending of the red-light wavelength. The cultivar reaction of SPS and SS activity for this factor was different. It's suppose, that activity of investigated enzymes submitted to phytochrome control.

Keywords: tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), **phytochromes**, **sucrose phosphate synthase**, **sucrose synthase**, **carbohydrates metabolism**.

**ВЛИЯНИЕ КРАСНОГО СВЕТА НА АКТИВНОСТЬ
САХАРОЗОФОСФАТСИНТАЗЫ И САХАРОЗОСИНТАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ТОМАТОВ
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.)**

А. Щёголев, В. Жмурко

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
пл. Свободы, 4, Харьков 61022, Украина
e-mail: zhmurko@univer.kharkov.ua*

В вегетационных опытах изучали активность сахарозофосфатсинтазы (СФС) и сахарозосинтазы (СС) в листьях рассады сорта томатов ранних сроков созревания Кременчугский и сорта поздних сроков созревания Ace 55 vf при активации фитохромов красным (КС, 660 нм), дальним красным (ДКС, 730 нм) светом и их комбинацией (КС+ДКС). Показано, что активность ферментов у обоих сортов изменялась в зависимости от длины волны красного света. Реакция сортов по активности СФС и СС на этот фактор различалась. Предполагается, что активность исследованных ферментов подвержена фитохромному контролю.

Ключевые слова: томаты (*Lycopersicon esculentum* Mill.), **фитохромы**, **сахарозофосфатсинтаза**, **сахарозосинтаза**, **углеводный обмен**.

ЗМІСТ
БІОФІЗИКА

А. Бабський, Б. Джордж, Н. Банзал
Дослідження перфузійних та дифузійних процесів за допомогою ямр у печінці шурів, інтоксикованих карбонтетрахлоридом 3

А. Зинь, Н. Головчак, Д. Санагурський
Окисна модифікація білків у зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. упродовж ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію 11

БІОХІМІЯ

М. Онисковець
Комет-аналіз ступеня ушкодження ДНК лімфоцитів крові *Cyprinus carpio* L. за дії йонів свинцю 20

В. Гавриляк, Г. Седіло
Електрофоретична характеристика протеїнів, виділених із кератинових волокон різних типів 25

І. Степанець, О. Моргаєнко, Л. Остапченко
Білковий склад сироватки крові шурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації 30

БОТАНІКА

М. Пірогов, Н. Чепелевська
Cercidospora epipolytropha (Mudd) Arnold в Українських Карпатах 37

А. Одінцова
Два основних типи септальних нектарників однодольних 41

О. Вашека, Ю. Кліц
Діагностичне значення будови лусок папоротей роду *Asplenium* L. флори України 51

В. Лавріненко
Особливості цвітіння та плодоношення деяких інтродукованих видів роду *Lonicera* L. в умовах ботанічного саду імені академіка О. В. Фоміна 58

С. Измest'єва, І. Данилик
Просторова структура популяції *Carex dioica* L. (*Cyperaceae*) в Україні 63

ГЕНЕТИКА

С. Костенко
Особливості соматичного мутагенезу клітин крові *Bos taurus* і *Sus scrofa* в різних радіоекологічних умовах утримання 73

О. Голуб, Я. Черник, Р. Білий, Н. Голуб
Зміни фенотипових ознак у дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster* за впливу додаткових копій генів *nAchRa-30D*, *Sam*, *Sema-1a* та *Sema-2a* 83

Ю. Борецький, Д. Федорович, В. Борецький, Л. Фаюра, Ю. Пиняга, А. Сибірний
Локалізація мутації *rib83*, що блокує надсинтез рибофлавіну у дріжджів *Pichia guilliermondii* 91

Н. Забуранний, Б. Остап, Л. Горбаль, А. Лужецький, С. Шульга, В. Федоренко
Гомологи глобального регуляторного гену *bldD* у *Actinoplanes*: аналіз *in silico* 98

ЕКОЛОГІЯ

М. Кейван, о. Тертична, О. Кейван, І. Масберг
Стан хвойних рослин (на прикладі сосни звичайної *Pinus sylvestris* L.) у зоні розташування птахофабрики 104

<hr/>	
<i>В. Пророчук</i>	
Рідкісні види комах на території НПП Гуцульщина: сучасний стан і перспективи збереження	110
<i>Т. Микитин</i>	
Види мурашок і їхнє поширення в Українських Карпатах	119
<i>З. Мамчур, І. Більська</i>	
Особливості епіфітних бріофітів в умовах урбоєкосистеми	125
ЗООЛОГІЯ	
<i>Ю. Струс, І. Шидловський</i>	
Міграції куликів (<i>Aves: Charadrii</i>) в орнітологічному заказнику «Чолгинський»	133
МІКРОБІОЛОГІЯ	
<i>Т. Кондратюк, А. Калініченко</i>	
Мікроскопічні гриби у приміщеннях багатоповерхового житлового будинку м. Києва	144
<i>О. Мороз</i>	
Утворення гідроген сульфідів сірководновольовальними бактеріями за впливу солей важких металів	154
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН	
<i>Р. Іскра</i>	
Деякі показники ліпідного, білкового та вуглеводного обмінів у організмі свиноматок і поросят за умов згодкування хром хлориду	166
<i>Б. Манько, Д. Волошин, В. Манько</i>	
Дихання ізольованих ацинусів підшлункової залози щурів	172
<i>Н. Кушняк, О. Іккерт, В. Манько</i>	
Інгібітор транспортувальних Ca^{2+} -АТФаз еозин Y не впливає на дихання і окисне фосфорилування у печінці щура	180
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	
<i>Т. Чигрин, О. Задорожна</i>	
Варіювання активності каталази у різних за стійкістю до вовчка (<i>Orobancha crotaphora</i> Wallr.) зразків соняшнику	189
<i>Г. Россихіна-Галича</i>	
Прооксидантно-антиоксидантна рівновага насіння <i>Fraxinus excelsior</i> L. В умовах міського середовища	195
<i>В. Більчук, Г. Россихіна-Галича, Т. Легостаєва, Ю. Шмагайло</i>	
Вплив гербіцидів на функціонування антиоксидантної системи гібриду кукурудзи Білозірський 295СВ	201
<i>А. Щоголев, В. Жмурко</i>	
Вплив червоного світла на активність сахарозофосфатсинтази і сахарозосинтази у листках томатів (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	208

CONTENS
BIOPHYSICS

A. Babsky, B. George, N. Bansal
Assessment of hepatic perfusion and diffusion in CCl₄ treated rat liver using magnetic resonance imaging 3

A. Zyn, N. Holovchak, D. Sanagursky
Proteins oxidative modification in loach embryos *Misgurnus fossilis* L. during embryogenesis for action sodium hypochlorite 11

BIOCHEMISTRY

M. Onyskovets
Analysis of the DNA-damage level in lymphocytes of the *Cyprinus carpio* L. due to lead ions influence 20

V. Havrylyak, H. Sedilo
Electroforetical characteristics of proteins, extracted from different type of keratin fibres 25

I. Stepanets, O. Morgaienko, L. Ostapchenko
The protein content in blood serum of rats under alcohol intoxication development 30

BOTANY

M. Pirogov, N. Chepelevska
Cercidospora epipolytropa (Mudd) Arnold in the Ukrainian Carpathians 37

A. Odintsova
Two principal models of monocots' septal nectaries 41

O. Vasheka, J. Klishch
Scales morphology and its value for identification of *Asplenium* L. ferns of Ukraine 51

V. Lavrynenko
Features flowering and fruiting some kind introduced species *Lonicera* L. in a botanical garden academician O. V. Fomina 58

S. Izmestieva, I. Danylyk
Spatial structure of *Carex dioica* L. (Cyperaceae) populations in Ukraine 63

GENETICS

S. Kostenko
Characteristics somatic mutagenesis of *Bos taurus* and *Sus scrofa* blood cells in different radioecological conditions 73

O. Holub, Ya. Chernyk, R. Bilyy, N. Holub
Changes in the phenotypic characteristics on dystrophyn mutant of *Drosophila melanogaster* under the impact of additional copies of genes *nAchRa-30D*, *Cam*, *Sema-1a* and *Sema-2a* 83

Y. Boretsky, D. Fedorovych, V. Boretsky, L. Fayura, Y. Pynyaga, A. Sibirny
Localization of mutation *rib83* that blocks over-synthesis of riboflavin by yeast *Pichia guilliermondii* 91

N. Zaburanyi, B. Ostash, L. Horbal, A. Luzhetskyy, S. Shulga, V. Fedorenko
Homologues of global regulatory gene *bldD* in *Actinoplanes*: analysis *in silico* 98

ECOLOGY

M. Keivan, O. Tertychna, O. Keivan, I. Masberh
State conifers (for example *Pinus sylvestris* L.) in the area of location poultry farm 104

<hr/>	
<i>V. Prorochuk</i>	
Rare insect species of the NNP «Gutsulschina»: present state and prospectives for conservation	110
<i>T. Mykytyn</i>	
Ant species and their distribution in the Ukrainian Carpathians	119
<i>Z. Mamchur, I. Bilka</i>	
Epiphytic bryophytes features in urban environment	125
ZOOLOGY	
<i>Y. Strus, I. Shydlovskyy</i>	
Migration of waders (Aves: Charadrii) in the “Cholgini” ornithological reserve	133
MICROBIOLOGY	
<i>T. Kondratyuk, A. Kalinichenko</i>	
Microscopic fungi in rooms of many storeyed residential building of Kyiv city	144
<i>O. Moroz</i>	
Hydrogen sulfide production by sulfur reducing bacteria under influence of hard metals	154
HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY	
<i>R. Iskra</i>	
Lipid, protein and carbohydrate metabolism indices in sows and piglets under feeding chrome chloride	166
<i>B. Manko, D. Voloshyn, V. Manko</i>	
Respiration of isolated acini of rat pancreas	172
<i>N. Kupynyak, O. Ikkert, V. Manko</i>	
The inhibitor of Ca ²⁺ -ATPase eosin Y doesn't influence on respiration and oxidative phosphorylation in the rats liver	180
PLANT PHYSIOLOGY	
<i>T. Chigrin, O. Zadorozhna</i>	
Catalase activity variation in sunflower accessions differentiated by broomrape (<i>Orobanche cumana</i> Wallr.) resistance	189
<i>A. Rossihina-Galicha</i>	
Prooxidant-antioxidant balance of the <i>Fraxinus excelsior</i> seeds in the conditions of urban environment	195
<i>V. Bilchuck, A. Rossihina-Galicha, T. Legostajeva, J. Shmagajlo</i>	
The influence of herbicides on function of antioxidant system of maize hybrid Bilozirskij 295CV	201
<i>A. Schogolev, V. Zhmurko</i>	
Effect of red light on the activity of sucrose phosphate synthase and sucrose synthase in tomato leaves (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	208