

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ, НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

**VII МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ  
СТУДЕНТІВ ТА АСПІРАНТІВ**

МОЛОДЬ І ПОСТУП

# БІОЛОГІЇ

ЗБІРНИК ТЕЗ

(5 – 8 КВІТНЯ 2011 РОКУ, М. ЛЬВІВ)



ЛЬВІВ – 2011

MINISTRY OF EDUCATION, SCIENCE, YOUTH AND SPORTS OF UKRAINE  
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV

VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE  
FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS

YOUTH AND PROGRESS OF  
**BIOLOGY**

ABSTRACTS BOOK  
(APRIL, 5 – 8, 2011, LVIV)



LVIV – 2011

УДК 581.1:577

**Молодь і поступ біології:** збірник тез VII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів (5 – 8 квітня 2011 року, м. Львів). – Львів, 2011. – 412 с.

Збірник тез конференції містить результати наукової роботи студентів і аспірантів України та зарубіжжя. Збірник розрахований на наукових працівників, аспірантів, студентів, що працюють у галузі біології та біомедицини.

За достовірність викладених наукових даних і текст відповідальність несуть автори.

*Організатори конференції висловлюють глибоку подяку ректорату Львівського національного університету імені Івана Франка, Українсько-американському добродійному фонду «Сейбр-Світло».*

**Редакційна колегія:** Хамар І. С., Матійців Н. П., Забуранний Н. В., Рабик М., Ципік О. В., Свідрак К. В., Зинь А., Хохла М., Ференц І. В., Рогуля А. С., Мацях Н. І., Бойко І. В., Буньо Л. В., Василів О. М.

**Науковий комітет:** проф. Тасенкевич Л. О., доц. Прокопів А. І., проф. Гудзь С. П., проф. Манько В. В., проф. Санагурський Д. І., проф. Сибірна Н. І., проф. Терек О. І., проф. Федоренко В. О., проф. Царик Й. В.

**Youth and Progress of Biology:** abstracts book of the VII International Scientific Conference of Students and PhD Students (April 5 – 8, 2011, Lviv). – Lviv, 2011. – 412 p.

Abstracts book contains the results of scientific work of students and PhD students of Ukraine and foreign countries. The book is reckoned on the scientists, PhD students and students, which are working in the field of biology and biomedicine.

The authors are responsible for the trustworthiness of scientific results and for the text.

*The organizers of the conference thank the Rector's Office of Ivan Franko National University of Lviv, the Ukrainian-American beneficial fond "Seibr-Svitlo".*

**Editorial board:** Hamar I. S., Matiytsiv N. P., Zaburanniy N. V., Rabyk M., Tsypik O. V., Svidrak K. V., Zyn' A., Khohla M., Ferents I. V., Rogulya A. S., Matsyah N. I., Boyko I. V., Bun'ò L. V., Vasyliv O. M.

**Scientific committee:** prof. Tassenkevych L.O., doc. Prokopiv A.I., prof. Gudz S. P., prof Klevets M. Y., prof. Sanagursky D. I., prof. Sybirna N. I., prof. Terek O. I., prof. Fedorenko V. O., prof. Tsaryk Y. V.

Міністерство освіти, науки, молоді та спорту України  
Львівський національний університет імені Івана Франка

# Молодь і поступ біології

## ЗБІРНИК ТЕЗ

VII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів  
5 – 8 квітня 2011 року

Львів – 2011

Ministry of Education, Science, youth and sports of Ukraine  
Ivan Franko National University of Lviv

# Youth and Progress of Biology

## ABSTRACTS BOOK

of the VII international scientific conference  
for students and PhD students  
April 5 – 8, 2011

Lviv – 2011

## **ЗМІСТ**

БІОФІЗИКА	6
БІОХІМІЯ	23
БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН	81
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	111
ЕКОЛОГІЯ	176
ЗООЛОГІЯ	206
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІ ТА ІМУНОЛОГІЯ	228
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	285
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	310
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА	351
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК	401

## **CONTENTS**

BIOPHYSICS	6
BIOCHEMISTRY	23
BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION	81
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	111
ECOLOGY	176
ZOOLOGY	206
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	228
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	285
PLANTS PHYSIOLOGY	310
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE	351
INDEX	401

**БІОФІЗИКА / BIOPHYSICS****Бено Ю., Дика М., <sup>1</sup>Скварко К.****ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ДІЇ ПОСТІЙНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ  
НА СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН***Кафедра біофізики та інформатики, Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, e-mail: biolog@franko.lviv.ua**<sup>1</sup>Відділ фізіології і біохімії рослин, Ботанічний сад ЛНУ ім. Івана Франка**вул. М. Черемшини, 44, Львів, 79014, e-mail: botsad@franko.lviv.ua*

Проведено експериментальне дослідження у контрольованих умовах характеру проростання насіння рослин, після обробки насіння цибулі духмяної, платикодону та фізостегії віргінської білої постійним магнітним полем (ПМП) невисокої напруженості.

*Allium odorum* L (цибуля духмяна) - цілюща рослина, багата на вітаміни. За даними сучасної фармакології, вона має жовчогінну, сечогінну дію, зміцнює капіляри, підвищує опірність організму до інфекцій.

*Physostegia virginiana* alba (фізостегія віргінська біла) – багаторічна трав'яниста рослина. Цінність цієї культури полягає у тривалому цвітінні в другій половині літа.

*Platycodon grandiflorum* (платикодон) – трав'яниста рослина, яка характеризується вираженим протизапальним ефектом.

Для дослідів сухе насіння поміщали у ПМП підковоподібний магніт на 30 хв, 3 год, 6 год, 18 год, напруженість якого становила 5, 30 та 60 Е. Сухе насіння поміщали на фільтрувальному папері у чашках Петрі. Чашки витримували до 11 днів у вегетативній кімнаті за температури 22°C та природного освітлення, або при освітленні лампами денного світла (300 лк). Контрольне насіння зволожували дистильованою водою. Кількість насінин, що проросли за весь останній період, – сумарна схожість. Швидкість проростання та схожість насіння розраховували у відсотках після статистичного аналізу результатів, одержаних у 3-х вибірках по 30-50 насінин в кожній із них. Усі зміни за дії ПМП оцінювали щодо часового тренду росту контрольних (інтактних) рослин.

На початку роботи нами було проведено дослідження життєздатності насіння, що зберігалось у лабораторії ботанічного саду. Досліджувалося насіння лікарських і культурних рослин, які є важливими для медицини та побуту. Ми визначали у відсотках схожість насіння, що проросло, до загальної кількості насінин у пробі. За результатами дослідження було відібрано три об'єкти з високою (*Platycodon grandiflorum*), середньою (*Allium odorum*) та низькою схожістю (*Physostegia virginiana*), яких у подальшому ми піддали впливу ПМП різної тривалості (30 хв, 3 год, 6 год, 18 год) і різної інтенсивності (5 Е, 30 Е, 60 Е).

За результатами проведених досліджень впливу ПМП на процеси проростання насіння об'єктів *Platycodon grandiflorum*, *Allium odorum* та *Physostegia virginiana* встановлено, що вплив ПМП був найбільш вираженим на проростання насіння *Physostegia virginiana* і порівняно з контролем був удвічі вищим (зразки, що витримувались у ПМП 3 і 6 год). У свою чергу, мінімальна експозиція в ПМП стимулювала проростання. Ефект впливу ПМП на зразки *Allium odorum* був мінімальним, а в досліді з *Platycodon grandiflorum* мав негативний характер. У випадку з *Platycodon grandiflorum* спостерігалось суттєве стимулювання сходження насіння у пробах, що витримувались в ПМП 30 хвилин. З даних, отриманих при порівняльному аналізі, частка впливу ПМП на проростання насіння була незначною і лише в кількох випадках перевищувала 10%. У свою чергу, експозиція мала найбільший вплив на проростання насіння, причому чим довше витримувався зразок у ПМП, тим суттєвішим був його вплив. У досліді з *Platycodon grandiflorum* частка впливу експозиції на проростання насіння коливалась у межах 95-99%.

Отже, перебування насіння у ПМП змінює його схожість. Цей ефект залежить від напруженості та значною мірою від тривалості дії ПМП. Вплив ПМП тривалістю 30 хв стимулював проростання насіння *Platycodon grandiflorum* і *Physostegia virginiana*.

**<sup>1</sup>Horbay R. O., <sup>2</sup>Kashchak N. I., <sup>2</sup>Stoika R. S.**

VINBLASTINE AND PACLITAXEL INDUCED GIANT CELL FORMATION IN MURINE  
NK/LY LYMPHOMA

<sup>1</sup>National Ivan Franko University of Lviv,  
Hrushevskiyi St., 4, Lviv, 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine,  
14/16, Drahomanov St., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

In 1975, Sellei C., Eckhardt S., Nemeth L. D detected giant cells in cancer cell population of murine NK/Ly lymphoma. These cells were shown to possess multidrug resistance. In the last decade, there has been a significant increase in number of reports related to giant cell formation. However, the role do such giant cells play in cancer diseases is still not clear. Besides, little is known about the signalling pathways in these giant G<sub>2</sub>/M and G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> arrested cells.

Vinblastine (VBL) and paclitaxel (PTX) were shown to induce formation of giant cells, although they have an opposite effect towards  $\beta$ -tubulin, by depolymerizing and hyperpolymerizing it. Our aim was to compare action of PTX and VBL treatment towards giant murine NK/Ly lymphoma cells.

NK/Ly lymphoma cell population was cultivated in vivo by the intraperitoneal inoculation of 25 million cells into C57 black 4-month old mice. Animal weighing was performed every 24 hours. On day 7-10, when the weight increased by 50-60%, mice drainage was performed. To obtain giant cell population ( $D > 17 \mu\text{m}$ ), an injection of 1% VBL solution (maximum 50  $\mu\text{g}$  per animal) or 1% PTX solution (maximum 60  $\mu\text{g}$  per animal) 3 days before drainage was performed.

To evaluate the morphological changes in the treated cells and its organelles following methods were used: average cell size was calculated, as well as percentage of giant cells in hemocytometer chamber; luminescent staining with acridine orange, DAPI, Hoechst 3342 and Giemsa-Romanovsky staining was performed. Pictures were taken by a light microscope and an electron microscope. Cells were evaluated after cell enlargement, mitotic spindle formation, lysosomal activity, cellular blebbing, and other changes in surface. Studies were performed 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours after cell drug treatment.

Most large cell after PTX treatment reached 40  $\mu\text{m}$  in diameter. The largest percentage of giant cell was 83% (12 hours after injection) with an average size of 20.1  $\mu\text{m}$ . 96 hours later the cell population returned to parental one in size and were 13.3  $\mu\text{m}$  large, whereas parental size took 12.7  $\mu\text{m}$ . Almost no mitotic spindle formation was observed in the PTX treated cells. Some of VBL treated cells were up to 85  $\mu\text{m}$  large in diameter and in 10.3% of the cell population the mitotic spindle formation was observed. Highest amount of giant cells took 82.1% 72 hours after VBL injection with an average size of 19.5  $\mu\text{m}$ .

Second injection of PTX caused death of all animals, whereas up to six VBL injections can be performed (the second ones and all other injections 25  $\mu\text{g}$  of VBL and 30  $\mu\text{g}$  of PTX were applied). Giant cells after VBL were twice bigger in their diameter comparing with the PTX treated cells. Almost all VBL treated cells had membrane defects (membrane blebbing), whereas PTX treated had only vacuoles inside the cell (this can be due to different action towards  $\beta$ -tubulin). Thus, an increase in giant cell number was observed already 3 hours after PTX injection, whereas VBL induced giant cell formation was observed only 24 hours after injection. Moreover, defects and an increase in number of mitochondria were observed.

PTX induced more rapid 3 hours after injection giant cell formation, whereas VBL needed 24 hours to reach this effect. VBL caused more significant cell enlargement, mitotic spindle formation and membrane

surface changes. In both cases giant cell formation and a decrease in cell number occurred (up to 30 mln/ml in PTX treated, and 60 mln/ml in VBL treated cells, whereas the number of non-treated cells was 170 mln/ml). Thus, both VBL and PTX, cause changes in cell size, membrane surface and mitochondria in NK/Ly lymphoma cells.

**Довган І., Семочко О. М., Бура М. В., Мандзинець С. М.**

**Санагурський Д. І., Ференсович Я. П., Білий О. І.**

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L.  
ПРИ ОПРОМІНЕННІ СИНІМ І ЗЕЛЕНИМ СВІТЛОМ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: olena-yu@ukr.net*

У різних медичних галузях широкого застосування набула світлодіодна терапія. Існує безліч наукових досліджень, що підтверджують правомірність використання синього та зеленого світла з метою лікування та профілактики багатьох патологічних станів. Опромінення синім світлом піддослідних тварин із захворюванням меланоми органів зору сприяє сповільненню прогресу захворювання, зелене світло використовують з метою лікування глаукоми зору. За допомогою синього світла успішно запобігають появі радіодерматитів при лікуванні раку молочної залози. Проте встановлено, що світло синього спектра може бути ініціатором окисного стресу, викликаючи збільшення вільних радикалів у клітині, здійснювати пошкодження мітохондріальної ДНК. Метою нашого дослідження було вивчити стан антиоксидантної системи зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. за дії синього та зеленого світла, зокрема як змінюватиметься активність ферменту каталази, котрий відіграє важливу роль у захисті клітини від вільних радикалів і бере участь у знешкодженні молекул  $H_2O_2$ .

Яйцеклітини в'юна отримували за методом А. Нейфаха. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій. Ікру відмивали від спермій та інкубували в розчині Гольфрєтера ( $t = 21-22$  °C). Опромінення зародків проводили синім та зеленим світлодіодами «AVAGO» ASMT MBOO - NAEEO PBF та ASMT MGOO - NGJOO PBF ( $\lambda = 460$  нм та 530 нм) відповідно, потужністю 1 Вт і рефлектором «Fraen» - FC-M2-XR79-OR для фокусування випромінювання у площині, протягом 1 та 10 хв на стадіях 2, 16 та 64 бластомерів, на стадіях 8 та 10 поділу бластомерів. Активність каталази досліджували за методом Королюк М.А. і співавт. (1988). На кожній із стадій визначали активність ферменту каталази. Вміст білка визначали за методом Лоурі.

У результаті проведених досліджень встановлено, що опромінення світлодіодом з синім типом світла упродовж 1 хв призводить до незначних змін активності досліджуваного ферменту. На стадіях 2 та 64 бластомери, а також на стадії 8 поділу бластомерів, спостерігається незначне збільшення активності порівняно із показниками контролю, на 2, 6, та 1% відповідно. Збільшення тривалості експозиції до 10 хв веде до суттєвого збільшення активності каталази на усіх досліджуваних стадіях. Зокрема, на 4% збільшився показник на стадії 2 бластомерів, на 23 і 16% на стадіях 16 та 64 бластомерів відповідно, та на 21 і 16% на стадії 8 та 10 поділу бластомерів відповідно. Також нами встановлено, що зелене світло теж здатне призводити до збільшення активності каталази, зокрема за тривалості випромінювання 1 хв активність ферменту зросла на 5% на стадії 2 бл., на 3 і 11% на стадії 16 бл. та 64 бл. і на 11 і 7% на стадії 8 та 10 поділів. За збільшення тривалості випромінювання зеленого світла до 10 хв ми спостерігали більш суттєве зростання активності каталази. На стадії 2 бластомерів її активність зросла на 29%, на стадії 16 бл. і 64 бл. на 49 та 47% відповідно, та на 33 і 17% на стадії 8 та 10 поділів. Це свідчить про те, що зародки в'юна чутливо реагують на дію синього та зеленого світла. Збільшення тривалості експозиції веде до збільшення активності каталази. Зелене світло більш суттєво збільшує активність



каталази, ніж синє. Підвищення активності каталази вказує на надмірну активність вільнорадикальних реакцій, пов'язану з нагромадженням ліпопероксидних продуктів, зокрема, на збільшення пероксиду водню у зародках в'юна.

**Шелемех О., Головчак Н., Санагурський Д.**  
**ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У НИРКАХ ПТИЦІ**  
**ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ**

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

На сьогоднішній день у медицині широко використовується розчин гіпохлориту натрію (ГХН) як детоксикант. ГХН, отриманий електрохімічним методом із водних розчинів хлористого натрію, є найбільш зручним і фізіологічним джерелом активного кисню. 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 окислювати токсини, які містяться не лише у крові, а й у тканинах (Дрижак В.І., 1998). Розчин ГХН все частіше починають застосовувати у профілактичних цілях, для попередження інтоксикації організму. Проте на сьогодні залишається невідомою дія розчину ГХН на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз тканин не ураженого токсинами організму. Тому вивчення впливу ГХН на здоровий організм, а саме на тканини нирок, які відповідають за виділення кінцевих продуктів обміну речовин, регуляцію водно-сольового обміну та підтримання сталості осмотичного тиску рідин тіла, є актуальною проблемою сьогодення.

Дослідження проводили на курочках породи «Легор» віком 140-145 днів. Тварин розділили на 3 групи по 15 голів у кожній. Першій групі (контрольній) згодовували доброякісний, повноцінний корм і випоювали воду. Тваринам другої групи 14 днів випоювали розчин ГХН («Септокс») у дозі 5 мг/л. Тваринам третьої групи протягом 14 днів згодовували повноцінний комбікорм і задавали розчин ГХН у дозі 10 мг/л. Після 14-го дня досліду по 5 тварин з кожної групи залишали на реабілітацію, яка тривала 6 днів. На 7-, 14- та 20-ту доби досліду по 5 тварини з першої, другої та третьої групи забивали, швидко видаляли нирки, відмивали у фізіологічному розчині та заморожували у рідкому азоті, де зберігали до проведення досліджень. Наважки тканин (~1 г) гомогенізували при низькій температурі на гомогенізаторі у присутності буферного розчину А (0,32 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 50 мМ трис-НСІ, рН = 7,4) (Нестерова Л.А., 1995). У кожній пробі визначали інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яку оцінювали за вмістом вторинних продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду (МДА) (Тимирбулатов Р.Р., 1981). Вміст білка визначали за методом Лоурі.

Нами показано, що дія розчину ГХН призводить до посилення процесів ліпопероксидації у нирках курей. Слід зазначити, що дія досліджуваного розчину в концентрації 5 мг/л незначно посилює інтенсивність процесів ПОЛ на 7-му добу досліду, проте на 14-ту добу відбувається інтенсифікація вільнорадикальних реакцій, про що свідчить підвищення вмісту МДА на 191% щодо контролю. Високий вміст МДА зберігається у тканинах нирок і після реабілітаційного періоду. Ймовірно у нирках на 7-му добу досліду за дії низьких концентрацій ГХН (5 мг/л) не активувалися адаптаційні процеси і, можливо система антиоксидантного захисту не зреагувала на підвищення вільно радикальних.

Концентрація розчину ГХН 10 мг/л діє на тканини нирок краще порівняно з концентрацією 5 мг/л. У цьому випадку нами відмічено зростання інтенсивності процесів ПОЛ на 7-му добу досліду, тоді як на 14- та 20-ту (реабілітація) доби інтенсивність вільнорадикальних процесів знижується щодо 7 доби, проте вміст вторинних продуктів ПОЛ не досягає ще контрольних позначок. Ймовірно, таку залежність інтенсивності процесів ліпопероксидації можна пояснити реагуванням антиоксидантної системи на знешкодження високих концентрацій ГХН, де вже на 7-му добу відбувається адаптація тканини нирок, спрямована на відновлення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

**Генега А., Мандзинець С., Бура М., <sup>1</sup>Марінцова Н.,  
Новіков В., Санагурський Д.**

**УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ БЛАСТОМЕРІВ ЗА ДІЇ АЛАНІНОВОГО  
ПОХІДНОГО 1,4-НАФТОХІНОНУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
<sup>1</sup>Національний університет «Львівська політехніка»  
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна  
e-mail: anastasiyah2@gmail.com*

Амінокислотовмісні похідні 1,4-нафтохінону є перспективним класом хімічних сполук для пошуку речовин із церебропротекторними властивостями (А. Ель Ідріссі, 2001), оскільки володіють низькою токсичністю (А. Ель Ідріссі, 2002) протигіпоксичною, протишемічною та протисудомною діями (Л. Журахівська, 2002).

Досліджували вплив аланінового похідного 1,4-нафтохінону на ультраструктуру бластомерів в'юна на стадії двох бластомерів у концентраціях  $10^{-6}$  і  $10^{-8}$  М. Зрізи готували на ультрамікроскопі УМТП-6 за допомогою алмазного ножа, контрастували 2%-ним розчином уранілацетату протягом 15 хв і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом (E.S. Reynolds, 1963).

Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100. Зародки інкубували в розчині амінокислотного похідного 1,4-нафтохінону (аланіну) у концентраціях  $10^{-6}$  та  $10^{-8}$  М, контрольні зародки інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера для холоднокровних при температурі 20-22°C. Інкубування зародків в'юна на стадії 2 бластомерів у середовищі з додаванням калієвих солей аланінового похідного 1,4-нафтохінону в концентраціях  $10^{-8}$  та  $10^{-6}$  М призводило до змін ультраструктури органел і включень бластомерів. За наявності у середовищі інкубації аланінової похідної 1,4-нафтохінону у концентрації  $10^{-8}$  М спостерігали найменш виражені зміни ультраструктури всіх органел бластомерів порівняно з контролем.

Гіалоплазма зародкових клітин у контролі містить канали агранулярного (аЕПР) та гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (гЕПР), скупчення полісом, кулястої або овальної форми мітохондрії, які мають добре розвинуті зовнішні та внутрішні мітохондріальні мембрани, поодинокі лізосоми, автофаголізосоми та невеликі за розмірами ліпопротеїдні краплі. Поруч з мітохондріями також зустрічаються значних розмірів травні вакуолі. За наявності у середовищі інкубації аланінової похідної 1,4-нафтохінону у концентрації  $10^{-8}$  М у глибоких шарах цитоплазми виявлено мітохондрії середніх розмірів і кулястої форми. Частина мітохондрій перебувають у стані набряку, а їх матрикс заповнений речовиною високої електронної щільності. Гіалоплазма досить високої електронної щільності, містить багато розширених каналів аЕПР, наявність гЕПР зменшена порівняно з контролем. Збільшена кількість лізосом, вторинних лізосом, однак менша кількість травних вакуоль, які мають більш кулясту форму, тоді як у контролі такі вакуолі були більш зірчастої будови. Збільшення концентрації аланінової похідної 1,4-нафтохінону в концентрації у середовищі до  $10^{-6}$  М характеризувалася зміною електронної щільності гіалоплазми та дезорганізованими органелами порівняно з контролем. Отримані дані свідчать про залежність клітинних процесів від концентрації діючих речовин.

Робота виконана за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень (№ 25.5/075).

**Зинь А. Р., Головчак Н. П., Мандзинець С. М., Бура М. В., Санагурський Д. І.**

**АКТИВНІСТЬ  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -АТФ-АЗИ МЕМБРАН ЗАРОДКІВ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L.  
ЗА ДІЇ ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ ПРОТЯГОМ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ**

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

Плазматична мембрана зародкових клітин забезпечує вибіркву проникність для речовин, які транспортуються у процесі життєдіяльності та протягом раннього ембріогенезу.  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -АТФ-аза –

білок-мономер, який здійснює активний транспорт катіонів  $\text{Ca}^{2+}$  за рахунок енергії гідролізу АТФ.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази плазматичної мембрани і мембран ендоплазматичного ретикулуwu відрізняються між собою молекулярною масою та напрямком транспорту катіонів. Відомо, що різні екзогенні чинники негативно впливають на структурні та функціональні параметри мембран, зокрема, на роботу  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-аз. Тому дослідження впливу різних екзогенних факторів на роботу іонотранспортувальних систем мембран зародкових клітин є важливою проблемою сучасної біофізики (Гойда О.А., 1993).

На сьогодні у медицині активно застосовують розчин гіпохлориту натрію (ГХН,  $\text{NaClO}$ ) як антисептик і детоксикант при різних отруєннях організму; у стоматології для санації ран, відбілювання зубів; також для очищення та дезінфекції води. Відомо, що в невисоких концентраціях ГХН є нетоксичним і легко виводиться з організму (Коцюмбас І.Я., 2009). Зважаючи на те, що досі вплив розчину ГХН на здоровий організм не був досліджений, зокрема, на ембріональний розвиток, детальне вивчення дії даного детоксиканту на активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази зародкових клітин є актуальним. Це дасть можливість поглиблено зрозуміти механізми біологічної дії ГХН, а також, чи можна використовувати даний детоксикаційний розчин у профілактичних цілях, що матиме вагоме значення для медицини та ветеринарії.

Дослідження проводилися на зародках в'юна *Misgurnus fossilis* L. від моменту запліднення до стадії 10 поділу бластомерів (2, 16 та 64 бластомери, 8 і 10 поділи бластомерів). Ікру запліднювали за методом Нейфаха (Нейфак А.А., 1977). Експерименти здійснювалися *in vitro*: розчини ГХН у концентраціях 2,5; 5; 7,5 і 10 мг/л додавали безпосередньо в інкубаційне середовище зародків на досліджуваних стадіях розвитку. Сумарну активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази визначали при додаванні до інкубаційного середовища оубаїну (інгібітор  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази плазматичної мембрани) та  $\text{NaN}_3$  (інгібітор АТФ-аз мітохондрій). Вміст неорганічного фосфату вимірювали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [Прохорова М.И., 1982]. Вміст білка у гомогенаті визначали за методом Лоурі (Lowry O.H., et al., 1951).

У результаті проведених досліджень встановлено, що розчин ГХН дозозалежно пригнічує активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази на всіх досліджуваних стадіях розвитку протягом раннього ембріогенезу. Однак, на стадії 16 бластомерів активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази мембран зародків є найбільш чутливою, а на стадії 8 поділу – найменш чутливою до дії ГХН у досліджуваних концентраціях. На стадії 8 поділу при внесенні в інкубаційне середовище ГХН у концентрації 2,5 мг/л активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази знижувалась на 25,2%, а за 10 мг/л – також знижувалась на 53,45% щодо контролю.

Отже, за дії ГХН різних концентрацій відбувається пригнічення  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азної активності. Ймовірно, це пов'язано з тим, що ГХН володіє сильною окисною здатністю щодо мембран зародкових клітин, у результаті чого пошкоджуються мембранні ліпіди та білки, що, у свою чергу, веде до порушення роботи мембранопов'язаної АТФ-гідролази зародків.

## Єрмак Ю. Л.

### ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ ОДНОВАЛЕНТНИХ ІОНІВ НА ФАЗОВИЙ СТАН МОДЕЛЬНИХ ФОСФОЛІПІДНИХ МЕМБРАН

*Кафедра біологічної та медичної фізики*

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

*пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна*

*e-mail: julia\_er@ukr.net*

Виконання біомембраною багатьох своїх життєво важливих функцій безпосередньо пов'язане зі змінами концентрацій одновалентних іонів у примембранному просторі. Виходячи з цього, дослідження впливу солей одновалентних металів на параметри модельних фосфоліпідних мембран здається досить важливим і актуальним.

Були досліджені плоскі мультишарові мембрани (ламельні структури) гідратованого (50:50) 1,2-диміристоїл-3-*sn*-гліцерофосфохоліну (ДМФХ) з додаванням різноманітних солей одновалентних

металів у молярному співвідношенні ДМФХ:сіль 3:1. Вивчалися такі параметри фазового переходу «гель – рідкий кристал» як температури основного та передпереходу (відповідно,  $T_m$  та  $T_p$ ), їх ентальпії, отримані методом диференційної скануючої калориметрії, а також розраховані параметри: розмір кооперативного домену мембрани і активність іонів.

Для низки досліджених іонів (катионів  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$ , аніонів  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ) встановлено систематичні зміни  $T_m$  і  $T_p$  ( $DT_m$  і  $DT_p$ , відповідно), більш виражені для  $T_p$ . Вказані зміни добре корелюють з літературними даними щодо енергій гідратації  $E_r$  досліджуваних іонів. Залежності  $DT_m(E_r)$  та  $DT_p(E_r)$  для рядів катионів і аніонів якісно узгоджуються одна з одною; при цьому варто звернути увагу, що нахил залежностей  $DT_m(E_r)$  для катионів та аніонів збігається.

Треба підкреслити, що вказаний вплив катионів в умовах експерименту знакозмінний: для  $Li^+$  та  $Na^+$  він позитивний, тоді як для  $K^+$  та  $Rb^+$  — негативний, до того ж закономірно зменшується зі збільшенням атомного радіуса катіона  $r$  ( $Li^+ > Na^+ > K^+ > Rb^+$ ). Зміна знаку залежності  $\Delta T_{p,m}(r)$  відбувається між  $Na^+$  і  $K^+$ ; таким чином, серед усіх досліджених іонів саме  $Na^+$  та  $K^+$  сприяють найменшому збуренню мембрани, проте з різним знаком, що є важливим, враховуючи їхню значну концентрацію у примембранному просторі клітини.

Для  $NaCl$ , на відміну від інших солей, розмір кооперативного домену достовірно перевищує такий для чистого ДМФХ, що може бути безпосередньо пов'язано із забезпеченням малого часу синаптичної затримки. Для  $NaNO_3$  та  $NaNO_2$  відзначено залежність їх впливу на модельні мембрани від вмісту води в дисперсіях (50/48 мас.%), яка є специфічною для кожного виду аніонів.

У випадку солей цезію чітко простежується закономірність залежності відносного зсуву  $T_m$  та  $T_p$  від радіуса аніона. Цей зсув збільшується в ряду  $Cl^- < Br^- < I^-$ . При цьому вплив  $CsCl$  на ліпідну мембрану не є екстраполяцією даних, отриманих для інших досліджених хлоридів, що узгоджується з літературними даними. З цього можна зробити висновок, що механізм взаємодії цезію з фосфоліпідною мембраною якісно інший, ніж у більш легких катионів цього ряду. Можна припустити, що завдяки своєму великому радіусу  $Cs^+$  може взаємодіяти з гідратними оболонками одразу двох фосфоліпідних головок, а не однієї, як у випадку більш легких катионів.

Таким чином, запропонована методика систематизованого дослідження впливу систематичних рядів катионів і аніонів на фосфоліпідні мембрани дає змогу як встановити характерні загальні особливості цих рядів, так і виявити аномальні властивості окремих іонів.

**Kastorna A. P., Kutsenko O. K., Yudintsev A. V., Trusova V. M.**  
MODIFYING EFFECT OF OLIGOMERIC LYSOZYME ON STRUCTURAL STATE  
OF MODEL MEMBRANES

*Department of Biological and Medical Physics, V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61077, Ukraine  
e-mail: anna\_kastornaya@ukr.net*

It is well known that the biological function of proteins depends among other properties on their three-dimensional structure. The newly synthesized protein folds into a native structure that corresponds to the most thermodynamically stable one under physiological conditions. The failure of a protein to retain correctly folded conformation is associated with a wide range of diseases. A vast number of recent studies showed that deposition of insoluble protein aggregates in brain and other organs leads to the neurodegenerative diseases (Parkinson's, Alzheimer's and Huntington's diseases), type II diabetes, systemic amyloidosis, etc. The process of amyloid formation involves misfolding of partially folded soluble proteins into oligomeric  $\beta$ -sheet structures, which further aggregate into protofibrils and form mature amyloid fibrils. A growing body of evidence has demonstrated that membrane permeabilization may underlie the mechanisms of amyloid toxicity. In spite of considerable progress achieved in understanding of amyloid protein-membrane interactions, molecular basis

of this process is poorly understood and requires further investigation.

In the present study we focused our efforts on investigation the influence of oligomeric lysozyme on the physicochemical properties and structural state of model lipid membranes (liposomes) composed of phosphatidylcholine (PC) and its mixture with cardiolipin (CL) (20 mol%). To achieve this purpose, two fluorescent probes with different spectral properties and bilayer location, 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) distributing in membrane hydrocarbon core and 6-lauroyl-2-dimethylaminonaphthalene (Laurdan) locating at lipid-water interface, have been employed. Unilamellar lipid vesicles were prepared by the extrusion method. The effect of oligomeric lysozyme was studied at 4<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days of the reaction of fibrillization (protein incubation in 80% ethanol under continuous agitation).

Laurdan is an amphiphilic fluorescent probe, whose emission spectra are sensitive to environmental polarity (hydration level). In the solvents of high polarity, Laurdan shows a considerable shift of its emission spectra to longer wavelengths due to dipolar relaxation processes. The changes in emission spectrum of Laurdan were characterized by the generalized polarization value (GP). In PC liposomes increasing concentration of oligomeric lysozyme resulted in the GP increment only in the samples with low lipid-to-protein molar ratio ( $\approx 1.5$ ). However, in membranes containing 20% CL GP increase was observed under conditions with high value of this ratio ( $\approx 14.5$ ). Growth of this fluorescence parameter suggests that oligomeric lysozyme induces decrease in lipid bilayer polarity. To gain deeper insight into bilayer modifying effects of oligomeric protein, another environmentally-sensitive probe DPH has been employed. This probe is widely used to gain insights into molecular organization and dynamics of membrane hydrocarbon core of membranes. The changes in membrane fluidity under the influence of amyloid lysozyme were characterized by fluorescence anisotropy of DPH, correlated with bilayer viscosity. It was found that in PC vesicles the rise of DPH fluorescence anisotropy upon increasing protein concentration was observed only in the samples with low lipid-to-protein molar ratio. Similar to GP value anisotropy measurements in PC:CL liposomes revealed increase of this parameter at high lipid-to-protein molar ratios.

Taken together, the results obtained allowed us to conclude that oligomeric lysozyme induces membrane dehydration and decrease of lipid bilayer fluidity. This work was supported in part by the grant #4534 from the Science.

### **Limanskaya L. A.**

#### **COENCAPSULATION OF ANTITUMOR DRUGS, EUROPIUM CHELATE AND DOXORUBICIN, INTO LIPOSOMES**

*Department of Biological and Medical Physics, V.N. Karazin Kharkiv National University,  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61077, Ukraine  
e-mail: lucy\_limanskaya@mail.ru*

The progress of science and technologies permits to develop new drug formulations with high efficiency and bioavailability. One of such approaches is designing of systems for targeted drug delivery. Medicines with transportation systems possess some advantages in comparison with drugs in free form: increase of hydrophobic drug solubility, improvement of penetration into the cells and pharmacokinetics. Delivery systems based on phospholipids are of great interest since they are biodegradable, aren't followed by allergic reactions and surface of such nanoparticles is easy to modify for giving them necessary properties. Liposomes are the most famous among phospholipid delivery systems. They protect encapsulated medicines from untimely degradation, increase their circulation time and provide the passing of natural barriers.

Nowadays many studies are devoted to designing of combined drugs and transportation systems for them, because they give new opportunities in treatment of great amount of diseases. In current research the possibility of creation of liposomal delivery systems for combined drug has been evaluated. Combined drug consisted of well-known antitumor drug doxorubicin and europium chelate (here referred to as V3), which

belongs to the new class of potential antineoplastic drugs. For this aim the fluorescence quenching technique of Laurdan has been employed.

At the first stage of the study partition coefficient of europium chelate into lipid bilayer of liposomes, consisting of phosphatidylcholine (90%) and cardiolipin (10%), has been determined. Europium complex has been found to be an effective quencher of Laurdan fluorescence. Fluorophore part of Laurdan is located at the border of polar/nonpolar membrane region. The observed fluorescence quenching resulted from collision between Laurdan and V3 molecules, i.e. occurred according to dynamic mechanism. The recovered rather high value of partition coefficient –  $(4.9 \pm 0.9) \cdot 10^3$  – proves the possibility of europium chelate incorporation into liposomal membrane. Using the theory of dynamic quenching Stern-Folmer plots have been obtained. Subsequently bimolecular quenching constant has been evaluated as  $(1.9 \pm 0.4) \cdot 10^9$ , suggesting high accessibility of fluorophore molecules to the quencher.

The next stage of current research was focused on investigation of the possibility of simultaneous incorporation of europium chelate and doxorubicin into liposomes. In this case the fluorescence quenching of Laurdan hasn't been observed.

The obtained data indicate, that doxorubicin impedes incorporation of europium coordination complex into liposomes. To summarize, our study revealed that doxorubicin and europium chelate can compete for membrane binding sites, thereby complicating coencapsulation of these drugs into liposomes.

This work was supported in part by the grant #4534 from the Science and Technology Center in Ukraine.

### **Пожидаєва Г., Доценко О. І.**

#### **ЕНЕРГЕТИЧНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ЕРИТРОЦИТІВ У ПРИСУТНОСТІ РІЗНИХ ДОЗ АЛОКСАНУ**

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: an4ik2190@mail.ru*

Однією з умов нормальної життєдіяльності еритроцита є підтримка внутрішньоклітинного рівня АТФ. Рівень АТФ в еритроцитах людини забезпечується двома метаболічними системами. Одна з них – гліколіз – забезпечує енергетичні потреби клітини за рахунок відтворення АТФ із АДФ. Друга – система метаболізму пуринів – задає сумарну концентрацію аденінових нуклеотидів у клітині. Крім того, АТФ відводять важливу роль у регуляції фазового стану цитоплазми клітини. Зв'язування АТФ стимулює впорядкування, а саме ініціює перехід цитоплазматичних білків у розгорнуту конфігурацію, а навколишню воду – у структурований стан, у результаті чого цитоплазма перебуває в стані гелю. Зниження концентрації АТФ у клітині буде викликати зворотний процес – перехід у стан золю. Наслідком цього процесу є порушення іонного гомеостазу клітини й активностей внутрішньоклітинних ферментів.

На сьогоднішній день накопичено багато експериментальних даних про чутливість живих організмів до низьких доз хімічних речовин, однак дотепер не існує єдиної думки про механізми їх впливу на клітину. У зв'язку зі сказаним вище, мета роботи полягала у вивченні впливу низьких доз алоксану на енергетичний метаболізм еритроцитів, а саме: в оцінці внеску деяких регуляторних систем (АТФ, неорганічного фосфору, 2,3ДФГ, відновленого глутатіону, активностей Na-K-залежної АТФ-ази й лактатдегідрогенази) в адаптацію еритроцитів до дії зовнішніх факторів.

Об'єктом дослідження були еритроцити здорових донорів, які виділяли з крові за стандартними методиками. Пасту еритроцитів використовували для приготування суспензії, з вмістом гемоглобіну 1,2-1,5 мг/мл. Досліджували метаболізм еритроцитів у процесі їхнього виснаження в середовищі без глюкози, а також у середовищах, що містили змінну кількість іонів  $\text{Ca}^{2+}$  (1,300 мкМ, 1,10 мМ). Концентрацію алоксану в середовищі інкубації варіювали від  $10^{-4}$  М до  $10^{-15}$  М. Суспензію еритроцитів з до-

бавками різних доз алоксану, інкубували при 37°C впродовж 3-х годин. Як контроль використовували пробу, що не містила алоксан.

У доповіді будуть проаналізовані такі експериментальні дані:

1. Залежності вмісту АТФ, неорганічного фосфату, 2,3-ДФГ від концентрації алоксану у пробі й часу інкубування.

2. Залежності відновленого глутатіону еритроцитів від концентрації алоксану в пробі й часу інкубування для аналізу внеску окисних процесів і гексозо-монофосфатного шляху в метаболізм еритроцитів.

3. Залежності активності Na-K-залежної АТФ-ази еритроцитів залежно від двох факторів: концентрації алоксану в пробі й часу інкубування, для оцінки швидкості (активності) АТФ-споживчих процесів у клітині.

4. Залежності активності лактатдегідрогенази еритроцитів залежно від двох факторів: концентрації алоксану в пробі й часу інкубування, для оцінки швидкості останньої стадії гліколізу.

Використовуючи експериментальні дані й програмний комплекс COPASI знайдені елементарні метаболічні шляхи, які можуть використовуватися при адаптації до змін зовнішніх умов без істотного порушення метаболізму. З використанням Аналізу контролю метаболізму оцінений внесок окремих стадій гліколізу в енергетичний метаболізм клітини. За допомогою методу графів показано, яким метаболічним шляхам віддає перевагу клітина залежно від концентрації введеного алоксану для збереження своєї цілісності.

### **Рибченко Ж. І.**

#### **ВПЛИВ АДАПТОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУР ТА ІВІН НА АКТИВНІСТЬ H<sup>+</sup>-АТФ-АЗИ У ПЛАЗМАТИЧНИХ І ВАКУОЛЯРНИХ МЕМБРАНАХ КЛІТИН КОРЕНІВ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ**

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська, 2, 01601, м. Київ, Україна  
e-mail: Zhanna\_bio@ukr.net*

Сольовий стрес у рослинних організмах є результатом порушення в них осмотичного і йонного гомеостазу і утворення вторинного окислювального стресу. Проте найбільшу шкоду завдає Na<sup>+</sup>, котрий є головним катіоном солей, що утворюють засолення. На клітинному рівні Na<sup>+</sup> є токсичним для всіх рослин. Накопичення в їх клітинах Na<sup>+</sup> стримується шляхом його активного викиду назовні та до вакуолярного простору. Цей процес здійснюється вторинно-активними Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> антипортерами, які залежать від роботи електрогенних H<sup>+</sup>-насосів. Механізм H<sup>+</sup>-насоса плазматичної мембрани репрезентовано H<sup>+</sup>-АТФ-азою E-P-типу, а двох H<sup>+</sup>-насосів вакуолярної – H<sup>+</sup>-АТФ-азою V-типу та H<sup>+</sup>-пірофосфатазою.

Солестійкість рослин можна посилити за допомогою біоактивних препаратів, серед яких нами було обрано синтетичні сполуки Метіур та Івін, синтезовані в ІБОХ НАНУ. Раніше на проростках кукурудзи було показано їх здатність, особливо Метіуру, послаблювати процеси ПОЛ (Куриленко, Палладіна, 2001), збільшувати синтез осмолітів (Чижикова, Палладіна, 2006), запобігати руйнації ліпідного бішару мембран (Контурська, Палладіна, 2007), а також зберігати анатомічну структуру клітин (Білявська та ін., 2009).

Метою даної роботи стало з'ясування впливу цих препаратів на гідролітичну і транспортну активність H<sup>+</sup>-АТФ-аз у плазматичних і вакуолярних мембранах клітин коренів проростків кукурудзи як найбільш солечутливого злаку.

Проростки (гібрид Десна СВ) вирощували у водній культурі на середовищі Хогленда й експонували протягом 1 та 10 діб у присутності 0,1M NaCl. Препарати застосовували шляхом замочування насіння у 10<sup>-7</sup> M водних розчинах. Плазматичні мембрани ізолювали методом розділення фаз (Larsson

et al., 1994), а вакуолярні мембрани – у ступінчастому градієнті сахарози (Sze, 1986, Poole, 1988). Гідролітичну активність  $H^+$ -АТФ-аз визначали за виділенням  $P_n$  (Скулачов, 1962), а транспортну – флуоресцентним методом (Ward, Sze, 1986).

Гідролітична активність  $H^+$ -АТФ-ази плазматичних мембран виявилася набагато вищою, ніж вакуолярних, а транспортна активність була одного порядку. Експозиція проростків на 0,1М NaCl протягом 10 діб спричинювала зменшення гідролітичної активності  $H^+$ -АТФ-ази плазматичних мембран, тоді як її транспортна активність збільшувалася. Обробка насіння препаратами також призводила до зниження гідролітичної активності ферменту в плазматичній мембрані, яке було меншим у варіанті з Метіуром, тоді як транспортна активність посилювалася. За умов засолення препарати у 2 рази послаблювали гідролітичну активність  $H^+$ -АТФ-ази плазматичної мембрани при 1-добовій експозиції, яка значною мірою відновлювалася при подовженні експозиції до 10 діб у варіанті з Метіуром. Транспортна активність  $H^+$ -АТФ-ази плазматичної мембрани за умов сольової експозиції посилювалася далі під впливом цих препаратів, особливо Метіура. Препарати також знижували гідролітичну активність вакуолярної  $H^+$ -АТФ-ази, тоді як транспортна активність посилювалася більш ніж удвічі під їх впливом. При 1-добовій сольовій експозиції препарати, особливо Метіур, збільшували гідролітичну активність вакуолярної  $H^+$ -АТФ-ази щодо сольового контролю, проте при 10-добовій однаковою мірою зменшували її. При цьому спостерігалось значне збільшення транспортної активності цього фермента під впливом обох препаратів при 10-добовій сольовій експозиції, хоча ефект Метіуру був сильнішим.

Одержані результати продемонстрували, що адаптогенний ефект випробуваних препаратів значною мірою пов'язаний з активацією роботи  $H^+$ -насосів, які забезпечують енергією активне видалення  $Na^+$  з цитоплазми клітин. Це свідчить на користь застосування біоактивних препаратів, передусім Метіуру, в агротехнології на засолених ґрунтах.

### **Романко Д., Тупицька О.**

#### **ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВМІСТУ ВОДИ У ТКАНИНАХ РІЗНИХ ОРГАНІЗМІВ**

*Кафедра біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого*

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: olgatup@mail.ru*

Вода – важлива складова частина будь-якого організму. Вода розчиняє багато органічних і неорганічних речовин, транспортує розчинені речовини їжі в органи і тканини риби, посилює хімічні і біохімічні реакції.

Тканини риби становлять собою складну колоїдну систему, що має здатність зв'язувати воду, яка особливо необхідна для живого організму. Вміст води у тканинах гідробіонтів більший, ніж у тканинах наземних тварин і рослин. Так, якщо в наземних травах вміст води досягає 75%, у водоростях – 88%, у м'ясі наземних тварин – до 79%, то в м'ясі риб – до 92%. Кількість води в різних тканинах гідробіонтів визначається вмістом у них протоплазми. Так, максимальна кількість води (89-99%) міститься в біологічних рідинах (кров, слиз, лімфа), а мінімальна (2-25%) – у сполучних тканинах.

Вміст води у тканинах риб і водних безхребетних змінюється у значних межах під впливом ряду причин біологічного характеру: вид, стать, вік, вгодованість, стадія розвитку статевих залоз, сезону року та ін. У риб старших вікових груп у м'ясі міститься менше води, і навпаки. При нестачі їжі та голодуванні під час зимівлі або переднерестових міграцій і нересту вміст води збільшується, а при відгодовуванні риби після нересту вміст води у м'ясі знижується.

Більше половини маси м'яса риби становить вода, кількість якої коливається в широких межах, сягаючи у різних риб у середньому від 53-55% (мінюга, вугор) до 79-81% (трісківі, судак, щука); в деяких риб вміст води у м'ясі досягає 88-91% (синя зубатка, пінагор), а найбільше у медуз 95-99%.



У тканинах риби вода розподілена між пучками волокон, окремими волокнами і в самих волокнах. Оболонки волокон і пучків також містять воду. При осмотичному, механічному або тепловому впливах волога проникає крізь оболонки зі швидкістю, що залежить від інтенсивності цього впливу і опору оболонок. Тканини риб можна розглядати як полідисперсну систему, в якій вода являє собою дисперсне середовище, а органічні та неорганічні речовини – дисперсну фазу.

У м'язовій тканині риби мають місце такі форми зв'язку води з матеріалом: адсорбційна форма зв'язку (це зв'язок вологи в гідратних оболонках, при якому відбувається приєднання молекул під впливом молекулярного силового поля, що супроводжується значним виділенням тепла), осмотична форма зв'язку, іммобілізована волога, волога змочування (визначається шляхом розрахунку і становить у дрібній рибі близько 0,5-1% початкової маси), структурно-вільна волога (отримується методом пресування і центрифугування, становить 6-8% загальної маси наважки).

Середня кількість адсорбційно зв'язаної вологи у свіжій рибі може бути прийнята рівною 6% маси риби або 24% абсолютно сухої речовини. Основна кількість води в м'язових тканинах риб перебуває в осмотичній і капілярній формах зв'язку. Таким чином, у свіжій рибі співвідношення вологи за формами зв'язку з білковими речовинами становить приблизно (від загальної маси): адсорбційна волога – 23%, осмотична волога і волога мікрокапілярів – 70%, волога макрокапілярів – 7%.

**Рзаєва Е. М., <sup>1</sup>Євтушенко М. Є., Шликов С. Г.**  
ВПЛИВ КАЛІКС(4)АРЕНІВ НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ  
МІТОХОНДРІЙ МІОМЕТРІЯ ЩУРІВ

*Інститут біохімії імені О.В.Палладіна НАН України  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: esmira2009@voliacable.com*

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Т.Г. Шевченка  
вул. Володимирська, 62, м. Київ, 01601, Україна*

Калікс(4)арени являють собою макроциклічні сполуки, що складаються з 4 ароматичних аренових фрагментів, які мають порожнину всередині (чашу). Ці сполуки отримують шляхом олігомеризації фенолу з формальдегідом. Калікс(4)арени є перспективними для використання у наномедицині завдяки своїй здатності зв'язувати різні сполуки всередині чаші і транспортувати їх до внутрішньоклітинних мішеней. Але і самі калікс(4)арени можуть демонструвати різноманітні ефекти на функціонування сигнальних шляхів клітини. Саме тому перспективним є досліджувати впливи каліксаренів на різноманітні біохімічні та біофізичні процеси.

Мітохондріям належить важливе значення у забезпеченні енергетичних потреб клітини. Окрім того, мітохондрії є важливою ланкою в індукції сигналу запрограмованої загибелі клітини. Функціональна активність мітохондрій визначається величиною трансмембранного потенціалу, який виникає внаслідок роботи дихального ланцюга. Саме мітохондріальний потенціал дає змогу закачувати вільний іонізований  $\text{Ca}^{2+}$  до мітохондрій, тим самим регулюючи  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналізацію. Важливе місце  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнальна система займає у контролі скорочення гладеньких м'язів. У цьому дослідженні ми визначали вплив калікс(4)аренів на мембранний потенціал мітохондрій міометрія.

У дослідженні використовувалися як фракція ізольованих мітохондрій, так і суспензія пермеабілізованих клітин міометрія щурів. Перевагою у використанні пермеабілізованих клітин є те, що, у порівнянні з фракцією ізольованих мітохондрій досліджуються всі клітинні популяції мітохондрій і, найбільш суттєве, мітохондрії вивчаються у їх природному оточенні.

Експерименти проводилися на проточному цитометрі COULTER EPICS XLTM (Beckman Coulter, США) з використанням потенціал-чутливого флуоресцентного зонда TMRM (tetramethylrhodaminemethyl ester,  $\lambda_{\text{буд.}}$  = 488 нм,  $\lambda_{\text{фл.}}$  = 590 нм). У наших дослідженнях із певної кількості

каліксаренів, синтезованих у Інституті органічної хімії НАН України, було відібрано ліпофільні сполуки С136, С137, С138. Для пермеабілізації клітин використовувався дигітонін у концентрації 0,1 мг/мл (0,01%). Для зняття поляризації мембрани мітохондрій використовувався протонофор СССР.

У результаті проведених досліджень на фракції ізольованих мітохондрій було виявлено, що С136 і С137 у концентрації 10 мкМ сприяють гіперполяризації мітохондріальної мембрани, тоді як С138 не виявив наочної дії.

При роботі зі суспензією пермеабілізованих клітин міометрія використовувалося середовище, яке за іонним складом відповідає цитоплазматичному, але без АТФ і  $Mg^{2+}$ . Інкубація пермеабілізованих клітин у такому середовищі протягом 5 хвилин призводить до часткового зниження потенціалу на мембрані мітохондрій. У наших дослідженнях було показано уповільнення даного процесу за присутності С136 і С137 у концентрації 10 мкМ, тоді як С138 не виявив видимої активності.

Таким чином, каліксарени С136 і С137 у концентрації 10 мкМ впливають на рівень поляризації мітохондріальної мембрани клітин міометрія.

Автори висловлюють вдячність чл.-кор. НАНУ В.І. Кальченку та його колегам (ІОХ НАНУ) за люб'язно надані препарати каліксаренів.

**<sup>1</sup>Vus K. O., <sup>2</sup>Trusova V. M., <sup>2</sup>Kirilova E., Kirilov G., Kalnina I.**

**AFFINITY OF NEW BENZANTHRONE DYES FOR  
FIBRILLAR AND PREFIBRILLAR LYSOZYME**

*<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University, 4, Svobody Sq., Kharkiv, 61077, Ukraine*

*<sup>2</sup>Department of Chemistry and Geography, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Daugavpils University, 13, Vienibas, Daugavpils LV5401, Latvia  
e-mail: katenka.vus@mail.ru*

The hallmarks of such neurodegenerative disorders as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, prion disease and systemic amyloidosis are intracellular inclusions made largely of aggregates of a certain protein, which lead to degeneration in specific regions of the brain. Evidently, early detection of such insoluble structures is of almost importance for medical diagnostics. Due to its high sensitivity and simplicity fluorescence spectroscopy technique is commonly used for this purpose. Classical amyloid-specific dyes – Congo Red (CR) and Thioflavin T (ThT) – have several drawbacks, associated particularly with their ability to affect stability of fibrillar intermediates and pronounced ability for native protein. In view of this a variety of new fluorescent probes are continuously evaluating for their ability to serve as the markers of amyloid fibrils. In the present study novel aminobenzanthrone derivatives (Kirilova, 2008) have been tested for their sensitivity to amyloid fibrils and prefibrillar aggregates of cationic protein lysozyme (Lz). Lysozyme fibrils were obtained by incubation of the protein in ethanol solution with final ethanol concentration of 80% (Holley, 2008). At the first step of the study quantitative parameters of the dye – protein interactions – association constant, binding stoichiometry and molar fluorescence of the bound dye, have been determined by analyzing the fluorescence intensity dependencies on protein concentration in terms of the Langmuir adsorption model. It was found, that four fluorophores: AM1, AM2, AM3, AM4 have strong affinity for fibrils, compared to other dyes: A4, A6, A8. Moreover, association constants of AM dyes ( $21 - 64 \mu M^{-1}$ ) were ca. 3 orders of magnitude higher, than that of ThT (ca.  $0.04 \mu M^{-1}$ ). The molar fluorescence, characterizing the bound dye quantum yield, had the largest value in the case of AM1 (ca.  $950 \mu M^{-1}$ ). All probes, except of A4 and AM3, displayed the binding stoichiometry ca.  $\sim 0.2$ . The dye – protein binding is presumably stabilized by hydrophobic interactions, i.e. interactions of these nonpolar molecules with protein backbone, exposed in fibrils. The markers for protofilaments, protofibrils or mature fibrils are desirable to be insensitive to native protein, which may be present in assay samples. It was appeared that, all fluorophores under study possess lower affinity to native lysozyme, compared to mature fibrils: ca. 1 – 3 orders of magnitude lower association constants and  $\sim 20$

times weaker molar fluorescence. Moreover, early diagnostics of amyloid diseases, i. e. detection of misfolded prefibrillar structures in vitro is of great importance for effective treatment of these disorders. Therefore, we also examined fluorophores' affinity for earlier prefibrillar aggregates of Lz. It was found that AM4 has the highest molar fluorescence and association constant, while AM1 has lower affinity for oligomers, compared to that for mature aggregates. Therefore, AM1 may be used exclusively for fibril detection and diagnostics of the late stages of neurodegenerative diseases. AM3 and AM4 also bind strongly to mature fibrils and can be used for detection of both mature and prefibrillar aggregates, being useless, however, in case of fibril and oligomer mixtures. Compared to native Lz, the aggregates of misfolded protein have ~ 10 times higher number of binding sites for the dyes, being nonspecific and causing no characteristic fluorescence appearance. In summary, the present study revealed strong affinity of new AM1 and AM4 dyes to Lz fibrils and oligomers, respectively. This work was supported by the grants from European Social Fund (project number 2009/0205/1 DP/1.1.1.2.0/09/APLA/VLAA/152) and the Science and Technology Center in Ukraine (project number 4534).

### **Yudintsev A. V.**

#### **EFFECT OF EUROPIUM COMPLEXES ON MODEL MEMBRANE STRUCTURE AS REVEALED BY FLUORESCENT PROBE LAURDAN**

*Department of Biological and Medical Physics, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61077, Ukraine  
e-mail: ayudintsev@yahoo.com*

Interest in design of novel pharmaceutical formulations is currently focused on the achievement of correlation between the activity of a drug and its side effects. A lot of chemotherapeutic agents have a narrow therapeutic index. Increase of the drug doses to a concentration, required for therapy, is often causes various side effects. To improve drug pharmacokinetics and to achieve high therapeutic index it is necessary to use the targeted delivery of a drug close to its destination (invaded tissue). Modern drug delivery systems involve formulations based on different materials, such as polymers and lipids. Among these systems liposomes represent the most promising drug carrier due to the following advantages. First, liposomes are constructed from lipids which have biological origin. This feature makes liposomes fully biocompatible and in the case of liposomes destruction, lipids can be used by organism as building material. Second, the amphiphilic structure of liposomal phospholipids allows loading these systems by both lipophilic and hydrophilic compounds. The drugs, encapsulated into liposomes, become protected from the degradation and transformation in an organism. Variation of liposome size and composition allows to realize targeted delivery of a drug, minimize side effects and enhance therapeutic index. Utilization of delivery systems is especially important in cancer therapy. However, there are several problems limiting the application of liposomes viz. their stability, low drug entrapment, particle size control and short circulation half-life of vesicles. In view of this, prior to use the liposomes as nanocarriers it is necessary to know the character of interactions between compound in question and lipid membrane.

The present study was undertaken to evaluate the effect of a new potential antineoplastic drugs – europium coordination complexes, referred to here as V3-V8, – on the structural state of phosphatidylcholine model membranes. To achieve this goal fluorescent probe Laurdan was employed. This probe exhibits a spectral sensitivity to the polarity of its environment, showing a red shift of both excitation and emission spectra with increase of the polarity of environment. The quantum yield of Laurdan fluorescence in aqueous environment is virtually zero, while in membrane it is quite high. To explore the effect of the drugs in question on the lipid bilayer polarity the generalized polarization (GP) was evaluated. This parameter reflects the changes in Laurdan microenvironmental polarity: the higher is the GP value the higher is the polarity. It has been found, that europium complexes differ in their influence on lipid bilayer structure, depending on the size and chemical structure of compounds under study. Particularly, V3, V4 and V7 inclusion (their average diameter  $\langle d \rangle \sim 11-$

14.3 E) into lipid bilayer were followed by insignificant GP changes. Addition of larger complexes V5 (with  $\langle d \rangle \sim 15$  E) and V8 (with  $\langle d \rangle \sim 19$  E) were accompanied by opposite GP changes: decrease (by 7–13%) in the case of V5 and increase (by 4–56%) in the case of V8. The observed effects, presumable arise from the changes of bilayer hydration which are caused by investigated compounds. In this context, it is interesting to compare the values of lipid to water partition coefficients ( $K_p$ ) of these complexes. Specifically, this parameter is seven times greater for V5 than that for V8. V5 probably can penetrate into a deeper membrane region. This process causes modifications of membrane structure, which are followed by increase of membrane permeability for water molecules. On the contrary, V8, apparently, is localized near the membrane surface. Due to the structural features of this compound (a great number of aromatic rings) and large size, its insertion into the membrane causes the displacement of water from the region, where Laurdan is located.

This work was supported in part by the grant #4534 from the Science and Technology Center in Ukraine.

### **Жолобко О., Коструба А., Стецишин Ю.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ АДСОРБЦІЇ БИЧАЧОГО СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ НА ПОВЕРХНЮ СКЛА, МОДИФІКОВАНОГО ПРИЩЕПЛЕНИМ НАНОШАРОМ ОЛІГОЕЛЕКТРОЛІТ-ГРАФТ-ПОЛІ(N-ІЗОПРОПІЛАКРИЛАМІДУ)**

*Національний університет «Львівська Політехніка»*

*вул. С.Бандери, 12, Львів 79013, Україна*

*e-mail: sjanichka@bigmir.net*

Поверхні відіграють важливу роль у проходженні біологічних реакцій. Так, більшість біологічних реакцій відбуваються на поверхні або межі розділу фаз. Типові важливі біологічні реакції – це взаємодія поверхні клітин і синтетичного біоматеріалу, адсорбція білків на поверхні та біологічні тканини, взаємодія кисню з поверхнею легень тощо. Одним із ключових моментів у цих дослідженнях є вивчення закономірностей процесу адсорбції білків, у результаті якого поверхня може набувати таких біоспецифічних властивостей, як біосумісність, зокрема гемосумісність тощо.

В останні роки інтенсивно розвивається новий, перспективний напрям модифікації поверхні чутливими полімерами, які змінюють свої властивості під дією чинників оточуючого середовища, наприклад, температури, світла, рН тощо. Це дає змогу здійснювати передбачувану взаємодію біологічно активних субстанцій, зокрема білків, з поверхнями в умовах контрольованої дії зовнішніх факторів.

Для прищеплення до поверхні скла чутливих полімерних щіток скляні пластинки обробляли  $\gamma$ -амінопропіл(триетокси)силаном. У результаті обробки на них були іммобілізовані первинні аміногрупи. За участю цих аміногруп до поверхні модифікованого скла прищеплювали пероксидовмісний олігоелектролітний модифікатор, який має рН-чутливі властивості. Методом ініціювання “від поверхні” до отриманого пероксидованого олігоелектролітного наношару прищеплювали термочутливі щітки. Змінюючи умови прищеплення полі-N-(ізопропілакриламід) (час та температуру термообробки), досягали контрольованого ступеня модифікації поверхні. Дослідження властивостей отриманого наношару показало його температуро- та рН-чутливі властивості, тобто здатність змінювати конформацію прищеплених макромолекул, а відповідно і властивості прищепленого наношару під дією температури та рН середовища.

Важливим сучасним методом дослідження товщини і структури поверхневих наношарів є метод еліпсометрії, який відзначається високою точністю й достовірністю одержаних результатів. Ми застосували еліпсометричний метод для дослідження залежності товщини, кількості та оптичних параметрів адсорбованих наношарів альбуміну від часу адсорбції. У роботі використані цитратно-фосфатні (буферні) розчини альбуміну зі значеннями рН 3 та 7,4, а також температури адсорбції 20 і 37°C.

У результаті дослідження процесу адсорбції бичачого сироваткового альбуміну на поверхні скла, модифікованого прищепленим наношаром олігоестер-графт-полі(N-ізопропілакриламід) можна зробити висновок, що у даному випадку рН середовища практично не впливає на адсорбцію альбуміну

на модифіковану поверхню. Вирішальне значення на адсорбцію альбуміну має температура оточуючого середовища. Так, кількість адсорбованого альбуміну на модифіковані поверхні при температурі 20°C на 40% вища, ніж при 37°C.

Одночасно температуро- та рН-чутливі поверхні, модифіковані прищепленим наночастиною олігоелектроліт-графт-полі(N-ізопропілакриламід) мають перспективи для використання їх як «інтелегентних» імплантатів і біосенсорних систем.

### **Самаруха І. А., Щурська К. О.**

#### **МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОДУКУВАННЯ ЕЛЕКТРИЧНОЇ ЕНЕРГІЇ ЗА ВИКОРИСТАННЯ СОЛЕЙ АЦЕТАТУ**

*Кафедра екобіотехнології та біоенергетики,  
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»,  
пр. Перемоги, 37 (корп.4, кімн.182), м. Київ, 03056, Україна  
e-mail:iryana.samarukha@gmail.com*

Одним із пріоритетних напрямів сучасної біотехнології є біоенергетика, багатообіцяючи перспективи розвитку якої обумовлені потребою сучасного світового енергетичного ринку у високопродуктивних «зелених» і зручних у використанні технологічних підходах. Варто зазначити, що біологічні процеси вирізняються високим ККД та «м'якими» оптимальними умовами функціонування, тому, вочевидь, важко переоцінити можливу роль біотехнологій у вирішенні сучасних енергетичних проблем людства. Біоелектрохімічне продукування електричної енергії з високоенергетичних субстратів є новим напрямом у біоенергетиці, а складність математичної моделі процесу обумовлена проблематичністю адекватного опису як біологічних, так і електрохімічних процесів і, зокрема, процесів масообміну. Тому для спрощення математичної моделі біотехнологічного отримання електричної енергії та утворення біоплівки асоціації мікроорганізмів-деструкторів з екзоелектрогенною здатністю було використано натрій ацетат як субстрат і зроблено припущення про наявність у системі високопродуктивного медіатора електронів хімічної чи біохімічної природи.

Метою математичного моделювання процесу є розрахунок значень електричного струму і напруги, що генерується. Електричний струм виникає, коли певні розчинні хімічні сполуки окиснюються на аноді, а інші відновлюються на катоді. Перше завдання полягає у визначенні електрохімічної моделі для електродних реакцій, які залежать від потенціалу електрода та концентрації реагентів/продуктів у приелектродному шарі. По-друге, через концентрації хімічних компонентів і біомаси, що визначаються масообміном і реакціями у біоплівці й об'ємі електроліту, пропонується описані раніше математичні моделі формування біоплівки з використанням масового балансу включити в дещо адаптованому вигляді.

При побудові задекларованої математичної моделі було визначено основні стаціонарні, керуючі параметри та параметри збурення процесу біотехнологічного продукування електричної енергії в МПЕ, а також наведено й описано змінні та скорочення, що використовувалися для опису математичної моделі. Загальну математичну модель описували за смисловими блоками, обумовленими специфікою процесу, а саме, електрохімічні параметри і залежності (швидкість електродних реакцій, струм і заряд, напруга і перенапруга) та математичний опис приелектродної системи «біоплівка/об'єм рідини» (кінетика мікробних реакцій, матеріальні баланси в об'ємі електроліту, матеріальні баланси в біоплівці, розрахунок рН). Для практичної реалізації математичної моделі запропоновано загальний алгоритм розрахунку та побудови математичної моделі, а також проведено оцінку основних термодинамічних показників, із яких випливає неможливість перебігу процесу без участі мікроорганізмів за даних умов, та виконано оцінку лімітуючих стадій і втрат в МПЕ.

Загальна модель реалізована через програмне забезпечення, написане в C/C++. Електрохімічні та біохімічні реакції визначені на основі їх стехіометрії та параметрів швидкості. Одно-, дво- або три-

вимірний опис системи біоплівки здійснений на основі представленої моделі для окремого випадку МПЕ з ацетатом, який працює у періодичному режимі.

### **Шурська К. О., Самаруха І. А.**

#### **ОТРИМАННЯ ВОДНЮ В БІОЕЛЕКТРОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСАХ ПЕРЕТВОРЕННЯ ЕНЕРГІЇ**

*Кафедра екобіотехнології та біоенергетики,  
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»,  
пр. Перемоги, 37 (корп. 4, кімн. 182), м. Київ, 03056, Україна  
e-mail: evdoksiya@gmail.com*

У наш час значна увага приділяється розробці екологічно чистих процесів отримання водню з різноманітних відходів і в першу чергу опрацьовуються новітні біотехнології отримання водню. Ці методи є найбільш економічно та екологічно привабливими, тому що сировиною для отримання біоводню можуть бути органічні відходи різноманітного походження.

За джерелами енергії, які використовуються організмами, мікробіологічні процеси можна розподілити на такі:

- темнове анаеробне виділення біоводню, у процесі якого енергія хімічних зв'язків молекул субстрату перетворюється в енергію хімічних зв'язків водню;
- світлозалежне виділення водню, при якому мікроорганізми конвертують світлову енергію в енергію хімічних зв'язків молекул водню;
- біоелектрохімічне продукування водню за використання мікробних паливних елементів, у яких електрична енергія, а також енергія хімічних зв'язків органічного субстрату акумулюється в молекулах водню.
- Серед усіх біотехнологій одержання водню чільне місце займає останній. Цей біоелектрохімічний процес поєднує окиснення органічних речовин на біологічному аноді з відновленням протонів на катоді й утворенням молекулярного водню. Пристрій, у якому відбувається цей біотехнологічний процес, називають мікробним паливним елементом, за використання якого теоретично біоводень можна продукувати, застосовуючи напругу, більшу ніж 110 мВ.

Метою нашої роботи було дослідити вплив прикладеної до електродів напруги на біоелектрохімічний процес виділення водню. Було встановлено, що об'єм виділеного водню зі збільшенням прикладеної напруги від 0,2 до 0,8 В зростає у 20 разів. При цьому час культивування зменшується від 84 до 57 год. Подібну тенденцію демонструє і залежність швидкості продукування водню від прикладеної напруги. Для встановлення оптимального значення прикладеної напруги (при якому відбуватиметься максимальне виділення біоводню) було досліджено залежності таких показників, як кулонівська ефективність і ефективність рекомбінації водню від значення прикладеної напруги. Було встановлено, що зі збільшенням прикладеної напруги всі показники ефективності зростають лише до значення 0,6 В, після чого спостерігається їх суттєвий спад. Тому можна стверджувати, що найбільш ефективним є використання значення напруги у 0,6 В. При дослідженні ефективності видалення ХСК від значень прикладеної напруги встановлено, що саме у зазначеному діапазоні напруг відбувається ефективно видалення ХСК (зменшується майже удвічі), що дало змогу стверджувати, що за наявності дешевої відновлюваної енергії МПЕ може використовуватися для очищення стічних вод.

Враховуючи те, що процес виділення водню на катоді не є самочинним і потребує додаткової енергії, існує необхідність в альтернативному відновлюваному джерелі енергії, наприклад, у вигляді сонячної енергії за використання фотокатода, виготовленого з напівпровідника р-типу із  $Cu_2O$ , який при дії світла є джерелом електронів. Дослідження можливості застосування такого додаткового джерела енергії у процесі біоелектрохімічного процесу конверсії енергії є наступним кроком наших досліджень.

## БІОХІМІЯ / BIOCHEMISTRY

**<sup>1,2</sup>Chen O., <sup>1</sup>Nodzhak I., <sup>2</sup>Lyniv L., <sup>2</sup>Barska M., <sup>2</sup>Stasyk O., <sup>1</sup>Sybirna N.**  
EFFECT NITRIC OXIDE DONOR ON MORPHO-FUNCTION AND ADHESIVE PROPERTIES  
OF HUMAN MELANOMA CELLS UPON ARGININE DEPRIVATION

<sup>1</sup>Ivan Franko Lviv National University, 4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine,

<sup>2</sup>Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, 14/16, Drahomanov St., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: oleh.chen@gmail.com

Human malignant melanoma is a highly metastatic cancer that is markedly resistant to conventional therapies (Grimm E. A., 2008). Therefore, anticancer therapy based on arginine-degrading enzymes is one of such promising strategies (Wheatley D.N., 2005). This therapy also utilizes nitric oxide (NO)-releasing compounds for compensation of NO-deficiency, which results from arginine starvation, and may cause cardiovascular collapse through high blood pressure and vasoconstriction. Nevertheless, NO can stimulate proliferation and metastasis of malignant melanoma.

The aim of this study was to elucidate morpho-functional and adhesive alterations in human melanoma cells caused by NO donor sodium nitroprusside (SNP) under arginine deprivation. It was shown, by using Neutral Red Uptake Assay for the estimation of cell viability/drug cytotoxicity, that 0,1 mM SNP statistically significantly inhibited growth and viability of melanoma cell line SK-Mel-28 cultivated on arginine-free (AFM) and induced apoptosis, as evaluated by Nuclear Fragmentation Assay and Annexin V-FITC-PI Apoptosis Detection Assay. With purpose to evaluate possible effects of SNP on metastatic potential of melanoma cells, we assayed the process on three components: 1) adhesion in primary tumor or secondary metastatic sites (heterotypic – cell-ECM, which is provided by cell surface receptors that may be affected by altered glycosylation profile upon arginine deprivation, 2) spontaneous homotypic aggregation that leads to the formation of multicellular malignant cell aggregates and 3) cell spreading. We utilized Spreading test, Cell Clonogenic Survival Assay and Cell Aggregation Assays. The homotypic aggregation and the spontaneous adhesion of the SK-Mel-28 cells was decreased in the presence of SNP (0,1 mM) under arginine starvation. Spreading test with TRICT phalloidin staining illustrated that arginine withdrawal inhibited dissemination of melanoma cells and SNP did not counteract the process and did not stimulate the clonogenic capacity of SK-Mel-28 cells. We evaluated the pattern of lectin binding of cell surface carbohydrates detected on the melanoma cell line under arginine depletion. Arginine deprivation promoted the decrease of sialylation carbohydrates, that contributed to lowering malignisation of the melanoma and favored cells detachment. Moreover, arginine restriction was accompanied with the inhibition of the expression of the adhesive molecules by decreasing expression of  $\alpha\beta 3$  integrin, the most specific marker of the transition of melanoma from the radial growth phase to the vertical growth phase.

NO donor sodium nitroprusside did not improve the viability and significantly decreased metastatic potential of melanoma cells and can be potentially used as a compensatory agent under arginine restriction *in vivo*.

**Дильова О., Люта М., Бурда В., Федорович А., Сибірна Н.**

ПРОЦЕС НІТРОЗИЛЮВАННЯ ДЕЗОКСИГЕМОГЛОБІНУ  
ДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ АГМАТИНУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: lyuta.maryana@mail.ua

Система крові, її окремі компоненти, а саме гемоглобін еритроцитів, зазнають суттєвих функціональних і структурних змін за цукрового діабету. Гемоглобін має виняткову властивість – він обо-

ротно зв'язує кисень, що є молекулярною основою дихальної функції крові. При взаємодії гемоглобіну з киснем утворюється оксигемоглобін ( $\text{HbO}_2$ ). Кисень у гемоглобіні за певних умов може заміщуватися такими лігандами як, CO, NO та інші. NO може зв'язуватися із гемовою та білковою частиною молекули гемоглобіну, утворюючи нітрозилгемоглобін (NOHb) та нітрозогемоглобін (SNOHb), відповідно (Shumayev, 2008, Зінчук, 2003). Вивчення механізмів взаємодії гемоглобіну з NO є важливим, зокрема за різних патологічних станів. Поширеним підходом у експериментальних модельних дослідженнях ролі системи L-аргінін/NO за різних фізіологічних і патологічних станів є використання ефективних інгібіторів NO-синтази. У наших дослідженнях ми використовували агматин, який є селективним інгібітором iNOS, оскільки саме активність цієї ізоформи значно зростає за досліджуваної патології. Агматин – ендогенна біологічно активна речовина, що синтезується з амінокислоти L-аргініну за допомогою ферменту аргініндекарбоксилази (АДК). Агматин і АДК були виявлені в організмі людини, зокрема, у мозку, печінці, нирках, сечі, сироватці крові (August, 1995, Halaris, 2007, Ozyazgan, 2003).

Метою роботи було дослідити вплив агматину на процес нітрозилування дезоксигемоглобіну та спектральні характеристики нітрозилгемоглобіну за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

Вплив агматину “Sigma” (США) оцінювали *in vivo*: при введенні внутрішньом'язово піддослідним тваринам у концентрації 20 мг/кг маси протягом 14 днів, починаючи з третього дня після індукції цукрового діабету. Встановлено, що за дії агматину відбувається сповільнення процесу нітрозилування дезоксигемоглобіну у контрольних (в 1,3 рази) та у тварин з ЕЦД (в 1,5 рази). Отже, введення агматину діабетичним щурам нормалізує час переходу дезоксигемоглобіну в нітрозилгемоглобін, наближаючи його до контрольного рівня.

Аналіз спектрів поглинання NOHb щурів за дії агматину у контролі та за умов стрептозоточинового діабету свідчить про деяке зміщення смуги Soret. Зокрема, за введення агматину контрольним тваринам спостерігається зниження інтенсивності нітрозилування гемового компонента (пік Soret) щодо гемоглобіну контрольних тварин. Така ж картина відзначена нами при введенні інгібітора NO-синтази щурам з ЕЦД щодо гемоглобіну тварин, хворих на цукровий діабет. Агматин викликає зсув максимуму спектра поглинання нітрозилгемоглобіну в довгохвильову ділянку на 3,4 нм (батохромний ефект) у контрольних тварин і зсув уліво в короткохвильову ділянку спектра (гіпсохромний ефект) на 1,4 нм у тварин з ЕЦД.

Таким чином, виявлені нами зміни у спектральних характеристиках нітрозилгемоглобіну (зсуви у ділянці смуги Soret) та тривалості процесу нітрозилування за умов дії інгібітора NO-синтази – агматину в нормі та за ЕЦД можуть бути результатом модифікації глобінового компонента (нітрозилування по SH-групах цистеїну у 93 положенні  $\beta$ -ланцюга), а також порушення зв'язку гема з глобіном унаслідок зміни конформаційного стану молекули цього гемопротейну. Швидкість приєднання NO та інших лігандів до гемоглобіну поряд зі спектральними характеристиками утворених лігандних форм може бути основою розуміння механізмів взаємодії цих молекул за різних патологічних станів.

## **Ференц І., Дильова О., Люта М., Бродяк І., Бурда В., Федорович А., Сибірна Н.**

### **ВПЛИВ АГМАТИНУ НА АПОПТОЗ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: iryna\_ferenc@i.ua*

Сучасні дослідження вказують на те, що оксид азоту виявляє генотоксичний вплив, пошкоджуючи хімічну структуру ДНК. Оксид азоту активує ряд ферментів, зокрема полі-(АДР-рибозо)-полімерази, які утворюють численні розриви в ДНК (Покровський, 2005; Pacher, 2007). При додаванні в культуру



клітин екзогенного донора оксиду азоту – S-нітрозоглутатіону методом електрофорезу в агарозному гелі досліджено вміст фрагментованої ДНК та підтверджено, що при високих концентраціях оксид азоту проявляє проапоптичну дію в лейкоцитах периферичної крові людей, хворих на цукровий діабет 1 типу (Cerchiago, 2001). При перевищенні фізіологічних концентрацій оксид азоту викликає зниження експресії антиапоптичних білків у лейкоцитах крові за цукрового діабету 1 типу (Mahidhara, 2003). У механізмах індукції процесу апоптозу оксидом азоту важливе значення має активація каспази-1, каспази-3, каспази-6, накопичення проапоптичного білка p53, індукування експресії білка Вах, зниження рівня внутрішньоклітинного антиапоптичного Bcl-2 білка, збільшення вмісту пероксиду водню (Pozner, 2005). Використання донорів NO, а також інгібіторів синтезу даної молекули – це актуальний підхід до теоретичних і практичних досліджень механізмів запуску та реалізації апоптичної програми в імуноткомпетентних клітинах крові і новий напрям пошуку селективних лікарських препаратів.

Метою роботи було дослідити вплив селективного інгібітора NO-синтази – агматину на процес апоптозу лейкоцитів периферичної крові щурів у нормі та за умов експериментального цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином.

За умов стрептозотоцинового діабету відбувається достовірне зростання апоптичного індексу лейкоцитів периферичної крові. Індекс апоптозу розраховували як співвідношення кількості клітин з морфологічними ознаками апоптозу (пікноз, конденсація та фрагментація ядра, вакуолізація ядра і цитоплазми, цейозис мембрани, внутрішньоклітинні токсичні гранули) до кількості клітин без ознак апоптозу. Імуноцитохімічним дослідженням лейкоцитів периферичної крові було встановлено, що при експериментальному цукровому діабеті зростає кількість клітин з підвищеним вмістом проапоптичного білка p53, а також збільшується вміст фрагментованої ДНК порівняно з показниками у контрольних тварин. Введення щурам внутрішньом'язово агматину в дозі 20 мг/кг протягом 14 днів викликало зниження морфологічного індексу апоптозу та вмісту білка p53 в лейкоцитах периферичної крові щурів при стрептозотоциновому діабеті. Таким чином, введення селективного інгібітора NO-синтази – агматину зумовлює односпрямовані та пропорційні зміни морфологічних, імуноцитохімічних і спектрофотометричних показників процесу апоптозу лейкоцитів крові при експериментальному цукровому діабеті.

**Гальчишак Л., Здіорук М., Бродяк І., Сибірна Н.**  
**ТРАНСДУКЦІЯ ЛЕКТИНОІНДУКОВАНОГО СИГНАЛУ ЧЕРЕЗ**  
**ФОСФАТИДИЛІНОЗИТОЛ-3'-КІНАЗНИЙ ШЛЯХ У НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТАХ**  
**ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ**

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

Фосфатидилінозитол-3'-кіназа є основним ліпофільним ензимом, який опосередковує внутрішньоклітинне ліпідне сигналювання при різних типах клітинної відповіді, зокрема при рецептор-опосередкованому ліпогенезі, активації нейтрофілів, транспортуванні глюкози, везикулярному транспортуванні, утворенні рафтів на мембрані, реорганізації цитоскелета. Фосфатидилінозитол-3'-кінази надається важливе значення у реалізації локомоторної функції лейкоцитів. Клітинні білки, які є мішенями для даного ферменту, беруть участь у формуванні стресових фібрил, утворенні ламелоподій та філоподій. Реорганізація цитоскелета є ключовим моментом у забезпеченні міграційної здатності лейкоцитів.

Метою роботи було дослідження трансдукції лектиніндукованих сигналів через глікопротеїнові рецептори із залученням фосфатидилінозитол-3'-кінази, яка відіграє важливу роль, здійснюючи вплив на полімеризацію актинового цитоскелета досліджуваних клітин.

Методом імуноблот-аналізу досліджено вмістрp85a регуляторної субодиниці фосфатидилінозитол-3'-кінази у лізатах лейкоцитів здорових донорів і хворих на цукровий діабет I типу. У нейтрофільних гранулоцитах здорових донорів p85a регуляторна субодиниця фосфатидилінозитол-3'-кінази детектувалася із розподілом між цитоплазматичною та мембранною фракціями як 20% до 80% відповідно. За цукрового діабету відбувається тотальне переміщення p85a із мембранної фракції у цитозольну, рівень якої досягає 95% від загального вмісту. Ці зміни корелюють зі змінами у агрегаційній активності цих клітин, що можна пояснити участю даного ферменту в сигнальних шляхах, які опосередковують зміни структурно-функціонального стану рецепторного апарату клітин, що, у свою чергу, регламентує здатність лейкоцитів до агрегації.

Після преінкубації нейтрофільних гранулоцитів зі селективним неконкурентним інгібітором фосфатидилінозитол-3'-кінази – вортманіном, лектини сочевиці (LCL), рицини (RCA) і сої (SBA) викликали невисокий ступінь агрегації цих клітин як у здорових донорів, так і у хворих на цукровий діабет I типу. Зміни параметрів лектиніндукованої агрегаційної здатності нейтрофільних гранулоцитів після інгібування фосфатидилінозитол-3'-кінази вортманіном вказує на те, що сигнальні шляхи, до яких залучена фосфатидилінозитол-3'-кіназа, беруть участь у процесах сприйняття і передачі сигналів, які опосередковуються рецепторами, в олігосахаридних ланцюгах яких є вуглеводні детермінанти, комплементарні до лектинів RCA та SBA, а також до корової частини глікопротеїнів, яка побудована із залишків  $\alpha$ ,D-манози. Крім того, фосфатидилінозитол-3'-кіназа може бути залучена до експонування та інтерналізації глікопротеїнів на мембрані нейтрофільних гранулоцитів, а також до вивільнення глікокон'югатів із внутрішньоклітинних гранул під час лектиніндукованого збудження нейтрофілів.

**<sup>2</sup>Грохольська О., <sup>1</sup>Шуваєва Г.**

**СИНЕРГІЧНА ДІЯ МОДУЛЯЦІЇ АВТОФАГІЇ ТА ГОЛОДУВАННЯ ЗА АРГІНІНОМ НА ВИЖИВАННЯ КЛІТИН ЛІНІЇ КАРЦИНОМИ ЯЙНИКІВ ЛЮДИНИ SKOV3**

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

*<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: groholska@i.ua*

Автофагія – це катаболічний процес, який дозволяє підтримувати гомеостаз клітини шляхом деградації цитоплазматичних білків та органел у спеціальних везикулах – автофаголізосомах. Даний процес є важливим не тільки для збереження генетичної стабільності клітин, але також для їх життєздатності. Крім того, автофагію можна розглядати як толерантний механізм для виживання ракових клітин в умовах метаболічного стресу, що допомагає клітинам пристосуватися й оволодіти терапевтичною резистентністю до застосованого лікування.

Нещодавні наші дослідження показали, що голодування за аргініном строго індукує автофагію у клітинах лінії карциноми яйників людини SKOV3, однак навіть довготривале голодування за аргініном не призводило до загибелі клітин. Це дало нам змогу сформулювати припущення, що для досліджуваної клітинної лінії автофагія носить захисний характер, тому, модулюючи її, можна отримати регресивну динаміку пухлинного росту.

У дослідженнях ми використовували відомий протираковий препарат таксол у поєднанні з протималарійним препаратом хлорохіноном (CQ), який є також інгібітором автофагії. Амінокислотне голодування допомогло нам зменшити концентрації ефективних доз препаратів, порівняно з тими, що використовуються в медичній практиці. Ми помітили, що і таксол, і хлорохінон зменшують відновлення клітинного росту в умовах повного середовища та середовища, збідненого на аргінін. Кумулятивна дія обох препаратів призводила до втрати клітинами здатності відновлювати проліферацію вже після 2 доби

голодування за аргініном. Інгібування автофагії шляхом блокування експресії Beclin 1, ключового білка у формуванні автофагосом, призводить до смерті клітин незалежно від умов поживного середовища.

Отже, припускаємо, що інгібування автофагії як фармакологічно, так і застосовуючи siRNA Beclin 1, має негативний вплив на виживання клітин. На ранній стадії голодування за аргініном автофагія, як захисний механізм допомагає підтримати клітинний гомеостаз та дає змогу призупинити клітинний цикл в період несприятливих умов, що успішно відновлюється після голодування. Тому використання кумулятивної дії таксолу та хлорохінону на тлі амінокислотного голодування може мати позитивну динаміку у лікуванні карцином яйників людини, що характеризуються нечутливістю до дії багатьох протипракових препаратів.

**<sup>1</sup>Харина Л., <sup>2</sup>Коробова О., <sup>2</sup>Мелікян С., <sup>1</sup>Бродяк І.**

**ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ Т-2 ТОКСИНУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ У МОДЕЛЬНИХ ЗРАЗКАХ**

*<sup>1</sup> Львівський національний університет імені Івана Франка  
бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*<sup>2</sup> Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок  
бул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна  
e-mail: iryna\_brodyak@yahoo.com*

Мікотоксини – низькомолекулярні продукти метаболізму цвілевих грибів, які, потрапляючи у рослинну сировину створюють загрозу здоров'ю споживачів продукції. Серед визначених факторів ризику, які постійно беруть до уваги виробники харчової продукції, забруднення мікотоксинами займає друге місце після бактеріальних забруднень. У сільському господарстві зменшення продуктивності тварин унаслідок дії мікотоксинів завдає значних матеріальних збитків. Оперативний контроль рівня забруднення мікотоксинами в кормовій і харчовій промисловості є важливою проблемою аналітики, біології, медицини та ветеринарії. Вплив мікотоксинів на організм характеризується канцерогенними, тератогенними, мутагенними, ембріотоксичними змінами.

Найбільш поширеними контамінантами кормів є трихотеценові мікотоксини, зокрема Т-2 і НТ-2, які продукуються грибами роду *Fusarium* і часто виявляються на території України й інших країн помірної кліматичної зони. У ветеринарії клінічні ознаки мікотоксикозів часто діагностують як інфекційні захворювання, оскільки патологічні прояви хронічного отруєння мікотоксинами не завжди мають характерні ознаки, за якими можна встановити етіологію хвороби. Одностайності щодо встановлення максимально допустимого рівня (МДР) Т-2 та НТ-2 токсинів у кормах в світі немає. У країнах ЄС МДР вмісту Т-2 токсину ще не регламентований директивами, в Україні він становить 0,2–0,25 мг/кг, в країнах Океанії – 0,08 мг/кг, у Канаді – 1,0 мг/кг. МДР вмісту НТ-2 токсину регламентовано тільки законодавством Канади і становить 0,1 мг/кг.

Одержання достовірної інформації про вміст у зразках біологічного походження Т-2 токсину та його метаболітів, яка потрібна для встановлення МДР цих мікотоксинів, можливе тільки зі застосуванням методів аналізу, які дають змогу встановити не тільки наявність потрібного аналіту, але і його метаболітів. Одним із найбільш точних та інформативних методів у аналітиці вважається мас-спектрометричний аналіз. Тому метою нашої роботи була розробка методики хромато-мас-спектрометричного визначення низьких концентрацій Т-2 токсину та його метаболіту НТ-2.

За наявними у літературі даними нами було вибрано умови для визначення вмісту Т-2 токсину в стандартних і модельних зразках за батьківськими іонами зі співвідношенням маси до заряду ( $m/z$ ) 489,0 та продукт-іонами 387,0; 245,0. Проведено підбір умов хроматографічного розділення за градієнтом метанолу та води від 100% до 80%, на 5 хв аналізу за швидкості потоку 0,3 мл/хв. Дослідження

проведено з використанням хромато-мас-спектрометра фірми Varian 1200L. Модельними матрицями слугували злакові культури (жито, пшениця) з додаванням відомих концентрацій стандартних розчинів трихотеценових токсинів. У модельних зразках потенційних харчових матриць визначався кількісний вміст Т-2 токсину.

Параметри мас-спектрометричного детектора, що були встановлені експериментально, дають змогу проводити кількісне визначення вмісту Т-2 токсину в діапазоні від 0,1 до 10 мкг/кг, що підтверджується лінійністю побудованої калібрувальної кривої, за мінімальної чутливості методики на рівні 0,5 мкг/кг. Встановлено співвідношення мас продукт-іонів і хроматографічний час утримання аналітів.

Подальша робота передбачатиме оптимізацію методики визначення суміші трихотеценових мікотоксинів у реальних зразках харчових матриць.

### **Хохла М., Клевета Г., Трохимчук О., Чайка Я., Сибірна Н.**

#### **АНАЛІЗ ЛЕЙКОЦИТАРНОЇ ФОРМУЛИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ ТА ВВЕДЕННЯ ЕКСТРАКТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ (*GALEGA OFFICINALIS* L.)**

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

Пошук ефективних лікарських засобів для профілактики, лікування і запобігання діабетичним ускладненням є одним із найважливіших медико-соціальних завдань сучасної біології та медицини. Поряд із традиційними методами лікування цукрового діабету у наш час широкого застосування набувають альтернативні, допоміжні засоби, які сприяють полегшенню перебігом захворювання. До них відносять фітотерапію, яка застосовується як самостійний метод при легкому перебігу діабету, носить допоміжний характер при середній важкості захворювання та слугує симптоматичним засобом при важкому перебігу захворювання і його ускладненнях.

Серед рослин, які володіють цукрознижувальними властивостями, увагу дослідників привертає галега лікарська (*Galega officinalis* L.). Дія екстрактів галеги лікарської за умов цукрового діабету на даний час не є достатньо вивченою, тому виникає потреба її детального дослідження на рівні змін морфофункціонального стану органів і систем, які найбільше ушкоджуються при діабеті, а саме системи периферичної крові.

Мета роботи – оцінка показників лейкоцитарної формули периферичної крові у щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу та введення препарату галеги лікарської у дозі 0,6 г/кг маси тіла тварини.

Експериментальний діабет індукували введенням стрептозотоцину (Sigma, США) доочеревино в дозі 5,5 мг на 100 г маси тіла тварини.

Препарат галеги лікарської отримували шляхом настоювання надземної частини галеги лікарської у 96% етиловому спирті в співвідношенні 1:5. Екстракт упарювали у вакуумі при температурі 45-50°C. Отриманий залишок розділяли на алкалоїдвмісну (водну) та безалкалоїдну (хлороформну) фракції.

В результаті проведених досліджень встановлено вірогідне зниження кількості лейкоцитів за умов цукрового діабету 1-го типу (на 41,26%) порівняно з контролем. Введення препарату галеги лікарської впродовж 12 днів приводить до зростання кількості лейкоцитів на 16-51% щодо діабету впродовж усього періоду експерименту, при цьому відзначено підвищену їх кількість і після припинення введення досліджуваного екстракту. Введення препарату здоровим тваринам не приводило до істотних змін у кількості лейкоцитів.

Аналіз показників лейкоцитарної формули за умов цукрового діабету показав підвищення кількості паличкоядерних (на 83%) і сегментоядерних нейтрофілів (на 81%) та зниження лімфоцитів на

26% порівняно з контролем. Вміст базофілів і моноцитів не відрізнявся від контрольних показників. Введення препарату галегі лікарської за умов цукрового діабету сприяє нормалізації показників лейкоцитарної формули.

Таким чином, досліджуваний препарат галегі лікарської виявляє позитивний вплив на показники лейкоцитарної формули за умов цукрового діабету 1-го типу.

### **Кохан Г., Старанко У., Дацюк Л., Сибірна Н.**

#### **ОЦІНКА ПОШКОДЖЕНЬ ДНК В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА ВВЕДЕННЯ ЧЕРВОНОГО ВИНА**

*Львівський національний університет ім. Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: starankoulyana@mail.ua*

Відомо, що найбільш радіочутливими клітинами периферичної крові є лімфоцити. Дія іонізуючого випромінювання як безпосередньо, так і опосередковано через активацію вільнорадикальних процесів, викликає появу одно- та дwonиткових розривів ДНК й індукує апоптичні процеси у цих клітинах. Одnonиткові розриви швидко відновлюються, тоді як дwonиткові репаруються повільно або зовсім не репаруються, і клітина гине.

В останні роки було розроблено багато методів, які дають змогу реєструвати пошкодження ДНК, однак не всі вони володіють достатньою чутливістю та специфічністю. Одним із найбільш чутливих методів оцінки клітинної реакції на опромінення є метод «ДНК-комет», який базується на оцінці електрофоретичної рухливості ДНК окремих клітин, іммобілізованих в агарозному гелі. Реєстрованою зміною є здатність ДНК індивідуальної клітини мігрувати у постійному електричному полі завдяки розщепленню її на менші фрагменти. Розщеплена ДНК клітин після електрофорезу утворює характерні структури, що на вигляд нагадують комети. Їх розділяють на 5 класів залежно від співвідношення розміру «голови» та «хвоста» і об'єднують у 3 групи за рівнем пошкодження ДНК:  $C_0/C_1$  – клітини, що містять практично неушкоджену ДНК;  $C_2$  – клітини, що містять частково ушкоджену ДНК і  $C_3/C_4$  – клітини зі значними пошкодженнями ДНК. Дослідження останніх років показали, що поліфенольні сполуки, в тому числі й виноградних вин, є найсильнішими антиоксидантами серед речовин природного походження, і здатні нейтралізувати набагато ширший спектр вільних радикалів, ніж інші сполуки, які проявляють такі ж властивості. Поліфеноли захищають мембрану та внутрішньоклітинні компоненти від ушкоджуючої дії активних метаболітів кисню, запобігаючи перекисному окисненню біомолекул. Крім цього, вони володіють вираженими імуностимулюючими й антиканцерогенними властивостями. Їх високі адаптогенні характеристики пов'язані зі синергізмом з іншими антиоксидантами.

Метою даної роботи було дослідити рівень пошкодження ДНК лімфоцитів периферичної крові щурів після одноразового рентгенівського опромінення в дозі 30 сГр упродовж 3 діб та на фоні введення з питною водою червоного вина «Бастардо» (300 мл/70 кг/добу). Піддослідні щури були поділені на 3 групи (n=6). Перша група зазнавала опромінення, друга – 10 днів перед опроміненням споживала з питною водою вино, третя – контрольна.

«ДНК-комет» аналіз лімфоцитів периферичної крові щурів показав, що одноразове опромінення призводить до зростання кількості комет класу  $C_2$  та  $C_3/C_4$  на 24-ту годину на 15 і 39% відповідно. В наступні 2 доби спостерігалось поступове зменшення кількості комет цих класів. Так, на 48 і 72 годину виявлено 9 і 8% комет класу  $C_2$  і 31 та 28% класу  $C_3/C_4$  відповідно. Поява комет класу  $C_3/C_4$  свідчить про інтенсивну загибель лімфоцитів периферичної крові унаслідок радіаційного ураження.

За умов введення червоного вина виявлено достовірно нижчий рівень радіоіндукованих пошкоджень ДНК, ніж за дії іонізуючої радіації. Так, на 1-3 доби експерименту кількість комет класу  $C_2$  становила 5-6%, що у 1,5-3 рази менше порівняно з показниками, отриманими за радіаційного впливу,

а кількість комет класу  $C_3/C_4$  зменшувалась у 2 рази на 24 та 48 годину й у 7 разів на 72 годину досліду порівняно з опроміненням.

Таким чином методом «ДНК-комет» підтверджено цитопротекторний ефект червоного вина з високим вмістом поліфенолів за умов рентгенівського опромінення у дозі 30 сГр.

### **Кравчук М. В., Гнатуш А. Р., Дрель В. Р., Сибірна Н. О.**

#### **ПРОТЕКТОРНА ДІЯ ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА ЗА УМОВ НІТРАТИВНОГО СТРЕСУ, ВИКЛИКАНОГО ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ У НИРКАХ ЩУРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: krav4ukmarkiyan@gmail.com*

На сьогоднішній день цукровий діабет посідає за рівнем смертності четверте місце. У понад 40% пацієнтів, які хворіють на цукровий діабет 15 і більше років, незалежно від типу діабету (1-го чи 2-го), розвивається діабетична нефропатія (відома також як синдром Кіммельстіла-Вільсона). Діабетична нефропатія виникає як наслідок цілого комплексу різноманітних патологічних процесів, які формуються насамперед у капілярах і дрібних судинах нирки. Так, на початкових етапах у результаті гіперглікемії за умов як 1-го, так і 2-го типів діабету, посилюється утворення вільних радикалів, у першу чергу супероксид-аніона, який відразу перетворюється в інші активні форми кисню, серед яких гідроксил-радикал, пероксид водню та пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>). Пероксинітрит та інші активні форми кисню здатні до модифікації білків, ліпідів і ДНК. У відповідь на пошкодження ДНК активується ядерний ензим полі(ADP-рибоза) полімераза-1 (PARP-1), що призводить до значного зменшення “енергетичного” пулу в клітині та може сприяти виникненню апоптозу чи некрозу. На даний час не запропоновано ліків, які б запобігали діабетичним нефропатіям на ранніх етапах виникненню та вцілому перешкождали б їхньому формуванню.

В останні роки було виявлено важливу роль поліфенолів червоних вин, серед яких виділяють проантоціаніди, ресвератрол, катехіни та ряд інших похідних флавоноїдів, у запобіганні серцево-судинним захворюванням. Відомо, що поліфеноли червоних вин здатні взаємодіяти з білками плазми та клітинними елементами крові, запобігаючи передчасному окисненню їхніх молекулярних комплексів, спричинене оксидативним стресом. Ці речовини здатні модифікувати активність ряду ензимів, виявляючи хелатуючі властивості.

Метою даної роботи було дослідження впливу поліфенолів білого та червоного вина на нирки щурів за умов стрептозотозин-індукованого цукрового діабету.

Виявлено, що поліфеноли червоного вина (у розрахунку 300 мл вина/70 кг маси тіла/добу за два тижні перед та протягом місяця після індукції діабету) не змінюють концентрації глюкози у крові тварин як контрольних груп, так і хворих на діабет. За час експерименту встановлено зростання маси тіла у групі контрольних та у щурів з цукровим діабетом за дії червоного вина на 54 та 24% відповідно. У той же час маса тіла щурів, хворих на діабет, які не споживали червоного вина, залишилася без істотних змін.

Результати наших досліджень вказують на те, що вже на ранніх етапах розвитку цукрового діабету в нирках активується PARP-1 та починає накопичуватися нітротирозин, що свідчить про активацію процесів оксидативно-нітративного стресу. Спостерігається також втрата подоцитів у нирках діабетичних щурів, що свідчить про виникнення значних патологічних змін. Виявлено, що поліфеноли червоного вина володіють значним антидіабетичним ефектом, як на рівні цілого організму, захищаючи його від зневоднення, так і шляхом нормалізації вмісту нітротирозину та полі-(ADP)-рибозильованих білків, а також кількості подоцитів у клубочку нирок діабетичних тварин.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що поліфеноли червоного вина можуть нормалізувати окремі показники, змінені за умов оксидативно-нітративного стресу при цукровому діабеті, а

також про можливість використання як червоного вина, так і екстрактів поліфенолів у створенні ліків нового покоління для лікування діабету, можливо, у комплексі із цукрознижувальними препаратами.

**Мирон О., Перетятко Ю., Климишин Н., Сибірна Н.**

**АГРЕГАЦІЯ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ, ІНДУКОВАНА ЛЕКТИНОМ  
МААСКІА АМУРЕНСІС, ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ  
ТА ВВЕДЕННЯ L-NAME**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
Вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: yulia.peretyatko@mail.ru*

Агрегація клітин – це комплексний феномен, для реалізації якого необхідна ціла низка умов, серед яких поряд із присутністю двовалентних катіонів, наявністю елементів цитоскелета, значенням електростатичного заряду важливу роль відіграє наявність на поверхні клітин рецепторних структур, що сприймають сигнал. Різноманітність рецепторів лейкоцитів визначає їхню чутливість до численних подразників, будучи при цьому важливим показником потенційної реактивності. Модифікацію мембранних компонентів можуть викликати активні форми кисню, які утворюються у великій кількості в умовах радіаційного впливу у результаті підвищення активності НАДФ(Н)-оксидази та NO-синтази в нейтрофільних гранулоцитах. Зростання активності NO-синтази та, відповідно, рівня оксиду азоту, може призвести до інгібування міграції й адгезії лейкоцитів. Тому метою нашої роботи було дослідити зміни у структурі та перерозподілі вуглеводних детермінант у складі поверхневих глікокон'югатів мембран лейкоцитів на фоні хронічного рентгенівського опромінення та при введенні опроміненним тваринам *per os* неселективного інгібітора NO-синтази – L-NAME ( $N^G$ -nitro-L-arginine methyl ester). Як індуктор агрегації використовували лектин акації амурської (МАА).

При використанні лектину МАА спостерігали достовірне зростання ступеня агрегації лейкоцитів периферичної крові на 30-ту добу радіаційного впливу. Такі дані свідчать про те, що у структурі глікопротеїнових рецепторів мембран лейкоцитів зростає кількість сіалових кислот, зв'язаних  $\alpha(2\rightarrow3)$ -глікозидним зв'язком зі субтермінальним залишком галактози, які впливають як на динамічні, так і на кінетичні показники процесу агрегації лейкоцитів за умов хронічного радіаційного впливу. Сіалоглікопротеїни відіграють важливу роль у фізіології нормальних клітин, а збільшення експонування на поверхні клітин сіалових кислот корелює зі ступенем ушкодження багатьох типів клітин. Неконтрольовані зміни у процесі глікозилювання можуть призводити до пригнічення функціонування імунної системи або злоякісної трансформації. Незважаючи на це, багато досліджень описують важливість таких перебудов у процесах глікозилювання поверхні апоптичних клітин. Зі сіалоглікокон'югатами пов'язують різноманітні біологічні процеси, зокрема зв'язування гормонів, лектинів, вірусів і антитіл. Відповідно, сіалові кислоти, приєднані до нередукуючого вуглевода  $\alpha(2\rightarrow3)$ -,  $\alpha(2\rightarrow6)$ - або  $\alpha(2\rightarrow8)$ -глікозидним зв'язком, є головними компонентами, що відповідають за більшість цих біологічних процесів. Незважаючи на тип клітин і патологічний стан організму, зростання експонування термінальних залишків сіалових кислот, зв'язаних  $\alpha(2\rightarrow3)$ -глікозидним зв'язком зі субтермінальним залишком галактози, може бути загальною ознакою клітинної відповіді на зміни у фізіологічних процесах клітини, які є або причиною, або результатом розвитку апоптозу.

Введення L-NAME при хронічному радіаційному впливі призводило до зниження показника, що характеризує процес агрегації лейкоцитів периферичної крові щурів. Ступінь зв'язування лектину з комплементарними йому глікокон'югатами знижувався у 2,6, 2,0 та 1,7 рази на 10-ту, 20-ту і 30-ту доби експерименту відповідно.

Таким чином, зменшення кількості рецепторів, тропних до МАА, при опроміненні з паралельним введенням L-NAME, вказує на радіопротекторний вплив досліджуваного інгібітора на морфо-

функціональний стан рецепторного апарату плазматичної мембрани лейкоцитів периферичної крові щурів.

**<sup>1</sup>Томін А., <sup>1,2</sup>Оверчук М., <sup>1,2</sup>Шкандіна Т., <sup>3</sup>Butters Т., <sup>1</sup>Білий Р.**  
ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ГЛІКОЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ КЛІТИНИ ПІД ЧАС АПОПТОЗУ

<sup>1</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>3</sup>Oxford University, Department of Biochemistry, Glycobiology Institute  
South Parks Road Oxford OX1 3Q

Згідно з даними попередніх досліджень, при апоптозі відбувається каспазозалежна активація клітинних сіалідаз, дія яких спрямована на термінальні сіалові залишки, що містяться в глікопротеїнах плазматичної мембрани. Було доведено важливість цього процесу для ефективного розпізнавання й елімінування апоптичних клітин фагоцитами. Окрім того, серед сіалідаз, що імовірно активуються впродовж апоптозу, є мембраноасоційований фермент Neu3, який здатний відщеплювати сіалові залишки мембранних сіалоглікофінголіпідів – гангліозидів. Гангліозиди задіяні у розвитку багатьох захворювань, зокрема синдрому Г'їєна-Барре та системного червоного вовчака, при яких продукуються антигангліозидні антитіла, а автоімунні порушення зумовлені погіршенням фагоцитування апоптичних тілець (Berenson, 2002).

Нами було досліджено зміни, що виникають у сфінголіпідному профілі клітини на шляху апоптозу. Гангліозиди було виділено з інтактних та апоптичних гранулоцитів згідно з методикою (Norris-Cervetto, 2004) та проаналізовано за допомогою тонкошарової хроматографії із застосуванням різних систем розчинників (хлороформ:метанол:вода 60:35:8 та хлороформ:метанол:0,25%CaCl<sub>2</sub>(водний) для загального аналізу; пропанол:2М розчин аміаку 7:3 для полісіалових гангліозидів). Окремі речовини ідентифіковано за відомими значеннями R<sub>f</sub> індексів, визначених для кожної системи (Прохорова, 1982). Також було проведено штучне десіалування гангліозидів за допомогою нейрамінідази із *Clostridium perfringens* (Sigma) в різних умовах гідролізу. Окрім того, зразки сфінголіпідів було оброблено церамідгліканазою (EC 3.2.1.123) з *Hirudo officinalis*, гліканові фрагменти марковано антраніловою кислотою (Sigma) та досліджено за допомогою HPLC аналізу.

У процесі дослідження було виявлено зростання рівня гангліозидів GM2, GM1 та глобозиду Gb3 в апоптичних клітинах одночасно зі зменшенням рівня GM3 і Gb4, що може бути зумовлено N-ацетилгалактозамін-специфічною глікозидазою. Також нещодавно описаний абзим зі сіалідазною активністю, виділений у хворих на множинну мієлому, характеризується здатністю до відщеплення сіалових залишків від гангліозиду GD3. Ця властивість може стати важливою для розуміння патологічних змін, що супроводжують дане захворювання.

**<sup>1</sup>Паук І. І., <sup>1</sup>Росаловський В. П., <sup>1</sup>Дудок К. П., <sup>2</sup>Шкаволяк А. В.,  
<sup>1</sup>Федорович А. М., <sup>1</sup>Сибірна Н. О.**

РОЛЬ ПОХІДНИХ ПРОЛОПІРИМІДИНІОНІВ У РЕГУЛЯЦІЇ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ  
ХАРАКТЕРИСТИК ГЕМОГЛОБІНУ Й АКТИВНОСТІ ОКРЕМИХ ФЕРМЕНТІВ  
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ ЛЮДЕЙ *IN VITRO*

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна.

В останні роки у медичній практиці знаходять широке використання низькомолекулярні сполуки – біорегулятори, застосування яких може призвести до утворення асоціатів відповідних біологічних



макромолекул за рахунок міжмолекулярних взаємодій. Останнє може позначитися на їх функції та нормальному перебігу окисно-відновних процесів у тканинах організму.

Метою роботи було вивчення впливу синтезованої сполуки гетероциклічного ряду спірокарбону (речовина №1) та двох інших похідних піролопіримідиндіонів: 1,6-диметил-4-феніл-1,2,3,4,5,7-гексагідропіроло-[3,4-е]-піримідиндіон-2,5(1H) (речовина №2) і 1,6-диметил-4-(2-трифлуорофеніл)-1,2,3,4,5,7-гексагідропіроло-[3,4-е]-піримідиндіон-2,5(1H) (речовина №3), як таких, що проявляють біологічну активність (Єресько В.А., Речицький О.Н., 1995), на спектральні характеристики лігандних форм гемоглобіну, пероксидазну активність метгемоглобіну, каталазну активність у системі *in vitro*.

Для аналізів використовували еритроцити цільної периферичної крові практично здорових донорів і гемоглобін. Еритроцити інкубували з розчинами речовини №1 (1 мг/мл), №2 (1 мг/мл) і №3 (0,5 мг/мл) протягом 24 год. у співвідношенні 1:3. Крім того, безпосередньо до гемолізатів еритроцитів контрольних зразків додавали розчини речовин №1, №2 і №3. Раніше проведені дослідження стосувалися вивчення відповідних параметрів після одностодінної інкубації еритроцитів з вказаними сполуками (Дудок К.П., 2009, Старикович Л.С., 2009). Оскільки час дії хімічних речовин і виведення їх із організму *in vivo*, як правило, є значно довшим, то доцільно було застосувати тривалішу інкубацію еритроцитів.

Узагальнений аналіз отриманих результатів при 24-годинній інкубації еритроцитів вказує на достовірне зростання вмісту метгемоглобіну в гемолізатах периферичної крові донорів. Найбільш чутливим до метгемоглобіноутворення є зразок з речовиною №1. Кількість метгемоглобіну перевищувала 1,5%. У той же час спостерігали незначне зростання вмісту карбоксигемоглобіну і зростання вмісту лужностабільного гемоглобіну до 6,5% проти 0,5–0,8% у контролі. Однак ми не виявили достовірних змін характеристичних максимумів для метгемоглобіну у видимій ділянці спектра після інкубації еритроцитів з використовуваними речовинами. У варіантах з безпосереднім додаванням до гемолізатів розчинів сполук спостерігали зміщення максимумів смуг для ціанметгемоглобіну на 2–4 нм у довгохвильову ділянку.

Виявлено зниження пероксидазної активності метгемоглобіну за дії речовини №1 та підвищення – за дії речовини №2 та №3. Каталазна активність за дії речовини №1 знижується на 10%, за дії речовини №2 становить 94% щодо контролю, а за дії речовини №3 – зростає приблизно на 10% щодо контролю.

Отже, отримані результати свідчать, що досліджувані сполуки, очевидно, взаємодіють з глобінним компонентом гемоглобіну, впливаючи таким чином на структурну перебудову, і змінюють його фізико-хімічні характеристики та функції.

### **Сабадашка М., Здіорук М., Бродяк І., Сибірна Н.**

#### **РОЛЬ ФОСФАТИДИЛІНОЗИТОЛ-3'-КІНАЗНОГО ШЛЯХУ В ПЕРЕДАЧІ МАА-ІНДУКОВАНОГО СИГНАЛУ В МОНОНУКЛЕАРНИХ ЛЕЙКОЦИТАХ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ**

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

Активна фосфатидилінозитол-3'-кіназа (PI-3'-кіназа) є гетеродимерним ферментом, який складається із каталітичної субодиниці молекулярною масою 110 кДа (p110) і регуляторної субодиниці з молекулярною масою 85 кДа (p85). Декілька PI-3'-кіназних субодиниць було клоновано і показано їхню локалізацію з рецепторами плазматичної мембрани, в цитозолі, у внутрішньоклітинних везикулах. Фосфатидилінозитол-3'-кіназа, як один із ключових ензимів внутрішньоклітинного сигналювання, залучена до експонування й інтерналізації глікопротеїнів на мембрані лейкоцитів периферичної крові. За цукрового діабету відбувається виражений перерозподіл у кількості та зміни у структурі сіаловмісних вуглеводних детермінант глікопротеїнових рецепторів мембран лейкоцитів периферичної крові, що є причиною зміни агрегаційної й адгезивної здатності цих клітин при патології, а також ознакою преак-

тивації лейкоцитів. Вивчення агрегації лімфоцитів з біологічної та медичної точок зору є надзвичайно актуальним, тому що мононуклеарні лейкоцити реалізують основні імунні функції в організмі, а стан їхнього рецепторного апарату залежить від ступеня їхньої зрілості та може виступати маркером вторинного імунодефіцитного стану організму, характерного для людей, хворих на цукровий діабет 1 типу.

Дослідження агрегаційної здатності лімфоцитів і моноцитів нами проводилося як моделювання передміграційного стану мононуклеарних лейкоцитів перед їхнім виходом із руслу крові, тобто перед здійсненням діapedезу. Як молекулярні зонди, що селективно активували рецептори до хемокінів, використовували лектин акації амурської. МАА – лектин акації амурської – афінний до послідовності N-ацетилнейрамінова кислота-( $\alpha 2 \rightarrow 3$ )-D-галактоза/N-ацетил-D-галактоза, але не зв'язує при цьому сіалових кислот, зв'язаних з олігосахаридним фрагментом ( $\alpha 2 \rightarrow 6$ ) глікозидним зв'язком. Для визначення ролі PI-3'-кінази досліджували вплив вортманіну (інгібітор PI-3'-кінази) на МАА-індуковану агрегаційну здатність лімфоцитів здорових донорів та хворих на цукровий діабет 1 типу, а також вивчали динаміку транслокації р85 $\alpha$  регуляторної субодиниці PI-3'-кінази між мембраною та цитозолем за умов індукції агрегації мононуклеарів лектином МАА та при дії вортманіну.

Досліджувана патологія супроводжується зменшенням на поверхні мононуклеарних лейкоцитів сайтів зв'язування для лектину МАА, що може свідчити про заміну ( $\alpha 2 \rightarrow 3$ ) зв'язаних сіалових кислот на ( $\alpha 2 \rightarrow 6$ ) зв'язані сіалові кислоти. Поверхневі лікокон'югати під час рециклічних процесів зазнають десіалювання в ендосомах і лізосомах. Клітини ссавців також містять сіалідази, зв'язані з плазматичною мембраною, які переважно беруть участь у злущуванні сіалових кислот з поверхневих глікокон'югатів. Таке злущування трапляється у процесі активації певного типу клітин, зокрема лейкоцитів. Сіалідази набагато легше гідролізують ( $\alpha 2 \rightarrow 3$ ) зв'язані сіалові кислоти, ніж ( $\alpha 2 \rightarrow 6$ ) зв'язані.

Дослідження динаміки транслокації р85 $\alpha$  регуляторної субодиниці цього ферменту методом імуноблот-аналізу засвідчило, що в нормі у PI-3'-кіназний шлях передачі сигналу в мононуклеарні лейкоцити більшою мірою задіяні рецептори, які у своїй структурі мають термінальні сіалові кислоти, зв'язані із залишками галактози та N-ацетилгалактозаміну ( $\alpha 2 \rightarrow 3$ ) глікозидним зв'язком. Таким чином, трансдукція МАА-індукованого сигналу йде через фермент фосфатидилінозитол-3'-кіназу, а сприймається через рецептор із вуглеводною детермінантою, у якої термінальна сіалова кислота приєднана  $\alpha 2 \rightarrow 3$  глікозидним зв'язком. Яскраво виражене пригнічення транслокації р85 $\alpha$  субодиниці PI-3'-кінази за сумарної дії вортманіну та лектину МАА підтверджує гіпотезу про те, що PI-3'-кіназний шлях передачі сигналу в мононуклеарні лейкоцити опосередковується рецепторами, які у складі своєї вуглеводної детермінанти мають сіалові кислоти, приєднані ( $\alpha 2 \rightarrow 3$ ) глікозидним зв'язком.

**Сахарчук О., Канюка О., Філяк Є., Сибірна Н.**  
**ВПЛИВ НОКАУТУ ГЕНА PTTG НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН**  
**МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У МИШЕЙ**

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

Онкоген pttg (Pituitary Tumor Transforming Gene) вперше був виявлений у пухлинних клітинах гіпофіза щура в 1997 р. Білок PTTG (секурин) перешкоджає розходженню сестринських хроматид в анафазі під час мітозу, інгібуючи активність іншого спеціального білка, задіяного в цьому процесі, - сепарази. Специфічне розщеплення білка PTTG є необхідною умовою для запуску анафази. Завдяки цьому PTTG бере участь у регуляції таких ключових для клітини подій, як мітоз, клітинний цикл, репарація ДНК ті апоптоз.

Попередніми дослідженнями було показано, що нокаут гена pttg супроводжується суттєвими змінами у системі крові мишей. Важливе значення у функціонуванні еритроцитів має стан поверхнево-ре-

цепторного апарату, зумовлений наявністю вуглеводних детермінант, які містяться на поверхні плазматичної мембрани червоних кров'яних тілець у складі гліколіпідів і глікопротеїнів. Відомо, що еритроцит має певний негативний заряд, який забезпечує виконання ним важливих фізіологічних функцій: взаємодія клітин між собою, газообмін, адсорбція амінокислот, білків і продуктів їх розпаду, антигенів, антитіл, ферментів і т.п. Значення електричного заряду клітини відносно постійне в нормі та значно змінюється за умов патології. Динаміку зміни цього показника ми оцінювали, використовуючи метод альціаніндукованої агрегації еритроцитів. Було показано, що за умов відсутності гена *pttg* показники альціаніндукованої агрегації мають тенденцію до зниження, спостерігається зниження ступеня агрегації на 18%, а швидкості агрегації на 60%. Це свідчить про зміну поверхневого заряду мембрани еритроцитів.

Сіалоглікопротеїни еритроцитарної мембрани вносять найбільший вклад у формування фіксованого негативного заряду на поверхні клітини. Для порівняння кількості залишків сіалових кислот на поверхні еритроцитарної мембрани як індуктори агрегації було використано лектини MAA та SNA. У мишей із нокаутом гена *pttg* показники агрегації еритроцитів при дії даних лектинів мали подібний характер. Зокрема, за умов лектиніндукованої агрегації максимальний ступінь агрегації та швидкість агрегації мав тенденцію до зростання.

### **Шкільна І., Старанко У., Дацюк Л., Климишин Н.**

#### **ЕФЕКТ ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА НА ЦИТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ НИЗЬКИХ ДОЗ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

*Львівський національний університет ім. Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: starankoulyana@mail.ua*

Вплив низьких доз іонізуючих випромінювань на систему крові реалізується через активацію вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів плазматичних мембран та шляхом окисної модифікації макромолекул клітин унаслідок розвитку оксидативно-нітративного стресу. Виноградні вина з високим вмістом поліфенолів мають виражені антиоксидантні властивості і, таким чином, можуть запобігати розвиткові радіоіндукованих ушкоджень клітинних елементів периферичної крові.

Метою даної роботи було дослідити ефект червоного сухого виноградного вина «Бастардо» (300 мл/70 кг/добу) на цитологічні показники периферичної крові щурів за дії 30-добового рентгенівського опромінення у дозі 1 сГр/добу та за одноразового опромінення дозою 30 сГр упродовж 3 діб. Піддослідні тварини були поділені на 3 групи, вихідні досліджувані показники визначали за 10 діб до початку введення вина/опромінення та на 10-, 20- і 30-ту доби експерименту (n=8) за тривалого рентгенівського опромінення, або на 24-, 48- та 72-гу години за одноразового радіаційного впливу (n=6).

Вживання з питною водою червоного вина у групі щурів без опромінення не приводило до достовірних змін впродовж експерименту вмісту лейкоцитів, еритроцитів, ретикулоцитів, гемоглобіну та лейкоцитарної формули, хоча у окремих піддослідних тварин і спостерігалася тенденція до зростання досліджуваних показників. За радіаційного впливу щодобовою дозою 1 сГр виявлено незначне зниження вмісту еритроцитів та лейкоцитів лише на 10-ту добу експерименту з відновленням вмісту клітин до вихідного рівня в наступні терміни дослідження. За тривалого радіаційного впливу та введення вина досліджувані показники залишалися в межах контрольних значень.

Одноразове опромінення щурів у дозі 30 сГр викликало зниження вмісту лейкоцитів периферичної крові до 43% від вихідного рівня через 24 год з подальшим зростанням до норми на 48- та 72-гу год експерименту, тоді як на фоні введення вина загальний вміст лейкоцитів залишався у межах контролю впродовж 3-х діб. При аналізі лейкоцитарної формули встановлено достовірне зростання вмісту сегментоядерних нейтрофілів на 83%, зі збереженням на рівні контролю паличкоядерних нейтрофілів

і зниження вмісту лімфоцитів на 14% від норми через 72 год після рентгенівського опромінення. Введення з питною водою вина за 10 діб до та впродовж 3 діб після опромінення призводило до достовірного зсуву лейкоцитарної формули вправо (зменшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів до 20 і 27% та зростання вмісту сегментоядерних нейтрофілів на 113 і 73% від рівня контролю через 48 та 72 год відповідно). Таким чином, експериментально встановлено, що досліджуване вино володіє цитопротекторними властивостями за дії малих доз іонізуючого випромінювання.

### Уженков О.

#### РОЗРОБКА МЕТОДУ СЕЛЕКЦІЇ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ГЛЮКОЗНО/КСИЛОЗНИХ ТРАНСПОРТЕРІВ ІЗ ПІДВИЩЕНОЮ АФІННІСТЮ ДО КСИЛОЗИ

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

Відомо, що транспорт ксилози здійснюється транспортерами глюкози, проте з низькою афінністю. Специфічні транспортери ксилози не ідентифіковані. Планується сконструювати модифіковані гени транспортерів з підвищеною афінністю до ксилози та зниженою афінністю до глюкози. Для досягнення поставленої мети буде застосовано позитивну систему селекції. Селекція базуватиметься на використанні штаму Dlx10 *S. cerevisiae*, у якого делетовано всі 20 відомих транспортерів гексоз. Гени ідентифікованих транспортерів гексоз *Hansenula polymorpha*, а також транспортерів гексоз інших організмів (дріжджі *Pichia stipitis* та рослина *Arabidopsis thaliana*) буде введено в геном вищезазначеного штаму *S. cerevisiae* під контролем промотора PDC1.

Дріжджі *S. cerevisiae* не здатні утилізувати ксилозу, тому додавання цієї пентози буде обмежувати поглинання глюкози. Штами, в яких ксилоза буде найбільш ефективно інгібувати ріст на середовищі з глюкозою, будуть використані для подальших експериментів. Відібрані штами будуть культивувати на альтернативному субстраті – гліцерині, що має окрему систему транспорту. Буде підібрано мінімальну токсичну концентрацію токсичного аналога глюкози – 2-дезоксиглюкози, що інгібуватиме ріст трансформантів на середовищі з гліцерином. Ксилоза буде відновлювати ріст рекомбінантних штамів шляхом обмеження проникнення 2-дезоксиглюкози у клітину. Відповідно, будуть ізольовані мутантні штами, що формують колонії на нижчій концентрації ксилози. Ріст таких мутантів буде обумовлений збільшенням спорідненості транспортера до ксилози або зниженням спорідненості до 2-дезоксиглюкози або глюкози. Далі буде визначено нуклеотидні послідовності модифікованих транспортерів. Відповідні гени буде введено в геном *H. polymorpha*. У отриманих штамів буде визначено кінетику росту на ксилозі та ефективність алкогольної ферментації цієї пентози. Додатково буде перевірено ефективність алкогольної ферментації суміші глюкози та ксилози. Кращі отримані трансформанти буде використано для подальшого покращення.

Для здійснення першого етапу позитивної селекції транспортерів зі зміненою афінністю до ксилози були сконструйовані рекомбінантні штами *S. cerevisiae* з посиленою експресією генів SUT1 та SUT4 *P. stipitis*, AT5G59250 та AT5G17010 *A. thaliana*, GXF1 та GXS1 *H. polymorpha* що кодують глюкозно/ксилозні транспортери, а також проведена стабілізація та отримано стабільні рекомбінантні штами, що несуть відповідні гетерологічні глюкозно/ксилозні транспортери.

### Хохла М., Клевета Г., Войтович Н., Чайка Я., Сибірна Н.

#### ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ (GALEGA OFFICINALIS L.) НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

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

Цукровий діабет є надзвичайно поширеним захворюванням у світі. Питання профілактики та лікування цієї важкої патології набувають дедалі більшої актуальності і потребують комплексного під-

ходу. Науково обґрунтовані підходи та диференційований вибір фітотерапевтичних засобів у комплексному лікуванні (як допоміжна терапія) хворих на цукровий діабет можуть на всіх стадіях суттєво покращити результати лікування, знизити рівень навантаження цукрознижувальними препаратами, здійснювати профілактику органних уражень унаслідок діабету чи впливати на спільні неспецифічні патогенні ланки. Однак рівень наукових досліджень і впровадженнь їх у практику в діабетології на сьогодні є недостатнім. Сучасним підходом до вирішення даної проблеми є дослідження представників вітчизняної флори, які здавна застосовуються у народній медицині та можуть слугувати джерелом лікарських препаратів. Перспективною рослинною сировиною для отримання цукрознижувальних препаратів є галега лікарська.

Метою даної роботи було дослідження функціонального стану еритроцитів периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу та введення препарату галеги лікарської (*Galega officinalis* L.).

Експериментальний діабет індукували введенням стрептозотоцину (Sigma, США) доочередово в дозі 5,5 мг на 100 г маси тіла тварини. Препарат галеги лікарської отримували шляхом настоювання надземної частини галеги лікарської у 96% етиловому спирті в співвідношенні 1:5. Екстракт упарювали у вакуумі при температурі 45-50°C. Отриманий залишок розділяли на алкалоїдвмісну (водну) та безалкалоїдну (хлороформну) фракції.

За умов цукрового діабету показано підвищення вмісту ретикулоцитів у периферичній крові щурів у 2,4 рази, зростання їхньої добової продукції на 62%, тоді як вірогідних відмінностей у кількості еритроцитів контрольних і діабетичних тварин нами не виявлено. Підвищення ефективності еритропоезу при цукровому діабеті є компенсаторною реакцією у відповідь на тканинну гіпоксію, яка розвивається за даних умов. Застосування препарату галеги лікарської на фоні діабету зумовлює незначне зниження на 9-й і 12-й день кількості ретикулоцитів на 19% та показників добової продукції ретикулоцитів відповідно на 23 і 24%, порівняно з діабетом. Після припинення введення екстракту показано нормалізацію кількості ретикулоцитів і еритроцитів периферичної крові щурів.

Таким чином, характер змін досліджуваних гематологічних показників свідчить про протекторний вплив галеги лікарської за умов даної патології.

### **Закуптя X.**

#### **ГЕННО-ІНЖЕНЕРНЕ КОНСТРУЮВАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ ШТАМІВ *HANSENULA POLYMORPHA* З ПОРУШЕННЯМ ТРАНСПОРТОМ ГЛУТАТІОНУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*Інститут біології клітини НАН України*

*вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005, Україна*

Глутатіон – біологічно активна речовина пептидної природи, що відіграє важливу роль у найрізноманітніших клітинних процесах. Зокрема, антиоксидантні властивості глутатіону визначають його широке застосування у харчовій промисловості, медицині, косметології, що призводить до зростання попиту на цю сполуку і, як результат, потребує конструювання рекомбінантних штамів надпродуцентів глутатіону.

У роботі були використані метилотрофні дріжджі *Hansenula polymorpha*, які характеризуються підвищеним внутрішньоклітинним рівнем глутатіону, високою стійкістю до різноманітних видів стресу, індукованих важкими металами, ксенобіотиками, факторами забрудненого середовища.

Метою роботи було конструювання рекомбінантних штамів *H. polymorpha* з порушенням транспортом глутатіону і, як наслідок, зняття ретроінгібування та забезпечення стабільного синтезу і накопичення глутатіону у середовищі.

Транспорт глутатіону через клітинну мембрану вивчений недостатньо добре, однак відомо про три потенційні білкові транспортери HрOpt1p, HрOpt2p, HрMtd1p із високим ступенем структурної гомології з Opt1p *Saccharomyces cerevisiae*, який відомий як високоафінний транспортер глутатіону.

Делеційні касети  $\Delta$ HрOPT1 та  $\Delta$ HрMTD1 конструювали на основі плазмиди pBluescript II SK. Як реципієнтні організми було використано штами *H. polymorpha* leu2 trp1 та *H. polymorpha* leu2 ura3 генетичної лінії DL1, відповідно. Селекцію Trp<sup>+</sup> трансформантів проводили на мінімальному середовищі без додавання триптофану, а селекцію Ura<sup>+</sup> трансформантів без додавання урацилу.

Було проведено вивчення фенотипу рекомбінантних штамів *H. polymorpha* з делетованим геном MTD1, зокрема досліджені ростові характеристики рекомбінантних штамів на середовищі Medium B з глутатіоном і сульфатом амонію як джерело сірки, та резистентність рекомбінантних штамів до Cd<sup>2+</sup> (4 мМ) та H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,5 мМ), а також проведений експеримент із вивчення динаміки поглинання позаклітинного глутатіону. Однак рекомбінанти  $\Delta$ HрMTD1 показали такий фенотип як і у дикого типу. Таким чином, результати проведених досліджень дають змогу висновок, що HрMtd1p не залучений або робить лише незначний внесок у транспорт глутатіону.

Дослідження резистентності рекомбінантів  $\Delta$ HрOPT1 до токсинів, важких металів, активованих кисневих метаболітів і ксенобіотиків (Cd<sup>2+</sup> – 1-4 мМ; Pb<sup>2+</sup> – 0,01-0,1%; Cu<sup>2+</sup> – 50-200 мкМ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – 0,5-5 мМ; формальдегіду – 0,5-5 мМ, етіоніну – 0,1-0,5 мМ, метанолу – 1-4%) показало, що мутанти характеризуються зниженою резистентністю лише до іонів Cd<sup>2+</sup> у концентрації 3 мМ, порівняно зі штамом дикого типу. Під час росту на середовищі YNB рівні внутрішньоклітинного та позаклітинного глутатіону відрізнялися незначно у рекомбінантних і контрольного штамів. Також було отримано подвійного мутанта Dopt1 $\Delta$ mtd1, фенотип якого на даний момент вивчається. Крім цього проводиться робота з конструювання потрібного мутантного штаму Dopt1 $\Delta$ Dopt2 $\Delta$ mtd1.

### **Алунгулес Г., Волощук О. М.**

#### **ІНТЕНСИВНІСТЬ ГЕНЕРАЦІЇ АФК МІТОХОНДРІАЛЬНИМ І МІКРОСОМАЛЬНИМ ЕЛЕКТРОНОТРАНСПОРТНИМ ЛАНЦЮГОМ ПЕЧІНКИ ПУХЛИНОНОСІЇВ У ДИНАМІЦІ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна  
e-mail: oxbm@mail.ru*

Невід’ємною рисою клітин є генерація АФК у процесі функціонування електронотранспортних ланцюгів мітохондріального та мікросомального окислення. Мітохондріальний і мікросомальний електронотранспортні ланцюги містять численні редокс-переносники і центри, потенційно придатні до одноелектронного відновлення кисню до супероксид-аніон-радикалу (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), попередника інших АФК, в тому числі найбільш реакційноздатного гідроксильного радикалу (<sup>•</sup>OH) (Андреев А.Ю. и др., 2005).

Метою нашої роботи було вивчення інтенсивності генерації супероксидного та гідроксильного радикалів у мітохондріальній та мікросомальній фракції печінки пухлиноносіїв у динаміці росту карциноми Герена.

Результати проведених досліджень показали, що при онкогенезі у мітохондріальній фракції печінки пухлиноносіїв відбувається посилення генерації супероксид-аніон-радикалу порівняно з контролем упродовж усього експериментального періоду. Максимальна інтенсивність генерації супероксид-аніон-радикалу спостерігається на стадії активного росту карциноми Герена. В цей період продукування O<sub>2</sub><sup>-</sup> у 2 рази перевищує показники, встановлені для інтактних тварин. У період стаціонарного росту пухлини відбувається зниження інтенсивності утворення су пероксид-аніон-радикалу на 24% порівняно з log-стадією, проте досліджуваний показник все ж перевищує контрольні значення на 28%. Водночас нами показано, що в динаміці росту карциноми Герена спостерігається інтенсифікація про-

дукування гідроксильного радикалу в мітохондріальній фракції протягом усього експериментального періоду з максимумом на 21-шу добу експерименту. Як відомо з літератури (Трубицын А.Г., 2006), зниження інтенсивності продукування  $O_2^-$  в мітохондріальній фракції супроводжується зниженням активності глутатіонпероксидази, що може призводити до збільшення концентрації її субстрату  $H_2O_2$ . Це, у свою чергу, посилить потоки пероксиду водню через реакцію Фентона з інтенсифікацією утворення реакційно здатного  $\cdot OH$  (Чанакчи Ч., 2005), що, ймовірно, і пояснює встановлений нами факт посилення генерації гідроксильного радикалу на фоні гальмування продукування супероксиду.

Тенденція інтенсивності генерації супероксидного та гідроксильного радикалу в мікросомальній фракції має інший характер. У мікросомальній фракції печінки щурів із трансплантованою карциномою Герена спостерігається інтенсифікація генерації досліджуваних АФК протягом усього експериментального періоду, і на 21-шу добу туморогенезу продукування  $O_2^-$  та  $\cdot OH$  перевищує початкові значення відповідно у 2,6 та 1,4 рази, і в 4 та 8 разів відповідно перевищує значення, встановлені для інтактних тварин.

Отже, в мітохондріальній і мікросомальній фракціях печінки пухлиноносіїв у динаміці росту карциноми Герена спостерігається інтенсифікація генерації супероксидного та гідроксильного радикалу порівняно з контрольними тваринами. Проте якщо для мікросомальної фракції характерне підвищення продукування досліджуваних АФК протягом усього експериментального періоду з максимумом на термінальних етапах онкогенезу, то у мітохондріальній фракції у цей період пухлинного росту спостерігається гальмування генерації супероксиду зі збереженням тенденції до підвищення вмісту гідроксильного радикалу.

### **Арсеній Н., Волощук О. М.**

#### **ЦИТОХРОМОКСИДАЗНА АКТИВНІСТЬ ТРАНСФОРМОВАНОЇ ТКАНИНИ В ДИНАМІЦІ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна  
e-mail: oxbm@mail.ru*

Дисфункція мітохондрій при злоякісній трансформації супроводжується порушенням енергетичного метаболізму пухлинних клітин. Одним із ключових ферментів енергозабезпечення є цитохромоксидаза, розташована у внутрішній мітохондріальній мембрані, що бере участь у перенесенні електронів під час окисного фосфорилування від цитохрому с на молекулярний кисень.

Метою нашої роботи було вивчення активності мембранозв'язаного мітохондріального ферменту цитохромоксидази злоякісно трансформованої тканини у динаміці росту карциноми Герена.

Результати проведених досліджень показали, що в динаміці пухлинного росту спостерігається тенденція до гальмування цитохромоксидазної активності. Так, на стадії активного росту карциноми Герена цитохромоксидазна активність зменшується втричі порівняно з латентною стадією онкогенезу. Подальший ріст злоякісного новоутворення супроводжується поглибленням порушення роботи цитохромоксидази зі зниженням у 10 разів досліджуваної ферментативної активності порівняно з початковими етапами експерименту.

Однією із можливих причин встановленого факту може бути порушення стехіометрії субодниць ферменту, оскільки у пухлинних клітинах спостерігається посилення експресії субодниць цитохромоксидази ядерного кодування на фоні порушення синтезу субодниць мітохондріального кодування (Krieg R. et al., 2004), що може бути наслідком посиленої фрагментації мтДНК (Марченко М.М. та ін., 2008). Подібні зміни можуть бути однією з причин порушення реакцій окисного фосфорилування у мітохондріях ракових клітин при одночасному переключенні синтезу АТФ на гліколітичний. Це укладається в існуючі уявлення про те, що вуглеводний обмін, який постачає енергію для підвищеного

білкового синтезу, характеризується посиленням гліколізу на фоні послабленого дихання і реалізації ефекту Кребтрі (Мишуніна Т.М., 2009). Оскільки в пухлинній клітині порушені всі мембранні структури, то порушення цілісності мембранного апарату мітохондрій може також відігравати певну роль у зміні активності мембранозв'язаних мітохондріальних ферментів.

Отже, ріст карциноми Герена супроводжується постадійним зниженням цитохромоксидазної активності з максимумом гальмування на термінальних етапах онкогенезу.

### **Бачинський А., Волощук О. М.**

#### **ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ У МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ НЕОПЛАЗМИ В ДИНАМІЦІ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна  
e-mail: oxbm@mail.ru*

Пухлинний ріст супроводжується якісними змінами всіх видів обміну, і перш за все, білкового (Кармазіна І.С., 2008). Одним із проявів атипізму білкового обміну пухлинних клітин є феномен “пухлина – пастка азоту”, що характеризується посиленням включення амінокислот у реакції синтезу. Центральну роль в амінокислотному й азотистому обміні відіграє фермент глутаматдегідрогеназа (Смирнова О.В. і др., 2007), який каталізує реакцію окислювального дезамінування глутамату.

Метою нашої роботи було вивчення глутаматдегідрогеназної активності у мітохондріальній фракції трансформованої тканини в динаміці росту карциноми Герена.

Результати проведених досліджень показали, що ріст карциноми Герена супроводжується підвищенням глутаматдегідрогеназної активності на логарифмічній стадії пухлинного росту в 1,4 разу порівняно з латентною стадією.

Встановлене нами зростання глутаматдегідрогеназної активності, ймовірно, відображає підвищення відтоку субстратів із циклу трикарбонових кислот на реакції амінокислотного обміну (Лапешин П.І. і др., 2005). Відомо, що для пухлини характерний вищий вміст азоту порівняно з іншими тканинами організму пухлиноносія, на фоні посиленого розпаду азотовмісних сполук. Тобто одним із механізмів прогресуючого росту пухлини є захоплення азоту з організму пухлиноносія за рахунок катаболізму власних білків, а не лише екзогенних амінокислот. Тому виявлене нами підвищення глутаматдегідрогеназної активності, ймовірно, відображає інтенсивність метаболічних процесів у тканині злоякісного новоутворення.

Проте на термінальних етапах пухлинного росту спостерігається різке зниження глутаматдегідрогеназної активності, і на 21-шу добу експерименту досліджуваний показник у 4,6 разу нижчий порівняно зі стадією активного росту новоутворення.

Отже, ріст карциноми Герена супроводжується підвищенням глутаматдегідрогеназної активності в мітохондріальній фракції неоплазми на логарифмічній стадії з тенденцією до гальмування на термінальних етапах онкогенезу.

### **Boiko N., Gnatyshyna L., Falfushynska H.**

#### **ENDOCRINE DISRUPTION AND GENOTOXICITY ARE MAIN MOLECULAR RESPONSES ON HARMFUL EFFECTS IN FRESHWATER BIVALVE MOLLUSKS**

*Research Laboratory of Comparative Biochemistry and Molecular Biology  
V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University  
M. Kryvonos St. 2, Ternopil, 46027, Ukraine  
e-mail: lesyafoxy@i.ua, Oksana.Stolyar@gmail.com,  
<http://www.biochemlab.tnpu.edu.ua>*

The resilience of the adaptive responses of aquatic habitants is likely to be exceeded this century by an unprecedented combination of climate change, associated environmental disturbances, and other global



change drivers (IPCC, 2007) with the effect of novel pollutants. The main novel kinds of water pollution are personal care and pharmaceutical products (PcPPs) and their derivatives and metal-containing nanomaterials that need to be assessed as yet poorly understood contaminants that act even at low ppt–ppb concentrations. Bivalve mollusks are considered reliable sentinel species for the bioindication of aquatic pollution due to their sedentary nature, filter-feeding behaviour and ability to bioaccumulate pollutants. However, the validity of their biochemical characteristics to reflect the chemical composition of pollution is rather questionable (Viarengo et al., 2007). The aim of this study was to estimate the biological responses in the bivalve mollusk *Anodonta cygnea* with different life stories under the effect of chemical loading. The mollusks from the two areas, chronically polluted and reference, were examined in the model experiments with the loading by copper ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $0.13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), cadmium ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $0.015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), fungicide mancozeb (commercial form Tattu,  $0.091 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), cobalt-containing nanomaterial (Co-NM,  $0.833 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), correspondent concentrations of  $\text{Co}^{2+}$  ( $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) or polymeric substance of NM Bi5 ( $0.783 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) during 14 days. The comparison of the contribution of each recommended biomarker in distinguishing between mollusks from different field sites using the classification and regression tree (CART) analysis (Falfushynska et al., 2010) showed that, among the set of biomarkers, levels of Vtg-LP and micronuclei hemocytes were represented as partitioning criteria. Therefore the set of biomarkers in our experiment included the determination of Vtg-LP in the gonads of male mollusks, genotoxicity (micronuclei and nuclear abnormalities, DNA integrity), and also the analysis of cytotoxicity, measured as lysosomal membrane stability by neutral red retention (NRR) assay, biotransformation system (microsomal ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and glutathione-S-transferase (GST)) activity.

The NRR test confirm the absence of cytotoxicity in studied groups since the time of NRR was no less than 20 min (effect of Co) in subjected to model effects groups that correspondent to the environmentally realistic effects (Viarengo et al., 2007). However the level of Vtg-LP was elevated in all cases of exposure (with exception for the effect of Co-NM). Particularly high level of Vtg-LP was showed in the loaded mollusks from chronically polluted site (approximately doubled). EROD activity increased in all loaded groups from polluted site (Cu, Zn, Cd, Tattu) and in Cu- and Zn-loaded groups from the reference site and decreased under the effect of Bi5. GST activity decreased in the groups from the reference site loaded by Cu, Zn, Cd and Tattu and increased under the effect of Bi5 and Tattu (last in the mollusks from polluted site). Genotoxicity was demonstrated in all loaded groups.

Thus, measurement of the molecular responses in freshwater mussel *Anodonta cygnea* on the effect of widespread and novel types of aquatic pollution confirms the endocrine disruption and genotoxicity as the common consequence of environmental stress. The characteristics of biotransformation are more dependent on the type of chemical and site-dependent adaptive ability of mollusks.

### **Копильчук Г., Шмарак І., Бучковська І.**

#### **ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК NO-СИНТАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ТА СУР У ПЕЧІНЦІ МИШЕЙ ЗА УМОВ ВІДСУТНОСТІ ЗАПАСІВ ВІТАМІНУ А**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
e-mail: ivannabuchkovska@mail.ru*

Цитохром P-450-залежні монооксигенази (СУР) забезпечують окислювальну біотрансформацію ксенобіотиків, а також ендогенних ліпофільних біорегуляторних молекул-ендобіотиків (Мясоедова К.Н., 2008; Иванов Ю.Д., 2009). Значна кількість ізоформ (СУР) задіяні до метаболізму ретиноїдів і відіграють важливу роль у гомеостазі ретиноєвої кислоти (Lutz J., 2008; Qian L., 2010). Нині в літературі широко обговорюється ефektorний вплив ретиноїдів на синтез NO та експресію гена індукцибельної NO-синтази (Zhong J., 2005; Lee H., 2008). Результати експериментальних досліджень засвідчують як інгібуючий (Oh G., 2001; Lee H., 2008), так і активуючий (Kang M., 2004; Zhong J., 2005) вплив ретино-

свої кислоти на синтез оксиду азоту й експресію генів iNOS залежно від дози (Sirsoja A., 2000). Відомо (Gorgen C., 2006; Lee C., 2008), що зв'язування NO з CYP інгібує ферментативну активність ізоформ 1A1 і 1A2 цитохрому P-450. Пригнічення CYP-залежного метаболізму є однією з основних проблем при патологічних захворюваннях печінки (Кеца О., 2007).

Мета роботи – дослідити взаємозв'язок NO-синтазної активності мітохондріальної та постмікросомальної фракцій і n-гідроксилазної та N-деметилазної активностей цитохрому P-450 у мікросомальній фракції печінки мишей Lrat.

Результати проведених нами досліджень показали зниження n-гідроксилазної та N-деметилазної активностей цитохрому P-450 у мікросомальній фракції на фоні підвищення NO-синтазної активності у мітохондріальній і постмікросомальній фракціях печінки Lrat-мишей порівняно з показниками контрольних тварин. Зниження активностей CYP у мікросомальній фракції печінки нокаутних мишей, вірогідно, зумовлене відсутністю запасів вітаміну А. Цей факт можна пов'язати з тим, що реакції гідроксилювання та деметилювання, які відбуваються за участю цитохрому P-450, індукуються саме ретиноїдами (Choudhary D., 2004; Lutz J., 2008).

Дані літератури (Vuppugalla R., 2005; Lee C., 2008) свідчать, що інгібування каталітичної активності CYP у печінці спостерігається при активації iNOS та надмірному продукуванні NO. У результаті проведених нами досліджень встановлено підвищення NO-синтазної активності в мітохондріальній та постмікросомальній фракціях печінки Lrat<sup>-/-</sup>-мишей і збільшення вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (стабільного метаболіта оксиду азоту), що вірогідно перевищує показники контрольних тварин. За даними літератури, ретиноєва кислота виконує роль інгібітора експресії гена індукцибельної NO-синтази, тому відсутність запасів РК у мишей, нокаутних за геном LRAT, очевидно, і є причиною встановленого нами підвищення iNOS.

Імовірно, зниження активностей цитохрому P-450 відбувається за рахунок активації NO-синтази. Відомо (Lee C., 2008), що пригнічення активності ізоформ цитохрому P-450 за дії оксиду азоту, утвореного в NO-синтазній реакції, може відбуватися трьома шляхами: при зв'язуванні NO з гемом та утворенні нітрозильного комплексу із залізом в активному центрі ензиму (Lee C., 2008; Сибірні Н.О., 2010); шляхом окислення SH-груп (Салей А.П., 2009), які є функціонально важливими для ферменту, або в результаті нітрування окремих залишків тирозину (Осипов А.Н., 2007; Блюм Я.Б., 2009), що призводить до деструкції ферментних систем цитохрому P-450 з подальшим блокуванням клітинної сигналізації.

Отже, за умов відсутності запасів вітаміну А в організмі відбувається пригнічення активності мікросомальної монооксигеназної системи, що супроводжується активацією NO-синтазної активності й гіперпродукцією оксиду азоту.

## **Чернищенко В. О.**

### **НЕФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВАЦІЯ ПРОТРОМБІНУ, ОПОСЕРЕДКОВАНА βN-ДОМЕНОМ ФІБРИНУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ-30, а/с 158,  
e-mail: bio.cherv@gmail.com*

Протромбін – попередник тромбіну, центрального проферменту системи зсідання крові, що активується протромбіназним комплексом. Активний центр тромбіну може також експонуватися на молекулі протромбіну при входженні його в комплекс зі стафілокоагулазою (Hendrix, 1983) та високомолекулярним E-фрагментом фібрину (Платонова, 2007). Останній факт становить особливий інтерес, оскільки активація протромбіну E-фрагментом може розглядатись як можливий механізм посилення прокоагулянтного потенціалу плазми крові при патологіях, пов'язаних із накопиченням продуктів деградації фібриногену/фібрину.

Метою нашої роботи було дослідження неферментативної активації протромбіну при комплексоутворенні з фібрином і картування послідовностей фібрину, що за нього відповідають.

Визначали індукцію амідазної активності за допомогою хромогенного субстрату тромбіну S2238 у системах протромбін-фібрин дезААВВ, -фібрин дезАА та -фібрин дезААВβ(1-23)<sub>2</sub>. Запобігали полімеризації фібрину додаванням пептиду GPRP, що блокує „а”-центри полімеризації в Д-доменах фібрину. Фібрин дезАА отримували за допомогою анциструну – тромбін-подібного ферменту з отрути *Agkistrodon halys halys*, що селективно відщеплює фібринопептиди А (Аα1-14); фібрин дезААВβ(1-23)<sub>2</sub> – за допомогою фібриногенази із отрути *Echis multisquamatis*, що відщеплює N-кінцеві ділянки β-ланцюгів фібрин(оген)у (Вβ1-23), з подальшим відщепленням фібринопептидів А тромбіном або анцистроном.

Амідазну активність щодо хромогенного субстрату тромбіну S2238 спостерігали у системі протромбін-фібрин дезААВВ, але не у системі протромбін-дезААВβ(1-23)<sub>2</sub>. Таким чином, можна припустити, що комплексоутворення протромбіну забезпечується пептидною послідовністю (Вβ15-23), яка була присутня у фібрині дезААВВ і відсутня у фібрині дезААВβ(1-23)<sub>2</sub>.

Однак фібрин дезАА, що також містив цю послідовність, не індукував амідазної активності у протромбіну. Це може бути пов'язано а) з тим, що у фібрину дезАА не експонована послідовність центру полімеризації В (β15-18); б) з екрануванням функціонально активних послідовностей β-ланцюга αС-доменами, що у випадку фібрину дезАА містяться біля центрального регіону молекули та взаємодіють з фібринопептидами В й іншими ділянками ВβN-домену.

Таким чином, ми вперше показали здатність протромбіну утворювати активаційні комплекси із фібрином дезААВВ, що призводить до експонування активного центру тромбіну. Крім того, послідовності (β15-18) та (Вβ15-23) було визначено як імовірні ділянки протромбін-фібринових взаємодій.

### **Чумаченко І., Савчук М.**

#### **ВИЗНАЧЕННЯ NO В ОРГАНІЗМІ МЕТОДОМ, НАБЛИЖЕНИМ ДО УМОВ *IN VIVO***

*Інститут біохімії ім. О.В Палладіна Національної академії наук України*

*Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна*

*e-mail: chumak\_ig@yahoo.com*

Оксид азоту (NO) – важливий внутрішньоклітинний і міжклітинний месенджер, що здійснює в організмі важливі сигнальні та регуляторні функції, зокрема, контролює активність гуанілатциклази і ряду інших ключових ферментів, тонус судин, нейромедіацію, агрегацію тромбоцитів, функцію клітин імунної системи тощо.

Для оцінки активності метаболізму NO-синтазних систем часто визначають концентрацію кінцевих метаболітів NO (нітритів, нітратів). Необхідно враховувати, що в організмі NOx сполуки містяться у достатньо великих кількостях за рахунок не тільки метаболізму NO, але і надходження з екзогенних джерел. Тому оцінка приросту NOx, що відображає NO-метаболізм на фоні значних концентрацій NOx, не завжди дає змогу отримати адекватний результат. Більш прямим методом оцінки NO в умовах *in vivo* є використання NO-пастки (комплекс діетилдитіокарбонату натрію та двовалентного заліза (ДТК-Fe)), що в реакції з NO утворює стабільний нітрозильний комплекс з парамагнітними властивостями, концентрація якого вимірюється за допомогою електронного парамагнітного резонансу (ЕПР). Даний метод є специфічним відносно NO, але потребує ЕПР обладнання, що обмежує його використання.

На основі досвіду використання ЕПР-методу був розроблений метод, орієнтований на відсутність спеціального обладнання. Суть методу полягає у такому: тваринам перитонеально вводиться розчин діетилдитіокарбонату натрію в дозі 500 мг/кг та розчин двовалентного заліза (сульфат заліза 37,5 мг/кг + цитрат натрію 187,5 мг/кг) підшкірно за 40 хвилин до декапітації; тканини печінки гомогенізуються у 10ММ фосфатному буфері (рН 7,4) у співвідношенні 5:1; для осадження білків до 2 мл гомогенату додається 0,5 мл 1М розчину NaOH та 0,2 мл 20% розчину ZnSO<sub>4</sub>; осад багатократно відми-

вається у фосфатному буфері до відсутності залишків нітритів у надосадовій рідині (мінімум 5 разів); відмитий осад у фосфатному буфері освітлюється лампою денного світла потужністю 40 Вт протягом 30 хвилин; у надосадовій рідині вимірюється концентрація нітритів. Нітрозильний комплекс має гідрофобні властивості й осаджується разом із білками, що дає можливість відмити його від надлишків нітритів. Валентний зв'язок між залізом та NO в комплексі є фотонестабільним. При освітленні NO вивільнюється та швидко окислюється до NO<sub>2</sub>. Концентрація нітрит іонів вимірюється фотометрично за допомогою альфа-нафтиламіну та сульфанілової кислоти (реактив Грісса) або флуоресцентним методом з 2,3-діамінонафталіном. При використанні реактиву Грісса концентрація забарвленого продукту звичайно визначається по оптичній екстинції на одній довжині хвилі (540 нм), однак у біологічних дослідженнях екстинція на 540 нм залежить від багатьох чинників, що може вносити суттєву похибку. В нашій модифікації визначається екстинція на трьох довжинах хвиль (420, 540 та 650 нм) і розраховується приріст екстинції на 540 нм за рахунок реакції Грісса:  $\Delta E = E_{540} - E_{650} - (E_{420} - E_{650}) * ((650 - 540) / (650 - 420))$ . Такий розрахунок дає змогу значно підвищити точність визначення концентрації NO<sub>2</sub>.

Даний метод, окрім визначення концентрацій NO в умовах, наближених до *in vivo*, також дає змогу в умовах *in vitro* роздільно вимірювати активність різних NO-утворюючих систем: нітритредуктазної та L-аргінін залежної.

### **Савчук М., Чумаченко І.**

#### **МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ФОРМАЛЬДЕГІДУ В ОРГАНІЗМІ, ЩО НАБЛИЖЕНИЙ ДО УМОВ *IN VIVO***

*Інститут біохімії імені О.В. Палладіна, Національної академії наук України  
вул. Леонтовича 9, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: mnsavchuk@gmail.com*

Відомо, що формальдегід (ФА) проявляє генотоксичну, мутагенну, імуногенну та онкологічну дію. Як показано у дослідженнях різних авторів, інгаляція ФА провокує розвиток плоскоклітинної карциноми носових пазух у шурів; при пероральному надходженні ФА спричиняє папіломатоз кардіальної частини шлунку. Вважають, що ФА вносить певний внесок у розвиток злоякісних новоутворень дихальної системи та лейкемії у людини. Тому визначення концентрації ФА є актуальним завданням.

Існують різні методи визначення рівня ФА в організмі: спектрофотометричні (реактив Неша, пурпалд, хромотропова кислота), флуоресцентні (дигідропіридинові похідні, реактив Неша), хемілюмінесцентні (реакції окиснення субстратів), ферментативні (НАД/НАДН-формальдегіддегідрогеназна реакція), газова хроматографія (з прямою ІЧ детекцією). На наш погляд, ці методи мають обмеження - вони застосовуються в умовах *in vitro*, тому отримані результати можуть некоректно відображати стан обміну ФА в організмі. На користь цього припущення свідчать численні експериментальні дані, суть яких полягає у тому, що при введенні ФА різними шляхами в організм тварин та добровольців концентрації ФА, визначалися у біологічних зразках вищенаведеними методами, залишалися незмінними. Таким чином, результати, отримані в умовах *in vitro*, можуть не коректно відображати стан обміну ФА в організмі. Для більш коректної оцінки розроблено метод, що наближений до умов *in vivo*: в організм дослідних тварин вводиться 5,5-диметил-1,3-циклогександіон (дімедон), який в реакції з ФА утворює стабільний у фізіологічних умовах формалдімедон, концентрація котрого в біологічних зразках визначається флуоресцентним методом.

Процедура методу така: тваринам перитонеально вводять 1% розчин дімедону на фізіологічному розчині за 40 хвилин до забою тварин. Тканини печінки гомогенізують у 5% розчині аміаку у співвідношенні 1:5. Для осадження білків до 2 мл гомогенату додають 0,5 мл насиченого розчину Ва(ОН)<sub>2</sub> та 0,2 мл 20% розчину ZnSO<sub>4</sub>. До 1 мл надосадової рідини додають 1 мл 20% оцтовокислого амонію, підведеного до рН 5,5 оцтовою кислотою, зразки утримують на водяній бані (100°C) 20 хвилин, після

чого швидко охолоджують. Утворений флуоресцентний продукт визначають при збудженні 380 нм та емісії 460 нм. Для калібровки методу використовують стандартні розчини формалдідедону.

Розроблений метод визначення концентрації ФА в тканинах печінки, апробовано на щурах із застосуванням таких моделей:

1) пероральне введення 0,1% розчину ФА у дозі 10 мл/кг, результат – контроль  $136 \pm 24$  нмоль/г; дослід  $254 \pm 42$  нмоль/г ( $P < 0,05$ );

2) пероральне введення розчину метиламіну - субстрату семікарбозид чутливої амін оксидази (SSAO) у дозі 250 мг/кг, результат – контроль  $128 \pm 21$  нмоль/г; дослід  $164 \pm 28$  нмоль/г ( $P < 0,05$ );

3) пероральне введення розчину семікарбозиду - інгібітор SSAO у дозі 200 мг/кг, результат – контроль  $139 \pm 24$  нмоль/г; дослід  $78 \pm 13$  нмоль/г ( $P < 0,05$ );

Отримані результати доводять, що розроблений метод визначення концентрації ФА, наближений до умов *in vivo*, дає змогу отримати результат, який є адекватним впливам на обмін ФА в організмі.

### **Дармошук М. С., Бурлова-Васильєва Н. К., Савчук О. М.**

#### **ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПЛАЗМИ КРОВІ ПРИ СИСТЕМНОМУ ЧЕРВОНОМУ ВОВЧАКУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна*

*e-mail: m.darmostuk@gmail.com*

Фібринолітичний потенціал плазми крові характеризує спроможність системи фібринолізу протистояти можливим тромботичним загрозам в разі утворення в кровотоці гіперкоагуляційного стану. При багатьох патологічних станах організму, не пов'язаних на своєму початку з патологією системи гемостазу, спостерігаються певні зниження фібринолітичного потенціалу, що свідчить про можливу загрозу тромботичного ускладнення. Захворювання системний червоний вовчак (СЧВ) – це мультисистемна патологія сполучної тканини та кровоносних судин. Дуже часто розвиток СЧВ супроводжується порушенням функціонування системи гемостазу.

Метою даної роботи було дослідити зміни фібринолітичного потенціалу при системному червоному вовчаку. Обстежено 250 хворих на СЧВ, серед них 122 чоловіки та 128 жінок, середній вік становив  $43,0 \pm 2,1$  року. Тривалість захворювання коливалась від 3 до 20 років і в середньому становила  $10,8 \pm 1,3$  року. Діагноз СЧВ встановлювали на основі критеріїв ACR (1997) і формулювали згідно з класифікацією, рекомендованою Асоціацією ревматологів України (2002).

Стан системи зсідання крові оцінювали за вмістом фібриногену, розчинних фібрин-мономерних комплексів, активованим частковим тромбопластиновим часом, протромбіновим індексом, екамуліновим індексом, вмістом протромбіну, протеїну С та антитромбіну III. Потенціал фібринолітичної системи оцінювали за активністю тканинного активатора плазміногену (ТАП), інгібітора активаторів плазміногену першого типу (ПАІ-1) та загальним часом лізису еуглобулінів. Також у роботі розраховували індекси тромботичного ускладнення (ІТУ) та індекс ефективності фібринолізу (ІЕФ).

Отримані дані показали значний патологічний стан системи гемостазу. Виявлено накопичення інгібіторів системи згортання крові (у 70% пацієнтів) та розчинних фібрин-мономерних комплексів (середній показник по групі  $0,04 \pm 0,001$  г/л), підвищення вмісту фібриногену (у 50% до  $4,6 \pm 0,4$  г/л), що свідчить про високий ризик появи тромботичного ускладнення. Аналіз показників фібринолітичної ланки системи гемостазу показав значне пригнічення фібринолітичного потенціалу при СЧВ. Активність ТАП була знижена майже в 2,9 рази, а ПАІ-1 значно підвищена (в деяких випадках показник перевищував майже в 10 разів цей показник у донорів) щодо контрольних значень. Загальний час лізису еуглобулінів був подовжений майже в 3 рази, що також свідчить про пригнічення фібринолізу в досліджуваних зразках. Розрахунок обох індексів підтвердив неспроможність фібринолітичного потенціалу справлятися з появою в кровотоці маркерів гіперкоагуляції та виникаючою в результаті цього

загрозою тромботичного утворення.

Отримані дані дають змогу висунути припущення про можливе утворення аутоантитіл в кровотоці при системному червоному вовчаку та їх вплив на компоненти фібринолітичної ланки системи гемостазу, що і приводить до пригнічення фібринолітичного потенціалу плазми крові.

### **Длябога Ю.**

#### **КОРЕКЦІЯ РИБ'ЯЧИМ ЖИРОМ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ПЛАЗМИ КРОВІ, ПЕЧІНКИ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ**

*Інститут біології тварин НААН  
вул. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

За експериментальної гіперхолестеринемії, створеної шляхом щоденного (протягом 90) днів згодовування холестеролу в кількості 300 мг/кг живої маси, вміст холестеролу у плазмі крові щурів найбільш значно зростає серед ліпопротеїнів низької щільності. При цьому в ліпідному складі їх плазми крові зростає відносний вміст триацилгліцеролів, етерифікованого та неетерифікованого холестеролу, але знижується — фосфоліпідів і, особливо, неетерифікованих форм жирних кислот. Згодовування протягом 90 днів рибачого жиру в кількості 1 мл/кг живої маси приводить до нормалізації концентрації холестеролу ліпопротеїнів низької щільності та ліпідних фракцій у плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії.

У ліпідному складі печінки щурів, яким згодовували холестерол, підвищується відносний рівень неетерифікованого та етерифікованого холестеролу. При цьому в їх печінці зменшується відносна концентрація фосфоліпідів і, особливо, неетерифікованих форм жирних кислот, що може вказувати на жирове переродження тканин печінки. У ліпідному складі печінки щурів, яким згодовували суміш холестеролу з рибачим жиром, зростає відносний вміст фосфоліпідів. При цьому в їх печінці зменшується відносна кількість основного субстрату для етерифікації ліпідів — неетерифікованих форм жирних кислот і не змінюється рівень загальних ліпідів. Це може вказувати на нормалізацію ліпідного складу печінки щурів.

У ліпідному складі скелетних м'язів щурів, яким згодовували холестерол, зростає відносний вміст триацилгліцеролів, неетерифікованого та етерифікованого холестеролу. При цьому в їх скелетних м'язах зменшується відносна кількість фосфоліпідів, моноацилгліцеролів+диацилгліцеролів і неетерифікованих форм жирних кислот. Це може вказувати на суттєве ожиріння тварин. У ліпідному складі скелетних м'язів щурів, яким згодовували суміш холестеролу з рибачим жиром, суттєво знижується відносний рівень неетерифікованих форм жирних кислот, що може свідчити про позитивний вплив рибачого жиру на ступінь використання останніх у процесах синтезу ліпідів у цьому виді тканин.

За період дослідження (90 днів) щури інтактні, з експериментальною гіперхолестеринемією та з експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням рибачим жиром, збільшують свою живу масу відповідно в 1,04, 1,24 і 1,08 рази. Наведене вище вказує на суттєве ожиріння тварин, яким згодовували холестерол, і на нормалізацію маси тіла тих тварин, яким до раціону разом з холестеролом додавали рибачий жир.

### **Галенова Т. І., Ракша Н. Г., Савченко О. А., Савчук О. М.**

#### **ФУНКЦІОНУВАННЯ ФЕРМЕНТІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У РІЗНИХ ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

*Кафедра біохімії, Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна  
e-mail: galenovatanya@rambler.ru*

Метаболічні порушення при цукровому діабеті (ЦД) включають багато факторів, серед яких найбільше значення має довготривала гіперглікемія, яка може бути наслідком зниження транспорту

глюкози в клітини інсуліночутливих тканин та порушення її внутрішньоклітинного метаболізму. Метою роботи було дослідження функціонування гексокінази і глікогенсинтаз у клітинах печінки, м'язової та жирової тканин за умов експериментального ЦД 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одно-разовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурам розчину стрептозотоцину з розрахунку 80 мг/кг маси тіла (Hemmings, Spafford, 2000). Тварин в межах обох дослідних станів (контрольних щурів та щурів з моделлю ЦД) було поділено на три групи. Тварини 1 групи за 16 годин до початку експерименту мали доступ лише до води (базальний рівень активності ферментів). Тваринам 2 та 3 групи за допомогою зонда *per os* вводили розчин глюкози (2 г/кг маси тіла). Додатково щурам 3 групи через 60 хв після введення глюкози внутрішньовенно вводили розчин інсуліну (1U/кг маси тварини). Дослідних тварин 2 та 3 груп декапітували через 90 хв від моменту введення глюкози. Активність ферментів досліджували у гомогенаті печінки, м'язової та жирової тканин за допомогою спектрофотометричних методів (Massashi Morifuji et al., 2005).

Дослідження базального рівня активності ферментів показало, що за умов експериментального ЦД спостерігається зниження глікокіназної активності на 64% та підвищення гексокіназної активності на 22% у клітинах печінки порівняно з контрольними показниками. Встановлено зниження базального рівня гексокіназної активності у клітинах м'язової та жирової тканин щурів з моделлю ЦД відповідно на 45 та 60% порівняно з базальними значеннями контрольних тварин. Показано зниження базального рівня глікогенсинтазної активності у клітинах печінки та м'язової тканини відповідно на 35 і 40% за умов експериментального ЦД 2 типу порівняно з базальними показниками активності контрольної групи тварин.

У результаті досліджень встановлено, що у групі контрольних тварин активність досліджуваних ферментів зростала як у випадку підвищеної концентрації глюкози в крові (2 група), так і після додаткового введення інсуліну (3 група). Лише рівень гексокіназної активності клітин печінки контрольних тварин 2 та 3 групи дещо знижувався порівняно з базальними показниками цього дослідного стану.

Порівняльний аналіз функціонування досліджуваних ферментів в межах групи тварин з моделлю ЦД 2 типу показав, що гексокіназна та глікогенсинтазна активність в клітинах усіх досліджуваних тканин залишалася в межах базальних значень за умов підвищеної концентрації глюкози в крові. Встановлено достовірне підвищення глікокіназної активності, гексокіназної активності клітин м'язової та жирової тканин і глікогенсинтазної активності клітин м'язової тканини у відповідь на дію екзогенного інсуліну порівняно з базальними показниками активності цього дослідного стану.

Отримані нами результати дають змогу зробити висновок, що за умов експериментального ЦД 2 типу порушуються функціонування ключових ферментів вуглеводного обміну, що відображається у зниженні їх базальної активності та нездатності повною мірою активуватися у відповідь на дію інсуліну.

### **Гнеп Н., Шмарак І.**

#### **ОСОБЛИВОСТІ НУТРИЄНТНОГО СТАТУСУ ЩУРІВ З КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА В УМОВАХ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ВІТАМІНОМ А**

*Кафедра біохімії та біотехнології*

*Факультет біології, екології та біотехнології*

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна*

*e-mail: natalo4ka3@ukr.net*

Розвиток злоякісного новоутворення пов'язаний з метаболічними порушеннями вуглеводного, білкового та ліпідного обмінів, а також локальними деструктивними процесами в пухлині й оточуючих її тканинах. Наслідком неконтрольованого росту пухлиної маси виявляється підвищена потреба в есен-

ціальних нутрієнтах, пластичних та енергетичних субстратах, яка покривається шляхом посилення катаболізму в нетрансформованих клітинах організму з пухлиною (Inui A., 2004).

Метою роботи було оцінити нутрієнтний статус тварин зі злоякісним новоутворенням в умовах різної забезпеченості вітаміном А.

Встановлено, що ріст карциноми Герена в організмі супроводжується посиленням негативного азотного балансу, зниженням рівня глюкози і підвищенням рівня вільних жирних кислот в сироватці крові організму пухлиноносія. Виявлені зміни є наслідком активного споживання азоту та глюкози, посилена утилізація яких пухлинними клітинами викликає стан білково-енергетичної недостатності (Мальков О.А., 2008). Це компенсується зростанням майже вдвічі рівня вільних жирних кислот у сироватці за рахунок посилення ліполізу триацилгліцеролів адипоцитів при дії ліпази та в умовах гіпоглікемії. Про переважне використання жирних кислот як енергетичного субстрата свідчить також і підвищення рівня сироваткових кетонових тіл, оскільки стану кетозу завжди передують підвищення вмісту неетерифікованих жирних кислот (Титов В.Н., 2005).

Поряд із цим нами встановлено, що нестача вітаміну А в організмі пухлиноносія посилює виявлені ознаки розвитку пухлинної кахексії. Зокрема, на фоні зниженого рівня глюкози в сироватці крові, знижується рівень вільних жирних кислот, що відображає поглиблення стану енергетичної недостатності при пухлинному рості. Про сповільнення темпів окислення жирних кислот може свідчити і зниження рівня кетонових тіл в сироватці крові в авітамінозному організмі пухлиноносія. Відомо, що окислення жирних кислот перебуває під контролем транскрипційних факторів, відомих як рецептори проліфераторів пероксисом (PPAR), функціонування яких відбувається у комплексі із ретиноїд Х рецептором (RXR), лігандом якого виступає ретиноева кислота. Відповідно до цього, відсутність вітаміну А унеможливує функціонування рецепторних комплексів (PPAR/RXR, RAR/RXR) та метаболічних шляхів які вони регулюють, в першу чергу окислення жирних кислот та глюконеогенезу (Oliveros L. B. Et al., 2007; Shin D.-J., McGrane M. M., 1997). Саме при неможливості отримання енергії із основних енергетичних субстратів внаслідок або виснаження їх запасів (глюкоза), або відсутності можливостей їх окислення (вільні жирні кислоти), єдиним доступним енергетичним субстратом виявляються амінокислоти, посилене дезамінування яких виражається в нашому експерименті зростанням негативного азотного балансу. Метаболічні порушення в організмі із карциномою Герена виявляються настільки глибокими, що досліджувані показники не повертаються до вихідних значень навіть в умовах відновлення нормальної забезпеченості вітаміном А.

Отже, нами встановлено, що метаболічні порушення в організмі із карциномою Герена за умов різної забезпеченості вітаміном А характеризуються посиленням негативного азотного балансу на фоні зниженого рівня основних енергетичних і пластичних субстратів.

### Горда А.

#### ВПЛИВ ДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА НА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У ОДНОКЛІТИННОЇ ЗЕЛЕНОЇ ВОДОРОСТІ *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER.

*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка  
вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна  
e-mail: hiazunt@mail.ru*

Нафта і продукти її переробки є одними з основних і найбільш небезпечних токсикантів, що значно забруднюють водне середовище. За їх дії у гідробіонтів (тварин і рослин) розвиваються порушення молекулярно-генетичного, метаболічного, фізіологічного, морфологічного характеру, пригнічуються їх життєві функції та зростає смертність. Однією з основних причин цього є порушення токсикантами енергоутворення в клітинах та енергетичного статусу організму в цілому.

Метою цієї роботи було дослідження впливу дизельного палива на активність регуляторних ферментів енергетичних систем: сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.99.1.), цитохромоксидази (ЦО, КФ



1.9.3.1.), глутаматдегідрогенази (ГДГ, КФ 1.4.1.2.) у одноклітинної зеленої водорості *Chlorella vulgaris* Beijer., культуру якої вирощували на мінеральному середовищі Фітджеральда в модифікації Цендера і Горхема за стандартних для культивування умов освітлення і температури. В експерименті до культури додавали дизельне паливо в кількості 0,1 мг/дм<sup>3</sup>, що становить 10 ГДК згідно з рибогосподарськими показниками шкідливості речовин. Період інкубації культури водорості з дизпаливом становив 1 і 7 діб.

Активність досліджуваних ферментів за дії дизельного палива із збільшенням часу культивування загалом знижувалася. Активність СДГ на 1 добу дії токсиканта зменшувалася на 82% порівняно з контрольними показниками, на 7 добу – збільшувалася на 28%. Активність ЦО знижувалася на 57 і 98% відповідно на 1 і 7 добу дії токсиканта. Активність ГДГ також знижувалася на 1 добу на 57%, на 7 добу – на 92% порівняно з контролем.

Функціонування ферментативних систем енергоутворення за дії дизельного палива у клітинах хлорели зменшується. Інгібування СДГ та ЦО вже протягом першої доби дії дизельного палива може бути наслідком поверхнево активного ефекту нафтопродукту, за рахунок чого на поверхні клітин водорості утворюється стійка плівка, що порушує обмін клітин з водним середовищем, включно газообмін і дихання (зменшує проникнення в клітини кисню). З іншого боку, окремі компоненти дизпалива, насамперед ароматичні та гетероциклічні сполуки, здатні проникати в клітини і діяти на ферментні системи безпосередньо або шляхом руйнування (розчинювальний ефект) мембран, з якими ферменти зв'язані. Щодо ГДГ, то крім безпосередньої дії на неї токсиканта, можливе зменшення потреби у продуктах дезамінування амінокислот як енергетичних субстратів. Крім того, для ГДГ відома важлива функція – зв'язування надлишкових кількостей аміаку, що утворюється у всіх гідробіонтів за токсичного стресу як наслідок стійкого розвитку стрес-катаболічного синдрому білків.

Поряд із тим, виявлений нами факт певної активації активності СДГ на 7-му добу дії дизпалива узгоджується з раніше встановленим ефектом часткового відновлення метаболічної активності у гідробіонтів в часовому градієнті після фази первинного пригнічення (Грубінко, 1995, 2008), підтвердженої у водоростей (Боднар, 2009), що узгоджується з формуванням адаптивної мембранної захисної системи в клітинах водних рослин у відповідь на довготривалу дію токсикантів різної природи (Костюк, 2010).

Загалом, дизельне паливо пригнічує генерування енергії у клітинах хлорели, що дає змогу віднести його до високотоксичних і екологічно небезпечних речовин для прісноводних водоростей.

**Іванов О. Ю., Мельникова Н. М., Деркач Є. А., Шепельова І. А.**  
**ВПЛИВ РІЗНИХ ФОРМ СЕЛЕНУ НА ПОКАЗНИКИ АЗОТНОГО ОБМІНУ  
В КРОВІ КРОЛІВ, ОТРУЄНИХ СТРОНЦІЄМ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: iryna-sh@yandex.ru*

Отруєння тварин важкими металами і стронцієм зокрема обумовлює розвиток цілої низки патологічних процесів, що пов'язане насамперед з інгібуванням активності ферментів, блокуванням HS-груп білків, підвищенням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, зміною параметрів кислотно-лужного стану, показників вуглеводного, білкового, ліпідного, мінерального обміну тощо. Таким чином, в умовах погіршення екологічної ситуації пошук методів корекції зазначених біохімічних показників за умов отруєння важкими металами є однією з найбільш актуальних проблем сучасної біологічної науки.

Одним із найбільш перспективних і ефективних шляхів вирішення даної проблеми є використання препаратів селену, що мають виражені антиоксидантні властивості, хоча значною мірою відрізняються за ефективністю і механізмом дії залежно від форми і умов їх використання. У природному середовищі селен існує в двох формах: органічний і неорганічний. Під час надходження до організму

надмірних кількостей неорганічного селену, він може накопичуватися в тканинах у формі вільного гідроселенід-аніону, який є надзвичайно токсичним. Організм має обмежену здатність до його утилізації, тому небезпека передозування при прийомі неорганічного селену є дуже високою. Основною перевагою органічного селену порівняно з неорганічним, окрім низької токсичності, є його широкі можливості щодо накопичення і депонування в організмі тварин і людини.

Метою нашої роботи було дослідження впливу неорганічної та органічної форм селену на основні показники, що характеризують стан азотного обміну в крові кролів, уражених стронцієм.

Дослідження проводили на статевозрілих самцях кролів породи Радянська шиншила, які утримувались на стандартному раціоні. Отруєння тварин стронцію хлоридом проводилося шляхом щоденного введення стронцію хлориду  $\text{SrCl}_2$ , упродовж 14 діб, з розрахунку 0,006 г на 100 г маси тіла. Натрію селеніт (неорганічна форма) в 0,9% розчині натрію хлориду вводили внутрішньочеревно в дозі 2 мг/кг ваги. Інтактним тваринам вводили відповідний об'єм 0,89% розчину натрію хлориду. Сел-Плекс (органічна форма) додавали з розрахунку 0,2 мг/кг комбікорму.

Результатами наших досліджень виявлено зміни показників азотного обміну у крові отруєних кролів за умов уведення різних форм селену в бік наближення до показників у крові інтактних кролів. Так, при введенні натрію селеніту у крові отруєних кролів спостерігається зниження концентрації сечовини і креатиніну на 8,0% і 7,5% відповідно, на фоні вірогідного підвищення концентрації загального білка на 32,4% відносно цих показників у крові отруєних кролів. За умов уведення препарату Сел-Плекс у крові отруєних кролів відзначено зниження концентрації сечовини і креатиніну на 17,6% і 11,6% та підвищення концентрації загального білка на 41,8% відносно тварин отруєних стронцію хлоридом.

Таким чином, порівняльна характеристика дії неорганічної та органічної форм селену на основні показники азотного обміну крові кролів, отруєних стронцієм, показала, що препарат Сел-Плекс (органічна форма) є більш ефективним щодо корекції отруєння стронцію хлоридом.

### **Іванова Т., Мегалінська Г., Круподьорова Т.**

#### **ГЕМАГЛЮТИНУЮЧА Й АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЛЕКТИНОВМІСНОЇ ВИТЯЖКИ *GANODERMA LUCIDUM***

*Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»  
вул. Осиповського, 2а, м. Київ, 04123, Україна  
e-mail: ivanova\_tatiana\_wat2@bigmir.net*

Лікувальні властивості базидіального гриба *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst понад 2000 років використовуються у народній медицині Далекого Сходу (Wasser, 1999 et al., 2000 et al.). Світовий обсяг продажу *Ganoderma* sp. досягають 2,5 млрд. доларів. В Україні трутовик лакований мало відомий як культивований вид і досі промислово не вирощується, хоча з 2005 року співробітниками Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАНУ створено наукові засади технології отримання плодових тіл та міцеліальної маси. Сучасні дослідження *G. lucidum* дали змогу виділити з неї понад 400 біологічно активних сполук різної хімічної природи, найголовніші з яких полісахариди, тритерпеноїди, лектини та ферменти. Останнім часом активно вивчаються фізіологічно активні речовини базидіоміцетів, що підвищують імунітет, мають гепатопротекторну, протипухлинну, антидіабетичну та кардіологічну дією, знижують рівень холестерину, покращують функціональний стан певних органів і систем організму (зокрема, нервової та статеві), використовуються для лікування та профілактики хронічних захворювань (Wasser, 1999 et al.).

Особливу увагу привертають лектини – білки неімуноглобулінової природи, здатні до специфічного впізнання та зворотного зв'язування з вуглеводною частиною глікокон'югатів без порушення ковалентної структури будь-яких впізнаних глікозидних лігандів (Ветчинкина, 2008 и др.). Лектини

беруть участь у мобілізації та транспорті цукрів, організації клітини, регуляції росту та диференціації, у процесі проникнення паразитів у організм хазяїна і при утворенні симбіотичних взаємовідносин (Mikiashvili, 2009 et al.). Лектини також використовуються як біохімічні інструменти в багатьох напрямках дослідження: як специфічні аглютиніни при визначенні групових антигенів крові, у синтезі афінних сорбентів, що використовуються для фракціонування чи аналізу полісахаридів, гліколіпідів і глікопротеїнів, при цито- та гістохімічних дослідженнях глікокон'югатів тканин та клітинних поверхонь (Ветчинкина, 2008 и др.).

Метою даного дослідження було вивчення гемаглютинуючої та антибактеріальної активності базидіального гриба трутовика лакованого – *G. lucidum* 1900. Штам отриманий з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК). Міцелій *G. lucidum* вирощувався поверхневим методом протягом 14 діб при температурі  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . Субстратом для вирощування був зволожений шрот рослини амарант (*Amaranthus* L.), отриманий як відходи вуглекислотної екстракції насіння (патент № 54524). Концентрація шроту амаранту становила 60 г/л.

Гемаглютинація лектиновмісної витяжки проводили за методом Волкова (2005). Дослідження показали, що додавання лектиновмісної витяжки підвищувало швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) на 50%: для I групи ШОЕ підвищилося від 3 до 5 мм, для II і IV від 3 до 6 мм, а для III – від 2 до 4 мм.

Дослідження антибактеріальної активності проводилися методом паперових дисків. Тест-об'єктами були обрані: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* та *Proteus vulgaris*. Відповідно до результатів дослідження, лектиновмісна витяжка найбільш активно пригнічує ріст *Proteus vulgaris* (7,4 мм), трохи менше – *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* (7 мм), у той же час зовсім не пригнічує ріст *Escherichia coli*.

Отже, лікарський гриб *G. lucidum* можна вживати людям із різними групами крові, адже лектиновмісна витяжка цього гриба не викликає сильно вираженої гемаглютинації. Крім того, *G. lucidum* пригнічує ріст патогенних мікроорганізмів, але не впливає на симбіонта людського організму – кишкову паличку.

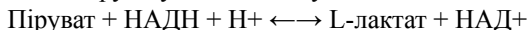
### <sup>1</sup>Калачнюк М., <sup>2</sup>Басараб І., <sup>1</sup>Калачнюк Г.

#### ЕКЗОГЕННЕ ІНГІБУВАННЯ АКТИВНОСТІ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ У СУБСТРУКТУРАХ ГЕПАТОЦИТІВ НЕОНАТАЛЬНИХ ТЕЛЯТ ПРИ АЛІМЕНТАРНІЙ ДІАРЕЇ

<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
ім. С.З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

Відомо, що основний шлях розщеплення вуглеводів проходить через гліколіз, тобто за послідовністю реакцій Ембдена-Мейергофа-Парнаса (Кононський О.І., 2006). Шестивуглецеві вуглеводи цей шлях починають із переведення їх у глюкозо-6-фосфат і далі розщеплюються на дві молекули тріоз. Гліколітична оксидоредукція, тобто окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 3-фосфогліцеринової кислоти, відбувається поетапно з утворенням НАДН, який у аеробних умовах передає свої відновлювальні еквіваленти на внутрішньомітохондріальні НАД+ та, послідовно, на мітохондріальний ланцюг електронного транспорту, генеруючи при цьому в результаті окисного фосфорилування три молекули АТР. За умов анаеробного гліколізу (в працюючих м'язах або молочнокислих бактеріях) гліколітичний НАДН не віддає свої відновлювальні еквіваленти в дихальний ланцюг мітохондрій, а використовує для відновлення пірувату до L-лактату:



Наведена реакція є двосторонньою і каталізується лактатдегідрогеназою (ЛДГ; КФ 1.1.1.27). Спрямованість реакції визначається відповідним відношенням НАД+/НАДН, піруват/лактат і присут-

ністю певного ізоензиму ЛДГ. При цьому джерелом лактату для печінкового глікогеногенезу є субстрат, який надходить через плазму крові з місць його утворення (переважно скелетних м'язів).

Раніше було показано (Д. Мельничук та ін., 2006 – 2010), що за умов алкогольної інтоксикації у сироватці крові щурів активність ЛДГ зростає майже у 2 рази. Це вказує на чіткий прояв алкогольн-дукованого стеатозу в печінці, уражені клітини якої не спроможні сповна використовувати молочну кислоту. Однак при застосуванні ліпосомальної форми біологічно активної добавки, виготовленої на основі фосфоліпідів молока (БАД LP FLP-MD), активність ЛДГ у крові вірогідно знижується. Відновлювальний ефект активності ензиму становить ~ 80%. Звідси зроблено важливий висновок, що новостворена добавка може бути цінною не тільки у живленні тварин, але й для корекції рівня есенційних жирних кислот та інших ліпідних компонентів в організмі за розвитку гепатопатології, яка часто виявляється у неонатальних телят при диспепсії (Д. Мельничук та ін., 2006).

У цьому зв'язку нами були проведені спеціальні експериментальні дослідження, результати яких показали, що в новонароджених телят при діарей у цитозольно-мікросомальній та мітохондріальній фракціях гепатоцитів вірогідно підвищується активність ЛДГ, а при згодовуванні БАД LP FLP-MD вона вірогідно інгібується і наближається до норми, тобто до рівня клінічно здорових телят.

Отже застосування БАД LP FLP-MD, очевидно, дає змогу усунути порушення структурно-функціонального стану гепатоцитів у неонатальних телят при проявах аліментарної діареї, на що вказує екзогенне інгібування ним активності ЛДГ у структурах клітин печінки та паралельні зміни інших біохімічних показників.

**Kaszlikowska A., Chamera K., Ciuba K., Strugała P., Zdunek P.,  
Rutkowska-Nowacka P., Grzywnowicz K.**

**GROWTH OF WOOD ROTTING FUNGI ON UNTYPICAL SUBSTRATES,  
EXAMPLES OF CIVILIZATION WASTES**

*Students of Biochemistry Scientific Group, Department of Biochemistry, University of Maria Curie-Skłodowska,  
Akademicka St. 19, 20-033, Lublin, Poland  
e-mail: grzyw@poczta.umcs.lublin.pl*

Last decades are characterized by permanent growth of contamination of biosphere by detrimental gases, dangerous xenobiotics, or solid wastes and litters produced by our civilization. Microorganisms capable to detoxification and degrade such substances and pollutions in natural conditions are objects of scientific interest of appropriate researchers. During last years we were taking into consideration wood degrading fungi as degraders of various polluting substances. For example aromatic compounds, dyes (in wastes), military substances (explosives, chemical weapons, etc.), rests of fuels, and so on. Relatively low attention is taken into account of such wastes as films and foils, rubbers, building material refuses, and electronic industry litters. Fungi degrading various substrates, especially wood, have noteworthy potential for carrying through such processes (Cohen et al., 2002). They embody powerful enzymatic systems destructing bonds in different polymers and they muddle through dangerous xenobiotics. Some polyesters are decomposed by lipases and esterases, starch derivatives are hydrolyzed by glucosidases systems, cellulose derivatives are rotted by cellulolytic enzyme systems, peptide derivatives are hydrolyzed by proteolytic enzymes, and lignins and they analogues are destructed by ligninolytic systems (laccases, peroxidases and related hydrolases). Additionally some enzymes, such as laccase, tyrosinase and catalase protect fungi against particularly dangerous toxins and xenobiotics (Rabinovich, 2004). Among wood rotting fungi we can distinguish few metabolic models, from which two most important groups – white rotting fungi (degrading parallel all constituents of wood) and brown rotting fungi (preferentially degrading celluloses and their analogues) (Rabinovich, 2004).

Members of Biochemist Scientific Group of UMCS, Lublin have bethink themselves to investigate potential of growth and main enzyme systems markers of two wood rotting fungi - *Trametes versicolor* (white

rotting fungus) and *Gleophyllum trabeum* (brown rotting fungus), growing on untypical substrates, examples of civilization wastes. As substrates we used building foam (used in windows arrangement), two kinds of rubber (black and red one), two kinds of packaging foils (white and coloured) and CD disks (with music of J.S. Bach) as curiosity. They were supplemented with Fahraeus and Reinhammar medium. Levels of laccase activity were determined by method of Matsumura et al. (1987), peroxidase activity by method of Putter and Becker (1983) and tyrosinase activity by method of Mueller et al. (1996).

Preliminary results showed better biodegradation potential and higher enzyme activities of white rot fungus *Trametes versicolor*. Brown rot fungus *Gleophyllum trabeum* is a little weaker. The fastest growth was observed on CD disks, and on white foil and red rubber. Further experiments are in progress.

### **Хоменко А. В.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛУ НА АКТИВНІСТЬ МІКРОСОМАЛЬНОЇ ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ІЗОФОРМ ВІТАМІН D<sub>3</sub> 25-ГІДРОКСИЛАЗИ ГЕПАТОЦИТІВ ЗА УМОВИ D-ГІПЕРВІТАМІНОЗУ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, лабораторія медичної біохімії  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: annavic@ukr.net*

Першим етапом перетворення холекальциферолу на біологічно активні форми є його гідроксилювання у гепатоцитах з утворенням основної транспортної форми вітаміну - 25ОНD<sub>3</sub>. Швидкість утворення цього гідроксилохідного є показником інтенсивності пебігу процесів гідроксилювання, а рівень 25ОНD<sub>3</sub> у крові відображає забезпеченість організму вітаміном D<sub>3</sub>. Залежно від D-вітамінного статусу організму відбувається розподіл функцій між двома типами вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилазних ензимів гепатоцитів: мікросомальним й мітохондріальним. Мікросомальна форма (CYP2R1) активно функціонує при фізіологічних концентраціях вітаміну, а її активність регулюється продуктом реакції - 25ОНD<sub>3</sub>, Ca, Pi, паратиреоїдним гормоном тощо. Мітохондріальна 25-гідроксилаза (CYP27A1) функціонує при високих концентраціях субстрату. Єдиної точки зору щодо регуляторних властивостей цієї ізоформи не існує. Враховуючи здатність  $\alpha$ -токоферолу як потужного природного антиоксиданта стабілізувати мембрани мітохондрій, доцільно було вивчити його вплив на швидкість синтезу 25-гідроксилохідного D<sub>3</sub> за токсичної дії високих доз холекальциферолу.

Метою роботи було дослідити вплив  $\alpha$ -токоферолу на активність мікросомальної та мітохондріальної ізоформ вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилази гепатоцитів щурів за умови D-гіпервітамінозу.

Результати проведених досліджень свідчать, що за умови використання високих доз холекальциферолу (30 000 МО) на тлі значного зростання вмісту 25ОНD<sub>3</sub> у сироватці крові загальна вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилазна активність гепатоцитів знижується вдвічі порівняно з контролем. Встановлено, що майже у 2 рази (49%) знижується активність мікросомальної ізоформи вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилази. Інша закономірність спостерігається щодо змін активності мітохондріальної ізоформи ензиму: вона зростає на 27,5%.

Показано, що введення фізіологічних доз  $\alpha$ -токоферолу (0,726 МО й 7,26 МО) за токсичної дії холекальциферолу призводить до зниження вмісту 25ОНD<sub>3</sub> у сироватці крові на 35% й 46,5% відповідно, що є результатом гальмування загальної вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилазної активності гепатоцитів (на 36,6%). У той же час виявлено індивідуальну направленість змін активності мікросомальної та мітохондріальної ізоформ ензиму. Активність мікросомальної ізоформи зростає у 2,6 рази, а мітохондріальної – інгібується на 25%. Тобто  $\alpha$ -токоферол є регулятором активності не тільки мікросомальної, але й мітохондріальної ізоформ вітамін D<sub>3</sub> 25-гідроксилазних ензимів.

<sup>1,2</sup>**Климчук Ю. Ю., <sup>2</sup>Гоголь С. В.**

ВПЛИВ ГЛІКОПЕПТИДНОЇ ВАКЦИНИ І ПОЛІФЕНОЛІВ ЗЕЛЕНОГО ЧАЮ НА РІСТ ЛІМФОЛЕЙКОЗУ L1210 У МИШЕЙ ТА ЕКСПРЕСІЮ В ЛЕЙКОЗНИХ КЛІТИНАХ БІЛКІВ, ПРОДУКТІВ ГЕНІВ С-МУС ТА P53

<sup>1</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, корп. 12, 03022, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р. С. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, 45, 03022, м. Київ, Україна  
e-mail: MaLuLa@ukr.net

Метою роботи було дослідити можливості підсилення протипухлинної дії глікопептидних вакцин (ГПВ) за допомогою поліфенолів зеленого чаю (ПФЗЧ) та вивчити їх вплив на експресію в клітинах лімфолейкозу L1210 білків, продуктів генів с-мус і р53.

Дослідження проведені на мишах-самцях лінії BDF1, масою 20-22 г. Лімфолейкоз L1210 перещеплювали внутріочеревинно по  $3 \times 10^5$  клітин на тварину. ГПВ вводили тваринам 3-кратно (на наступну добу після перещеплення, на 7 та 14 добу в дозі  $1 \times 10^5$  пухлинних еквівалентів). Поліфеноли зеленого чаю (0,1% розчин) тварини споживали замість питної води у терапевтичному режимі (після перещеплення пухлин і до кінця досліду). Для оцінки експресії білкових продуктів генів в лейкозних клітинах застосовували вестерн-блот-аналіз.

Встановлено, що ГПВ і ПФЗЧ у зазначених дозах і режимах введення, при застосуванні їх окремо, не впливають на об'єм асцитної рідини у мишей з перещепленим лімфолейкозом L1210. Спільне застосування цих агентів призводило до зниження цього показника на 37,5%. Кількість клітин в асцитній рідині при зазначених дозах та режимах введення ГПВ і ПФЗЧ істотно не змінювалася. Виявлено, що введення тваринам тільки ГПВ призводить до підвищення (на 38%) рівня експресії білка р53 (одного з головних чинників апоптозу) і не впливає на експресію білка с-мус. Споживання тваринами ПФЗЧ призводить до більш суттєвого (порівняно з ГПВ) підвищення рівня експресії білка р53 та призводить до зниження експресії білка с-мус. При спільному введенні тваринам ГПВ і ПФЗЧ експресія білка с-мус в пухлинних клітинах була також меншою порівняно з показниками у тварин контрольної групи. Окрім цього, виявлено, що спільне застосування ПФЗЧ і ГПВ призводить до збільшення середньої тривалості життя тварин з лімфолейкозом L1210.

Отримані дані свідчать про перспективність подальшого дослідження протипухлинної дії ГПВ і рослинних поліфенолів та розробки більш ефективних схем їх спільного застосування для підвищення протипухлинного ефекту.

**Конопельнюк В. В., Середницька К. Р., Савчук О. М.**

ВМІСТ ГЛЮКОЗИ ПРИ ВВЕДЕННІ М-ХЛОРФЕНІЛПІПЕРАЗИНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна  
e-mail: konopelnyuk@rambler.ru

Цукровий діабет (ЦД) 2 типу – хронічне ендокринне захворювання, основними патогенетичними факторами якого виступають гіперглікемія, зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну та порушення функціонування  $\beta$ -клітин підшлункової залози. Актуальність проблеми ЦД 2 типу зумовлена значною поширеністю захворювання, а також тим, що він є базою для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності. Сьогодні відбувається пошук нових антидіабетичних препаратів, серед яких не останнє місце можуть зайняти модулятори функціонування серотонінергічної системи.

Метою роботи було дослідити вплив м-хлорфенілпіперазину (mCPP) на масу тварин та рівень глюкози в крові щурів за умов експериментального ЦД 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей з початковою масою 230-250г. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим 1-2-добовим щурят розчину стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1кг маси тіла (Hemmings, 2000). Контрольну групу становили щури, яким у тому ж віці внутрішньочеревно вводили 10 мМ цитратний буфер (рН=4,5), котрі використовували для розведення стрептозотоцину. Через 180 діб у піддослідних тварин визначали концентрацію глюкози в крові натще, яку встановлювали за допомогою глюкометра “ГЛЮКОФОТ-II” (Україна) згідно з інструкцією. Для підтвердження розвитку стану інсулінорезистентності у дослідних тварин визначали чутливість периферичних тканин до інсуліну за допомогою інсуліно-глюкозотолерантного тесту (Koichi Itaya, 1977) проведеного з власними модифікаціями.

Розчин mCPP вводили інтраперитоніально з розрахунку 1,25 мг на 1 кг маси тіла протягом 7 та 14 днів. Контрольну групу становили щури, яким протягом 7 та 14 днів інтраперитоніально у тому ж об’ємі вводили 0,9% розчин натрію хлорид, який використовували для розведення mCPP. Масу тіла щурів та кількість вжитої ними їжі визначали щоденно протягом 7 та 14 днів у той самий час.

У результаті досліджень нами встановлено, що маса тіла щурів та кількість корму, яку тварини з’їдали щоденно, не змінювалася протягом 14 днів у контрольній групі та групі щурів з експериментальним ЦД 2 типу. Проте при введенні mCPP маса тварин знижувалась у 1,2 разу на 7 день, а на 14 день поверталася до контрольних значень. При цьому на 7 день від початку досліді тварини вживали на 30% більше їжі, ніж тварини контрольної групи.

У ході досліджень нами встановлено, що у групі щурів з моделлю ЦД 2 типу вміст глюкози в крові натще в 1,5 разу перевищував значення контрольної групи тварин. Підвищення вмісту глюкози в крові може бути наслідком зниження транспорту глюкози в клітини інсуліночутливих тканин, порушення внутрішньоклітинного метаболізму глюкози, зменшення її утилізації, зниження синтезу та підвищення розпаду глікогену в печінці.

У контрольній групі тварин яким вводили mCPP, вміст глюкози знижувався на 7 добу на 30%. Фіксували значне зниження вмісту глюкози на 38% на 7 день у тварин з експериментальною моделлю ЦД 2 типу, яким вводили mCPP, проте на 14 день вміст глюкози залишався на тому самому рівні.

Отримані дані можуть свідчити про вплив mCPP на рівень глюкози у крові щурів з експериментальною моделлю ЦД 2 типу, що в подальшому може бути використане для лікування даної патології.

### **Копильчук Г., Бучковська І., Кожушна О.**

#### **АСПАРТАТ- І АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗНА АКТИВНІСТЬ У СИРОВАТЦІ КРОВІ МИШЕЙ ЗА УМОВ НЕСТАЧІ ВІТАМІНУ А**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
e-mail: olia\_0904@mail.ru*

Важливу роль у життєдіяльності організму відіграє переамінування амінокислот, коли аміногрупи у вигляді L-глутамату беруть участь в біосинтетичних процесах (Khokhar N., 2003; Siddigi A.I., 2007). У перетвореннях амінокислот ключову роль відіграють аспаратамінотрансферази (EC 2.6.1.1, АСТ) та аланінамінотрансферази (EC 2.6.1.2, АЛТ). Найбільша кількість АЛТ/АСТ міститься в печінці, що має важливе діагностичне значення активності вказаних ферментів при патологічних станах цього органа (Костюшов В.В., 2001; Клименко О.Ю., 2009). Визначення амінотрансферазних активностей у сироватці крові є індикатором гостроти патологічного процесу в печінці. Дані літератури (Pohl A., 2001; Park J.M., 2003) свідчать, що метаболічні перетворення, пов’язані з дефіцитом 9-цис-ретиноєвої кислоти, які відбуваються в печінці, призводять до зміни АЛТ/АСТ у сироватці крові.

Мета роботи – дослідити ферментативну активність аспаргат- та аланінамінотрансфераз і коефіцієнт де Рітиса у сироватці крові мишей за умов нестачі вітаміну А.

Результати проведених нами досліджень показали зниження аланін- і аспартатамінотрансферазної активності у сироватці крові мишей, нокаутних з геном *Lrat*, порівняно із показниками контрольних тварин. Імовірно, зниження АЛТ/АСТ у сироватці крові дослідних тварин пов'язано з пригніченням синтезу протеїнів у печінці, яке відбувається внаслідок накопичення проміжних і деяких кінцевих продуктів метаболізму, за дії яких порушується нормальний перебіг біохімічних процесів (Lim L.G., 2010; Супонько Ю.В., 2010). У літературі (Коротун О.П., 2008; Яблонська С.В., 2009) наводяться дані, що поряд із цим активуються протеолітичні процеси, які в, свою чергу, також можуть бути однією з причин зниження вмісту ензимів у тканинах і сироватці крові.

Відомо, що роль вказаних амінотрансфераз визначається участю аспартату та аланіну в метаболічних процесах (Lierman A.H., 2003). Вільним амінокислотам належить важлива біологічна роль у регуляторних і адаптаційних процесах організму, а зміни їх вмісту відображають глибину деструктивних і катаболітичних процесів, які відбуваються в організмі за умов патології (Selden M.A., 2009). Імовірно, пригнічення аспаргат- та аланінамінотрансферазних активностей у сироватці крові *Lrat*-мишей може відбуватися за рахунок зниження вмісту відповідних субстратів – аспартату, який є безпосереднім учасником циклу сечовини та попередником оксалоацетату, що в подальшому окислюється в циклі трикарбонових кислот, та аланіну, який є транспортною формою аміаку в глюкозо-аланіновому циклі, або, перетворюючись на піруват, використовується не лише для синтезу глюкози в процесі гліколізу, але й для синтезу жирних кислот і холестеролу, а також є джерелом енергії, окислюючись до ацетил-КоА.

Дані літератури (Lierman A.H., 2003; Siddigi A.I., 2007) свідчать, що зниження активностей амінотрансфераз може відбуватися при порушенні процесів синтезу кофермента переамінування амінокислот – піридоксальфосфату – похідного вітаміну  $B_6$ , що має важливе значення при патологіях печінки. Поряд із цим пригнічення активностей АСТ/АЛТ у сироватці нокаутних тварин характеризується зниженням коефіцієнту де Рітиса менше одиниці.

Отже, у сироватці крові мишей за умов нестачі вітаміну А відбувається зниження аспаргат- та аланінамінотрансферазних активностей.

### **Крисюк І., Кнауб А.**

#### **ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЛІКУВАННЯ L-ЛІЗИНУ *IN VITRO* ДЕЯКИМИ АЛЬДЕГІДАМИ ЕНДОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: kr-iryua@yandex.ru*

У патогенезі низки захворювань (атеросклероз, цукровий діабет), як і за природного старіння організму, суттєве місце займають процеси неферментативного глікування білків, що відбуваються при реакції їх вільних аміногруп, переважно лізину, з активними карбонільними сполуками, а саме: моносахаридами, альдегідами карбонільного й оксидативного стресу, а також формальдегіду. При цьому в результаті складних перетворень реакції Майяра утворюються кінцеві продукти глікування, які здатні флюоресціювати. Формальдегід відрізняється від інших альдегідів ендogenousного походження своїм об'ємом і здатністю утворювати одновуглецеві аддукти та внутрішньо- і міжмолекулярні зшивки.

Метою даної роботи було дослідити *in vitro* вплив за утворенням флуоресценції в розчинах при взаємодії L-лізину з рибозою, гліоксалем, метилгліоксалем та формальдегідом в еквімолярних концентраціях, що в певній мірою моделює процес глікування амінокислотних залишків білків.

Глікування L-лізину оцінювали двома методами: по утворенню флуоресціюючих продуктів ( $J_{ex}$



=350 нм,  $\lambda_{em}$  = 425), та по зменшенню кількості вільних аміногруп. Проведено порівняльне дослідження змін флуоресценції, при інкубації L-лізину з вказаними альдегідами (в концентрації 20мМ кожний). Вимірювання проводили на флюориметрі Biotek FLx800, відбираючи аліквоти через кожну годину протягом 16 год. Для запобігання бактеріального росту у пробах був присутній 0,02%  $\text{NaN}_3$ . Показано, що за інтенсивності флуоресценції досліджувані альдегіди можна розмістити в ряду рибоза < формальдегід < гліоксаль < метилгліоксаль. При комбінованій дії формальдегіду з іншими альдегідами спостерігається посилення флуоресценції, що суттєво перевищує сумарне. Максимальні зміни для всіх ефекторів спостерігалися на 3 год інкубації. Отримані дані узгоджуються з нашими даними щодо кількості  $\text{NH}_2$  груп лізину, яка визначалась за допомогою флюорескаміну. Вимірювання проводили на флюориметрі Biotek FLx800 ( $\lambda_{ex}$  = 380 нм,  $\lambda_{em}$  = 485) протягом 16 год, відбираючи аліквоти через кожну годину. При інкубуванні L-лізину з рибозою та відповідними альдегідами, в еквімолярних концентраціях (20мМ), спостерігали зниження індукованої флюорескаміном флуоресценції. При комбінованій дії формальдегіду з відповідними альдегідами це зниження адитивно посилювалося. Одержані результати вказують на те, що формальдегід потенціє посилення флуоресценції, можливо, за рахунок альдольної конденсації з іншим альдегідом та (або) за участі в утворенні в комбінації з іншим альдегідом нового аддукту L-лізину, що має значно більшу флуоресценцію.

**Кубайчук К. І., Мінченко Д. О., Губеня О. В., Михальченко В. Г., Мінченко О. Г.**  
**ВПЛИВ ГІПОКСІЇ ТА УМОВ ІШЕМІЇ НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ VEGF**  
**У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ U87: ЗАЛЕЖНІСТЬ ВІД ФУНКЦІЇ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ**  
**ЕНДОПЛАЗМАТИЧНИЙ РЕТИКУЛУМ ЯДРО-1**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*  
*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України*  
*вул. Леонтовича, 9, 01601 м. Київ, Україна*  
*e-mail: ominchenko@yahoo.com*

Молекулярні основи регуляції ключових сигнальних систем, що визначають відповідь клітин на дію різноманітних чинників, зокрема на гіпоксію та ішемію, останнім часом детально досліджуються в клітинах різних організмів. Особливу увагу дослідників привертають механізми регуляції функціонування сигнальних систем, що контролюються ендотеліальними факторами росту судин VEGF та їх рецепторами як при різноманітних патологічних процесах, так і в нормі, у різних тканинах організму і, зокрема, у головному мозку. Синтез факторів VEGF кодується трьома генами, але білкових ізоформ відомо набагато більше за рахунок альтернативного сплайсингу. Вони є важливими для процесів росту нормальних тканин при деяких фізіологічних процесах, в умовах гіпоксії, при регенерації тканин після травми чи ішемії, а також для забезпечення росту злоякісних пухлин. Інтенсивне дослідження молекулярних механізмів дії та функціонального значення VEGF та сигнального шляху, опосередкованого ними, обумовлено, перш за все, важливістю пізнати механізми контролю процесів неангіогенезу в зв'язку з необхідністю знайти шляхи пригнічення росту злоякісних пухлин або стимуляції процесів регенерації тканин в ішемічних ділянках. Гени VEGF, основним із яких є VEGF-A, кодують синтез важливих факторів, що регулюють певні етапи ангіогенезу і є ключовими регуляторами цього процесу як в нормі, так і за певних фізіологічних та патологічних станів.

Метою даного дослідження було вивчення експресії мРНК різних генів VEGF у клітинах гліоми лінії U87 та сублінії цих клітин з пригніченою функцією сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1 за умов гіпоксії та відсутності глюкози або глутаміну у середовищі культивування клітин (моделі ішемії). Рівень експресії мРНК VEGF-A, VEGF-B та VEGF-C досліджували в клітинах гліоми методом кількісної полімеразної реакції комплементарних ДНК, отриманих методом зворотної транскрипції РНК.

Проведеними дослідженнями встановлено, що рівень експресії мРНК VEGF-C знижується у клітинах гліоми з пригніченою функцією сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1, а VEGF-A та VEGF-B – суттєво не змінюється. За умов гіпоксії спостерігається збільшення рівня експресії мРНК лише VEGF-A та VEGF-B, причому як у клітинах гліоми лінії U87, так і у сублінії цих клітин з пригніченою функцією сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1, але ефект гіпоксії на експресію мРНК VEGF-B у клітинах гліоми лінії U87 є більш вираженим. Показано, що у середовищі без глютаміну рівень експресії мРНК VEGF-B істотно не змінюється, VEGF-C – знижується, а VEGF-A – посилюється як у клітинах гліоми лінії U87, так і у сублінії цих клітин з пригніченою функцією сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1, але в останньому випадку в значно меншою мірою. В той же час, у середовищі без глюкози рівень експресії мРНК всіх трьох генів VEGF посилюється в обох типах клітин гліоми за винятком VEGF-C, рівень експресії якого суттєво посилюється лише у клітинах з пригніченою функцією сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1. Таким чином, отримані нами результати свідчать про те, що експресія різних генів VEGF по-різному змінюється за умов гіпоксії та за відсутності у середовищі культивування клітин глютаміну або глюкози і що пригнічення функції сигнального ензиму ендоплазматичний ретикулум – ядро-1 знижує рівень експресії мРНК VEGF-C та змінює реакцію клітин на дію гіпоксії та дефіциту глютаміну або глюкози.

### **Kuznieatsova E. I., Semak I. V.**

#### MELATONIN AND ITS DERIVATIVES ACT AS ANTIOXIDANTS IN RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER EXPERIMENTAL OXIDATIVE STRESS

*Belarusian State University  
4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus  
e-mail: hju2002@mail.ru*

One of the most serious consequences of oxidative stress is the oxidative damage of mitochondrial proteins and lipid peroxidation. Oxidative stress can also initiate the opening of the mitochondrial permeability transition pore, which can lead to mitochondrial swelling, which is thought to be initial stage of apoptosis (Szewczyk A., 2002). Therefore, the search of the new natural antioxidants that can prevent the oxidative damage of mitochondria is still urgent. In this case, neurohormone melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) - broad-spectrum antioxidant can be considered as one of the perspective substances. By far, the highest melatonin concentrations are found in mitochondria (Tan D.X., 2007). Melatonin is metabolized in liver mitochondria forming N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin, N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5-methoxy-kynuramine (AFMK) (Semak I., 2008). It's possible, that these metabolites can show their own activity, different from melatonin.

Therefore, the influence of melatonin and its derivatives on oxidative modification of proteins and lipids in rat liver mitochondria under oxidative stress in vitro was studied.

We applied a well-known Fe<sup>2+</sup>/ascorbate system for oxidative stress modeling in vitro. Incubation of mitochondria in Fe<sup>2+</sup>/ascorbate system led to 55% increase in protein carbonyl content (the markers of oxidative damage of proteins) and 94% increase in lipid peroxidation level. The appearance of the high-molecular protein aggregate with molecular weight 118kDa was detected by SDS-electrophoresis. The formation of this aggregate could be caused by the products of lipid peroxidation such as MDA and 4-hydroxynonenal, that modify proteins with cross-links (Valerio, L. G. Jr., 1998).

Melatonin and its metabolites (N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin, AFMK) decreased the protein carbonyl content. Interestingly, that melatonin derivatives in concentration range 10nM-10mkM are more efficient antioxidants than melatonin. Melatonin, N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin in concentration 500mkM partly prevented the formation of the high-molecular protein aggregate (molecular weight 118kDa)

on 50,9% , 82% и 58,3% correspondingly; at a lower concentration (100mkM) only N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin were effective. This data correlate with the ability of melatonin and its derivatives to reduce lipid peroxidation in  $Fe^{2+}$ /ascorbate system.

At the next stage, the influence of melatonin, N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin on the swelling of rat liver mitochondria was investigated. Melatonin was more effective than its derivatives in inhibiting of the swelling, induced by t-butylhydroperoxide (1mM). Such effect can be achieved due to the lipophilic nature of melatonin, that allows it to penetrate in mitochondrial membrane and to act as antioxidant in situ. Melatonin and its metabolites failed to inhibit the swelling, induced by  $Ca^{2+}$  (50mkM). So melatonin, N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin decrease swelling due to their antioxidant properties.

To summarize, the obtained data testified the significant role of melatonin and its derivatives (N-acetylserotonin, 6-hydroxymelatonin, AFMK) in preventing of mitochondrial proteins and lipids damage under oxidative stress. This investigation broadens existing conceptions about biological activity of the products of melatonin metabolism in mitochondria.

**<sup>1,2</sup> Лабудзинський Д. О., <sup>2</sup>Гузик М. М., <sup>2</sup>Шиманський І. О., <sup>2</sup>Великий М. М.**  
**ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ФАГОЦИТІВ КРОВІ ТА ЕЛІМІНАЦІЯ АНТИГЕНІВ**  
**ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1 ТИПУ**

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул.Володимирська,64, м. Київ, 01601, Україна*

*<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України*

*вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна*

*e-mail: konsument3@gmail.com*

Відомо, що зміни в імунній системі за цукрового діабету 1 типу (ЦД1) можуть бути пов'язані з патологією як клітинного, так і гуморального імунітету. Останнім часом значний інтерес викликає вивчення ролі дисфункцій імунокомпетентних клітин крові у патогенезі цукрового діабету та його численних ускладнень, пов'язаних з ними порушень механізмів клітинно-гуморальної взаємодії, у тому числі тих, які забезпечують елімінацію циркулюючих імунних комплексів (ЦК) фагоцитами. Однак зв'язок стану системи фагоцитозу з імунологічними реакціями гуморального типу у реалізації механізмів елімінації антигену з організму за ЦД1 залишається одним з найменш вивчених питань. З огляду на зазначене, метою даного дослідження було з'ясувати функціональний стан фагоцитуючих клітин крові та гуморальної ланки імунного захисту у взаємозв'язку з рівнем ЦК за умов хронічного перебігу цукрового діабету 1 типу.

Експериментальний ЦД викликали введенням стрептозотоцину (55 мг/кг маси тіла, в.о.) шурамсамцям лінії Wistar. У дослідженні використовували тварин після 6 тижнів розвитку захворювання з рівнем глюкози крові  $18,9 \pm 1,5$  ммоль/л. Активацію сегментоядерних нейтрофілів вивчали із застосуванням цитохімічного тесту відновлення нітросинього тетразолію та розраховували індекс активації нейтрофілів, а також оцінювали частку фагоцитуючих клітин. Вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові досліджували спектрофотометрично з використанням 4,0 та 7,0% розчинів поліетиленгліколю (M=6000) для преципітації комплексів різних розмірів. Рівень сироваткових імуноглобулінів визначали імуноферментативно.

Було встановлено, що цукровий діабет супроводжується зниженням індексу активації нейтрофілів до 1,84 проти 2,30 у контролі. Порівняно з контрольними тваринами, частка фагоцитуючих клітин крові за даної патології також істотно знижувалась (в 1,23 разу). Ці зміни можуть свідчити про пригнічення первинних ефекторних реакцій неспецифічного імунного захисту у реалізації антимікробної дії фагоцитуючих клітин за діабету. Виявлене зниження фагоцитарної активності клітин крові може призводити до хроніфікації запально-інфекційних процесів та розвитку “агресії” проти власних тканин

організму (автоімунітет). Беручи до уваги дані літератури стосовно тісного зв'язку між гальмуванням процесу руйнування та елімінації із організму імунних комплексів та дефіцитом фагоцитуючої функції клітин, доцільно було визначити вміст ЦІК у периферичній крові. Справді, за ЦДІ було виявлено значне підвищення вмісту середньомолекулярних ЦІК та імунокомплексів великих розмірів відповідно в 2,10 та 1,26 рази у порівнянні з контролем. Настільки істотне зростання рівнів ЦІК, особливо найбільш патогенних середньомолекулярних імунних комплексів, може бути зумовлено переважно саме дефіцитом активності фагоцитуючих клітин крові, а не виявленими помірними змінами у В-клітинній ланці гуморального імунітету: показано 12%-ве зниження рівня IgG при зростанні на 10% вмісту IgA у сироватці крові за цукрового діабету.

Таким чином, нами була встановлена пряма кореляція між зниженою фагоцитарною активністю нейтрофілів та рівнем сироваткового IgG та зворотна кореляція з рівнем циркулюючих імунних комплексів та сироваткового IgA за цукрового діабету. Отримані результати можуть свідчити про ускладнений імунодефіцитом характер перебігу даної патології, частково зумовлений порушенням взаємодії фагоцитарної та гуморальної ланок в механізмі елімінації антигенів з організму тварини, що призводить до інтенсифікації імунокомплексоутворення.

### **Лазарук Н., Климчук І., Шмарак І.**

#### **ГЕПАТОТОКСИЧНІСТЬ КОЛОЇДНИХ НАНОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ Ag ТА Au**

*Кафедра біохімії та біотехнології*

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна*

*e-mail: igor.shmarakov@gmail.com*

Стрімке зростання темпів розробки та впровадження наноматеріалів (матеріалів, у яких принаймні один з вимірів становить 100 нм чи менше) зумовлює потребу у пізнанні та розумінні молекулярних механізмів, які лежать в основі їх метаболічної активності, біодоступності та можливого токсичного впливу на біологічні системи. Особливої уваги заслуговує потенційний гепатотоксичний вплив наночастинок на організменому рівні (Oberdorster et al., 2005; Chen et al., 2006), оскільки печінка виступає основним гомеостатичним органом та є провідним сайтом детоксикації ксенобіотиків в організмі. Водночас печінка має найвищу акумулюючу здатність і виявляється основним органом-мішенню при пероральному надходженні наночастинок (Terentyuk et al., 2009; Balogh et al., 2007), що значно підвищує ризик їх токсичного впливу.

Метою роботи було оцінити потенційні механізми гепатотоксичного впливу колоїдних наночастинок (НЧ) на основі Ag та Au. В експерименті використані колоїдні розчини біметалевих наночастинок Ag/Au, розміром 5-20 нм стабілізованих додецилсульфатом натрію.

Встановлено, що при пероральному введенні НЧ в концентраціях, які не перевищували  $LD_{50}$  та не викликали помітних патологічних змін вісцеральних органів, виявлялися ознаки їх пошкоджуючого впливу на клітини печінки, що проявлялося у підвищенні рівня АлАТ активності в сироватці крові. Відомо (Chen et al., 2006), що нанорозмірні частинки здатні абсорбуватися в тонкому кишечнику, проникати у кров та лімфу, звідки розповсюджуватися до внутрішніх органів. Водночас, захоплення наночастинок клітинами ретикуло-ендотеліальної системи (Yoshifumi et al., 2002) зумовлює їх накопичення в печінці та селезінці у відносно великих концентраціях. Проникаючи всередину клітин шляхом ендоцитозу (Asharani et al., 2008), НЧ здатні порушувати інтактність плазматичних мембран, що у високих локальних концентраціях викликає некротичну загибель клітин (Ansary and Daihan, 2009). Механізмами виявленого нами деструктивного впливу НЧ щодо гепатоцитів, первинно виявленого на основі зростання АлАт активності, можна розглядати як порушення функціонування плазматичних мембран, так і пошкодження їх компонентів. На підтвердження висловленого припущення нами було

встановлено дозозалежне інгібування активностей іонно-транспортних АТФ-азних систем печінки, серед яких особливо чутливими виявилися показники активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, рівень інгібування якої при зниженні загальної АТФ-азної активності на 65% становив до 15% від контрольних показників. Поряд з цим нами встановлено зростання рівня ТБК-активних продуктів та карбонільних похідних білків печінки, що вказувало не лише на пошкодження мультимолекулярних комплексів, а й також на окислення їх структурних компонентів, та свідчило про виражену прооксидантну активність досліджуваного біметалевого нанокompозиту Ag/Au.

**Макогончук М. Р., Мельникова Н. М., Деркач Є. А., Шепельова І. А.**  
**ВПЛИВ КАЛІЮ ОРОТАТУ НА РОЗПОДІЛ І НАКОПИЧЕННЯ ЦЕЗІЮ В ОРГАНІЗМІ**  
**КРОЛІВ ОТРУЄНИХ, ЦЕЗІЮ ХЛОРИДОМ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: iryna-sh@yandex.ru*

Нині, в багатьох регіонах України концентрація важких металів у навколишньому середовищі досягла небезпечних значень, що призводить до розвитку патологічних процесів в організмі тварин і людини.

Цезій є одним із найбільш токсичних важких металів. Механізм токсичної дії цезію полягає в тому, що, потрапляючи до організму людини та тварин, цей елемент здатний замішувати калій, оскільки подібний до нього за деякими фізико-хімічними властивостями. Незважаючи на численну кількість наукових досліджень, механізми впливу важких металів і, зокрема цезію, остаточно не з'ясовані. Вирішення цих питань допоможуть розкрити механізми пошкоджуючої дії важких металів на організм і сприятиме розробці оптимальних варіантів ефективної корекції токсичних уражень організму.

Метою нашої роботи було дослідження впливу калію оротату на розподіл і накопичення цезію у тканинах і органах кролів отруєних цезію хлоридом.

Отруєння кролів цезію хлоридом проводилось шляхом щоденного внутрішньочеревного введення цезію хлориду в дозі  $1/15 \text{LD}_{50}$ , з розрахунку  $0,01 \text{ г}/100 \text{ г}$  маси тіла, упродовж 14 діб. Інтактним тваринам вводився відповідний об'єм  $0,89\%$  розчину натрію хлориду. Калію оротат вводили внутрішньо, в дозі  $0,2 \text{ г}/\text{кг}$  маси тіла.

Визначення вмісту цезію проведено в печінці, нирках, кістковій та м'язовій тканинах спектрохімічним методом, використовуючи режим абсорбції в повітряно-ацетиленовому полум'ї на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30 фірми Карл Цейс (Німеччина). Як контрольних розчинів використовували стандартні розчини цезію.

Досліджуючи вплив калію оротату на накопичення цезію в організмі кролів за умов отруєння цезію хлоридом, встановлено зменшення вмісту зазначеного важкого металу в усіх досліджених тканинах і органах.

За введення калію оротату найбільшою мірою вміст цезію знижується у м'язовій тканині – на  $21,5\%$ ; у печінці та нирках – на  $17,2\%$  і  $15,5\%$  відповідно, щодо цих показників в організмі отруєних кролів. Слід відзначити, що в кістковій тканині виявлено лише тенденцію до зниження вмісту даного важкого металу – на  $8,1\%$  щодо групи кролів отруєних цезієм.

Таким чином, найбільш виражений позитивний ефект щодо зниження накопичення цезію при застосуванні калію оротату відмічено в м'язовій тканині отруєних кролів.

Зазначені зміни можна пояснити тим, що в м'язовій тканині зосереджено значний вміст калію, який запобігає накопиченню цезію, оскільки калій є антагоністом даного важкого металу.

**Копильчук Г., Бучковська І., Маришак Н.****ГЛУТАТІОНТРАНСФЕРАЗНА АКТИВНІСТЬ ПЕЧІНКИ ТВАРИН ЗА УМОВ НЕСТАЧІ ВІТАМІНУ А***Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича**вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна**e-mail: ivannabuchkovska@mail.ru*

Глутатіонтрансфераза (EC 2.5.1.18, GST) – багатофункціональний ензим, що бере участь в процесах детоксикації ксенобіотиків та ендогенних токсичних речовин (Hayes J.D., 2005; Кулинский В.И., 2009); зв'язуванні та транспорті гідрофобних молекул (Sheehan D., 2001); зберіганні оксиду нітрогену (Chen H., 2003); модуляції внутрішньоклітинної передачі сигналу через взаємодію ензиму з кіназами та адаптерними протеїнами сигнальних шляхів (Elsby R., 2003; Бараннік Т.В., 2006); ізомеризації 13-цис-ретиноєвої кислоти у транс-ретиноєву (Wu Y., 2004; Слончак А.М., 2009). GST – ключовий ензим другої фази детоксикаційної системи печінки. Дані літератури (Maglich J.M., 2002; Dai G., 2005) свідчать, що відсутність рецепторів ретиноєвої кислоти (RAR) в нокаутних мишей змінює експресію генів ферментів I та II фази детоксикації ксенобіотиків, що призводить до порушення процесів біотрансформації при патологічних захворюваннях печінки.

Мета роботи – дослідити рівень глутатіонтрансферазної активності та вміст глутатіону в мікросомальній та постмікросомальній фракціях печінки мишей за умов нестачі вітаміну А.

Результати проведених нами досліджень показали, що в постмікросомальній та мікросомальній фракціях печінки трансгенних мишей, нокаутних з геном *Lrat*, спостерігається зниження глутатіонтрансферазної активності порівняно із показниками контрольних тварин. Відомо (O'Byrne S.M., 2005; Wong-sirigoj, 2008), що вітамін А запасається у печінці у вигляді ретинілефірів. Процеси етерифікації відбуваються за участю лецитин:ретинолацилтрансферази (EC 2.3.1.135). Очевидно, нокаут гена даного ензиму призводить до порушення детоксикаційних процесів у печінці, оскільки активні метаболіти ретиноєвої кислоти впливають на активацію генів через RAR (Park E.Y., 2004), що супроводжується зниженням глутатіонтрансферазної активності, яка за рахунок відновленого глутатіону здійснює пряму регенерацію ліпопероксидів у мембранах, без попереднього фосфоліпазного гідролізу, знижуючи наслідки оксидативного стресу та ендогенної інтоксикації (Rosenfeld J.M., 2003; Ведунова М.В., 2008; Гоженко А.И., 2009).

Відомо (Ristoff E., 2003; James S.J., 2005), що ключова роль у глутатіоновій системі належить трипептиду глутатіону, який самостійно та як кофактор низки ферментів виступає відновником ліпопероксидів і перехоплювачем ОН-радикалів. Глутатіон (GSH) є важливим компонентом антиоксидантної системи організму, що запобігає токсичній дії активних метаболітів кисню та електрофільних метаболітів (Stewart J.M., 2005).

На фоні зниження глутатіонтрансферазної активності рівень глутатіону у дослідних та контрольних тварин залишався незмінним. Імовірно, даний факт пов'язаний з тим, що вміст відновленого глутатіону в клітинах печінки підтримується як синтезом *de novo* (Дворщенко К.О., 2009), так і відновленням окисленого глутатіону в спряженій системі NADPH-глутатіонредуктази (Бойцова Л.В., 2010), активність якої збільшується за умов дії стресового фактора.

Отже, за умов нестачі вітаміну А відбувається порушення основних етапів II фази детоксикації, що супроводжується зниженням глутатіонтрансферазної активності в постмікросомальній та мікросомальній фракціях клітин печінки мишей на фоні стабільного вмісту відновленого глутатіону.

**Машейко І. В., Костюк О. В., Маслак Г. С., Бразалук О. З.****КОНЦЕНТРАЦІЯ ТА СІАЛЬОВАНІСТЬ АЛЬФА-1-КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПЛАЗМИ КРОВІ ПРИ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ І ЦИРОЗІ ПЕЧІНКИ***Кафедра біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, Дніпропетровська державна медична академія**м. Дніпропетровськ, вул. Дзержинського 9, 49044, ДДМА**e-mail: mash\_7@mail.ru*

Наукова актуальність і медико-соціальне значення проблеми вірусних уражень печінки обумовлена значним рівнем інфікування населення вірусами гепатитів В та С, епідеміологічними особливос-

тями поширення, можливістю як фульмінантного так і латентного перебігу з подальшим розвитком цирозу печінки. Провідним клінічним синдромом, що обумовлює важкість вірусних гепатитів, є інтоксикація. Найважливіша роль в організмі людини належить білкам гострої фази запалення, зокрема альфа-1-кислому глікопротеїну (АГП), що синтезується у печінці та виконує транспортно-елімінаційну та дезінтоксикаційну функції. Молекулі АГП властивий від’ємний заряд ( $pI=2,8-3,8$ ) обумовлений значним вмістом сіалових кислот ( $\approx 12\%$ ). Зміни концентрації та сіалованості АГП плазми крові є показниками функціонального стану печінки в умовах системної інтоксикації.

Мета роботи: дослідити зміни концентрації та сіалованості АГП плазми крові хворих на гострі та хронічні вірусні гепатити з метою пошуку більш інформативних показників переходу їх у хронічні форми та цироз печінки.

Обстежені хворі були розподілені на такі групи: гострий вірусний гепатит В ( $n=22$ ), хронічний вірусний гепатит С ( $n=24$ ), цироз печінки ( $n=20$ ). Контрольна група налічувало 20 здорових донорів. Концентрація АГП у плазмі крові визначалась методом імунодот. Для встановлення ступеню сіалованості вуглеводного компоненту АГП проводили лектин-ферментний аналіз з використанням лектинів *Sambucus nigra agglutinin* (лектин бузини чорної, SNA-1) та *Maackia amurensis agglutinin* (лектин маакії амурської, МАА-II), мічених пероксидазою хрому.

Середній вміст АГП у плазмі крові контрольної групи ( $n=20$ ) становив  $0,78\pm 0,05$  г/л. У групі хворих з гострим вірусним гепатитом В (ГВГВ) ( $n=22$ ) та хронічним вірусним гепатитом С (ХВГС) ( $n=24$ ) вміст АГП був підвищений:  $1,57\pm 0,10$  та  $1,28\pm 0,09$  г/л відповідно. При цирозі печінки ( $n=20$ ) встановлено різке зниження концентрації АГП ( $0,48\pm 0,06$  г/л).

Аналіз зв’язування АГП з лектином бузини чорної (SNA-1) при досліджуваних патологічних станах показав, що у хворих на гострий гепатит В цей показник достовірно підвищувався та становив  $134,70\pm 3,38\%$  ( $p<0,01$ ), при хронічному гепатиті С достовірно знижувався ( $p<0,05$ ), при цирозі печінки перебуває у межах норми. Ступень зв’язування АГП з лектином маакії амурської (МАА-II) при гострому вірусному гепатиті В був незначно підвищеним ( $111,82\pm 2,46\%$ ), а при хронічному вірусному гепатиті С та цирозі печінки мав тенденцію до зниження.

Підсумовуючи отримані дані можна зробити висновок, що при гострому вірусному гепатиті підвищується ступінь сіалованості N-гліканів АГП, а хронічному вірусному гепатиті С – знижується, що обумовлено характером патологічного процесу.

Таким чином, у ході дослідження було встановлено, що визначення ступеню сіалованості є більш інформативним критерієм для проведення диференційної діагностики досліджуваної патології, ніж зміна концентрації АГП у плазмі крові. Отримані дані дають змогу оцінити важкість перебігу інфекційного захворювання та ефективність призначеного лікування за вірусних гепатитів.

### **Кеца О., Неміш В.**

#### **NADPH-ЦИТОХРОМ P-450-РЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна*

*e-mail: ksen808@mail.ru*

NADPH-цитохром P-450-редуктаза – флавопротеїн, що взаємодіє з мембраною ендоплазматичного ретикулуму N-кінцевим гідрофобним доменом. Це універсальний донор електронів для всіх ізоформ цитохрому P-450, локалізованих у мембрані ендоплазматичного ретикулуму. Основна функція NADPH-залежної цитохром P-450-редуктази полягає в перенесенні електронів від відновленого NADPH до цитохрому P-450, причому концентрація вільного внутрішньоклітинного NADPH є лімітуючим фактором цитохром P-450-залежного монооксигеназного окислення ксенобіотиків у гепатоцитах.

Вивчення каталітичних властивостей NADPH-специфічних флавопротеїнів за умов росту в організмі злоякісного новоутворення має велике значення для розуміння порушення процесів гідроксилювання ксенобіотиків цитохромом P-450 в печінці.

Враховуючи вищевказане, метою роботи було визначити ферментативну активність NADPH-цитохром P-450-редуктази в мікросомній фракції печінки щурів з трансплантованою карциномою Герена.

Дослідження ферментативної активності NADPH-цитохром P-450-редуктази в мікросомній фракції печінки щурів в умовах росту в організмі карциноми Герена, показали, що в латентну фазу онкогенезу (7 доба після трансплантації карциноми Герена в організм) активність даного ферменту підвищується порівняно з показниками інтактних щурів. Водночас, в мікросомній фракції печінки знижується гідроксилювання субстрату I типу – диметиланіліну, однак підвищується гідроксилювання субстрату II типу – аніліну мікросомним цитохромом P-450. Імовірно, достатньо високий рівень NADPH-цитохром P-450-редуктазної активності забезпечує транспорт електронів по мікросомних редокс-ланцюгах печінки в умовах *in vivo*, що і сприяє процесам гідроксилювання субстратів II типу цитохромом P-450.

У період інтенсивного росту пухлини в організмі NADPH-цитохром P-450-редуктазна активність в мікросомній фракції печінки знижується порівняно з показниками характерними для початкового росту, однак залишається вищою порівняно з контролем. Оскільки, крім передачі електронів в монооксигеназному електронтранспортному ланцюзі, ензим володіє здатністю самостійно каталізувати деякі оксигеназні та редуктазні реакції, а також брати участь у реакціях пероксидного окислення ненасичених жирних кислот, то таке підвищення NADPH-цитохром P-450-редуктазної активності може мати негативні наслідки.

На термінальному етапі росту карциноми Герена в організмі (21 доба після трансплантації пухлини) спостерігається зниження ферментативної активності досліджуваного ензиму порівняно з показниками, характерними для інтактних щурів. Зниження активності мікросомних NADPH-залежних редуктаз відображають зниження їх каталітичної потужності і сприяють обмеженню швидкості транспорту електронів по гідроксилазним редокс-ланцюгах. Враховуючи значення останніх у забезпеченні I фази метаболізму ксенобіотиків, можна передбачити, що в процесі росту в організмі карциноми Герена формуються передумови для зниження антитоксичної функції печінки.

Отже, розвиток в організмі новоутворення призводить до зниження NADPH-цитохром P-450-редуктазної активності в мікросомній фракції печінки щурів-пухлиноносіїв з мінімальними показниками на термінальній стадії онкогенезу, що знижує роль досліджуваного флавопротеїну в NADPH-залежних процесах під час мікросомного окислення.

## **Nurgaleeva E., Yamaleeva O., Sultanova A., Chairullina R., Rachmatullina J.**

### **NANOBIOCORRECTORS TO BALANCE THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF A GLUTEN-FREE BREAD**

*Bashkir State University  
32, Z.Validy St., Ufa, 450074, Russia  
e-mail: nurgaleewa.elina@yandex.ru*

Celiac disease (CD), a gluten enteropathy, is an inflammatory disorder of the small intestine that affects genetically predisposed individuals when they ingest gluten from any *Triticum* species and similar proteins of barley and rye, and their crossbred varieties (Niewinski, 2008). For analytical purposes, wheat gluten is usually divided into two main fractions - gliadin and glutenin (Waqar, 1975). Gliadin is an alcohol-soluble fraction of gluten. Indigested particles of the gliadin-peptides pass through the epithelial barrier of the intestine, possibly during intestinal infections or when there is an increase in intestinal permeability, and interact with antigen-presenting cells in the lamina propria (Green et al, 2007).



The prevalence of CD worldwide is increasing; it is estimated to be 0.5 to 2.0% in most European countries and the USA (Rewers, 2005). Presently, the only treatment for CD consists of a life-long gluten-free diet. The Codex Alimentarius Commission of the World Health Organization and the FAO defines gluten-free foods as those consisting of ingredients with a gluten level of < 20 ppm (Gallagher et al, 2004). Peptidase-producing lactobacilli are used as a leaven (Rizzello et al, 2007). There should be no alcohol-soluble fraction in gluten-free bread. We have proven this by comparing gluten-free bread with other types of bread during the sequential extracting of the protein fractions (Konaryev, 1973).

The experiments revealed that there are less watersalt-soluble proteins in gluten-free bread than in wheat or rye bread. Prolamins were extracted with 70% ethanol from the residue, left after removal of soluble proteins and salts. It was established that the content of prolamins in gluten-free bread is much less than in wheat or rye breads. The alkali-soluble fraction of the gluten-free bread was smaller than in the rye bread, but larger than that in the wheat bread.

So, there is almost no alcohol-soluble fraction in the gluten-free bread, which means that there are no gliadin proteins which cause CD in people susceptible to these proteins. At the same time, other protein fractions are presented in smaller quantities. Hence, a gluten-free bread is less protein balanced and contains fewer essential amino acids than a regular loaf.

As was determined by NMR (Yamaleeva et al, 2008), along with 1,4- $\alpha$  glycoside bonds, some of the pectin compounds might be 1,3- $\beta$  glycoside bonds, which predominate in pectins from bagasse *Beta vulgaris* and *Angelica archangelica* L. but are rare in *Zea mays* L. Therefore, in order to improve the quality of gluten-free bread it would be more efficient to use bagasse *Beta vulgaris* as the cheapest source of pectins. It is interesting that, according to the FAO, there is a greater daily human need of amino acids such as glutamate and proline, which are prevalent in gluten, than other amino acids. Therefore there is a need to compensate for the lack of these, as well as essential amino acids in gluten-free bread by utilizing plants with balanced proteins.

Analysis of gluten-free bread vitamin content showed a very low content of B-vitamins, rutin, and such micronutrient elements as Fe, Zn and Co. It was established that *Angelica archangelica* rhizomes contain twice as much Fe, Zn and Co than other examined plants. We suggest doubling the added mass of yeast cells, replacing the water with hips extract, and adding powdered husk of *Fagopyrum esculentum*, which will increase the content of high-grade proteins and vitamins.

Based on this and previously published data, in order to balance the biochemical composition of gluten-free bread we suggest using all of the above listed components.

### **Olech M., Górecki A., Bonarek P., Dziedzicka-Wasylewska M.**

#### **FLUORESCENT PROBE AS A SENSITIVE INDICATOR OF HUMAN TFIIB PROTEIN STRUCTURE ALTERATIONS UPON DNA BINDING**

*Department of Physical Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology,  
Jagiellonian University, Gronostajowa, 7, Kraków, Poland  
e-mail: [malgorzata.olech@uj.edu.pl](mailto:malgorzata.olech@uj.edu.pl)*

General transcription factor TFIIB is one of the basal constituents of the preinitiation complex of eukaryotic RNA polymerase II, that conducts the synthesis of mRNAs and snRNAs. The role of the TFIIB protein is the recognition of specific DNA sequences within the promoter region as well as recruitment and proper positioning of RNA polymerase II (Deng, Roberts 2007). Although crucial for proper course of transcription, the TFIIB-DNA interaction is not yet thoroughly understood.

The aim of this work was to establish a model for analysis of TFIIB-DNA binding, employing methods of fluorescence spectroscopy. In the model, change in fluorescent signal (its intensity, lifetime or anisotropy) reflects changes in the probe's microenvironment, that occur due to protein-DNA association and the possible alterations in the protein structure that it triggers. Determination of the fluorescent probe localization within the protein molecule enables precise and sensitive insight into the investigated system.

**Калінін І., Петрук Н., Цудзевич Б.****РОЛЬ МЕТАЛОТІОНЕЇНІВ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ У ЗВ'ЯЗУВАННІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ***Кафедра біохімії Київський національний університет імені Тараса Шевченка**вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна**e-mail: ikalin@rambler.ru*

Підвищення рівня антропогенного забруднення навколишнього середовища важкими металами, які належать до пріоритетних хімічних забруднювачів за своєю токсичністю і небезпекою для людини і всього живого є актуальною проблемою. Така ситуація призвела до виникнення питання про те, наскільки живий організм може протистояти зростаючим хімічним навантаженням, які порушення функціонування захисних систем організму виникають під впливом несприятливих факторів.

У відповідь на накопичення іонів важких металів у клітинах організму синтезуються білки – металотіонеїни (МТ) до складу яких входять сірковмісні амінокислоти з високим вмістом сульфгідрильних груп.

Метою нашої роботи було дослідити вміст металотіонеїнів у печінці щурів за умов отруєння кадмію сульфатом.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах-самцях, одного віку, масою 180-200 г, впродовж 14 днів, відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Тварини були розділені на дві групи: перша – інтактні (контроль), друга – тваринам перорально вводили розчин кадмію сульфату в дозі 1/30 від ЛД<sub>50</sub>. Металотіонеїни виділяли методом гель-розподільчої хроматографії з фракцій термостабільних розчинів гомогенату печінки на сефадексі G-75 та на ДЕАЕ-целюлозі в NaCl. Металотіонеїни ідентифікували за спектральними ознаками.

У результаті досліджень були виділені металотіонеїни як низькомолекулярна фракція білків з молекулярною масою близько 7 кДа у вигляді двох класів – МТ-I і МТ-II, що є типовою ознакою для металотіонеїнів тварин. Металотіонеїни характеризуються специфічними для них спектральними ознаками: смугою поглинання з максимумом близько 254 нм, що втрачається у апоформи, і відсутністю максимуму поглинання близько 280 нм. За показниками УФ-спектра, специфічними для МТ відзначені спільні ознаки білків фракції. При дії кадмію на організм істотних змін зазнає профіль елюції металотіонеїнів при іонообмінній хроматографії. Співвідношення об'ємів МТ-I до МТ-II у контролі становить 0,7, тоді як при дії кадмію сульфату – 1,8. Зміна вказаних співвідношень відбувається у результаті зменшення об'єму фракції МТ-II. Проведені розрахунки вказують на те, що вміст МТ-II у печінці в контрольній групі у тричі більший, ніж МТ-I. Вплив кадмію спричиняє зменшення вмісту МТ-II в два рази у дослідній групі, а вміст МТ-I залишається незмінним, відносно групи інтактних тварин.

Таким чином, дослідження хроматографічних характеристик металотіонеїнів печінки щурів вказує на те, що за умов металозв'язувальної функції спостерігається зміна складу обох класів металотіонеїнів та втратою кластерної структури при дії кадмію.

**Pirog A., Kedracka-Krok S., Cnota M., Dziedzicka-Wasylewska M.****LABEL-FREE QUANTITATIVE PROTEOMICS AND ITS APPLICATION  
TO STUDY PROTEIN PHOSPHORYLATION***Department of Physical Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology**Jagiellonian University, Gronostajowa, 7, 30-387 Kraków, Poland**e-mail: iartur.pirog@gmail.com*

Label-free quantitation of mass spectrometry data is an emerging approach to study relative changes of protein expression. However in principle this technique is applicable to compare almost any samples that could be analyzed by liquid chromatography/mass spectrometry(LC/MS) techniques, like metabolites or in-vivo generated peptides. Method used in our studies is based on quantitation of ion intensities in subsequent

LC/MS runs and alignment of LC/MS profiles based on recurrent peptide identifications as well as on precise ion mass-to-charge ratios and reproducible retention times. In recent years development of mass spectrometry instruments and data analysis methodology enabled large scale investigation of other aspects of proteome, such as phosphorylation - crucial post-translational modification involved in many signalling pathways. This presentation explains principles of label-free approach, presents a preliminary data obtained on an model system, and propose a system for investigating protein phosphorylation changes. This system uses on-line enrichment of phosphorylated peptides using TiO<sub>2</sub> nano-trap column, and nanoLC separation coupled with mass spectrometry.

### **Рясний В. М.**

#### **ІМУНОМОДУЛЮЮЧА ДІЯ БІСФОСФОНАТІВ ТА ВІТАМІНУ D<sub>3</sub> ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО ОСТЕОПОРОЗУ**

*Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна вул. Леонтовича 9, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: Riasniy@ukr.net*

В останні роки продемонстрована імуномодулююча дію вітаміну D<sub>3</sub> і бісфосфонатів, які знаходять широке застосування при патологіях кісткової системи. Відомо, що біологічною активністю володіє гормонально-активна форма вітаміну D<sub>3</sub> 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, рецептори до якого знайдено в більшості типів імунних клітин. Імуномодулююча роль бісфосфонатів на імунну систему залишаються недостатньо з'ясованою. Вважають, що бісфосфонати здатні зменшувати концентрацію вільного кальцію, який є регулятором процесів росту та диференціації імунокомпетентних клітин. Метою даної роботи було дослідити синергізм дії вітаміну D<sub>3</sub> та різних форм бісфосфонатів на імунну систему щурів за умов аліментарного остеопорозу.

Всі досліді проводили на самках щурів лінії Wistar, яких утримували на експериментальній дієті, що зумовлює розвиток остеопорозу. Тваринам з ознаками остеопорозу (за даними гістометрії кісткової тканини) протягом 1 місяця вводили вітамін D<sub>3</sub> (200 МО/кг маси тіла) та бісфосфонати – алендронна кислота у формі комерційного препарату алендронат-стома, який широко використовують для лікування порушень кісткової тканини (0,85 мг/кг маси тіла) та розроблений в Інституті біохімії ім. О.В.Палладіна бісфосфонат дигідрат динатрієвої солі метиленбісфосфонової кислоти, (0,85 мг/кг маси тіла) а також комбінації вітаміну та бісфосфанатів.

Фагоцитарну активність моноцитів та гранулоцитів досліджували за допомогою тест-набору PHAGOTEST на протоковому цитофлуориметрі COULTER EPICS XL-MCL. Рівень імуноглобулінів визначали імуноферментативно у сироватці крові щурів.

Отримані дані свідчать, що за умов аліментарного остеопорозу фагоцитарна активність моноцитів знижується майже в 1,5 разу, а гранулоцитів у 2 рази. Сумісне введення вітаміну D<sub>3</sub> та алендронату або метиленбісфосфонової кислоти, підвищує фагоцитарну активність клітин до рівня контролю, в той час як кожен із препаратів окремо мав менш виражену дію.

Дослідження гуморальної ланки імунітету за остеопорозу показало незначне зниження рівня сироваткового IgG, а при сумісному додаванні вітаміну D<sub>3</sub> та бісфосфонатів спостерігалось підвищення його рівня порівняно з остеопорозом. Вміст сироваткового IgG<sub>1</sub> значно знижувався при аліментарному остеопорозі, а при введенні досліджуваних речовин значних змін не спостерігалось. Роздільне введення вітаміну D<sub>3</sub> та бісфосфанатів призводило до збільшення рівня сировоткового IgA, який за умов остеопорозу був знижений майже у двічі порівняно з контролем. При цьому у групах, яким вводили вітамін D<sub>3</sub> разом з бісфосфонатами, ефект був більш виражений.

Отримані результати свідчать, що за умов аліментарного остеопорозу відбувається пригнічення функціональної активності фагоцитуючих клітин крові та порушення гуморальної ланки імунітету. Виявлено синергізм вітаміну D<sub>3</sub> та бісфосфонатів у корекції функціонального стану імунної системи за даної патології.

**Шелест Д. В., Шевченко А. Є., Ковальова В. А.**  
**ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДАЦІЇ В ТИМОЦИТАХ ЩУРІВ**  
**ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УЛЬЦЕРОГЕНЕЗУ**

*Інститут біології (біологічний факультет) Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна  
e-mail: Diemodos@ovi.com*

Сьогодні виразкова хвороба (ВХ) шлунка є одним з найпоширеніших захворювань органів травлення людини у всіх країнах світу. Виразкова хвороба являє собою хронічне захворювання, що супроводжується появою виразкових дефектів слизової оболонки шлунка. Також розвиток виразкової хвороби впливає на інші органи та системи органів, такі як печінка, підшлункова залоза, імунна система. При аналізі стану імунного статусу у всіх хворих до лікування ВХ виявляється порушення субпопуляційного складу лімфоцитів: помірно виражений Т-імунодефіцит, який характеризується зниженням вмісту в крові Т-лімфоцитів, а саме Т-хелперів та Т-супресорів.

Відомо, що універсальною реакцією на виникнення патологічного процесу в організмі є активація процесів пероксидації ліпідів (ПОЛ). Метою роботи було дослідити вміст продуктів ПОЛ в тимоцитах щурів за умов експериментальних моделей виразок (етанолової та стресової).

В дослідах використовували білих щурів лінії Вістар обох статей масою 200 г. Етанолові виразки викликали за методом Окабе. Стресову модель виразки створювали за методом С.Д. Гройсмана та Т.Г. Каревіної. Вміст дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду (МДА) визначали спектрофотометричним методом, а шифових основ (ШО) флюориметричним методом. Експериментальні дані оброблялися загальноприйнятими методами статистики.

У результаті наших досліджень встановлено, що вміст дієнових кон'югатів при етанольній моделі зріс в 1,8 разу, при стресовій моделі у 2 рази щодо контролю. Розпад гідропероксидів незалежно від механізмів утворення, супроводжується появою вторинних продуктів ПОЛ (МДА), які визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою. Аналіз проведених досліджень свідчить, що загальний вміст МДА при етанольній та стресовій моделях виразки зріс в 2 рази, відносно контролю. Кінцевим продуктом ПОЛ є утворення ШО внаслідок взаємодії вторинних продуктів ПОЛ з фосfolіпідами та білками, які містять вільні аміногрупи. За умов етанолової виразки вміст шифових основ не змінювався, а за умов стресової - зріс в 1,4 разу щодо контролю. Отже при дії ulcerogenic чинників, таких як етанол та стрес, відбуваються активації процесів ПОЛ в тимоцитах щурів, про що свідчить зростання продуктів ПОЛ.

**Середницька К. Р., Конопельнюк В. В., Савчук О. М.**

**ВМІСТ СЕРОТОНІНУ ТА ТРИПТОФАНУ ПРИ ВВЕДЕННІ ХЛОРФЕНІЛПІПЕРАЗИНУ**  
**ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна  
e-mail: kateserednytska@gmail.com*

Нейромедіатор серотонін є біологічно активною речовиною, яка характеризується широким діапазоном впливу на організм. Порушення функціонування серотонінергічної системи, а також зміни вмісту серотоніну в організмі спостерігаються при різних патологічних станах, зокрема при цукровому діабеті (ЦД) 2 типу. Сьогодні ведеться пошук нових антидіабетичних препаратів, серед яких не останнє місце можуть зайняти модулятори функціонування серотонінергічної системи.

Метою роботи було дослідити вплив м-хлорфенілпіперазину (mCPP) на вміст серотоніну та триптофану в головному мозку та сироватці крові щурів за умов експериментального ЦД 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 250-300 г. Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурам стрептозоточину з

розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла (Hemmings, 2000). Розвиток ЦД 2 типу у піддослідних тварин встановлювали через 180 діб на основі рівня глюкози в крові натще ( $\geq 7,0$  ммоль/л) та за чутливістю периферичних тканин до інсуліну, яку визначали за допомогою інсулін-глюкозотолерантного тесту (Koichi Itaya, 1977). Визначення рівня серотоніну та триптофану проводили методом іонно-обмінної хроматографії (Endo and Ogura, 1973). Розчин мСРР вводили інтраперитонеально у дозі 1,25 мг на 1 кг маси тіла протягом 7 та 14 днів (P. Mazzola-Pomietto et al., 1996). Контрольну групу становили щури, яким протягом 7 та 14 днів інтраперитонеально вводили 0,9% розчин натрію хлорид, який використовували для розведення мСРР.

Встановлено, що в групі щурів з експериментальним ЦД 2 типу спостерігалось зниження вмісту серотоніну в мозку в 1,9 разу порівняно зі значеннями контрольної групи. Введення мСРР призводило до підвищення досліджуваного показника в 1,7 разу на 7 добу та в 1,4 на 14 добу в мозку щурів з моделлю ЦД 2 типу. У ході досліджень нами показане підвищення вмісту серотоніну в сироватці крові щурів в 1,5 рази за умов експериментального ЦД 2 типу порівняно зі значеннями контрольної групи тварин. Введення мСРР призводило до недостовірного підвищення досліджуваного показника на 7 та 14 добу в сироватці крові щурів з моделлю ЦД 2 типу.

У результаті досліджень встановлено підвищення вмісту триптофану у сироватці крові щурів у 1,3 разу та зниження у мозку в 1,37 разу за умов експериментального ЦД 2 типу порівняно зі значеннями контрольної групи тварин. Введення мСРР призводило до підвищення досліджуваного показника у 2,7 разу на 7 добу та у 3,7 разу на 14 добу в сироватці крові щурів з моделлю ЦД 2 типу. Після введення мСРР нами було відзначено підвищення вмісту триптофану у мозку в 2,2 рази на 7 добу у щурів з моделлю ЦД 2 типу порівняно з контрольною групою; на 14 добу достовірних змін вмісту триптофану не спостерігалось.

Отримані дані можуть свідчити про вплив мСРР на функціонування серотонінергічної системи у мозку та сироватці крові щурів з експериментальною моделлю ЦД 2 типу. Це свідчить про необхідність подальших ґрунтовних досліджень процесів, які лежать в основі функціонування серотонінергічної системи за умов ЦД 2 типу для встановлення причинно-наслідкових зв'язків розвитку даного патологічного стану.

### **Шелест Д., Дворщенко К., Берник О., Остапченко Л.**

#### **ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ШЛУНКОВОЇ ГІПОХЛОРГІДРІЇ НА ПОКАЗНИКИ БІОСИНТЕТИЧНОЇ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*пр. Глушкова, 2, корп. 12, м. Київ, 03187, Україна*

*e-mail: k21037@gmail.com*

На сьогодні доведено, що тривале використання інгібіторів протонної помпи парієтальних клітин шлунка, зокрема омепразолу, призводить до гіпергастринемії та розвитку шлункової атрофії і метоплазії (Burkitt M., 2009). Відомо, що під впливом соляної кислоти реалізується стимуляторна дія секретину та холецистокініну на секрецію жовчі. Таким чином, в гіпоацидних умовах можливий розвиток патологічних процесів в гепатобіліарній системі. Інформативним параметром стану печінки є її біосинтетична функція, показниками якої є кількісний вміст альбуміну, сечовини та сечової кислоти, концентрація яких змінюється в сироватці крові за умов виникнення функціональних та структурних змін в печінці.

В зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначити ряд показників біосинтетичної функції печінки щурів за умов тривалого пригнічення кислотної секреції шлунка омепразолом.

Досліди проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Гіпоацидний стан моделювали внутрішньочеревним введенням 14 мг/кг омепразолу (Sigma, USA) (1 раз на добу) протягом

28 діб. Як контроль використовували щурів, яким протягом 28 днів вводили внутрішньочеревно 0,2 мл води для ін'єкцій. Концентрацію альбуміну в крові визначали спектрофотометрично за поглинанням продукту реакції з бромкрезоловим зеленим у слабкислому середовищі. Концентрацію сечовини встановлювали діацетилмонооксином колориметричним методом, а сечової кислоти – за інтенсивністю поглинання продукту реакції з фосфорновольфрамовим реактивом. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Встановлено, що за умов тривалої гіпоацидності спостерігалось зниження вмісту тканиноспецифічного білка альбуміну в 1,5 разу порівняно із контролем. Можливими причинами розвитку гіпоальбумінемії може бути зниження білкового синтезу в гепатоцитах або посилення його катаболізму. Показано, що введення щурам омепразолу впродовж 28 діб призводило до істотного зменшення вмісту сечовини в сироватці крові щурів – в 2,1 разу щодо контролю. Зниження вмісту сечовини в крові може бути пов'язано з порушеннями процесів метаболізму азотовмісних сполук, які можуть розвиватися за умов гіпоацидності. Визначено, що вміст сечової кислоти в сироватці крові щурів, яким вводили омепразол, зростав на 27% щодо тварин контрольної групи. Підвищення рівня сечової кислоти свідчить про можливу деструкцію ядер гепатоцитів та катаболізм нуклеопротейнів.

Таким чином, за умов тривалої шлункової гіпохлоргідрії порушується цілісність та функціональна активність гепатоцитів, про що свідчить зміна біосинтетичної функції печінки.

**Щербина А. І., Мельникова Н. М., Деркач Є. А., Шепельова І. А.**  
**ВПЛИВ РІЗНИХ ФОРМ СЕЛЕНУ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ МАКРОЕЛЕМЕНТІВ  
У КРОВІ КРОЛІВ ЗА ОТРУЄННЯ ЦЕЗІЮ ХЛОРИДОМ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail:iryana-sh@yandex.ru*

Цезій є одним із найбільш токсичних важких металів. До основних факторів, що визначають токсичність цезію, відносять його можливість утворювати в організмі біокомплекси та брати участь в окисно-відновних процесах. Важливе місце у вивченні метаболічних процесів за отруєння важкими металами посідає питання встановлення гомеостатичного контролю над рівнем вмісту макроелементів, що необхідні для нормального функціонування різних систем і органів.

Серед макроелементів особливе місце посідають електроліти – кальцій, магній, калій і натрій, оскільки вони беруть участь в багатьох метаболічних процесах у клітинах, впливають на проникність мембран, беруть участь в енергетичних процесах у мітохондріях та генерації потенціалу дії в нервових та м'язових клітинах, сприяють вивільненню та фізіологічній дії багатьох медіаторів і гормонів, забезпечують передачу збудження по нервово-м'язовому волокну, підтримують скорочувальну здатність міокарда тощо. До таких речовин належить селен, що є кофактором глутатіонпероксидази – одного з ключових ферментів системи антиоксидантного захисту.

Метою нашої роботи був поглиблений пошук ефективних методів корекції показників мінерального обміну в організмі кролів за умов отруєння цезію хлоридом. З цією метою використано препарати селену, зокрема його неорганічної (натрію селеніт) і органічної форми (Сел-Плекс) як антиоксидантного засобу.

Дослідження проводилися на статевозрілих самцях кролів породи Радянська шиншила, які утримувалися на стандартному раціоні. Отруєння кролів цезію хлоридом проводилось шляхом щоденного внутрішньочеревного введення цезію хлориду в дозі  $1/15 LD_{50}$ , з розрахунку 0,01 г/100 г маси тіла, упродовж 14 діб. Натрію селеніт (неорганічна форма) в 0,9% розчині натрію хлориду вводили внутрішньочеревно в дозі 2 мг/кг ваги. Інтактним тваринам вводили відповідний об'єм 0,89% розчину натрію хлориду. Сел-Плекс (органічна форма) додавали з розрахунку 0,2 мг/кг комбікорму.

Одержані дані свідчать про протекторну дію органічної та неорганічної форм селену щодо корекції показників мінерального обміну в крові тварин за отруєння цезієм. Так, встановлено, що введення як натрію селеніту, так і препарату Сел-Плекс призводить до нормалізації концентрації макроелементів у крові кролів, уражених цезієм, у бік їх наближення до відповідних значень у тварин контрольної групи.

Найбільш ефективно вплив селену щодо зазначених змін проявляється при застосуванні його органічної форми: введення Сел-Плексу вірогідно підвищує концентрацію калію (на 23%), натрію – на 38%, магнію – на 48,6% та знижує концентрацію кальцію і фосфору – на 39% та 43% відповідно відносно отруєних кролів.

В той же час використання натрію селеніту (неорганічна форма) з метою корекції зазначених показників виявилось менш ефективним: концентрація калію, натрію та магнію підвищилась на 13%, 24% та 30%; кальцію і фосфору – знизилась на 19% та 24% відповідно щодо групи кролів уражених цезієм.

Таким чином, порівняльна характеристика дії неорганічної та органічної форм селену на біохімічні показники крові кролів, отруєних цезієм показала, що препарат Сел-Плекс (органічна форма) є більш ефективним щодо корекції отруєння цезію хлоридом.

### **Шосталь М., Томчук В.**

#### **ПОКАЗНИКИ АЗОТНОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ, ХВОРИХ НА ДИСПЕПСІЮ ТА ПРИ ЛІКУВАННІ ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ**

*Кафедра біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: olgatup@mail.ru*

Як відомо, при гострих розладах у системі травлення тварин відзначається зростання рівня неамінного азоту, в тому числі амоніаку. Тому, ми поставили завдання дослідити деякі ланки проміжного азотного обміну в організмі новонароджених телят, хворих на диспепсію, порівняно з клінічно здоровими тваринами. Так, у печінці та крові хворих тварин спостерігається зниження вмісту загального білка. Водночас з цим рівень загального білка у вмісті товстої кишки значно зростає.

Отримані результати досліджень вказують на значні порушення проміжного азотного обміну в організмі хворих тварин, які обумовлені зниженням інтенсивності розщеплення та всмоктування азотвмісних сполук у травному тракті з одночасним блокуванням роботи білок-синтезуючих систем у печінці. Це знайшло підтвердження при дослідженні рівня вільних амінокислот у досліджуваному біоматеріалі, відібраному від хворих телят.

Так, загальний вміст вільних амінокислот у вмісті товстої кишки хворих телят зростає до  $86,07 \pm 8,39$  мг % при  $59,6 \pm 5,53$  мг % в контролі. Слід підкреслити, що найбільш суттєві зміни спостерігаються у фракціях амінокислот, котрі мають пряме відношення до обміну, зв'язування та нейтралізації амоніаку в організмі тварин, тобто глютамінової та аспарагінової кислоти, аргініну, орнітину. Подібні тенденції, але менш виражені, спостерігаються при дослідженні печінки хворих телят, що вказує на зниження їх утилізації у білок-синтетичних процесах. У жовчі цих телят відзначено вірогідне зниження вмісту більшості індивідуальних амінокислот, окрім аргініну та орнітину. Застосування ентеросорбентів з лікувальною метою сприяє нормалізації вмісту як загальних білків, так і окремих амінокислот у досліджуваному матеріалі.

### **Shuldyk O., Falfushynska H., Turta O., Gnatyshyna L.**

#### **FUNCTIONAL RESPONSES OF METALLOTHIONEINS IN CARASSIUS AURATUS GIBELIO LOADED BY HEAVY METALS AND PESTICIDES: EFFECT OF THE HISTORY OF POPULATION**

*Research Laboratory of Comparative Biochemistry and Molecular Biology,  
V. Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University  
M. Kryvonosa St., 2, Ternopil, 46027, Ukraine  
e-mail: halynka.f@gmail.com, Oksana.Stolyar@gmail.com,  
<http://www.biochemlab.tnpu.edu.ua>*

Metallothioneins (MTs) are small proteins with a high affinity for divalent heavy metal ions. MT's characteristics are explored as specific biomarker of the toxicity of heavy metals for aquatic animals (Viarengo

et al., 2007). The participation of MTs in antioxidant defence was previously shown in fish (Paris-Palacios et al., 2003; Valavadvivis et al., 2006; Benedetti et al., 2009). However in some cases, the discrepancy of the protein concentration measured from SH (MT-SH) or metal evaluation (MT-Me) was reported for fish, particularly in field conditions (Paris-Palacios et al., 2003; Zorita et al., 2005). In the sites with complex pollution, the decrease of metal-binding ability of MTs that could probably provoked the toxicity of metals, particularly oxidative stress, was shown. Fish from the genus *Carassius* are known for particular mechanisms of physiological and molecular adaptations for harmful effects (Lushchak et al., 2001). Therefore the aim of this study was to compare the responses of MTs of crucian carp *Carassius auratus gibelio* from chronically polluted and reference sites on the additional loading by certain pollutants, copper ( $\text{Cu}^{2+}$ , 0.005 and 0.050  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), manganese ( $\text{Mn}^{2+}$ , 0.17 and 1.7  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), mancozeb (commercial form Tattu, 0.0091 and 0.091  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) or clofentezine (commercial form Apollo, 0.002 and 0.010  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) during fourteen days. The metals and pesticides concentrations were of the range that can be found in the environment. The total tissue Cu, Zn, Mn and Cd concentrations, (Cu, Cd, Zn)-MTs levels were determined in liver and gills by atomic absorption spectrometry. The MTs were selected by size exclusion chromatography of thermostable extract of tissue. MT-SH was determined with the Ellman's reagent (DTNB). Biomarkers of oxidative stress were examined in the liver and gills of fish and their general index  $(\text{SOD}+\text{CAT}+\text{MT-SH}+\text{GSH})/(\text{GSSG}+\text{TBARS}+\text{O}_2^{\cdot-})$  was calculated that included the values for superoxide dismutase and catalase activity, concentration of MT-SH, glutathione reduced and oxidized, products of lipid peroxidation and superoxide anion correspondingly, expressed in the unified units.

The loading by Cu and Mn provoked the changes of MT-Me and MT-SH levels that were dependent on the site more than on the nature or concentration of metal. At that, the accumulation of the excess of appropriate metal in the tissues of fish and their MTs (for Cu) was not observed in most cases. Both types and two concentrations of metals provoked the increase of metal-binding ability of MTs in the liver of fish as compare to the common concentration of correspondent metal in the tissue. In the group from the polluted site, the loading provoked the decreasing of MT-Me and MT-SH. This response of antioxidative system was also opposite in the two sites. The effect of both pesticides was also similar within the site: the decrease of MT-Me in the fish from reference site and its increase in the fish from chronically polluted site. MT-SH level and the activity of antioxidative system was elevated in the fish from polluted site and decreased in the counterpart group. High content of thiols and the particular metal binding/release dynamics intrinsic to MTs can give some advantages to fish loaded by pesticides in the polluted site and to fish loaded by metals in the reference site. Thus, general property shared by MTs of crucian carp was weakening of metal-binding ability in harmful surrounding. Under the effect of pesticides it was accompanied by the enhancing of MT-SH level but under the effect of Cu and Mn both MTs characteristics, MT-Me and MT-SH changed simultaneously.

### **Скалка В. В., Савчук О. М.**

#### **АЛЬТЕРНАТИВНІ ДЖЕРЕЛА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ПЕПТИДІВ, ЩО СТАНОВЛЯТЬ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНТЕРЕС**

*Київський національний університет ім. Тараса Шевченка  
пр. Глушкова 2, м. Київ, 03127, Україна  
e-mail: teraxacum@gmail.com*

За останні 10 років біологічно активні пептиди стали досить розповсюдженим напрямом біохімічних та біотехнологічних досліджень. В якості джерела біологічно активних пептидів можуть виступати кров, отрути тварин та комах, яйця птахів та молоко свійських тварин. На сьогоднішній день з коров'ячого молока було отримано десятки біологічно активних пептидів широкого спектру дії. Існують різні шляхи отримання біологічно активних пептидів: безпосередньо з нативного джерела, з джерела, попередньо обробленого протеолітичним ферментом. Для одержання пептидів шляхом про-



теолізу, як правило, використовують фракцію насичену одним білком. В світовій практиці для отримання біологічно активних пептидів переважно використовується коров'яче молоко, продукти його переробки чи білки, які попередньо отримували з коров'ячого молока. Але джерелом біологічно активних пептидів може бути і молоко інших свійських тварин, наприклад кіз, овець чи кобил. Молоко цих видів тварин є дуже цінним, оскільки використовується для приготування сирів дорогих сортів або для специфічної молочнокислої продукції, наприклад кумису.

Нами було досліджено зразки молока, відібраного у 50 корів, 50 кобил, 50 кіз і 50 овець, а також відібрано 50 зразків кумису. Білкова частина відібраних зразків отримували шляхом осадження з використанням трихлороцтової кислоти. При підготовці зразків для електрофорезу в якості відновлюючого агента використовували дитіотриетол. Отримані білкові зразки розділяли з використання електрофорезу в поліакриламідному гелі в системі Лемлі в присутності SDS. Кількісний і якісний аналіз електрофореграм проводили в програмі TotalLab.

Результати показали, що за кількісним вмістом білка ці види сировини розподіляються в такому порядку: овець - до 6,8% білка, козяче - до 4,5% білку, коров'яче - до 3,7%, кобиляче - до 2,1%, кумис - до 2,2%, що добре узгоджується з літературними даними. Але певний інтерес становить якісний та кількісний аналіз білкового складу, особливо на присутність низькомолекулярних білкових фракцій у вищевказаних об'єктах дослідження. Проведений електрофоретичний аналіз показав присутність більшої кількості сироваткових білків у співвідношенні до фракцій казеїну в молоці кіз, овець та кобил порівняно з коров'ячим молоком, а в зразках кумису було показано наявність великої кількості білків в різних діапазонах молекулярних мас. На нашу думку, перспективними об'єктами для пошуку біологічно активних пептидів, які можуть стати основою для біотехнологічного виробництва, є молоко кобил, овець, кіз, а також кумис.

### **Smiech M., Grzywnowicz K., Oleszczuk S., Grzywnowicz M. K., Kud J.**

#### **ENZYMOLGY OF DRY ROT AND WHITE ROT FUNGI, GROWING IN VARIOUS CONDITIONS, ON EXAMPLE OF COPRINUS DOMESTICUS AND TRAMETES VERSICOLOR**

*Students of Biochemistry Scientific Group, Department of Biochemistry, University of Maria Curie-Skłodowska, Akademicka St., 19, 20-033 Lublin, Poland  
e-mail: grzyw@poczta.umcs.lublin.pl*

Many fungal species are the pathogenic organisms, responsible for human, animal, plant and even other fungi illnesses and diseases. Pathogenic properties together with saprotrophic ones against woody plants were demonstrated for many species of fungi, in all orders of fungal kingdom (Fungi). There are species performing white, brown, soft and litter rot of wood. The most common, in respect of quantity of species, are white and brown rotting fungi. Typical, almost standard, white rot fungus is *Trametes versicolor*. Also big problem is still so called dry and wet technical rot of dead wood, produced by such fungi as *Serpula lacrimans* and fungi from genus *Coprinus*, mainly *C. domesticus* species.

Investigations on enzymatic activity of white and brown rot fungi are rather advanced and they proved, that, in degradation of wood, enzymes from various catalytic groups are participating – hydrolases, oxidases or oxygenases. But there are no data about differences among fungi of the same species, growing in different environmental conditions, especially in the spite of cleanness of it. We decided to compare biochemical parameters of *T. versicolor* and *C. domesticus* growing in different cleanness of environment. Our results can help in using such fungi in ecological decomposition of wood in nature, to humus, in prospect of white biotechnology.

Members of Biochemist Scientific Group of UMCS, Lublin have collected fungi in three environments – in “dirty” environment from coal mine of Bogdanka from woody supports, in “urban” environment from woody hurdles and snags, near busy street in Lublin, and in “clean” village environment from fences and snags

in Dxbno Podhalacskie village. We have made photographic documentation, extraction of enzymes from collected fungi and biochemical analyses in laboratory. Levels of laccase activity were determined by method of Matsumura et al. (1987), peroxidase activity by method of Putter and Becker (1983) and tyrosinase activity by method of Mueller et al. (1996).

Preliminary results showed differences between fungi in various environments. Main observations are - *T. versicolor* had activities higher in mycelium from village location, and higher in mycelium than in fruit bodies, and *C. domesticus* high level of laccase and peroxidase in village fruit bodies, high laccase in mine mycelium and high peroxidase in village mycelium, and high tyrosinase in mine mycelium.

So, investigated fungi can be used in white biotechnology for quick, ecological degradation of woody materials and woody remnants (including snags) in natural conditions, regardless of cleanness of environment.

### **<sup>1</sup>Срога М., <sup>2</sup>Басараб І., <sup>1</sup>Калачнюк Л.**

#### **КОРЕКЦІЯ АКТИВНОСТІ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У КОМПАРТМЕНТАХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ НЕОНАТАЛЬНИХ ТЕЛЯТ ПРИ ДИСПЕПСІЇ**

*<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
ім. С.С. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна*

У досліджах на щурах було показано (Д. Мельничук та ін. 2006 – 2010), що за умов розвитку алкогольіндукованого гепатостеатозу у сироватці крові тварин вірогідно підвищується активність ключових діагностичних ензимів, у тому числі L-аспартат : 2-оксоглутарат амінотрансферази (АсАТ; КФ 2.6.1.1), L-аланін : 2-оксоглутарат амінотрансферази (АлАТ; КФ 2.6.1.2) і лактатдегідрогенази (ЛДГ; КФ 1.1.1.27). Наведені та інші дані вказують на значні пошкодження структурно-функціонального стану гепатоцитів, а також на порушення у функціонуванні глюкозо-лактатного та глюкозо-аланінового циклів та аспартатної човникової системи в клітинах печінки, м'язів й інших тканин під дією токсиканта. При цьому важливим виявилось те, що профілактичне застосування ліпосомальної форми біологічно активної добавки, одержаної на основі фосфоліпідів молока (БАД LP FLP-MD), вірогідно наближає до норми активність вказаних ензимів та інші метаболічні процеси. Враховуючи наведене та зробивши глибокий аналіз інших результатів досліджень у згаданому напрямі, ми продовжили науково-дослідні роботи з метою виявлення порушень у процесах трансамінування на рівні окремих компартментів клітин печінки у неонатальних телят за умов розвитку диспепсії та можливості їх терапевтичної корекції за допомогою використання згаданої БАД.

Результати проведених досліджень виявили вірогідне підвищення активності АсАТ у цитозоль-мікросомальній та мітохондріальній фракціях гепатоцитів неонатальних телят з проявами інтенсивної діареї. Важливо те, що при поєднанні традиційного лікування з використанням БАД LP FLP-MD рівень процесів трансамінування, які каталізуються цим ензимом, наближаються до контролю. Це очевидно створює сприятливі умови для забезпечення знешкодження надлишків аміаку в клітинах печінки при паралельному збільшенні фонду щавелевооцтової кислоти для прямого використання в енергетичних та інших процесах. Аналогічні зміни, але у ще виразніших формах були відзначені і при дослідженні активності АлАТ.

Вказані та інші дані проведених нами експериментальних досліджень дають підстави зробити висновок, що застосування БАД LP FLP-MD дозволяє корегувати процеси утилізації надлишків Нітрогену NH<sub>3</sub> і створювати додатковий фонд аміно- і кетокислот, у тому числі пірувату, необхідних для енергетичних, біосинтетичних та інших потреб організму у неонатальних телят з проявами аліментарної диспепсії.

**Табурець О. В., Торгалю Є. О.**

**ВПЛИВ ЛІПОФЛАВОНУ НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 6., 01601, м. Київ, Україна  
e-mail: alisa210@meta.ua*

Надлишковій генерації активних форм кисню, яка лежить в основі багатьох цереброваскулярних патологій, протистоїть антиоксидантна система. Глутатіонова антиоксидантна система перешкоджає накопиченню токсичних продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), відіграє важливу роль в детоксикації, деградації і виведення з організму чужорідних органічних субстанцій. Важливою складовою вищезазначеної системи є глутатіонпероксидаза - ключовий фермент у механізмах захисту клітин від впливу екзогенних та ендогенних вільних радикалів, що виникають у відповідь на геморагічний інсульт.

Метою нашого дослідження було вивчити вплив ліпофлаону на активність глутатіонпероксидази в тканинах мозку, селезінки і нирок при експериментальному геморагічному інсульті. У досліді використовували білих щурів масою 180±10 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Геморагічний інсульт у щурів викликали шляхом введення у внутрішню капсулу головного мозку аутогенної крові [Ярош О.К. 2005]. Ліпофлаон вводили внутрішньовенно (10 мг/кг) протягом 7 діб. Активність глутатіонпероксидази визначали за накопиченням окисленого глутатіону (GSSG) (Власова С. Н., 1990). Активність ферменту виражали в мікромолях окисленого глутатіону на 1 г білка за хв.

За умов експериментальної моделі геморагічного інсульту активність глутатіонпероксидази в досліджуваних органах знижувалась. Зниження активності ферменту може вказувати на ініціацію процесів ліпопероксидації та накопичення продуктів ПОЛ, які, в свою чергу, можуть бути причиною подальшого розвитку патології. В досліджених органах за умов розвитку геморагічного інсульту відбувається активація процесів декомпенсації антирадикального захисту. За цих умов знижується активність глутатіонпероксидази, що може бути однією із причин порушення проліферації клітин.

У результаті проведених досліджень нами встановлено, що за умов введення ліпофлаону активність ферменту в усіх досліджуваних органах зростала майже удвічі порівняно з групою тварин, яким не вводили препарат. Встановлене підвищення активності може свідчити про активацію процесів знешкодження продуктів пероксидного окиснення ліпідів, ксенобіотиків в результаті реакцій нуклеофільного заміщення та приєднання, а також про участь ферментів в ендогенному метаболізмі, що забезпечує локальний захист організму, збільшуючи стійкість клітин й організму загалом.

Отримані результати показали, що за умов геморагічного інсульту відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ, про що свідчить встановлене нами підвищення вмісту їх продуктів та зниження активності антиоксидантних ферментів. Введення ліпофлаону приводило до нормалізації стану системи ПОЛ, а саме до зниження вмісту продуктів ПОЛ та активації ферментів антиоксидантного захисту.

**Токарчук К., Парілова О.**

**ПОРІВНЯННЯ ДЕЯКИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КЛІТИН НА МОДЕЛІ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПАПАВЕРИНУ НА ТИМОЦИТИ ЩУРА В УМОВАХ *IN VITRO***

*Інститут біохімії ім. Палладіна Національної академії наук України  
Вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна,  
e-mail: katiywa@ukr.net*

Для оцінки життєздатності та дослідження цитотоксичної дії ксенобіотиків в умовах *in vitro* часто застосовуються тести з використанням барвників трипанового синього (ТС), етидіум броміду (ЕБ) та резазурину (Alamar Blue). Супервітальний барвник трипановий синій використовується для прямого

забарвлення мертвих клітин. Етидіум бромід специфічно зв'язується з ДНК мертвих клітин. Комплекс ЕБ-ДНК набуває флуоресцентних властивостей з діапазоном збудження 530 нм–560 нм.

Alamar Blue (AB) – окисно-відновний барвник, здатний перехоплювати електрони з електрон-транспортного ланцюга мітохондрій, при цьому окиснена форма барвника – резазурин з максимумом оптичного поглинання на 601 нм відновлюється до резорурфіну з максимумом поглинання на 573 нм та характерними флуоресцентними властивостями (lex=600 нм, lem=570 нм). Тест АВ часто використовують для визначення кількості загиблих клітин при дослідженні цитотоксичної дії ксенобіотиків.

За стандартною методикою стан барвника оцінюється по оптичному поглинанню на 573 нм. Однак оптичні властивості в цьому діапазоні можуть змінюватися через чинники, що не пов'язані зі станом барвника, тому можливі певні похибки в розрахунку кінцевого результату. Ми пропонуємо модифікацію щодо оцінки стану барвника спектрофотометричним методом: вимірюється оптична екстинкція на трьох довжинах хвиль 573, 601, 665 нм та розраховується параметр В:  $V = \frac{(e_{601} - e_{573}) \cdot 100}{(e_{601} - e_{665})}$ , який пропорційний співвідношенню окисненої та відновленої форм барвника АВ. Параметр В в подальшому використовується для оцінки стану клітин. Такий розрахунок дозволяє уникнути похибок, що вносяться неспецифічними змінами оптичного спектра.

У даній роботі на моделі цитотоксичної дії папаверину на тимоцити щура *in vitro* було проведено порівняння результатів трьох вищенаведених тестів. Умови експерименту були наступні: суспензія тимоцитів щура в концентрації  $1 \cdot 10^6$  кл/мл в середовищі RPMI-1640, інкубували з 0,2 мМ папаверином протягом 7 годин. ЕБ (0,25 мМ) і ТС (0,2 мМ) додавали перед проведенням клітинних тестів, а 5 мкМ АВ додавали на шостій годині інкубації і його стан оцінювали через годину. Тест ТС проводили методом світлової мікроскопії на мікроскопі Primo Star (Zeiss, Німеччина); тест ЕБ – на проточному цитофлуориметрі Beckman Coulter; тест АВ проводили спектрофотометрично на uQuant.

Результати проведених тестів такі: кількість загиблих клітин через 7 годин інкубації з папаверином становила: по тесту ТС –  $(17,0 \pm 3,5)\%$ , по тесту ЕБ –  $(16,5 \pm 3,3)\%$ . Тест АВ дав результат –  $(24,0 \pm 5,2)\%$  гальмування відновлення барвника в дослідних зразках щодо контролю.

Таким чином, результати тестів ТС і ЕБ зберігаються і характеризують саме кількість загиблих клітин, тест з АВ дав і 1,4 разу завищений результат, а порівняно з вищенаведеними результатами, тому можна зробити висновок, що тест АВ некоректно використовувати для оцінки кількості загиблих клітин. Результати цього тесту характеризують стан мітохондріального дихання клітин та пов'язану з цим загальну метаболічну активність. Тест АВ доцільно використовувати додатково до тестів ТС і ЕБ для більш повної оцінки цитотоксичної дії ксенобіотиків на клітини в умовах *in vitro*.

### **<sup>1</sup>Типлинська К. В., <sup>2</sup>Ткачук О. О.**

#### **РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ДІАГНОСТИКИ СТЕРОЇДНОГО ПРОФІЛЮ ЛЮДИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ГАЗОВОЇ ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРІЇ**

<sup>1</sup> Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»  
пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна

<sup>2</sup> Лабораторія антидопінгового контролю Національного антидопінгового центру України,  
вул. Танкова, 8, м. Київ, 04112, Україна  
e-mail: vajjorka@gmail.com

Стероїдні гормони відіграють надзвичайно важливу роль у процесах метаболізму. Порушення їх синтезу чи виведення призводить до численних порушень. Саме тому актуальність створення методів виявлення стероїдів не підлягає сумніву. На даний момент, в основному, проводять виявлення поодиноких гормонів за допомогою імуоферментного аналізу. Однак даний метод аналізу часто призводить до хибних результатів через недосконалість тест-систем (Орлов Е.Н., 2000). Крім того, спектр речовин, що визначаються, дуже малий. Альтернативою імуоферментному аналізу є хроматографічні методи

дослідження. Ці методи надзвичайно селективні та дають змогу аналізувати широкий спектр сполук (до 100 сполук, а іноді навіть більше) за один аналіз. Використання хроматографічних методів дослідження дали змогу ввести поняття стероїдного профілю (Homing E.C., 1971), тобто дослідження широкого спектру стероїдних гормонів, їх метаболітів та основних співвідношень. Стероїдний профіль став надзвичайно цінним діагностичним критерієм для виявлення порушень метаболізму та інших захворювань. Наприклад, його часто використовують для діагностики синдрому Іценко-Кушинга (Phillipou G., 1985), Конна (Dean H.J., 1984), раку надниркових залоз (Mender C., 1986) та раку ендометрію (Payne D.W., 1992). Важливе значення він має для контролю перебігу вагітності (Cottrell R.J.M., 1984), виявлення походження гіперандрогенії (Genshi E., 1990) та інших ендокринних і нейроендокринних розладів (Osamu N., 1988). Також надзвичайно важливим є дослідження стероїдного профілю для допінг-аналізу - за допомогою цього критерію можливе виявлення вживання спортсменом як ендогенних стероїдів, так і наслідків вживання екзогенних препаратів.

Дослідження стероїдного профілю хромато-мас-спектрометричними методами раніше, на жаль, в Україні не проводили. Оскільки, виходячи з аналізу світової літератури, найсуттєвіший вплив на результати аналізу має підготовка проб, то основну увагу, при розробці методики ми звернули саме на неї. Нами було розроблено методику виявлення стероїдів у сечі людини за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії, зокрема методику прободготовки та інструментальний метод реєстрації даних за допомогою газового хроматографа з мас-спектрометричним детектором.

Нами підібрано умови твердофазної екстракції стероїдів. Показано, що попереднє промивання катриджів перед екстракцією водними розчинами органічних розчинників може змінювати співвідношення між компонентами стероїдного профілю. Також ми підібрали оптимальні умови гідролізу в-глюкуронідазою з E.coli тип K-12 (отримання глюкуронідної фракції) та H.pomatia тип II (отримання глюкуронідної та сульфатної фракції). Підібрано умови дериватизації. Нами показано що при короткотривалій дериватизації (20-30 хв) відбувається неповне перетворення певних стероїдів (зокрема андростерону та етіохоланолону), що також може призвести до спотворення результатів при високих концентраціях аналізованих речовин.

### **Кеца О., Винничук С.**

#### **ВПЛИВ ФРАКЦІОНОВАНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ В МАЛИХ ДОЗАХ НА ВМІСТ ЦИТОХРОМУ $b_5$ У МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна*

*e-mail: ketsa80@mail.ru*

Цитохром  $b_5$  є мембранозв'язаним гемопротейном, який бере участь у біохімічних окисно-відновних реакціях як переносник електронів з редокс-потенціалом гемопротейну 20мВ. Мікросомна ізоформа цитохрому  $b_5$  відіграє важливу роль як редокс-партнер у реакціях, що каталізуються різними ізоформами цитохрому P-450 та може проявляти неоднозначний вплив на активність ізоформ термінальної монооксигенази.

Розвиток в організмі патологічних процесів, в тому числі онкологічних, або вплив на організм різних факторів навколишнього середовища можуть бути причиною змін функціонування цитохрому  $b_5$  і, як наслідок, цитохрому P-450.

Мета роботи – визначити вплив малих доз рентгенівського опромінення та росту в організмі карциноми Герена на вміст цитохрому  $b_5$  в мікросомній фракції печінки щурів-пухлиноносців.

Результати досліджень показали, що дія на організм фракціонованого рентгенівського опромінення призводить до зниження вмісту цитохрому  $b_5$  в період 1-7 доби після опромінення. На подаль-

ших етапах дія опромінення нівелюється, оскільки досліджуваний показник підвищується та набуває значень контролю на 21-шу добу експерименту.

Дослідження рівня цитохрому  $b_5$  в мікосомній фракції печінки неопромінених щурів в умовах росту в організмі карциноми Герена показали, що по мірі росту в організмі новоутворення спостерігається зниження вмісту даного гемопротеїну порівняно з показниками інтактних тварин.

Попереднє перед трансплантацією карциноми Герена опромінення призводить до зниження вмісту цитохрому  $b_5$  в мікосомній фракції печінки на всіх етапах онкогенезу порівняно з неопроміненими пухлиноносіями. Найсуттєвіше зниження спостерігається в період початкового росту новоутворення. Так, на сьому добу після зняття радіаційного чинника вміст цитохрому  $b_5$  знижується у 2,4 разу, порівняно з неопроміненими пухлиноносіями, що наближає досліджувані показники до показників, характерних для опромінених щурів без пухлини. Вищезазначені зміни вмісту цитохрому  $b_5$  опроміненіх щурів-пухлиноносіїв спостерігаються в логарифмічну та стаціонарну фази онкогенезу.

Зниження вмісту цитохрому  $b_5$  за дії радіації та росту пухлини може бути зумовлене утворенням зв'язків між аміногрупами цитохрому  $b_5$  і вторинними продуктами пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ). Продукти ПОЛ, зв'язуючись з цитохромом  $b_5$ , можуть утворювати так звані основи Шиффа, яким притаманна висока реакційна здатність до створення міжмолекулярних «зшивок».

В умовах зниження рівня цитохрому  $b_5$  в мікосомній фракції печінки попередньо опромінених щурів в динаміці росту карциноми Герена, роль цього ферменту у функціонуванні NADPH-залежного ланцюга цитохрому P-450 обмежується, оскільки саме цитохром  $b_5$  забезпечує цитохром P-450 електронами на п'ятому етапі монооксигеназного циклу.

Отже, попереднє перед трансплантацією карциноми Герена опромінення призводить до зниження вмісту мікосомного цитохрому  $b_5$  печінки, який може виступати в ролі акцептора активних форм кисню, проявляючи захисну дію на молекули термінальної монооксигенази.

### **Вусатюк У. В., Бевзо В. В.**

#### **ЛІПІДНИЙ СПЕКТР МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ В ПРОЦЕСІ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА**

*Кафедра біохімії та біотехнології, Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
e-mail: bevzo61@mail.ru*

Механізм виникнення та розвитку багатьох патологічних станів, в тому числі й злоякісного росту, пов'язаний з порушенням структури й властивостей біологічних мембран, серед них і мембран еритроцитів. Порушення функціонування біомембран може бути не тільки причиною, а й наслідком розвитку патологічних процесів. Дослідження мембран еритроцитів периферичної крові при онкологічних захворюваннях є одним із перспективних шляхів вирішення проблеми пошуку показників, що характеризують загальний стан організму, вираженість симптомів онкологічного захворювання та ефективність лікування.

Тому метою роботи було оцінити рівень загальних ліпідів, фосфоліпідів і холестеролу в мембранах еритроцитів крові щурів-пухлиноносіїв у динаміці росту карциноми Герена. Як модель експериментальної пухлини використовували карциному Герена. Імплантацію пухлини проводили шляхом введення щурам 30% суспензії ракових клітин у фізрозчині в ділянку стегна. Евтаназію тварин проводили на 7, 14, 21-шу доби з часу імплантації пухлини.

Показано, що рівень загальних ліпідів у мембранах еритроцитів тварин з перевитою карциномою Герена вірогідно знижувався по мірі росту пухлини: на початковій стадії росту на 250, на стадії інтенсивного та термінального росту – на 36 і 58% відповідно порівняно з контролем. Основними механізмами порушення вмісту зальних ліпідів у мембранах еритроцитів щурів-пухлиноносіїв в дина-

міці росту новоутворення, можливо, є посилення процесів ПОЛ, підвищення активності ендогенних фосфоліпаз та уповільнення синтезу жирних кислот в печінці при канцерогенезі.

Фосфоліпідам належить важлива роль у структурі мембран і функціональній активності еритроцитів, однак, їх вміст в мембранах еритроцитів пухлиноносіїв в процесі росту карциноми Герена вірогідно знижувався починаючи з стадії інтенсивного росту, на 25% та у завершаючу фазу канцерогенезу на 39% порівняно з інтактними тваринами.

На фоні зниження рівня загальних ліпідів в мембранах еритроцитів дослідних тварин в процесі росту карциноми Герена відзначали незначне підвищення вмісту холестеролу. При цьому вірогідне максимальне зростання рівня холестеролу припадало на 14 та 21-шу доби після трансплантації пухлини. Тоді як, початковий етап росту пухлини не характеризувався вірогідними змінами рівня холестеролу в мембранах еритроцитів дослідних щурів.

Найважливішим регулятором мікров'язкості мембран є холестерол. Поряд із тим, вважають, що найбільш чутливим індикатором атерогенних порушень в організмі при будь-якій патології, в тому числі й при злоякісному рості, є кількісне значення коефіцієнта молярного співвідношення холестеролу до фосфоліпідів в мембранах еритроцитів, який не залежить від впливу аліментарних факторів. Слід відзначити, що у нашому експерименті молярний коефіцієнт співвідношення холестеролу до фосфоліпідів в мембранах еритроцитів щурів-пухлиноносіїв вірогідно знижувався починаючи вже з 10 доби після трансплантації пухлини, на 26%. Найсуттєвіші зміни даного показника в мембранах еритроцитів дослідних тварин спостерігались на термінальних етапах онкогенезу де молярний коефіцієнт співвідношення холестеролу до фосфоліпідів перевищував рівень контрольних значень в 1,7 рази, що свідчить про підвищення мікров'язкості й „жорсткості” мембран та може призводити до збільшення об'єму еритроцитів й порушення їх функціональної активності.

Отже, підвищення мікров'язкості мембран еритроцитів крові щурів-пухлиноносіїв у процесі росту карциноми Герена погіршує їх еластичні й реологічні властивості, що може призводити до уповільнення мікроциркуляції та гіпоксії, що, можливо, є реакцією організму на оксидативний стрес, спричинений трансплантацією та ростом пухлини.

## **Wrobel J., Kud J., Kuske J., Sliwa P., Grzywnowicz K.** CAN WE MAKE HOME-MADE FRUIT WINE?

*Students of Biochemistry Scientific Group, Department of Biochemistry, University of Maria Curie-Skłodowska,  
Akademicka St. 19, 20-033 Lublin, Poland  
e-mail: grzyw@poczta.umcs.lublin.pl*

Fruit wine are produced from fruit juice, crushed and extracted fruits or fruit must. We obtain fruit wine in the way similar to obtaining grape wines; despite we should add sugar, for proper alcohol level, and water for lowering acids and phenols content. Often we add sugar in the end of fermentation to prevent unwanted processes. Fruit wines have 9-10% of alcohol, 15-above 60% of sugar (under 15 – dry; 15-30 – semidry; 30-60 – semisweet; above 60 – sweet), 4-9 g/l of acidity, under 1,6 g/l of volatile acidity. Polyphenols are present especially in wild and acid fruits. Home-made fruit wines are made from practically all fruits, and each producer have his own secrets, additions, additional procedures and wises.

Home-made fruit wines were supplied by students from our Scientific Group. They wer mainly dry by self-taste, and by source-fruit - pear-lemon, haw, aronia, cherry-aronia, cherry and apple one. Alcohol was analyzed with Tralles aerometer after simple distillation, extract with Balling sugar-meter, acidity and volatile acidity were determined with proper titration, sugar content with Somogyi-Nelson method and polyphenols in colorimetric reaction with Folin-Ciocalteaus reagent (Tanner i Brunner, 1989; Troost, 1988).

Results obtained indicate that all analyzed home-made fruit wines were in fact semidry or semisweet (despite opinion of producer) and of medium strength. All other parameters were similar to that described in

literature (Tanner i Brunner, 1989; Troost, 1988). Additionally, in centrifuged sediments we show presence of yeast species - *Saccharomyces cerevisiae*, *S. ellipsoideus* i *Candida pulcherrima*. So in conclusion, home-made fruit wines are rather semidry or semisweet, what is result of adding sugar for taste and wine preservation. They are also rather weaker than factory-made and are made by fermentation rather with wild yeasts, than brand ones.

**<sup>1,2</sup>Жиленко В. В., <sup>2</sup>Залеток С. П.**

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ФЕНУГРЕКА НА РІВЕНЬ ПОКАЗНИКІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ  
У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН З ПЕРЕЩЕПЛЕНИМИ ПУХЛИНАМИ**

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова 2, корп. 12, м. Київ, 03022, Україна*

*<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р.Є.Кавецького НАН України, вул. Васильківська 45, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: gilenkovv@yandex.ru*

Застосування протипухлинних препаратів у онкологічних хворих супроводжується багатьма побічними ефектами, зокрема порушенням оксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі. Тому актуальним є пошук речовин, що мають антиоксидантні властивості. Цим вимогам відповідають різноманітні поліфеноли рослинного походження. Нещодавні дослідження показують, що фенугрек (*Trigonella Foenum Graecum*) являє собою джерело багатьох біологічноактивних сполук та має антиоксидантну дію (Syeda B.V., 2008; Kaviarasan S., 2007; Tripathi U.N., 2009).

Метою даної роботи було дослідження впливу екстракту фенугрека на рівень деяких показників антиоксидантної системи у експериментальних тварин з перещепленими пухлинами.

Дослідження проведені на мишах-самицях лінії CDF1 з перещепленою лімфоїдною лейкемією L<sub>1210</sub>, мишах-самицях лінії C57Black/6 з перещепленою карциномою молочної залози Ca755, на нелінійних щурах-самицях з перещепленою карциносаркомою молочної залози W256. Тварини в кожному досліді були розділені на 2 групи по 10 тварин. Перша група тварин з моменту перещеплення пухлин до кінця досліді отримувала порошок екстракту фенугрека (250 мг/кг), який додавали до стандартного комбікорму, друга (контрольна) група тварин отримувала стандартний комбікорм. Антиоксидантні властивості екстракту фенугрека оцінювали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) в печінці та за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) у плазмі крові шляхом їх екстракції гептан-ізопропіловою сумішшю.

Виявлено, що в усіх тварин з перещепленими пухлинами рівні МДА та ДК були вищі, ніж у інтактних тварин, що свідчить про навантаження печінки при злоякісному рості. Споживання екстракту фенугрека призводило до зниження рівня цих показників у дослідних тварин, незалежно від штаму пухлин. Найбільше зниження рівня МДА (на 55%), порівнянно з показниками у контрольній групі, спостерігалось у тварин з лімфолейкозом L<sub>1210</sub>; дещо менше зниження спостерігали у тварин з перещепленою карциномою Ca755 (на 37%); несуттєве зменшення рівня МДА виявлено у тварин з карциносаркомою W256 (5,3%). Вміст же ДК у щурів з карциносаркомою W256 під впливом екстракту фенугрека знижувався більшою мірою і становив 22%.

Результати даної роботи свідчать, що екстракт фенугрека може бути перспективним для подальших досліджень в онкології для нормалізації стану антиоксидантної системи організму.



## БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН / BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION

**Пірогов М.**

ЛІХЕНОБІОТА УКРАЇНСЬКОГО РОЗТОЧЧЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка

бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: nikola.pirogov@gmail.com

За власними та раніше опублікованими даними інших дослідників встановлено, що ліхенобіота Українського Розточчя включає 234 види лишайників. Ці види належать до одного відділу Ascomycota, п'яти класів, 14 порядків, 42 родин та 88 родів (за системою Lumbsch, Huhndorf, 2007). Провідними за кількістю видів виступають 11 родин, які разом включають 178 видів або 76,1% від видового складу ліхенобіоти, а провідними за кількістю видів виступають 23 роди, які разом об'єднують 150 видів (64,1%).

Вперше для ліхенобіоти регіону наведено 120 видів лишайників, серед яких три види – *Peltigera extenuata* (Nyl. ex Vain.) Lojka, *Lecanora sarcopis* (Wahlenb. ex Ach.) Ach., та *Rinodina pityrea* Ropin & H. Maunhofer, виявлено вперше для України. Також підтверджено наявність у складі ліхенобіоти регіону ще 82 видів, а 32 види, що наводились у літературі раніше, повторно виявлені не були. Крім того, нами виявлено 38 рідкісних видів лишайників, сімнадцять з яких відмічені для України вдруге.

Проведений субстратно-екологічний аналіз ліхенобіоти дозволив виявити на Українському Розточчі сім еколого-субстратних видових лишайникових комплексів (ЕСК). Епіфітний ЕСК включає 111 видів (47,4% від видового складу ліхенобіоти), епіфітно-епіксильний ЕСК – 15 (6,4%), епіксильний ЕСК – 11 (4,7%), епіксильно-епігейний ЕСК – 8 (3,4%), епігейний ЕСК – 46 (19,7%), епілітний ЕСК – 35 (15%) і еврисубстратний ЕСК – 8 видів лишайників (3,4%).

За результатами біоморфологічного аналізу лишайники Українського Розточчя віднесені до двох відділів, чотирьох типів, п'яти класів та дванадцяти груп життєвих форм (ЖФ) відповідно до класифікації життєвих форм лишайників Н.С. Голубкової (1983). Відділ ендемічних ЖФ, об'єднує 7 видів (3,0%), а відділ епігенних – 227 видів (97,0%) лишайників. Найбільше у дослідженій ліхенобіоті є видів групи одноманітнонакипних ЖФ – 107 (45,7%), менше видів з групи розсіченолопатових ризоїдальних ЖФ – 47 (20,1%) і ще менше з групи паличко- або сцифовидних ЖФ – 27 (11,5%). 53 види (22,6%) лишайників віднесені до семи інших груп ЖФ.

Проведений фітоценотичний аналіз ліхенобіоти дозволив виявити шість фітоценотичних груп лишайників (за методикою С.Я. Кондратюка (1996)). Буково-дуброва група включає 63 види (26,9%) поширених переважно у фітоценозах класу Quercus-Fagetea та дуже рідко – у мішаних лісах класу Vaccinio-Piceetea. Лишайники вербово-тополевої групи (51 вид, 21,8%) трапляються у містах або природних фітоценозах класу *Alnetea glutinosae*. Виключно у ценозах останнього класу трапляються три види (1,3%) вільхової групи. Лишайники сосново-ялинової групи (73, 31,2%) трапляються у фітоценозах класів Vaccinio-Piceetea, Oxycocco-Sphagneteta, Koelerio glaucae-Corynephoretea canescentis, Nardo-Callunetea та дуже рідко – Molinio-Arrhenatheretea. Лишайники лучно-степової групи (8 видів, 3,4%) трапляються лише у фітоценозах класу Festuco-Brometea (?). Лишайники азональної петрофітної групи (36 видів, 15,4%) пов'язані з природними та штучними кам'янистими субстратами і не приурочені до жодного з класів фітоценозів.

Проведений географічний аналіз ліхенобіоти дозволив встановити, що 231 вид лишайників належать до шести географічних елементів (за Макаревич и др., 1982), а ще три види не віднесені до жодного географічного елемента. Більшість лишайників Українського Розточчя належать до трьох географічних елементів – бореального, неморального та евриголарктичного. Перший елемент об'єднує 82 види (35%), неморальний елемент – 74 види (31,6%), а евриголарктичний – 58 видів (24,8%). Решта три

елементи – монтанний, гіпоарктомонтанний та ксеромеридіональний, разом об'єднують менше 10% видів лишайників дослідженої ліхенобіоти.

### **Гнатишин З., Луцишин Н.**

#### **СИСТЕМАТИЧНЕ ПОЛОЖЕННЯ, БІОГЕОГРАФІЯ ТА РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ ПЛОДОВИХ ТРОПІЧНИХ І СУБТРОПІЧНИХ РОСЛИН БОТАНІЧНОГО САДУ ЛНУ ІМ. І. ФРАНКА**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: botsad@franko.lviv.ua*

У колекції тропічних і субтропічних рослин Ботанічного саду ЛНУ ім. І. Франка з видів рослин, плоди яких використовують для харчування – 41 вид природної флори з різних континентів земної кулі та окрім цього 6 культиварів лимонів, гранату і кави, що теж успішно вирощуються в оранжерейних умовах.

Флора тропіків Південної Америки у колекції представлена 15 таксонами з 11 родів *Acca*, *Ananas*, *Annona*, *Carica*, *Cyphomandra*, *Erythraea*, *Eugenia*, *Opuntia*, *Passiflora*, *Pimenta*, *Psidium* із 8 родин *Myrtaceae*, *Bromeliaceae*, *Annonaceae*, *Solanaceae*, *Caricaceae*, *Palmae*, *Cactaceae*, *Passifloraceae* (Encke et al., 2002). Найвідоміші з них: ананас, гуаява, папайя, фейхоа. 14 таксонів плодів рослин походять з Південно-Східної Азії, що представляють 10 родів *Actinidia*, *Diospyros*, *Citrus*, *Coffea*, *Hovenia*, *Mangifera*, *Murraya*, *Musa*, *Phoenix*, *Piper* із 9 родин *Ebenaceae*, *Rutaceae*, *Rubiaceae*, *Rhamnaceae*, *Anacardiaceae*, *Rutaceae*, *Musaceae*, *Palmae*, *Piperaceae*, серед яких банан, ківі та цитрусові. Субтропіки Середземномор'я та Передньої Азії представлені 5 родами *Arbutus*, *Ceratonina*, *Ficus*, *Olea*, *Punica* із 5 родин *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Moraceae*, *Oleaceae*, *Punicaceae* серед яких гранат, маслина, інжир. 3 Центральньо-Американських субтропіків у колекції 3 таксони, а саме *Monstera*, *Persea*, *Eriobotrya* із 3 родин *Agaceae*, *Laugaceae*, *Rosaceae*, зокрема авокадо і мушмула. У значно меншій кількості представлені інші тропічні та субтропічні області земної кулі.

З плодів тропічних і субтропічних рослин колекції Ботанічного саду 20 таксонів цвітуть постійно, зокрема *Acca sellowiana* (O.Berg.) Burret, *Ceratonina siliqua* L., *Citrus limon* (L.) Burn. f., *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Meyer, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Pavlovskij, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Ponderosa, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Skernevickij, *Citrus microcarpa* Bunge, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, *Citrus reticulata* Blamco, *Coffea arabica* (L.) fr. lutea, *Coffea arabica* L., *Ficus roxburghii* Wall, *Monstera deliciosa* Liebm, *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Persea americana* Mill, *Phoenix canariensis* hort, *Pimenta dioica* (L.) Merr, *Psidium cattleianum* Sabine, *Punica granatum* Sabine, 6 періодично *Arbutus unedo* L., *Eriobotrya japonica* Thunb, *Ficus carica* L., *Diospyros kaki* L., *Musa basjoo* Sieb, *Opuntia vulgaris* Mill і 3 зрідка *Ananas comosus* (L.) Merr, *Carica papaya* L., *Carica quercifolia* Benth et Hook. Постійно плодоносять 13 таксонів *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Meyer, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Pavlovskij, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Ponderosa, *Citrus limon* (L.) Burn. f. cv. Skernevickij, *Citrus microcarpa* Bunge, *Citrus reticulata* Blamco, *Coffea arabica* L. fr. lutea, *Coffea arabica* L., *Ficus roxburghii* Wall, *Monstera deliciosa* Liebm, *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Psidium cattleianum* Sabine, *Punica granatum* Sabine, 4 періодично *Eriobotrya japonica* Thunb, *Ficus carica* L., *Musa acuminata* Colla, *Musa basjoo* Sieb, 3 зрідка *Arbutus unedo* L., *Carica papaya* L., *Carica quercifolia* Benth. et Hook. Незважаючи на те, що чимало таксонів цвіте і плодоносить, повноцінне насіння утворюють постійно лише *Coffea arabica* L., *Coffea arabica* L. fr. lutea, *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Psidium cattleianum* Sabine, *Punica granatum* Sabine, а періодично *Eriobotrya japonica* Thunb і *Musa basjoo* Sieb і зрідка *Monstera deliciosa* Liebm.

Таким чином, у колекції тропічних і субтропічних рослин Ботанічного саду ЛНУ ім. І. Франка налічується 46 таксонів плодів тропічних і субтропічних рослин із 29 родів, що належать до 24 родин. Найбільш численно представлені родини *Rutaceae* (9) і *Myrtaceae* (5). У ході спостережень за дослідженими видами вдалося виявити, що в умовах оранжерейного комплексу 29 таксонів цвітуть, 20 плодоносять, а 8 дають повноцінне насіння.

**Начичко В.**

***THYMUS ALTERNANS* KLOK. TA *THYMUS MOLDAVICUS* KLOK. ET SHOST.  
НА ВОЛИНО-ПОДІЛЛІ**

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

На початку XXI століття актуальним є дослідження критичних для таксономії груп рослин з метою їх інвентаризації та раціонального використання на певних територіях. Однією із таких груп є рід *Thymus* L. (Lamiaceae Lindl.), для якого характерні високий рівень внутрішньо- і міжпопуляційного поліморфізму, явище гінодієції, гібридизаційні процеси. У флорі Волино-Поділля даний рід представлений орієнтовно 12 видами. Однак на сьогодні остаточно нез'ясованим залишається зростання деяких із них у наведеному регіоні та є невивченим поширення видів на цій території. До таких видів належать, зокрема, *Thymus alternans* Klok. та *Thymus moldavicus* Klok. et Shost., які були обрані нами як об'єкти дослідження.

Дослідження відбувалось у контексті хорологічного і таксономічного вивчення роду *Thymus* у флорі Волино-Подільської височини протягом 2008-2011 рр. Його основу становлять аналіз літературних джерел, критичне опрацювання колекцій гербаріїв LW, LWS, LWKS, KW, гербарних зборів В.І. Гончаренка та результати власних польових досліджень. Для окреслення меж досліджуваної території прийняте районування, запропоноване Б.В. Заверухою (1985).

*Thymus alternans* розглядається в літературі як ендемічний вид, територія суцільного поширення якого включає Східні Карпати (Клоков 1954, 1960; Jalas, 1972; Меницький, 1978; Малиновський та ін., 2002). Однак для Волино-Поділля наводиться одне місцезнаходження виду, відірване від території його суцільного поширення (с. Терновиця, Яворівський р-н, Львівська обл.; Клоков, 1960). Проведені польові дослідження й аналіз опрацьованих гербарних зразів вказують на більше поширення даного виду на досліджуваній території. На сьогодні відомі наступні його локалітети: Львівська обл.: Буський р-н: с. Топорів (17.07.2009, Начичко, VN 83, LW); Яворівський р-н: с. Терновиця (9.08.1940, Косець, KW; 1.08.2009, Начичко, VN 54, 59, 60, LW); м. Львів: Великі Кривчиці (6.06.1968, Завада, LWS 83537); м. Винники (18.05.1948, Малиновський, LWS 83536); Тернопільська обл.: Кременецький р-н: с. Дунаїв (7.06.1961, Запатов, KW). На даний час залишається невідомим походження цих локалітетів (природні чи занесені), а також чи є ці місцезнаходження відірваними від території суцільного поширення виду, чи входять до неї.

Територія суцільного поширення *Thymus moldavicus* охоплює південно-східну частину Молдови понад р. Дністер, південні причорноморські території України та півострів Крим (Клоков, 1960; Меницький, 1978). Для території Волино-Поділля в літературних джерелах подається кілька місцезнаходжень виду, що локалізовані на теренах Івано-Франківської області. Зростання даного виду на цій території підтверджують і опрацьовані гербарні зразки. Загалом для досліджуваного регіону відомі такі локалітети *Thymus moldavicus*: Івано-Франківська обл.: Галицький р-н: с. Поділля (Заверуха, 1985); Тлумацький р-н: с. Жабокруки (Pawlowski, 1966, 1967 a, 1967 b; 5.08.1968, Богайчук, KW 000921; 21.07.1981, Заверуха, KW 000743, 000744, 000745, 000746); с. Хотимир (Pawlowski, 1966, 1967 a, 1967 b; 22.07.1981, Заверуха, KW 000739, 000740, 000741, 000742); с. Гарасимів (14.07.1972, Шеляг-Сосонко, Куковиця, KW). Походження цих локалітетів невідоме. Можливо, вони є локальними залишками колись суцільного та широкого ареалу даного виду або ж мають вторинний заносний характер.

Таким чином, на території Волино-Поділля підтверджено зростання видів *Thymus alternans* та *Thymus moldavicus*, які наводились у літературних джерелах. Подальші дослідження повинні стати передумовою встановлення нових локалітетів даних видів та остаточного з'ясування їх поширення у досліджуваному регіоні.

**Починок Т.****ЗАСТОСУВАННЯ ПОНЯТТЯ МЕТАМЕРНОСТІ Й МОДУЛЬНОСТІ  
В БІОМОРФОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**

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

Трав'яні рослини характеризуються численним різноманіттям біоморфологічних структур, які сформувалися під дією кліматичних, ґрунтових і ценогічних факторів. Таке різноманіття забезпечується наявністю відмінних метамерних систем, що, в свою чергу, уможливує домінування видів трав'яних угруповань, особливо в суворих умовах існування, сприяє високій конкурентоздатності, пластичності, стійкості і продуктивності, завдяки чому рослини можуть існувати в широкому діапазоні екологічних умов й успішно освоювати значні території у природних угрупованнях (Маслова та ін., 2006).

У тварин усі метамери закладаються в основному на ранніх етапах онтогенезу, натомість у рослин наявні постійно функціонуючі протягом усього онтогенезу точки росту. Вони можуть суттєво змінюватися при зміні функції, аж до втрати пагоном метамерної структури (вікова деметамеризація органу), а також володіти одночасно як здатністю до життя в ізольованому стані, так і до самоорганізації (відтворення собі подібних). Детермінована послідовність закладання бруньок на метамерах стебла (після бруньок, які сформують кореневища, столони та сарменти, закладаються бруньки фотосинтезуючих пагонів) забезпечує надійність вегетативного розмноження і швидкого закріплення трав'яних багаторічників у ценозі (Маслова та ін., 2006). Мінливість структури елементарних метамерів є видоспецифічною та відображає особливості онтогенезу, відображаючи ті умови, які були до моменту його закладання і під час розвитку. Натомість кореляційна мінливість призводить до структурної перебудови пагона та зміни габітусу цілої рослини (Барькіна, 1983). Метамер, будучи частиною єдиного організму (листок, вузол, міжвузля, іноді пазушна брунька), відображає ритм роботи апікальної меристеми (Гатцук, 1974). Але шляхом неперервного, детермінованого або поліциклічного росту метамери формують такі одиниці, як: модуль, річний пагін, монокарпічний пагін, які у свою чергу, формують цілу рослину (Bartholomy & Caraglio, 2007). Така особливість рослин називається модульністю, оскільки полягає у повторюваності окремих структур (метамерів, елементарних пагонів та ін.). Модульність рослин відображає їх здатність до необмеженого росту, багатократності відтворення елементів і зміни їх органів. Наслідком усіх цих ознак рослин є метамерність їх пагонів і пагонових систем, тобто повторення елементів уздовж осі органів (Шафранова, 1980). У свій час було запропоновано ієрархічну систему метамерів (Гатцук, 1974), проте згодом вищі ієрархічні рівні метамерів, які характеризують структуру і визначають біоморфи рослин, віднесли до категорії "модуль" (Савиних, 2000). Поняття модуля трактується неоднозначно різними авторами, оскільки з одного боку являє собою реально існуючу структурно-морфологічну одиницю, а з іншого – це категорія, одиниця певного рівня в ієрархії структурних елементів тіла рослин. Особливістю модулів є їх обмежений ріст, натомість особинам притаманний необмежений ріст у результаті відкритого росту, який визначає мультиплікацію та циклічність процесів і структур, повторення модулів та їх автономізацію (Нотов, 2001; Harper & Bell, 1979).

Оскільки специфічність модулів генетично детермінована, то вони можуть використовуватись як інструмент морфологічного аналізу, а чисельність і типи модулів, що регулюються зовнішніми та внутрішніми факторами, проявляється у поліваріантності онтогенезу. Застосування аналізу структурної організації тіла рослин із позиції модульності може пояснити особливості адаптації пагоноутворення та формування біоморф рослин.

**Сосновський С., Прокопів А.**

**СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА СИСТЕМУ РОДУ FICUS L. (MORACEAE LINK)**

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Ботанічний сад*

*вул. Черемшину, 44, м. Львів, 79014, Україна*

*e-mail: botsad@franko.lviv.ua*

Рід *Ficus* L. є одним із найчисельніших серед покритонасінних і об'єднує близько 1000 тропічних і субтропічних видів (Sonibare et al., 2004). Разом із тим, специфічна екологія розмноження цих рослин, пов'язана з наявністю тісних мутуалістичних відносин із запилювачами – перетинчато-крилими комахами з родини Agaonidae, – привертає увагу багатьох дослідників (Jousselin et al., 2003; Machado, 2005; Rønsted et al., 2005; Xu et al., 2008).

Існує чимало спроб класифікації роду *Ficus* (Thunberg, 1786; Vahl, 1805; Gasparini, 1844; Miquel, 1867). У середині ХХ століття Е.Корнер (Corner, 1959-65) на основі аналізу фікусів Азійського й Австрало-Азійського регіонів провів ревізію роду і поділив його на 4 підроди (*Urostigma*, *Pharmacosycea*, *Sycomorus* і *Ficus*), 17 секцій та низку серій і підсерій, ґрунтуючись на морфологічних та функціональних ознаках рослин, пов'язаних перш за все зі специфікою запилення. У цій системі таксони рослин наводилися разом із зазначенням родів асоційованих з ними запилювачів. К.Берг (Berg, 1989a) з метою побудови класифікації на основі філогенезу репродуктивної системи фікусів розділив рід на дві групи: перша містила однодомні види (підроди *Pharmacosycea* та *Urostigma* у розумінні Корнера), друга – переважно полігамні (гінодієційні) (підроди *Ficus* та *Sycomorus*). Останню групу він поділив на низку підгруп на основі як морфологічних ознак, форми росту, так і екології запилення. При цьому, у підроді *Urostigma* Берг виділив декілька американських видових комплексів на основі їхньої морфологічної, фітогеографічної та екологічної відокремленості. Підґрунтям для таких побудов слугували також його власні дослідження неотропічної флори (Berg et al., 1982, 1986; Berg, 1986a, 1989b) та флори Африки (Berg et al., 1984, 1985; Berg, 1986b, 1989c; Berg et al., 1989), поєднані з аналізом інших досліджень (Burger, 1977; Ramirez, 1977; Vezques, 1981; Vezques et al., 1986).

Результати опису К.Бергом родини *Moraceae* для флори Малезійської флористичної області (Berg, 2003a-e, 2004a-b; Berg, Corner, 2005) у поєднанні з його попередніми дослідженнями, а також таксономічним опрацюванням флори фікусів різних регіонів іншими дослідниками (Cavajal & Shabes, 1998; Dixon, 2003; Ungricht et al., 2003) дали змогу рунтовно переробити існуючу класифікацію, в основі якої до цього часу лежала система Корнера. Було виділено 6 підродів фікусів, які включали 19 секцій та низку серій і підсерій, а також видові комплекси у підроді *Urostigma* (Berg, 2007) та секції *Sycocarpus* (Berg, 2004). Зміни на рівні секцій та нижче були, крім того, внесені у результаті філогенетичних аналізів на основі молекулярно-біологічних методів (Herre, 1996; Weiblen, 2000, 2004; Runsted et al., 2005, 2007, 2008a-b). Таким чином, підсумком перелічених досліджень є класифікація роду *Ficus*, яка містить такі основні таксони: підрід *Ficus* (секції *Ficus*, *Eriosycea*), підрід *Synoecia* (*Rhizocladus*, *Kissosycea*), підрід *Sycidium* (*Sycidium*, *Palaeomorpha*), підрід *Sycomorus* (*Sycomorus*, *Hemicardia*, *Adenosperma*, *Dammaropsis*, *Papuasyce*, *Boscheria*, *Sycocarpus*), підрід *Pharmacosycea* (*Pharmacosycea*, *Oreosycea*), підрід *Urostigma* (*Americana*, *Urostigma*, *Malvanthera*, *Galoglychia*). Однак, дане питання і дотепер залишається дискусійним.

Деякі дослідники розвивають інший підхід до філогенетичного аналізу і класифікації як родини *Moraceae* в цілому (Clement, Weiblen, 2009), так і роду *Ficus* зокрема (Chang-chun et al., 2004), в основу якого покладені морфологічні ознаки рослин. Так, М.Сонібаре запропонував використовувати для цього морфологічні ознаки вегетативних органів рослин у поєднанні з генеративними (Sonibare et al., 2004). Хоча результати проведеного ним морфометричного аналізу таких показників узгоджуються, в основному, із класифікаціями Е.Корнера (1965) та К.Берга (1989a), все ж вони обмежуються незначною кількістю африканських видів фікусів і можуть трактуватись як своєрідний підхід до класифікації роду на основі легкодоступних ознак, який, проте, показує значну актуальність таких досліджень.

**Свідрак К.****ОСОБЛИВОСТІ ПИЛЕННЯ ALNUS, CORYLUS ТА BETULA У МІСТІ ЛЬВОВІ***Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна**e-mail: katerynasv@gmail.com*

Пилок алергенних рослин є причиною виникнення пилкової алергії, яка розвивається у певні пори року в момент цвітіння тих чи інших видів рослин. Характерними ознаками сезону пилення рослин є його початок і кінець, тривалість у часі, максимальна кількість пилкових зерен і дата, коли вона спостерігається, після чого починається розвиток алергічної реакції у більшості сенсibilізованих людей.

Метою роботи було дослідити концентрацію пилку рослин *Alnus* (вільха), *Corylus* (ліщина) і *Betula* (береза) в повітрі м. Львова та з'ясувати динаміку пилення цих рослин у 2010 році.

Пункт збору матеріалу був розміщений на вул. Пасічній приблизно на рівні 20 м над поверхнею землі. Вловлювання пилку проводили гравіметричним методом з 1 лютого до 30 травня 2010 року. Скельця, покриті гліцерином, на який пасивно осідав пилок, змінювалися щотри доби. Для виготовлення постійних препаратів була використана гліцерин-желатинова суміш з сафраніном (Мейер-Меликян и др., 1999). Ідентифікація пилкових зерен проведена з використанням мікрофотографій та описів, поданих у визначниках і довідниках (Куприянова, Алешина, 1972; Куприянова, Алешина, 1978; Мейер-Меликян и др., 1999). Підрахунок пилкових зерен здійснювали при збільшенні 40×10 світлового мікроскопа. Дані, які отримали з 1 см<sup>2</sup> предметного скельця, трансформували у кількість пилкових зерен в 1 м<sup>3</sup> повітря (Bassett et al., 1978). Статистичну обробку матеріалу та побудову графіків проводили за допомогою програми Excel.

Пилення ліщини розпочалось у другій декаді лютого (19.02-22.02) і тривало до першої декади квітня (02.04-05.04). У динаміці пилення цієї рослини спостерігали два виразні піки в другій декаді березня: 15.03-18.03 (578 п.з./м<sup>3</sup> повітря) і 18.03-21.03 (759 п.з./м<sup>3</sup> повітря). Весь період пилення тривав 46 днів.

Пилення вільхи (*Alnus*) розпочалося одночасно з ліщиною (19.02-22.02) і тривало до першої декади квітня (02.04-05.04). У динаміці пилення цієї рослини також спостерігали два піки пилення 15.03-18.03 (1651 п.з./м<sup>3</sup> повітря) і 18.03-21.03 (1620 п.з./м<sup>3</sup> повітря). Весь період пилення вільхи також тривав 46 днів.

Пилення берези (*Betula*) розпочалося в третій декаді березня (27.03-30.03) і тривало до першої декади травня (07.05-10.05). У квітні було прослідковано кілька значних піків пилення берези. Максимальна кількість пилку становила 3455 п.з./м<sup>3</sup> повітря. Весь період пилення берези тривав 45 днів.

Дослідження показують, що існує тісний зв'язок між зростанням кількості пилку в атмосфері та збільшенням звернень пацієнтів до алергологів. Перші ознаки алергічних реакцій уже фіксують при концентрації 0-30 пилкових зерен в 1 м<sup>3</sup> повітря. Кількість людей, у яких відбувається початкова алергічна реакція незначна. Натомість, коли концентрація пилку становить 120 і більше пилкових зерен в 1 м<sup>3</sup> повітря, прояви алергії досить сильно зростають. Тому таку кількість пилку в повітрі вважають дуже небезпечною (Савицкий, Савицкая, 2002). Що стосується кількості пилку ліщини, вільхи та берези в повітрі м. Львова, то вона в кілька разів перевищує вище зазначену порогову концентрацію. Найбільша алергенна небезпека спостерігатиметься в березні та квітні.

Таким чином, аеропалінологічні дослідження дають змогу визначити терміни та рівень насичення повітря пилом алергенних рослин. Ця інформація потрібна лікарям-алергологам, щоб розробити і вчасно застосувати відповідні профілактичні заходи для сенсibilізованих людей.

**Strugała P., Bieniek K., Sobczyk K., Rutkowska-Nowacka P., Grzywnowicz K.****CAN YOU BECOME AN ALLERGY-MAN DURING A MUSHROOMING?***Students of Biochemistry Scientific Group, Department of Biochemistry, University of Maria Curie-Skłodowska, Akademicka St. 19, 20-033 Lublin, Poland**e-mail: grzyw@poczta.umcs.lublin.pl*

Fungi can be found all over the world. They can live as saprotrophs, parasites or symbionts (commensals) of animals, plants or even other fungi, in indoor as well as outdoor environment. For decades fungi belonging

to the Zygomycota and to the Ascomycota as well as to the Basidiomycota have been known as cause of broad spectrum of human disorders and illnesses. In contrast to plant pollens, fungal spores and mycelial cells (or hypha) may not cause only type I allergy (the most prevalent disease caused by moulds), but also a large number of other illnesses, including bronchopulmonary mycoses, allergic sinusitis, hypersensitive pneumonitis and atopic dermatitis. Quite well investigated are the allergic reactions to mould spores of such genus like *Stachybotrys* or *Neurospora* (Yike et al., 2007). We know quite a lot also about allergic asthma of edible mushrooms growers, so called farmer's lung caused by such fungi like button mushrooms, oyster mushrooms, shii-take or nameko. Last time (in 90's), in older mushroom hunters, in Western and North European countries over a dozen causes of respiratory allergies with strong anaphylactic shock was described, caused by spores from ripe fruit bodies of higher mushrooms, like boletus or butter mushroom (Torricelli et al., 1997). Because allergies to mould spores are connected with proteolytic enzymes and their natural inhibitors, both inside spores, and on their surface, we have decided to analyze such possibility in higher fungi spores.

Materials for investigations have been collected from the nature during summer scientific camp of 2008 year, by our Scientific Group in Dębno Podhalańskie (Polish Mountains). We have selected three edible porous-mushroom species and three edible gilled-mushroom species, commonly present in this area. *Xerocomus badius*, *Boletus edulis* and *Strobilomyces strobilaceus*, and *Macrolepiota rachodes*, *Russula aeruginea* and *Agaricus campestris*, respectively. After obtaining the spores harvest, surface of spores was washed with buffer and next with detergent. Proteolytic activity was analyzed according method of Anson (1938), and inhibitor activity of natural protease inhibitors was analyzed according method of Lee and Lin (1995). Determinations were made for acid (pH 3,0), neutral (pH 7,0) and basic (pH 10,0) proteases. Protein was detected with modified method of Lowry (Schacterle, Pollack, 1973).

The results evidently indicate attendance of proteases and their inhibitors on surface of spores analyzed. They are interesting, but there the allergological verification is needed (in realisation). So, we have additional allergic danger in our more and more „allergized” world. So before you go mushrooming, check if you have allergy to higher mushrooms spores.

**Strychalska A., Kryszak A., Kryszak J.**

***DESCHAMPSIA CAESPITOSA* L. – A HAZARD TO THE FLORISTIC DIVERSITY OF MEADOW COMMUNITIES**

*Department of Grassland and Natural Landscape  
Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego, 28, 60-637 Poznań, Poland  
e-mail: agastr@up.poznan.pl*

Tufted hair-grass is classified as a most persistent weed of grasslands. It appears to be the effect of clump structure and rough leaf lamina. The expansive behaviour of *Deschampsia caespitosa* is associated, on the one hand, with the occupation of new sites and, on the other hand, with its significant increase in the proportion of species in the sward as evidenced by the obtained values of the ground covering coefficient. It is the result of anthropogenic-pressure on sites and the vegetation type of meadow communities. Occurring the tufted hair-grass in grass communities, especially during longer time intervals, makes unfavourable influence on their natural and use values. The objective of the performed investigations was to evaluate the effect of the occurrence of the tufted hair-grass in meadow communities on their floristic diversity and natural values.

The study was based on the analysis of phytosociological relevés, which were performed using the Braun-Blanquet method. The relevés were divided into two groups differing in the percentage of tufted hair-grass. Then the mean species number relevés and the share of synantropic plants were analysed. The impact of *D. caespitosa* on floristic diversity were determined on the basis of Shannon-Wiener's index and nature value index defined by Oświt.

The greatest impact of the presence of *Deschampsia caespitosa* in the sward of meadow has a broad range of ecological effects. Deteriorating the habitat conditions and negligence in use affect the loss of valuable

species in the sward. This leads to weakening of the turf structure and the invasion of expansive species in this tufted hair-grass. The analysis results show that the large proportion tufted of the sward increases the number of synanthropic species and declined floristic diversity. Natural values of meadow communities with higher part of *D. caespitosa* are decreasing. It is therefore necessary to prevent changes in habitats and to properly manage the pasture reducing the spread of *Deschampsia caespitosa*.

### Авекін Я.

#### БІОЛОГІЯ ЦВІТІННЯ КАКТУСІВ РОДУ GIMNOCALICIUM PFEIFF.

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

Шампанський пров. 2, м. Одеса, 65058, Україна

e-mail: avekinyaroslav@mail.ru

Метою роботи є дослідження кактусів з роду *Gimnocalicium* Pfeiff. і виявлення видів, найбільш декоративних для вирощування в кімнатних умовах. Об'єктами дослідження були 20 найпоширеніших видів кактусів даного роду: *G. ambatoense* Lambert., *G. amerhauseri* Rausch., *G. andreae* (Bod.) Backbg., *G. anisitsii* (K. Sch.) Br. & R.), *G. baldianum* Speng., *G. bayrianum* Till., *G. bruchii* Hoss., *G. delaetii* Titter., *G. chiquitanum* Card., *G. damsii* (K. Sch.) Br. & R., *G. erinaceum* Lambert, *G. hyptiacanthum* Hert., *G. horridispinum* Frank., *G. horsti* Buin., *G. leeanum* Schutz., *G. mesopotamicum* Backbg., *G. mucidum* Sencke., *G. paediophilum* (Fric.) Y. Ito, *G. tillianum* Y. Ito, *G. tanningaense* Ritt. Вивчення біології рослин роду *Gimnocalicium* є актуальним, тому що всі досліджувані види належать до групи тіньовитривалих кактусів короткого дня, що в даному випадку є рідкістю в родині *Cactaceae* і одночасно підвищує декоративну цінність цих рослин. Саме тому представників даного роду можна використовувати для вирощування як у домашніх, так і в оранжерейних умовах з недостатньою освітленістю. Для нормальної вегетації цим рослинам досить 3-4 години розсіяного сонячного освітлення. Рід *Gimnocalicium* численний, налічує близько 200 видів, які поширені переважно в південноамериканському регіоні (Аргентина, Бразилія, Болівія, Уругвай, Парагвай). Рослини ростуть на рівнинах, сухих схилах і глинистих ґрунтах у густих заростях трав'янистих рослин і чагарників, які слугують їм затіненням від інтенсивного сонячного випромінювання. Стебла кулясті або циліндричні, часто сплюснені в дорзовентральному положенні. Ребра поперечними борозенками розділені на горбки, що утворюють під ареолами виступи. Стебло також вкрите товстим восковим шаром, що перешкоджає швидкому випаровуванню вологи рослиною. Ареоли нечисленні, мають різноманітні колючки залежно від виду. Квітки і квітконіжки неопушені, як у більшості кактусів. Розміри квіток коливаються від 5 до 10 см в діаметрі. Основним об'єктом спостереження було цвітіння і терміни цвітіння досліджуваних рослин. Фенологічні спостереження проводилися протягом одного року. У результаті спостережень була вибудована колірна гама квіток. Серед 20 досліджуваних кактусів було виділено квітки білого кольору у видів *G. amerhauseri*, *G. anisitsii*, *G. bayrianum*, *G. damsii*, *G. tanningaense*, *G. mesopotamicum*. Середній розмір квіток від 5 до 7 см. Найбільш великоквітковий *G. mesopotamicum* (квітконіжка 5-6 см, квітка 8-9 см в діаметрі). Також було виділено 7 видів рослин з рожевими квітками, з них *G. ambatoense*, *G. chiquitanum*, *G. mucidum*, *G. marsoneri*, *G. horridispinum* мають квітки світло-рожевого відтінку, а *G. bruchii*, *G. erinaceum*, *G. Horsti* – темно-рожевого відтінку. Найбільші квітки у *G. erinaceum* (6-7 см в діаметрі), а *G. horridispinum* квітне маленькими (2-3 см), але численними квітками, по 20 шт. на одній рослині. Серед досліджуваних кактусів було виявлено 4 види з жовтими квітками: *G. andreae*, *G. hyptiacanthum*, *G. leeanum*, *G. paediophilum*. Найбільш великоквітковим видом виявився *G. hyptiacanthum* (6-7 см в діаметрі), а *G. leeanum* мав зеленуватий відтінок квіток. У ході спостережень було виявлено 2 червоноквіткових види: *G. baldianum*, *G. tillianum*. Обидва види мають досить великі квіти (6-8 см у діаметрі) і приємний запах. Під час спостережень були виділені найбільш ранньоквітучі рослини: *G. marsoneri*, *G. andreae*, *G. leeanum* і *G. bruchii*. Початок цвітіння – друга декада березня, кінець цвітіння - друга декада липня. Найтривалі-



шим цвітінням відзначилися види: *G. damsii*, *G. paediophilum*, *G. hyptiacanthum*, *G. anisitsii*. Цвітіння з ранньої весни (друга декада березня) до пізньої осені (друга декада жовтня). Після проведених досліджень можна зробити висновок, що серед видів роду *Gimnocalicium* наявна велика колірна розмаїтість квіток і довга тривалість цвітіння. Деякі види також відрізнялися високою ясністю цвітіння. Тому, зважаючи на високу невибагливість цих рослин, їх можна рекомендувати для вирощування в кімнатних умовах як високо декоративні та цікаві рослини, які нікого не залишать байдужим.

### **Бова Д., Кривенда А.**

ДІАТОМОВІ ВОДОРОСТІ КОЗАЧЕ-ЛАГЕРНОЇ АРЕНИ (НПП «ОЛЕШКІВСЬКІ ПІСКИ»)

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601 Україна  
e-mail: dariyabova@mail.ru

Національний природний парк «Олешківські піски» є одним з новостворених в 2010 році парків. Незважаючи на високий рівень вивченості вищих рослин, дані щодо видового складу водоростей відсутні. У даній роботі наводяться перші відомості щодо видового складу прісноводних діатомових водоростей НПП «Олешківські піски».

Матеріал відбирали у 2008 році на території Козаче-Лагерної арени, однієї з семи піщаних арен Олешківських пісків, у єдиній прісноводній водоймі національного природного парку – невеликому озері, розташованому у міжчучугурній депресії в центрі арени. Озеро має штучне походження, діаметр близько 30 м, до 5 м завглибшки. Постійні препарати панцирів діатомових водоростей виготовляли за стандартною методикою (Guide, 2000), з використанням синтетичної смоли Naphrax. При визначенні діатомових водоростей використовували визначники серії “Suesswasserflora von Mitteleuropa”, “Diatoms of Europe”. При складанні систематичного списку була використана система Ф. Раунда, Р. Крауфорда та Д. Манна (Round & al., 1990), розроблена до рівня виду та внутрішньовидових таксонів Л. Бухтіяровою (Bukhtiyarova, 1999).

У результаті дослідження нами було виявлено 50 видів діатомових водоростей, представлених 51 внутрішньовидовим таксоном, включаючи номенклатурний тип видів. Вони належать до 3 класів, 10 порядків, 16 родин та 26 родів. Найбільше представників серед визначених водоростей мають роди *Pinnularia* (5), *Aulacoseira* (4), *Navicula* (4), *Nitzschia* (4). Двома – трьома представниками представлені роди *Encyonema* (3), *Gomphonema* (3), *Stauroneis* (3), *Achnanthes* (2), *Cyclotella* (2), *Diatoma* (2), *Fragilaria* (2). Найменшою кількістю видів представлені роди *Achanthidium* (1), *Amphora* (1), *Brachysira* (1), *Cyclostephanos* (1), *Craticula* (1), *Cymbopleura* (1), *Encyonopsis* (1), *Eunotia* (1), *Hantzschia* (1), *Luticola* (2), *Neidium* (1), *Rhopalodia* (1), *Sellaphora* (1), *Staurosira* (1), *Ulnaria* (1).

За відносною чисельністю в перифітоні переважали *Hantzschia amphyoaxis* (Ehrenb.) Grunow, *Pinnularia subcapitata* W. Greg., *Achnanthidium minutissimum* (Kütz.) Czarn., *Pinnularia borealis* Ehrenb.

Серед визначених таксонів 12 (20%) зареєстровані в наземних біотопах на території України (Костіков та ін., 2001): *Encyonema minutum* (Hilse in Rabenh.) D.G. Mann, *Gomphonema parvulum* (Kütz.) Kütz., *Achnanthidium minutissimum*, *Sellaphora pupula* (Kütz.) Mann., *Pinnularia borealis* Ehrenb., *Pinnularia subcapitata*, *Navicula cryptocephala* Kütz., *Stauroneis anceps* Ehrenb., *Stauroneis phoenicenteron* (Nitzsch) Ehrenb., *Hantzschia amphyoaxis*, *Nitzschia palea* (Kütz.) W. Smith, *Luticola mutica* (Kütz.) D.G. Mann. Інші види є типовими представниками водних біотопів.

По відношенню до солоності переважна більшість видів прісноводні, за винятком *Achnanthes brevipes* C. A. Agardh, що є типовим для солонуватоводних біотопів, але водночас евригалінічних.

Незважаючи на штучне походження, відносно молодий вік і відірваність від інших водних об'єктів, в озері сформувалися водні угруповання, характерні для прісних водойм.

**Биковець Х., Присяннікова І.**

## ЗНАХІДКА ПЕРОНОСПОРОВОГО ГРИБА

*PLASMOPARA DENSA* (RABENH.) J. SCHROET. У КРИМУ

Таврійський національний університет ім. В.І. Вернадського

пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, Україна

e-mail: *aphanisomenon@mail.ru*

Пероноспоріві гриби відділу Oomycota (порядок Peronosporales, родина Peronosporaceae) являють собою велику групу лише облігатних паразитів, що утворюють консорції з судинними рослинами, котрі є представниками переважно класу дводольних. Гриби родини Peronosporaceae широко розповсюджені як у природних, так і в штучних рослинних угрупованнях, зокрема в агрофітоценозах. Вони можуть уражати різні наземні органи рослин-господарів. Спороношення пероноспорівих грибів найчастіше утворюються на листках і мають вигляд пухнастого або павутинистого, білого, бруднуватобілого, сіруватого, сіро-фіолетового, коричнюватого кольору (Дудка, 1997).

Восени (26 вересня 2010 року) на території ландшафтно-ботанічного пам'ятника природи місцевого значення «Дубки» площею 14 га (околиці с. Партизани, Сімферопольський район, АР Крим) нами виявлений пероноспорівий гриб *Plasmopara densa* (Rabenh.) J. Schröt. на *Rhinanthus pectinatus* (Behrend.) Vass. (Scrophulariaceae). Згідно з картосхемою географічного районування Криму (Дідух, 1992), пам'ятник природи «Дубки» розташований в Лісостеповому Криму. Природна рослинність пам'ятника представлена, переважно, дубово-пухнастими лісами паросткового походження. *R. pectinatus* – досить звичайна для Криму рослина, заввишки до 50 см, трапляється на лісових галявинах, отруйна, паразитує переважно на коренях злаків.

Ідентифікацію зразків гриба на листках рослини-господаря проводили за визначником (Ульянищев та др., 1985). Видова назва рослини-господаря представлена за роботою С.К.Черепанова (1995). Аналіз даних літератури показав, що розвиток *P. densa* на *R. pectinatus* раніше для України було відзначено лише в трьох областях: Черкаській - на *Rhinanthus* sp., у Тернопільській - на *Rhinanthus bosnensis* і в Сумській області - на *Rhinanthus vernalis* (N. Zing.) Schischk. & Serg. (<http://www.cybertruffle.org.uk/ukrafung/rus/index.htm>). У Криму паразитичний гриб *P. densa* на *R. pectinatus* виявлений вперше; він також зареєстрований нами на новому для України виді рослини-господаря - *R. pectinatus*.

Плями на уражених листках *R. pectinatus* слабпомітні, хлоротичні, іноді брудно-бурі. Гриб утворює на нижній стороні листа щільний, сніжно-білий наліт. Конідіеносці виходять з продохів групами по 5-10 з гілками 3-5 порядку, кінцеві гілки розташовуються під гострим або прямим кутом. Конідії широко-овальні, майже округлі 14-25 x 12-20 мкм. Ооспори кулясті, 25-30 мкм в діаметрі, з тонкою, жовтуватою оболонкою.

**Csabai J., Nagy Z., Mandy T.**THE IMPACTS OF DIFFERENT HABITATS ON THE DEVELOPMENT OF *TELEKIA SPECIOSA* (SCHREB.) BAUMG.

Nyíregyháza Botanical Garden

31/b Systyi st., Nyíregyháza, 4400, Hungary

e-mail: *csabajj@zeus.nyf.hu*

*TELEKIA SPECIOSA* (SCHREB.) BAUMG. is a 100-150 cm high bushy perennial, which has yellow flowers and smells good. According to the descriptions (Farkas, 1999) it can be detected in two smaller areas within Hungary namely in the Bkk and on the Szatmár-Bereg Plain. By the time of writing this paper the population around Tiszabecs has already got extinct. Therefore, it is a protected relict species. It is named in honour of Sámuel Teleki, the chancellor of Transylvania.

Within the frame of the experiment *Telekia speciosa* was planted to places differently illuminated (sunny, semi shadow, shade). Then the morphological changes caused by the various light conditions were investigated.

The experiment was launched with a stock sown in October 2008. The seedlings were planted to three beds with diverse light conditions. The area of each bed was 1 m<sup>2</sup> and ten seedlings were planted per m<sup>2</sup>.

The parameters investigated are as follows: the length of leaf blade, the width of leaf blade, the length of petiole, the number of leaves per plant and the alterations of leaves.

As a result of our research we can state that semi shadow is the optimal habitat for the plant. Under such ecological conditions the highest leaf production is observed. The leaves are species specific, healthy and big. The mean number of leaves per plant is 6,6, the mean length of blade is 16,6 cm, the mean width of blade is 13,0 cm, while the mean length of petiole is 14,2 cm. In the shade the plants grow poorly and the size of leaf is smaller. The mean number of leaves per plant is 4,1, the mean length of blade is 8,6 cm, the mean width of blade is 7,1 cm, and the mean length of petiole is 9,4 cm. In the sunny habitat a similarly high leaf production is observed as in the semi shadow; however, the leaves have brownish spots, they shrivel, feel rough, so they reveal a reduced aesthetical value. The mean number of leaves per plant is 6,6, the mean length of blade is 17,8 cm, the mean width of blade is 11,3 cm, and the mean length of petiole is 13,1 cm.

### Brutāne K.

#### CULTIVATED TAXA OF GENUS FIR (ABIES MILL.) IN EASTERN PART OF LATVIA

*University of Daugavpils*  
*Vienības St., 13, Daugavpils, 5404, Latvia*  
*e-mail: kristine.brutane@biology.lv*

Fir (*Abies* Mill.) is a genus of evergreen conifers, which is distributed in the temperate and subtropical regions of northern hemisphere. Species of this genus mainly are found in mountain habitats. Overall the world there are about 50 species, while in the territory of Latvia Fir trees are widely used as excellent decorative tree in parks and other public plantations since 18<sup>th</sup> Century. Literature data shows that 27 species, 12 subspecies, varieties and infraspecific hybrids are cultivated in Latvia.

The investigation object is Vidzeme Central highland - region in the eastern and central part of Latvian part with a most continental climate, with most severe winters, the lowest recorded temperature is -39°C and the biggest snow cover and with the shortest period of vegetation season – the territory of the most unfavourable growing conditions in general.

Inventoring of parks and public plantations in eastern Latvia were carried out during years 2008 – 2010. Approximately 40 most valuable dendrological objects were observed, one of them – *Kalsnava arboretum*, which is founded as a forest research station since 1973, and over 2200 taxa are collected here now – the largest dendrological plantation in eastern Latvia. The biggest diversity of fir species was identified here – 11 species, 4 varieties and 1 hybrid.

There are found 11 species, 4 varieties, 1 hybrids and 1 infraspecific hybrid in total. Most common are *Abies sibirica* Ledeb. - 7 localities, *A. balsamea* (L.) Mill. – 14, *A. x phanerolepis* (Fernald) T.S. Liu – 12, and *A. concolor* (Gordon and Glend.) Lindl. ex Hildeber – 6, *A. lasiocarpa* var. *arizonica* (Merr.) Lemm. – 3, *A. veichii* Lindl. – 3, uncommon *A. balsamea* x *A. sibirica* – 1, *A. alba* Mill. – 1, *A. homolepis* Sieb. et Zucc. – 1, *A. holophylla* Maxim. – 1, *A. borisii* - regis Mattf. – 1, *A. fraseri* (Pursh.) Poir. – 1, *A. koreana* Wils – 1, *A. sachalinensis* var. *mayriana* Miyabe et Kudo – 1, *A. sachalinensis* var. *sachalinensis* (F. Schmidt) Mast. – 1, *A. nordmanniana* (Stev.) Spach – 1, *A. lasiocarpa* var. *lasiocarpa* (Hook.) Nutt. – 1.

Winter resistance of different fir taxa have been evaluated after winter 2009/2010, where negative temperatures in January reached -35°C. In evaluated dendrological objects, significant frost damage did not observed. Frost damages of last year's shoot-ends are observed on *A. lasiocarpa* var. *arizonica*, as well; as some specimens of *A. x phanerolepis* needles in greenery have been damaged. Completely winter-resistant fir species after winter 2009/2010 – *A. sibirica*, *A. balsamea*, *A. concolor*, *A. veichii*, *A. holophylla*, *A. koreana*.

After evaluating of most harmful pests and fungal diseases were decided, that the most common is *Aphrastasia pectinatae* Chol., which is find in large quantities feeding on lower part of needles of *A. balsamea*, *A.*

*x phanerolepis*, rarely on *A. sibirica*, *A. lasiocarpa* var. *lasiocarpa*, but not cause serious lethal damages yet. Other pests and fungal diseases are not so massive and have no significant impact on the decorativeness of this species.

After evaluation of fir vitality in dendrological plantations in Central Latvia, vitality is recognized as good for the following species: *A. sibirica*, *A. balsamea*, *A. x phanerolepis*, *A. concolor*, *A. veichii*, *A. fraseri*, *A. koreana*, *A. lasiocarpa* var. *lasiocarpa*. These species produce cones with germinable seeds, but for *A. balsamea*, *A. sibirica* and *A. concolor* self-sowing is observed. *A. lasiocarpa* var. *Arizonica*, *A. sachalinensis* var. *sachalinensis*, *A. koreana* have insignificant frost-damages, produce cones and seeds, but self-sowing is not observed. *A. alba* and *A. nordmanniana* do not produce cones and get frozen up to snow cover after extremely hard winters. In the research territory some young trees of *A. homolepis*, *A. holophylla*, *A. borisii* – regis are growing but winter-resistance and decorativeness of such plants cannot be assessed objectively.

### **Evarte-Bundere G., Evarts-Bunders P.**

#### SILVER LIME (*TILIA TOMENTOSA* MOENCH.) IN LATVIA – MORPHOLOGICAL VARIABILITY AND INFRASPECIFIC TAXA

*Daugavpils University, Institute of Systematic Biology,*

*Vienības St. 13, Daugavpils, 5404, Latvia*

*e-mail: gunta.evarte@biology.lv; peteris.evarts@biology.lv*

Silver lime *Tilia tomentosa* is a very well known decorative and ornamental tree, widely used in parks and other public plantations. This species was found in culture in the territory of Latvia from the middle of the 19th century. Unfortunately, due to lack of good winter resistance, *T. tomentosa* occurs in culture only in western and central parts of Latvia, while in eastern, most continental parts of Latvia, after extremely cold winters this *Tilia* trees are damaged seriously or freezing out completely.

*T. tomentosa* is morphologically relatively variable, which is typical for largest part of such a long-time and widely cultivated tree species. Different morphological variations of plants, occurring in the biggest dendrological collections – botanical gardens, arboretum and old manor parks, has given rise to discussions on the species infraspecific taxa or even necessity to divide *T. tomentosa* in to several isolated species.

There are known from earlier inventories, that *T. tomentosa* is cultivated approximately in 15 parks and other plantations outside both botanical gardens in Latvia. Re-inventory of dendrologically richest collections was realized during 2006-2010 in the whole territory of Latvia, when all planted taxa of genus *Tilia* were analyzed. During inventorying, 33 dendrological objects were observed (National Botanical gardens, LU Botanical gardens, Kalsnava arboretum as well as dendrologically most valuable arboretums and parks).

Following infraspecific taxa of *T. tomentosa* were recognized in Latvia during inventorying:

*Tilia tomentosa* ‘*Subvitifolia*’ (Syn. *T. tomentosa* var. *subvitifolia* Borb.) Leaf margin coarsely irregular toothed, leaf blades on well-growing shoots nearly trilobed. This taxa found only in two places – Skrīveru dendarium and arboretum Kalsnava. Winter hardiness has not been studied sufficiently, similar as *T. tomentosa* for known trees.

*Tilia tomentosa* ‘*Petiolaris*’ (Syn *T. petiolaris* DC., *T. tomentosa* subsp. *petiolaris* (DC.) Soo, *T. alba* pendula hort.) Trees with compact, rounded crown and slightly pendulous branches. Leaves with long petioles and sharply toothed leaf blade. Cultivated rarely (National Botanic gardens, Ventspils city), winter hardiness similar as *T. tomentosa*.

Other infraspecific taxa of *T. tomentosa*, that are referred and cultivated in Latvia – *Tilia tomentosa* f. *calvescens* V. Engl., *T. tomentosa* var. *abundantifolia* Wagn., *T. tomentosa* var. *sphaerobalana* Barb., *T. tomentosa* var. *insolita* Wagn. are identified wrongly or it is likely to be considered as taxonomically insignificant.

In recent years, some new cultivated varieties are used in parks, private collections e.o. with a dense, compact canopy, that is more appropriate for public plantations, but with no fully evaluated winter-resistance for the whole territory of Latvia.

*Tilia platyphyllos* ‘Brabant’ Tree with a dense, regular and upright crown. Known only in few places in some private collections and plant nurseries, only young plant material.

*Tilia platyphyllos* ‘Varsaviensis’ Trees with a regular, compact oblong-conical crown. Taxa are planted rarely in some private collections and plant nurseries, only young plant material. Investigation is financially supported by ESF Project No. 2009/0140/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/015

### Герасим’юк Н.

#### ОСОБЛИВОСТІ ФЛОРИ РЕКРЕАЦІЙНОЇ ЗОНИ М.ОДЕСИ

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна

e-mail: natashka\_201016@mail.ru

Наші дослідження проводилися на територіях дачних обійсть між 8-ю станцією Чорноморської дороги та 13 станцією Великого Фонтану м. Одеси. Було зібрано і визначено 137 видів рослин, які належать до 116 родів та 59 родин. Таку невелику, порівняно з даними інших авторів (Васильєва-Немерцалова, 1996; Немерцалов, 2008), кількість таксонів рослин ми пояснюємо тим, що вказані автори вивчали флору всього міста, а метою наших досліджень було дослідити лише флору частини його території.

Найбільшою кількістю видів у дослідженій флорі представлені родини Asteraceae (17 видів, 16 родів) та Rosaceae (18 видів, 14 родів). Таке положення родини Айстрових, з одного боку, підкреслює належність флори до регіональної та синантропної (Протопопова, 1991; Васильєва-Немерцалова, 1996), а високе положення родини Розових вказує на наявність в обійстях дослідженої території великої кількості культивованих рослин.

У дослідженій флорі за життєвими формами домінують трав’янисті рослини (58% видів), найменше ліан (4%). За тривалістю життя переважають багаторічники – 103 види, найменше дворічників – 6 видів. У степовій зоні домінують геліофіти та ксеромезофіти (Протопопова, 1991). У досліджуваній флорі за гігроморфою переважають мезофіти – 75 видів, найменше гігрофітів – 2 види. За геліоморфою переважають геліофіти – 53% видів, найменше всього представлені сциофіти – 1%. Наші дані збігаються з даними інших дослідників (Васильєва, Коваленко, 2003).

Фракційний аналіз флори виявив, що переважають адвентивні види – 79 видів, апофітів – 56 видів. Серед адвентивних видів за хронотипом домінують кенофіти (69 видів).

За господарським значенням переважають декоративні рослини (84 види). Наприклад, *Buxus sempervirens* L., *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud., *Albizia julibrissin* Durazz., *Hibiscus silyacus* L., *Mahonia aquifolium* Nutt. та ін. Лікарських рослин – 66 видів, наприклад, *Juglans regia* L., *Arctium lappa* L., *Aesculus hippocastanum* L., *Papaver rhoeas* L., *Pyrus communis* L. та ін. Харчових рослин – 53 види, наприклад, *Morus alba* L., *Cucumis sativus* L., *Armeniac vulgaris* Lam., *Ribes rubrum* L. та ін. Вітамінних рослин – 34 види, наприклад, *Malus domestica* Borkh., *Fragaria viridis* Duch., *Morus nigra* L., *Persica vulgaris* Mill. та ін. Медоносних рослин – 33 види, наприклад, *Cichorium intybus* L., *Consolida regalis* S.F. Gray, *Grossularia reclinata* (L.) Mill., *Cotoneaster integerrimus* Medic., *Spiraea alba* L. та ін. Бур’янів є 32 види, наприклад, *Silene subconica* Friv., *Urtica dioica* L., *Oxybaphus nyctagineus* (Michx.) Sweet, *Achillea leptophylla* Bieb. та ін. Кормових рослин – 26 видів, наприклад, *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Sambucus ebulus* L., *Sonchus arvensis* L., *Salix fragilis* L. та ін. Технічних рослин – 26 видів, наприклад, *Acer negundo* L., *Beta vulgaris* L., *Populus deltoides* Marsh., *Populus simonii* Carag. та ін. Ефіроолійних рослин – 18 видів, наприклад, *Erigeron canadensis* L., *Melissa officinalis* L., *Sambucus nigra* L. та ін. Отруйних рослин – 16 видів, наприклад, *Ficaria verna* Guett., *Chelidonium majus* L., *Amygdalus communis* L., *Cydonia oblonga* Mill. та ін. Красильних рослин – 15 видів, наприклад, *Artemisia annua* L., *Tagetes patula* L., *Alcea rosea* L., *Saponaria officinalis* L. та ін. Дерев’янистих рослин – 14 видів, наприклад, *Betula pendula*

Roth., *Tilia cordata* Mill., *Populus simonii* Carr., *Taxus baccata* L., *Celiis occidentalis* L. та ін. Олійних рослин – 13 видів, наприклад, *Atriplex hortensis* L., *Lycium barbatum* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Cerasus vulgaris* Mill. та ін.

Таким чином, вивчена флора є невід’ємною частиною флори Одеси, але має характерні риси: переважання рослин із родини Розові у таксономічному спектрі флори, мезофітів серед гігморф та геліофітів серед геліоморф, адвентивних рослин серед фракцій флори і декоративних та лікарських за господарською цінністю.

### Грабовська І.

#### ОСОБЛИВОСТІ БІОЛОГІЇ ДЕЯКИХ ІНТРОДУКОВАНИХ СОРТІВ РОДУ ЛІЛЕЙНИХ В УМОВАХ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОГО ПРИЧОРНОМОР’Я

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова*  
*Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна*  
*e-mail: mika4k@bk.ru*

Рослини роду *Nemeroscallis* L. завдяки високій декоративності й широкій екологічній пластичності вже давно набули популярності в усьому світі, оскільки стали надзвичайно цінною культурою для озеленення. Проте існуючий асортимент *Nemeroscallis hybrida* hort. представлений переважно сортами американської та західноєвропейської селекції, які характеризуються недостатньою пристосованістю до едафо-кліматичних умов України.

Інтродукційному вивченню *Nemeroscallis* в Україні присвячені праці Т.О. Щербакової (2005, 2009), Р.К. Матяшук-Гришко, Т.Ф. Чипиляк (2005), І.І. Крохмаль (2007, 2008) та ін. Ними зроблено висновок про достатній ступінь адаптації деяких видів і окремих сортів роду до умов Донбасу та Лісостепу України. Однак дані про інтродукцію роду в Північно-Західне Причорномор’я відсутні. Встановлено, що представники роду *Nemeroscallis* L. (лілійник) мало поширені в декоративному озелененні м. Одеси (Крицька, 2008). Тому завданням даної роботи було: за результатами інтродукційного випробування визначити сорти роду лілійних колекційного фонду ботанічного саду ОНУ імені І.І. Мечникова, перспективні для збагачення асортименту багаторічних квітничково-декоративних рослин, залучених до практичного озеленення даного регіону.

Оцінку успішності інтродукції визначали за методикою М.А. Смолінської (2002). Взяті до уваги 8 основних показників життєздатності: ріст монокарпічного пагона, цвітіння, плодоношення, вегетативне розмноження, стійкість до хвороб і шкідників, посухо- та морозостійкість, життєздатність та самовідновлення. За 5 бальною шкалою найменша інтегральна оцінка може бути 8, найбільша – 40 балів. Найвища життєздатність рослин оцінювалася 40 балами і відображала найвищі оцінки за всіма показниками. Відповідно до рівня адаптації, інтродуценти поділено на 4 групи перспективності (I (32-40 балів) – дуже перспективні, II (24-31 бал) – перспективні, III (16-23 бали) – мало перспективні, IV (8-15 балів) – не перспективні). За декоративними ознаками максимальну оцінку отримали гібриди з мініатюрною квіткою, округлої махрової форми, двоколірні з чистим забарвленням, на долях оцвіттини яких є рисунок, тривалого періоду вегетації та цвітіння, з міцними квітконосами і компактними суцвіттями.

Дослідження продуктивності цвітіння та кількості квіток у суцвітті дозволило охарактеризувати декоративність сорту. Високою продуктивністю цвітіння (11-25 квітконосів на третій рік після посадки) характеризувалися 3 сорти, переважно з мініатюрною квіткою. Найбільша кількість квіток у суцвітті (25–35 шт.) була зазначена у 5 сортів. Дослідженнями, що проведені на третій рік після пересадки, встановлена середня продуктивність вегетативного розмноження (10-20 вегетативних пагонів на рослину) у 5 сортів. Зафіксовано великий відсоток зав’язування насіння (60,57–77,31%) при вільному запиленні у 8 сортів. Це свідчить про високий рівень їх адаптації до умов інтродукції та дає змогу рекомендувати досліджувані сорти для використання в селекційній роботі. При оцінці сортів найбіль-

шу кількість балів надали тим з них, що мають велику кількість квіток у суцвітті, високий показник продуктивності цвітіння, вегетативного розмноження, посухо- та морозостійкості, не пошкоджувалися хворобами і шкідниками.

Результати проведення комплексної порівняльної сортооцінки за декоративними ознаками дали змогу виділити перспективні сорти лілійнику, які набрали більше 80 балів і є цінними для декоративного садівництва. Такими виявилися всі сорти, що нами вивчалися: ‘Blushing Belle’, ‘Cherry Lace’, ‘King of Hearts’, ‘Luxury Lace’, ‘Radiant Greetings’, ‘Red Fountain’, ‘Speak to me’, ‘Sugar Candy’, ‘Wally Nance’.

Автор щиро дякує старшому науковому співробітникові ботанічного саду ОНУ імені І.І. Мечникова Тамарі Вікторівні Крицькій за допомогу у проведенні роботи.

### **Jasińska A., Chen W.**

#### COMPARISON OF MYCELIUM GROWTH OF STRAINS OF *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING ON DIFFERENT SUBSTRATES

*Poznan University of Life Sciences*

*Dąbrowskiego, 159, Poznan, 60-594, Poland*

*e-mail: jasińska.a@gmail.com*

Obtaining the high yield is one of the most important issue that modern mushroom growers focus on choosing the substrate for cultivation. Crop commodity, which very often depends on the speed of mycelium growth, is usually done on sawdust of deciduous trees (Siwulski, Sobieralski, 2004; Uhart et al., 2008), however experiments made by numerous authors suggest that also many agricultural wastes could be used as the cultivation substrate (Philippoussis, Diamantopoulou, 2000; Uhart et al., 2008; Omoanghe et al., 2008). The Black poplar mushroom, *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. is a species of edible mushrooms with a wide spectrum of substrate that could be used for it's cultivation. It is very common in the forests of southern Europe, United States and similar climatic zones of the Far East. In nature it grows saprophytically, in clusters on living as well as decaying stumps of mostly deciduous trees such as: poplar, willow, black poplar, ash, elderberry, black locust and Brazilian araucaria (Wright, Alberto, 2002).

The aim of this study was to investigate influence of different substrates on the mycelium growing rate of 3 strains of *Agrocybe aegerita*. In the experiment two kinds of substrates were used: sawdust and straw of energy grasses. Sawdust from four deciduous specimens of trees was used: maple, oak, birch and alder; and straw of six specimens of energy grasses: *Miscanthus giganteus*, *Miscanthus sacchariflorus*, *Miscanthus sinensis*, *Andropogon gerardii*, *Elymus elongates* ssp. *Ponticus* and *Panicum virgatum*. The strains of *Agrocybe aegerita* indicated as AE04, AE09 and AE12, originated from various gene banks in Belgium, Germany, Spain and Poland. Sawdust and straw chopped into 2-5 cm chaff were placed in the biological glass tubes, 18 cm long and 2,0 cm in diameter. The linear growing rate was measured after 18 days of incubation at 25°C.

The investigation showed that growing rate of the mycelium of examined strains depended on the substrate. Substrates prepared from straw of energy grasses appeared to be better substrates for mycelium growth than sawdust, regardless the strain, where the strains showed much quicker and better growth. Comparing the straw of energy grasses the best straw, regardless the strain used in the examination, occurred to be *Miscanthus sinensis* where mycelium growth is the fastest (9,2 cm). All three kinds of *Miscanthus* were found to be very good substrate for mycelium growth, however the differences between the growing rates were statistically important (*M. giganteus* 8,8 cm and *M. sacchariflorus* 8,2 cm). Statistically, the slowest growth was observed on *Elymus elongates* ssp. *ponticus* (7,5 cm), *Panicum virgatum* (7,6 cm). Comparing the four used sawdust, statistically the best growth of mycelium was shown on birch sawdust (6,3 cm) and the alder sawdust (6,0 cm). The slowest growth was observed on the maple sawdust, only 4,2 cm after 18 days of inoculation.

All examined strains demonstrated very quick growing rate without statistically significant difference regardless the substrate used for inoculation.

The results of this investigation show that the energy grasses, especially genus *Mishanthus*, are very good substrate for mycelium growth, much are more efficient than sawdust of deciduous trees.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 035739.

**Jasińska A., Siwulski M.**YIELDING OF *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING. ON DIFFERENT SAWDUST SUBSTRATE

Poznan University of Life Sciences

Dąbrowskiego, 159, Poznan, 60-594, Poland

e-mail: jasińska.a@gmail.com

High yield and good quality of the carpophores is the most important issue that modern mushroom growers focus on during the cultivation work. Crop commodity is usually done on the sawdust of deciduous trees (Siwulski, Sobieralski, 2004; Uhart et al., 2008). *Agrocybe aegerita* is an edible mushroom characterized by high content of protein, easily digested by human gastrointestinal (Petrovska, Kulevanova, 2000; Yildis et al., 2005). The taste of the fresh carpophores is mild and makes a very good composition for the poultry and fish dishes, giving them a gentle pork flavor (Stamets, 2005). In nature Black poplar mushroom grows in clusters on living and decaying stumps of mostly deciduous trees such as: poplar, willow, black poplar, ash, elderberry, black locust and *Brazilian araucaria* (Wright, Alberto, 2002). The cap of *Agrocybe aegerita* is convex, expanding to plane at maturity. Diameter up to 20 cm, yellowish gray to grayish brown, darker towards the center. Gills are at first gray, with spore maturity becoming chocolate brown. Stem is white, adorned with a well developed membranous ring, usually colored brown from spore fall (Uhart, Alberto, 2007).

This experiment was set to investigate yielding of some strains of *Agrocybe aegerita* on the different sawdust. In the experiment two kinds of sawdust substrates were used: birch and beech. The strains of *Agrocybe aegerita* indicated as AE02, AE05, AE06 and AE11, originated from various gene banks in Belgium, Germany, Spain and Poland. Each sawdust was mixed with and moisturized up to 70% of substrate dry matter. As the growing containers polypropylene bottles of 600 g capacity were used. Each bottle was filled with the substrate and covered with the plastic lid with 4 ventilation holes and secured with paraffin. After sterilization the substrate was inoculated with grain mycelium of investigated strains and incubated in 25°C. Later, when mycelium completely overgrown the substrate the temperature was decreased to 15-17°C to initiate primordia formulation. The cultivation was enlighten 10 h/d with day-light lamps 500 lx. The first crop was picked up after 5 weeks after inoculation. The second flush was obtained and picked after 2 week break. The carpophores of black poplar mushrooms were picked up in clusters, no single carpophores were cut out from the sawdust.

The highest yield was obtained of the strain indicated as AE05 and AE06, respectively 74,44 g and 73,39 g. The lowest yield was obtained from the strain AE02 and AE11, 70,77 g and 71,68 g respectively. However, there was difference in the yielding between the strains no statistically significant difference was showed. The best substrate for cultivation of *Agrocybe aegerita* was birch sawdust (72,60 g). The yield on this substrate was higher than on the beech (10,38 g) substrate regardless the strain. Between yielding of investigated strains no statistically significant difference was showed. Separately the weight of single carpophores as well as weight of single cap, as the edible part, was measured. The carpophores of strain indicated as AE02 (3,59 g) and AE05 (3,38 g) characterized with the biggest and heaviest carpophores than the carpophores of strains AE06 (2,48 g) and AE11 (2,06 g). They also appeared to grow the biggest caps. However the amount of carpophores in the cluster was bigger within the strains AE06 and AE11.

The experiment was financed by the Governmental Grant KBN number: N N310 035739.

**Siwulski M., Jasińska A., Sobieralski K., Miran D.**COMPARISON OF GROWTH AND ENZYMATIC ACTIVITY OF *LAETIPORUS SULPHUREUS* (BULL.: FR.) MURRIL MYCELIUM ON THE SAWDUST SUBSTRATE

Poznan University of Life Sciences

Dąbrowskiego, 159, Poznan, 60-594, Poland

e-mail: jasińska.a@gmail.com

*Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murril has been reported as cosmopolitan polypore fungus that causes brown rot in systems of mature and over-mature old-growth trees in forests and urban areas from boreal to tropical zones (Vasaitis et al., 2009). *L. sulphureus* can be harvested as an edible fungus and because of its medical activities like antitumor, antiviral, antimicrobial and immunomodulating treatments (Wesser, Wiess



1999; Zjawiony, 2004). It is characterized by orange, fleshy basidiocarps and tubular hymenophores ( Banik, Burdsall, 1998).

In the following experiment growth and the *L. sulphureus* mycelium of 4 strains enzymatic activity: LS06, LS07, LS09, LS15 on the beech sawdust substrate was investigated. Listed strains came from the Mushroom Gene Bank of Poznan University of Life Sciences Vegetable Crops Department. The beech sawdust was enriched with wheat bran (20% of substrate dry matter of the substrate). Substrate was moisturized up to 60% of the substrate dry matter, and placed in the biological glass tubes, 16 cm long and 4,0 cm in diameter, than sterilized 30 min at 121°C. The cooled substrate was inoculated with the mycelium of investigated strains. The incubation was held for 10 days. After the incubation the mass of the mycelium overgrown substrate was measured and sampled for the enzymatic activity by the laccase analysis. The linear growing rate was measured after 18 days of incubation at 25°C.

The investigation showed the fastest growing rate of the mycelium strain LS06, the strain LS15 showed moderately slower growing rate, where the slowest was represented by the strain LS07 and LS09. Laccase activity was higher in strains named LS 06 and LS08 comparing to strains LS07 an LS15. There was no overlap between the mycelium growth rate and its enzymatic activity of laccase.

### **Karklins J.**

FACTORS WHICH INFLUENCE ON DEVELOPMENT OF COMMON YEW (*TAXUS BACCATA* L.)

*University of Daugavpils*  
*Parades iela, 13, Daugavpils, 5401, Latvia*  
*e-mail: janis.karklins@liepu.lv*

Ordinary yew (*Taxus baccata* L.) is one of the most protected plants in Latvia. Under natural conditions, it can be found in some places, mainly in the Kurzeme coast. Investigating the yew stands can be stated that their development is impaired. It was observed the development of older trees disorders and less observed the reproduction of yew. The study was carried out to clarify the situation in the two largest natural yew stands in Kurzeme – Nīca and Rucava. The study was conducted under field conditions and also in the laboratory. The main methods described in the work are surveyed of yew stands, soil and soil water sampling, pH analysis and determination of light level in yew stands. The study found that the normal development of the yew hampered by various adverse factors. The main factor is soil bogging and other species expansion. Without detailed proposals ordinary yew species may disappear from territory of Latvia at all. This study was conducted with aim to identify the problems affecting this species and factors that adversely impact the its development. Investigations will continue on the species further research, monitoring and proposal for its development.

### **Каземірська М.**

СТАН ПОПУЛЯЦІЙ *FRITILLARIA MONTANA* NORPE (LILIACEAE) В ХОТИНСЬКОМУ ПРИРОДНОМУ РАЙОНІ (ПРУТ-ДНІСТРОВ'Я)

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,*  
*вул. Федьковича, 11, м. Чернівці, 58022, Україна*  
*e-mail: mariya-arabella@mail.ru*

*Fritillaria montana* Норпе – цибулинний ефемероїдний геофіт, рідкісна високодекоративна ранньовесняна рослина. Це – зникаючий південно-європейсько-балканський вид, загальний ареал якого охоплює Центральну та Південну Європу (Вініченко, 2006). На території України *F. montana* трапляється на північно-східній межі ареалу і відома з Хмельницької, Чернівецької та Одеської областей (Діденко, 2006; Красная книга СССР, 1984). Вид, занесений до другого і третього видань “Червоної книги України” (1996, 2009), в Додаток I до «Бернської конвенції» (Вініченко, 2006; Каталог..., 1999).

На підставі опрацювання літературних матеріалів, фондів Гербаріїв (KW, LWKS, CHER) та ре-

зультатів власних польових досліджень встановлено, що у Чернівецькій області *F. montana* відома тільки з Прут-Дністровського межиріччя, де виявлено 9 локалітетів (Каземірська, 2010; Свиридюк, 2010).

Більшість місцезнаходжень виду виявлені впродовж останнього десятиліття. Це стосується і популяції *F. montana* в околицях с. Крутеньки Хотинського району Чернівецької області. Інформації про стан популяції до цього часу не було. Тому одним із наших завдань є висвітлення питань еколого-ценотичної приуроченості виду та вікової структури. Дослідження проводилися протягом 2009-2010 р. Географічне розташування популяції таке: Хотинський район, околиці с. Крутеньки, Хотинський Держспецлісгосп, Новоселицьке лісництво, кв. 2. Популяція приурочена до ділянки липово-ясеневого лісу, яка оточена кленом. Деревний ярус (зімкненість 0,7–0,8) формують *Fraxinus excelsior*, *Tilia cordata* Mill., співдомінує *Acer platanoides* L., поодинокі трапляється *Phellodendron amurense* Rupr. Другий ярус деревостану утворюють *Carpinus betulus* L., *Acer pseudoplatanus* L., *A. tataricum*, *Crataegus curvisepala* Lindm., *Cerasus avium* (L.) Moench. У чагарниковому ярусі ростуть *Swida sanguinea*, *Sambucus nigra*, *Euonymus europaea*, *Viburnum lantana* та *V. opulus* L. Проективне покриття трав'яного ярусу – 50-80%. У складі ценозу з числа ранньовесняних ефемероїдів виявлено *Isopyrum thalictroides* L. Трав'яний ярус переважно утворюють *Aegopodium podagraria* L. (15–40%), *Stellaria holostea* L. (2-7%), *Galium aparine* L. (5-7%), *Veratrum nigrum* L. (2-3%), *Geum urbanum* L. (2-3%), *Polygonatum hirtum* (1-2%). Трапляється також низка адвентивних видів *Phalacrolooma annuum* (L.) Dumort., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Arctium lappa* L., *Veronica hederifolia* L., *Viola arvensis* Murr., що свідчить про синантропізацію цього угруповання. З числа рідкісних, занесених до “Червоної книги України” (2009), рослин виявлено *Lilium martagon* і *Neottia nidus-avis* (L.) Rich.

Площа популяції *F. montana* становить близько 0,5 га. Щільність особин (2010 р.) становить  $386,0 \pm 84,39$  на м<sup>2</sup>. Частка ювенільних, іматурних, віргінільних та генеративних особин – відповідно: 81,35 (j), 2,59 (im), 2,33 (v), 1,29 (g). Встановлено, що для дослідженої популяції *F. montana* характерна висока щільність особин та лівосторонній віковий спектр з максимумами на ювенільних та віргінільних особинах і мінімумом на генеративних особинах.

Подібним віковим спектром характеризується і популяція *F. montana* з Національного природного парку «Подільські Товтри» (Любінська, 2000) і популяції цього виду з інших локалітетів Прут-Дністров'я (Токарюк, 2008, Каземірська, 2010, Свиридюк, 2010). Значення індексу відновлення (I) для популяції *F. montana* у 2010 році є високим (72,4). Упродовж 2009 року значення індексу відновлення в межах цієї популяції становило – 25,61. Збільшення індексу відновлення є ознакою переважання у популяції прегенеративних особин, що є наслідком активізації процесів відтворення виду (вегетативне та насіннєве розмноження). З метою збереження популяції *F. montana* необхідно створити тут заказник місцевого значення і продовжувати моніторингові дослідження її стану.

### **Кокар Н., Тимків Ю.**

#### **ЯВИЩЕ ВЕГЕТАТИВНОЇ РУХЛИВОСТІ У КОРОТКОКОРЕНЕВИЩНОЇ РОСЛИНИ ВОЛОШКИ ЛУЧНОЇ (*CENTAUREA JACEA* L., ASTERACEAE)**

*Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника, Інститут природничих наук,  
вул. Галицька, 201, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна  
e-mail: kokar\_nata@mail.ru*

Волошка лучна – короткокореневищна рослина, яка під час проходження онтоморфогенезу здатна до незначної вегетативної рухливості. Щорічне відновлення рослини відбувається з бруньок, що розташовані на кореневищі та в основах відмерлих пагонів. З персистентністю – наявністю відносно невідмираючих частин пагонів пов'язано явище базомеризації пагонової системи, складовою частиною якої виступає резидофікація. Аналіз та оцінка пагонових систем за характером персистентності має дуже важливе значення для пізнання природи їх морфологічної організації, виявлення еволюцій-

них тенденцій та взаємозв’язків з умовами навколишнього середовища. Вегетативну рухливість досліджували в умовах природного місцезростання виду використовуючи класифікацію біоморф за особливостями їх онтогенезу, розроблену для моноцентричних, поліцентричних і неявнополіцентричних видів В.О.Смірною та ін. (Смірнова, 1976).

Дослідили, що у волошки лучної кореневище формується з бруньки, яка розташована в зоні відновлення. Брунька відновлення має конусоподібну форму та міцні тканини для кращого просування у твердому субстраті. Довжина міжвузль кореневища є незначною, як інтенсивність його наростання, у результаті чого формується коротке кореневище й рослина, відповідно, називається короткочореневищною. Компактне кореневище формується мініморезидами – це підземні резиди з вкороченими міжвузлями, що утворюються після повного некрозу надземних ортотропних довгих і коротких частин пагонів. Гемісимподіальне наростання кореневища, яке спостерігали у волошки лучної, відбувається за рахунок мініморезидних тетракормусів. За кількістю резидних монокормусів визначали вік рослини.

Пагони розростання у *C. jacea* L. утворюються з бічних бруньок діагеотропно – це пагони кореневищного походження, яким властиве як симподіальне, так і моноподіальне відновлення (змішане). Симподіальне відновлення виникло з моноподіального у результаті затримки росту головної осі і продовженням росту за рахунок бічних бруньок заміщуючи цим головну – медіальну вісь пагона. Симподіальне відновлення є прогресивним фактором у житті трав’яних рослин, оскільки збільшує тривалість їх життя та посилює вегетативне розростання. Силептичні пагони базитонного куціння утворюються з бруньок, які ростуть косопагогеотропно до медіальної осі та відновлюються виключно моноподіально, за рахунок діяльності верхівкової бруньки. Пагони розростання чітко корелюють з початковим підземним ростом навідміну від силептичних пагонів базитонного куціння, що корелюють з надземним ростом та розвиваються з бруньок, які не мають періоду спокою, одразу після дозрівання.

Після завершення цвітіння та плодоношення, як показали наші спостереження, вся надземна частина пагона відмирає до поверхні ґрунту. Тканини піддаються руйнуванню в результаті некротичних процесів, які у волошки лучної починаються виключно зверху і розповсюджуються до базальної частини пагона, а саме до органів інновації, блокуючи їх подальший розвиток. У ґрунті залишається тільки базальна частина – нижня зона гальмування та зона відновлення з бруньками відновлення та з силептичними пагонами базитонного куціння, що входять до складу короткометражного кореневища (резиди), яке функціонує не більше 3–4 років. Деякі мініморезиди в структурі кореневища живуть до 5 років.

### Коваленко О.

#### ІНВАЗІЯ *GRINDELIA SQUARROSA* (PURSH.) DUN. (ASTERACEAE) В ОКОЛИЦЯХ НПП «ПИРЯТИНСЬКИЙ» (ПОЛТАВСЬКА ОБЛАСТЬ)

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна  
Національний науково-природничий музей НАН України,  
вул. Б. Хмельницького, 15, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: corydalis@ukr.net

*Grindelia squarrosa* (Pursh.) Dun. – високоінвазійний адвентивний вид, кенофіт північноамериканського походження, що легко освоює антропогенно порушені екотопи та здатний проникати у природні угруповання (Протопопова, 1992; Протопопова, Мосякін та ін., 2009), тобто його можна віднести до групи видів, що подолали F-бар’єр (Richardson, Ryšek et al., 2000). Перша знахідка виду в Україні припадає на 1949 рік (Білик, 1950), після чого починається його масова експансія, переважно в степовій зоні (Протопопова, 1973). Довгий час *G. squarrosa* залишалася невідомою для Полтавської області та Лівобережного Придніпров’я. Лише у 1997 році виявлене місцезнаходження на залізничному вокзалі м. Полтава (Байрак, 1997; Байрак, Стецюк, 2008). У 2008 році було наведено ще 3 локалітети, які при-

падають на територію поблизу обласного центру: вздовж дороги «Полтава-Кротенки», неподалік кінцевої зупинки «Левада» у м. Полтава та залізничної станції поблизу с. Копили (Гомля, Давидов, 2008).

Протягом 2009–2010 рр. під час обстежень околиць Національного природного парку (НПП) «Пирятинський» польовим маршрутним методом з метою виявлення та запобігання загрози фітоінвазій у природні екотопи нами була зафіксована численна популяція *G. squarrosa*.

Локалітет виду приурочений до піщано-кам'янистих насипів поблизу залізничного вокзалу м. Пирятин, що розташований на відстані 2 км від меж національного природного парку. У 2009 році ми спостерігали дифузне поширення виду на обмеженій ділянці з одного боку колії. Повторне обстеження наступного року показало значне розширення площі популяції. Найвіддаленіші особини локалізувалися на відстані близько 250 м від місця первинної знахідки. На її ж місці спостерігалось значне домінування *G. squarrosa* (45–50%) заввишки 45–60 см. Помітну участь у травостої брали *Poa compressa* L. (5–10%), *Festuca beckeri* (Hack.) Trautv. (5%), *Medicago falcata* L. (5%). Поодинокими особинами зростали *Linaria vulgaris* Mill., *Echium vulgare* L., *Achillea submellifolium* Klokov et Krytzka, *Medicago sativa* L., *Artemisia vulgaris* L., *Reseda lutea* L.

Таким чином, знахідка *G. squarrosa* в околицях НПП «Пирятинський» – найбільш північна для Полтавщини та Лівобережного Придніпров'я. Популяційна динаміка свідчить про недавнє занесення виду та високу інвазійну небезпеку для напівприродних та природних екотопів НПП, через що необхідно запровадити моніторингові дослідження та вжити карантинних заходів стосовно популяції *G. squarrosa*.

Гербарний зразок *G. squarrosa* переданий до гербарію Київського національного університету імені Тараса Шевченка (KWU).

### Левчик Н.

#### БІОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОСЛИН ВИДІВ РОДУ VITEX L. В УМОВАХ ПІВНІЧНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Національний ботанічний сад ім. М.М.Гришка НАН України

вул. Тімірязєвська, 1, м. Київ, 01014, Україна

e-mail: natasha\_levchik@mail.ru

Рослини роду *Vitex* L. – були відомі та вживані ще з доісторичних часів. Види роду *Vitex* L. мають важливе значення завдяки своїм лікарським, харчовим, медоносним, технічним та декоративним властивостям та можуть бути перспективні для використання у багатьох галузях народного господарства.

Більше 250 видів, що належать до родини Вербенові (*Verbenaceae*), розповсюджені головним чином у тропіках і субтропіках обох півкуль (Вульф, 1969).

У колекції відділу нових культур Національного ботанічного саду інтродуковані три види вітексу: *Vitex agnus-castus* L., *Vitex negundo* (chastetree) L., *Vitex canabifolia* L.

Застосовується в медицині (препарати для гормонозамінної терапії жінок, олія насіння при захворюваннях на рак, кора та листя при дизентерії, плоди та листя в народній медицині при малярії). У харчовій промисловості насіння використовується як прянощі. Медоноси. Деревина для виготовлення меблів та столярних виробів. Молоді пагони для плетіння (Вульф, 1969).

За літературними даними, *Vitex* успішно розмножується насінням (осіння сівба) та живцями на Кавказі та в Криму (Вульф, 1966). Проте у Правобережному Лісостепу України насінне розмноження ускладнене через пізнє досягання насіння. Питання насінного розмноження вітексу є актуальним і до кінця не вирішеним. За М.Г. Ніколаєвою (1985), воно належить до насіння з глибоким типом спокою. Насіння набуває здатності проростати тільки після досить довготривалої холодної стратифікації звичайно за температури 0–7°C, протягом 2–4 місяців та після скарифікації. В зв'язку з інтродукцією в НБС ім. М.М. Гришка проводились дослідження динаміки вмісту ефірної олії вітексу священного протягом вегетації. Встановлена наявність ефірної олії у всіх надземних органах вітексу священного: в листках,

стеблах, бруньках та квітках, які можуть використовуватись як сировина для консервної промисловості. А найбільша кількість ефірної олії утворюється у фазі відростання (Кодинець та ін., 1980). Останнім часом завдяки плідній роботі науковців відділу нових культур НБС ім. М.М. Гришка вдалося досягти насінного розмноження видів роду *Vitex*. Отримано повноцінне насіння і закладена ділянка рослин, вирощених із насіння власної репродукції. Були також виділені форми з світлішими (майже білими) та темнішими за забарвленням квітками.

Метою та завданням нашої роботи є комплексне інтродукційне вивчення рослин видів роду *Vitex*, встановлення особливостей росту, розвитку, продукційного процесу в онтогенезі, визначення основних якісних, кількісних параметрів та в цілому продуктивності рослин, розробка основних способів розмноження та елементів культивування в конкретних екологічних умовах Правобережного Лісостепу України.

Рослини роду *Vitex* дуже привабливі в декоративному плані. Період цвітіння досить тривалий: із червня-липня до серпня, закінчуючись інколи у вересні. Інтродуковані види зимостійкі. Важливою ознакою для успішного культивування є невибагливість до ґрунтів. Красиво і органічно виглядають кущі як в групових посадках, так і як поодинокі солітери.

Завдяки декоративним якостям та морозостійкості і невибагливості до зовнішніх умов рослини видів роду *Vitex* можна з успіхом використовувати в ландшафтному дизайні. Плоди використовуються у фармацевтичній промисловості при виробництві препаратів гормонозамісної терапії (мастодінон, агнукастон, фемікапс, агнус космоплекс та інші), та в харчовій промисловості як замітник духмяного перцю, а ефірна олія – в парфумерній промисловості.

Отже, підсумовуючи, можна стверджувати, що рослини видів роду *Vitex* – перспективні інтродуценти для широкого використання в умовах Правобережного Лісостепу України.

**<sup>1</sup>Swiderski A., <sup>1</sup>Lukaszka K., <sup>2</sup>Mitka J.**

CHEMOTAXONOMIC DIVERSITY OF *ACONITUM MOLDAVICUM* L. IN THE KRAKOW REGION

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, University of Agricultural in Krakow, Poland

<sup>2</sup>Institut of Botany of the Jagiellonian University, Poland

e-mail: [aswider@ogr.ar.krakow.pl](mailto:aswider@ogr.ar.krakow.pl)

*Aconitum moldavicum* L. is a species characteristic of Eastern Carpathians, but in the north-east it reaches the Maiopolska Upland in the Western Carpathians. In Poland *A. moldavicum* is listed as an endangered vascular plant. It is feared that it has disappeared from many of its former sites. The region of Krakow is part of the Maiopolska Upland where the environment is under pressure from housing, industry and mass tourism, which makes the threat even greater. One of the tasks was to check whether *A. moldavicum* sites near the Krakow urban system still exist. As part of the work undertaken in 2010, we tried to find those sites, and watch the blooming plants make photographic documentation and also conduct chemotaxonomic study of phenol compounds contained in leaves with the use of liquid chromatography (HPLC).

Two sub-species differing in pistil pubescence can be circumscribed within *A. moldavicum*: subsp. *moldavicum* with a bare pistil and subsp. *hosteanum* with a pistil fully covered with hair. It is generally believed that they form natural hybrids *A. moldavicum* subsp. *hosteanum* x subsp. *moldavicum* with a pistil covered with hair on the back or with the hair on the inside seam of the pistil. The centre of *A. moldavicum* subsp. *hosteanum* occurrence is in the Ukraine: in Podolia and in the Eastern Carpathians (the Czarnohora Mountains, the Marmarosh Mountains, the Bieszczady Mountains), whereas in the Slovakian part of the Western Carpathians, almost exclusively *A. moldavicum* subsp. *Moldavicum* (Skalicky, 1990) is found. In the rest of Carpathians, including the Maiopolska Upland, both subspecies and their hybrid form (Koziol, Mitka, 2003) occur.

In Poland *A. moldavicum* belongs to the group of mountain species descending to the lowlands. The greatest number of the plant's sites can be found in the Bieszczady Mountains and Sionne Mountains (Eastern Carpathians), in the Niski Beskid, the Sadecki Beskid, the Pieniny (Western Carpathians), and in the

Carpathian Foothills (the Jasio-Sanok Pits, the Przemysl Foothills, the Dynow Foothills) with an "island" of higher occurrence in the Maiopolska Upland. Outside the Carpathians, separate sites of this species were only found in the Niepolomice Forest, in the Roztocze region and in the Swioktokrzyskie Mountains.

This study involved seeking the sites of the plant's natural occurrence near Krakow: in the Ojcew National Park and near the village of Zabierzyw and town of Krzeszowice. *Aconitum moldavicum* was found only at four of the sites reported in the literature: In the Spłosowska Valey (2 sites), in the Pradnik Valey near fish ponds and in the Eljaszowka Valley. But *A. moldavicum* was not found at 6 other sites known since the 19<sup>th</sup> century, namely in Zabierzyw near Kmita Rock, in Dolina Zachwytu, near the villages of Grodzisko and Pieskowa Skala, and in the Sanka and Kluczowda Valleys. This shows that the species has probably died out at many of the sites reported earlier.

Chromatographic analysis revealed that chromatograms of *A. moldavicum* are distinct from those of other *Aconitum* species, and allow the chromatograms to be used as a fingerprint of the species. Identifying differences between the subspecies required further study involving a wider geographic area, because morphological characteristics of the pistil and the chromatographic analysis indicates that almost exclusively *A. moldavicum* subsp. *moldavicum* and their hybrids.

### **Nagy Z., Tóth A., Csabai J.**

#### THE MACROPHYTE'S SURVEY OF THE SMALL RIVER TÚR IN 2010

*János Tuzson Botanical Garden, College of Nyíregyháza,  
H-4400 Nyíregyháza, Systyi St 31/b, Hungary  
e-mail: nagyzolt@nyf.hu*

The once meandering small river Túr enters Hungary at the easternmost point of the country. The landscape of Túr with its sinuous bed rimmed with riparian woods and tree strips, coupled with the mosaic of meadows, forests and backwaters, represent a prominent value. The Hungarian section of the river is ca. 80 km. The natural branch of the river Túr, a 62 km section between the old Tisza bed and the Sonkád gate now functions as a polder channel.

In the August, 2010 a fast habitat survey was carried out along the entire Hungarian section of Túr with special focus on water and waterside macrophytes and associated habitat types. From the two confluences into River Tisza (at the settlements Nagyar and Olcsvaapáti) upstream as far as to Kishydos, 11 localities were surveyed for hydro- and helophytes and hosting aquatic / wetland habitats sampled along representative lengths. The median number of macrophyte taxa per site was 15 while the summed number of species 64, including two protected ones (*Nymphaea alba*, *Salvinia natans*). For a sub-set of species defined by high ecological indicator values for the water-table /soil moisture (range: 10–12) we showed that the most frequent hydrophytes of Túr are *Lemna minor* and *Nuphar lutea*. Whereas the most common emergents are *Glyceria maxima* and *Iris pseudacorus* with over 50% of relative occurrence frequencies, respectively.

In 2010 8 new species compared to previous years were identified; however, 25 spp. were not detected. Our results suggest a declined habitat status in spite of an extremely high precipitation sum coupled with far above-the-average water levels relatively to those in 2008 and 2009.

### **Нсвар Н.**

#### ОСОБЛИВОСТІ ЯРУСНОГО РОЗПОДІЛУ ДЕНДРОФЛОРИ ПАРКУ "ЮНІСТЬ" МІСТА ОДЕСИ

*Біологічний факультет Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова  
пров. Шампанський, 2, м. Одеса, 65058, Україна  
e-mail: ecstasynatali@rambler.ru*

Дослідження проводили у парку Юність м. Одеси, який має площу 0,6 км<sup>2</sup> та розташований у Київському районі. Дендрофлора парку була обрана для досліджень завдяки його розташуванню, а саме на приморських схилах. Нами була досліджена особливість ярусного розподілу дендрофлори

парку, яка представлена 40 видами з 30 родів і 19 родин. Загальна кількість деревно-кущових рослин переважає 1600 особин. Найбільшими родинами за кількістю видів є Rosaceae та Aceraceae. Ці ж родини є провідними і у дендрофлорі м. Одеси загалом (Немерцалов, 2007). Усі інші родини представлені одним-двома видами, що характерно саме для цього парку. За чисельністю особин переважає родина Sapindaceae. Найбільшою кількістю видів характеризуються роди Acer та Prunus. За габітусом уся дендрофлора парку ми розділили на 6 ярусів. Таке розділення є оптимальним для структури багатьох парків. Основним показником, що використовувався для визначення ярусності, був ступінь зімкнутості крони. Градація ярусів складається від найнижчого ярусу до найвищого. Виходячи з отриманих даних, ступінь конкуренції у перших двох ярусах складає 16%, у третьому – 34%, у четвертому – 7%, у п'ятому – 23%, у шостому – 4%. Ступінь конкуренції в останньому ярусі характерний і для інших парків, а розподіл в інших ярусах характерний саме для цього парку. Виходячи з того, що практично всі рослини у парку є інтродукованими, можна зробити висновок, що при насадженні рослин не були взяті до уваги конкуренція видів між собою та біологічні особливості росту певних видів, тому у результаті ми бачимо пригнічення росту рослин у четвертому ярусі. Оскільки парк лежить у житловій зоні, то можна передбачити, що у складі його нижчих ярусів з'являться й інші деревно-кущові рослини.

### Павлюк Н.

#### ТРАВ'ЯНИСТИЙ ПОКРИВ БУЧИН В УМОВАХ АНТРОПОГЕННОГО СЕРЕДОВИЩА ЛІСОПАРКОВОГО ПОЯСУ М. ЛЬВОВА

Національний лісотехнічний університет України  
вул. Ген. Чупринки, 103, Львів, 79057, Україна  
e-mail: nata.pavlyuk@gmail.com

Трав'яний покрив є одним із компонентів деревостану і найважливішим індикатором його стану, який першим реагує на зміни умов зростання. Аналіз його формування в міських і приміських букових фітоценозах становить значний інтерес. Дослідження особливостей росту трав'яної рослинності проводили на облікових площадках десяти пробних площ у букових лісостанах, які піддавалися антропогенному впливу різних ступенів і розміщені у Винниківському лісництві ДП «Львівське лісове господарство», Природному заповіднику «Розточчя», а також у лісопарках м. Львова – «Погулянка» та «Залізни води».

Для кожної облікової площадки визначали зімкнутість та видовий склад трав'яного покриття, домінуючий вид. Найпотужнішим чинником, який визначає якісні та кількісні характеристики трав'янистої рослинності, є освітленість під наметом деревостану. Діапазон цього показника коливався від 1,1 до 64,5% повної освітленості (пряме сонячне світло), що в абсолютних показниках становило 3,0-38,5 тис. лк. Вплив інтенсивності світла починає достовірно проявлятися при суттєвому підвищенні напруженості даного показника.

Аналіз видового різноманіття лісових трав на пробних площах вказує на істотні відмінності його формування у заповіднику, лісництві та парках зеленої зони, що здебільшого залежить від антропогенного впливу на територію.

Видове різноманіття надгрунтового покриття під буковими деревостанами приміських лісів, міських парків та лісопарків разом представлено 44 видами рослин, які належать до 25 родин. Найбільше видів є з родини Asteraceae. У міських букових насадженнях видове різноманіття надгрунтового покриття є більшим (35 видів), на відміну від приміських букових лісів, де аналогічний показник становить лиш 26 видів.

Домінуючими видами тут є *Glechoma hederacea* L., *Galium aparine* L., *Carex sylvatica* L., *Asarum europaeum* L., *Hedera helix* L., *Oxalis acetosella* L., *Dryopteris filix max* (L.) Schott. Ценотична структура піднаметового рослинного покриття букових лісів в основному сформована з лісових та лісочагарникових типів (відповідно 30 і 23%). У парках високим представництвом характеризуються лучні (20% видів) і

рудеральні (16% видів) типи рослинності, особливо яскраво це спостерігається у лісопарку «Погулянка».

Отже, порівнюючи лісову та паркову флору букових насаджень можна сказати, що за видовим складом вони відмінні. У парках спостерігається значна забур'яненість, на що вказує велика кількість рудеральних видів на цій території. Володіючи високою конкурентною здатністю й агресивністю, вони витісняють із паркових територій рослин-едифікаторів букових насаджень.

### **Romanceviča N., Evarts-Bunders P., Evarte-Bundere G., Brutāne K.**

#### NON-NATIVE FLORAL ELEMENTS IN THE FLORA OF DAUGAVPILS CITY

*Daugavpils Univeristy, Institute of Systematic Biology*

*13, Vienibas St. 232, Daugavpils, 5400, Latvia*

*e-mail: nata.kavriga@biology.lv*

Studies of specialists of Institute of Biology, Laboratory of Botany show that already 33% from Pteridophyta and Spermatophyta flora are foreign species (Gavrilova, Šulcs, 1999). To these species belong escapers from gardens as well as invasive or adventive species and foreign tree species that are grown in forest cultures. Most of foreign species can not compete with local species, therefore, in natural ecosystems occur in relatively small areas or their life span is short (<http://biodiv.lv.gma.gov.lv>).

There is 1937 vascular plant species found in Latvia, 1304 – local or indigenous species; 633 – alien species: 293 garden escapee's species, 340 adventive species, according to published data on Latvia's flora in 1999. The majority of non-native species are rare and the prevalence of Latvian territory is uneven. It is necessary to assess the current status of these species in order to gain knowledge about the present distribution of species in Latvia, and to predict the potential change in landscape and ecosystem structure (Kabuce, 2007). Daugavpils is the second largest city of Latvia, located south-east of the country. Of the city's total area (72,48 km<sup>2</sup>), parks and green areas occupy 23,6 km<sup>2</sup>. The last published data about the flora of Daugavpils was published in the year 1985. The list includes 898 species from 420 genera and 98 families, by that time it accounted for 85,4% of the total number of species established in the Eastern Geobotanical district. The list of vascular plants includes 153 species, which are anthropophytes (17% of the total flora of Daugavpils). These comparative data are characterized by diversity of flora around the city for 100 years (Гаврилова, Табака, 1985). There are recurrent inventory made in Daugavpils over the past four years since 2007. Summarizing the DAU herbarium data (herbarium of Laboratory of Systematic Botany in Institute of Systematic Biology) and studies in recent years (from 2007 to 2010) in the city was found 255 non-native species from 47 families. Most species are from the Asteraceae (37 species), Cruciferae (28), Rosaceae (25), Poaceae (25) families. 74% of the identified alien plant species have natural range throughout Eurasia, from them 33% of plants have the natural range in Europe, 22% in Asia and the remaining 45% of all without distinction of Eurasian continent separate parts. 15% of all species are of North American origin, and only 2% of South American. There are species whose natural range takes two continents: Eurasian-North American species (2%) and the Eurasian-African species (5%). Two species have a cosmopolite area – *Camelina sativa* (L.) Crantz and *Datura stramonium* L. *Spiraea x billardii* Hürincq is a species of artificial origin.

### **Sobiech L.**

#### REDUCE RATE OF HERBICIDES APPLIED IN MAIZE – CHANCE FOR INTEGRATED FOOD PRODUCTION

*Poznan University of Life Sciences, Agronomy Department*

*Wojska St. 28, Polskiego, 60-637 Poznan, Poland*

*e-mail: lukaszsobiech@gmail.com*

In developing markets use of agrochemicals is closely related to the economic situation. Industrialization and improved incomes generally result in an increasing demand for food, both in volume and value. Herbicides have been hailed as one of the most important advances in agriculture and they now typically comprise



significant costs in many cropping systems. Postemergence herbicide effectiveness depends on spray droplet retention and herbicide absorption by weed foliage. Adjuvants and spray water quality influence postemergence herbicide efficacy. New trend of spray adjuvants is compounds of oils and fertilizers.

Adjuvants, either as tank-mix or as built-in adjuvant, are used to improve the targeting (wetting and uptake) and thus the performance of crop protection agents and fertilizers. The wish of users to minimize their costs and maintaining the performance of active ingredients has resulted in a steady growth of adjuvant use on a worldwide scale during the last few decades. Both the commercial aspects for users and producers and the improvements in performance of crop protection agents has resulted in the practice that growers are keen to use well performing tank-mix adjuvants (de Ruiter, 2009).

Less than 0,1% of pesticides applied for pest control reach their target pests. Thus, more than 99,9% of pesticides used move into the environment where they adversely affect public health and beneficial biota, and contaminate soil, water, and the atmosphere of the ecosystem. Improved pesticide application technologies can improve pesticide use efficiency and protect public health and the environment (Pimentel, 1995).

The aim of the research was to determine the influence of different additives on the efficacy of herbicides applied in maize. Field trials were conducted using maize grown at the Brody Research and Education Station of Poznan University of Life Sciences. The soil type was luvisoil with a pH ranging from 5,8 to 6,1. Fertilizer and agronomic practices were applied according to State Soil Testing Laboratory recommendations. The experimental design was a randomised complete block with four replicates. The plot size was 2,8 m wide x 10 m long. Each plot contained four rows of maize planted at 70 cm row spacing. Visual assessment was determined as herbicide efficacy.

Results indicate significant increase of efficacy when reduce rate of herbicides were applied with adjuvants. The best results was obtained when methylated seed oil and ammonium nitrate were added to the tank-mix.

**<sup>1</sup>Wojciechowska E., <sup>2</sup>Józwiak A., <sup>1</sup>Trelka T., <sup>3</sup>Jasińska A.**

**CHANGES IN CHLOROPLAST PIGMENTS CONTENT IN THE CULTIVATION  
OF CHRYSANTHEMUM NURSERY ON DIFFERENT SUBSTRATES**

*Poznan University of Life Sciences; <sup>1</sup>Department of Horticultural Plant Nutrition, <sup>2</sup>Department of Plant Physiology,*

*<sup>3</sup>Department of Vegetable Crops*

*Dąbrowskiego 159, Poznan, 60-594, Poland*

*e-mail: e\_wojciechowska@yahoo.com*

Ornamental plants (such as Chrysanthemum) are produced on a mass scale. These are typical short-day plants, blooms on the day of less than eight hours of light. In order to achieve strong floral stems and flowering plants grown in pots the quality of seedlings is important. Chrysanthemum cuttings are produced in many European horticultural farms. The effectiveness of nursery in this species is not only modified by the variety but also age and nutritional status of plants. To improve the growing condition during unfavorable winter months producers use foliar fertilizers, biostimulators and effective microorganisms. In the literature there are no reports regarding the role of post-production waste of *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing in the cultivation of Chrysanthemums. However, positive effect on the cultivation of vegetables (Celikel, Tuncay, 1999; Batista et al., 2000). Black poplar mushroom belongs to the group of fungi which utilize ammonium nitrogen and is in need of using the organic nitrogen, not able to utilize atmospheric nitrogen.

Chlorophylls (chlorophyll a, b), green vegetable pigments, are the most common plants pigments. They occur in green plants organs exposed to light. Chlorophylls have a magnesium porphyrin structure and they are embedded in the thylakoid membranes of chloroplasts. The average level of chlorophylls in leaves is 0,25%, xanthophylls – 0,03% and carotenoids – 0,015%. Chlorophylls play a very important role in biochemical processes occurring the green parts of plants – especially in photosynthesis. They are involved in the light

energy absorption and its conversion into chemical energy (Dżugan, 2006). The content of photosynthetic pigments in plants leaves can be modified by various environmental factors: mainly fertilization, water supply, sunlight. Many authors indicate that chlorophyll synthesis is dependent on the availability of nitrogen. It was found that increased nitrogen fertilization, increases the levels of chlorophyll (Swędzycńska et al., 2008; Niewiadomska et al., 2010; Rumaszk-Rudnicka, 2010).

*Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. is a saprophytic mushroom characterized with a good ability of decomposing lignin and cellulose based substrates. Black poplar mushroom belongs to the group of fungi which utilize ammonium nitrogen not able to utilize atmospheric nitrogen.

In the experiment, the influence of fungal mycelium *A. aegerita* as the source of nitrogen, on the content of chlorophylls and carotenoids in the leaves of Chrysanthemum nursery was investigated.

The experiment was conducted in glasshouse in the period of 19/11/2010 to 22/12/2010 in controlled condition and with high humidity. The cultivation was carried in deacidified sphagnum peat (pH 5,5-6,0) with addition of 8g CaCO<sub>3</sub> and sphagnum peat mixed with waste substrate from cultivation of edible and medical mushroom *Agrocybe aegerita*, in volume ratio 3:1. Healthy and pest free stem cuttings of *Pelargonium zonale* cv. 'Samba' and *Pelargonium hederifolium* cv. 'Ville de Paris Rot' were gathered and potted in these growing media. The control treatment was *Pelargonium zonale* and *Pelargonium hederifolium* grown in sphagnum peat.

The level of chlorophyll (chl. a, chl. b, chl. total) changed during experiment. A significant increase in pigment contents was observed in plants grown in medium enriched with mycelium. As it is known mycelium added to the substrate can be a source of nitrogen and it can influence synthesis of chlorophyll. The level of total chlorophyll at the end of experiment was 16% higher than in control plants and 43% higher than in plants examined at the beginning of experiments.

The level of carotenoids were also measured. Content of carotenoids decreased with the duration of the experiment. Particularly significant decrease was observed in plants grown on the substrate with the mycelium.

**<sup>1</sup>Wojciechowska E., <sup>1</sup>Trelka T., <sup>2</sup>Jasińska A., <sup>3</sup>Józwiak A.**

INFLUENCE OF MYCELIUM OF *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING  
ON RHYSIGENESIS PROCESS OF *PELARGONIUM ZONALE* CV. 'SAMBA'  
AND *PELARGONIUM HEDERIFOLIUM* CV. 'VILLE DE PARIS ROT'

Poznan University of Life Sciences; <sup>1</sup>Department of Horticultural Plant Nutrition, <sup>2</sup>Department of Vegetable Crops,  
<sup>3</sup>Department of Plant Physiology  
Dabrowskiego, 159, Poznan, 60-594, Poland  
e-mail: e\_wojciechowska@yahoo.com

'*Pelargonium* are worldwide valued bedding plants. The long period of flowering and tolerance to adverse weather conditions makes them cast all kinds of containers and eagerly planted in the green areas. Annual production of these crops is calculated in units and quotations millions. *Pelargonium* in Dutch Flower Market occupy a leading position in terms of quantity and value of plants among the discount.

In order to obtain high-quality, producers buy *Pelargonium* in the semi-finished specialty companies in the form of rooted cuttings, which saves time and energy. Keeping *Pelargonium* nursery in Eastern Europe due to high costs for heating greenhouses and growing need for lighting is not profitable. Companies specializing in the production of plants in most nurseries grow *Pelargonium* in Africa where from the elite, virus free plants cuttings are received. Unrooted cuttings are transported by air to Europe, where they are rooted in large horticultural company and then sold to gardeners.

Black poplar mushroom *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. is tasty and valuably edible mushroom known and cultivated for more than 2000 years in the countries of the Mediterranean Basin (Watling, 1992). Cultivation of mushrooms involve huge mass of waste cultivated substrate for utilizations. The most common use is as a pasture for farm animals and a substrate for cultivation of other edible mushroom. Lately a new

application has been practiced as an addition for the cultivation of vegetables, fruits as well as ornamental plants (Celikel, Tuncay, 1999; Batista et al., 2000). The post-production substrate is rich in organic matter and due to its structure improves the aeration and structure of the cultivated substrate.

The aim of this investigation was to assess the influence of waste substrate from cultivation of *A. aegerita* on the root formation process and quality of cuttings of the pelargonium varieties.

The experiment was conducted in glasshouse in the period of 19/11/2010 to 22/12/2010 in controlled condition with high humidity. The rooting substrate was a deacidified sphagnum peat (pH 5,5-6,0) with addition of 8g CaCO<sub>3</sub> and sphagnum peat mixed with waste substrate from cultivation of edible and medical mushroom *Agrocybe aegerita* in volume ratio 3:1. Healthy and pest free stem cuttings of *Pelargonium zonale* cv. ‘Samba’ and *Pelargonium hederifolium* cv. ‘Ville de Paris Rot’ were gathered and potted in these growing media. The control treatment was *Pelargonium zonale* and *Pelargonium hederifolium* grown in sphagnum peat.

The influence of the substrate from cultivation of *Agrocybe aegerita* was evaluated (length and size of roots was measured). *Pelargonium zonale* control treatment gave 100% rooted cuttings and the average length was 17,39 cm. Roots in control treatment were longer than those in treatment with waste from cultivation of *A. aegerita* - about 6,71 cm.

The conducted experiment showed the growing medium had not improved the quality of cuttings and the rooting process of two varieties of *Pelargonium*: *P. zonale* cv. ‘Samba’ and *P. hederifolium* cv. ‘Ville de Paris Rot’. In case of *Pelargonium hederifolium* the average length of roots was 12,63 cm in control treatment and it was longer than treatment with waste from cultivation of *A. aegerita* about 1,53 cm.

**<sup>1</sup>Wojciechowska E., <sup>2</sup>Jasińska A., <sup>3</sup>Józwiak A., <sup>1</sup>Trelka T.**

EFFECT OF POST-PRODUCTION SUBSTRATE OF *AGROCYBE AEGERITA* (BRIG.) SING.  
ON CHLOROPLAST PIGMENT CONTENT IN THE CULTIVATION OF *PELARGONIUM ZONALE* CV.  
‘SAMBA’ AND *PELARGONIUM HEDERIFOLIUM* CV. ‘VILLE DE PARIS ROT’

*Poznan University of Life Sciences; <sup>1</sup>Department of Horticultural Plant Nutrition, <sup>2</sup>Department of Vegetable Crops,*

*<sup>3</sup>Department of Plant Physiology*

*Dąbrowskiego, 159, Poznan, 60-594, Poland*

*e-mail: e\_wojciechowska@yahoo.com*

*Pelargonium* are multi-purpose ornamental plants. Among this group nearly 270 species the most common are two varieties *Pelargonium zonale* and *Pelargonium hederifolium*. For hundreds of years, these two species were used to decorate both green areas and all types of containers. In gardening, rising production costs force growers to look for effective ways to reduce these costs. Gardeners are still searching for methods to intensify production through the faster rooting and plant growth.

*Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. is widely known edible mushroom cultivated for more than 2000 years in the countries of Mediterranean Basin (Watling, 1992). It is a saprophytic mushroom characterized with a good ability of decomposing lignin and cellulose based substrates. Black poplar mushroom belongs to the group of fungi which utilize ammonium nitrogen not able to utilize atmospheric nitrogen. Post-production substrates, can be a valuable addition to the substrate during cultivation, thus lowering production costs due to the nitrogen content. It is rich in organic matter and by its structure improves the aeration of the cultivated substrate. Investigation made by other authors show the post-harvested substrate can be used as an addition for the cultivation of vegetable, fruits as well as ornamental plants (Celikel, Tuncay, 1999; Batista et al., 2000).

Chlorophylls are the most common plant pigments. They occur in leaves and other parts of plant exposed to light. Chlorophyll is located in the chloroplasts, and with other pigment – carotenoids, they form the complex with a specific protein. The average level of chlorophylls is 0,25%, xanthophylls – 0,03% and carotenoids – 0,015%. Chlorophylls play a very important role in biochemical processes occurring in the green parts of plants. Together with carotenoids are involved in the light energy absorption and its conversion into chemical

energy (Dżugan, 2006). The content of photosynthetic pigments in plants leaves can be modified by various environmental factors: mainly fertilization, water supply, sunlight. Many authors indicate that chlorophyll synthesis is dependent on the availability of nitrogen. It was found that increased nitrogen fertilization, increases the levels of chlorophyll (Swędryńska et al., 2008; Niewiadomska et al., 2010; Rumas-Rudnicka 2010).

The aim of this study was to investigate the effect of mycelium of fungi *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. on the chlorophyll content in leaves. The experiment was conducted in glasshouse in the period of 19/11/2010 to 22/12/2010 in controlled condition and with high humidity. The cultivation was made in deacidified sphagnum peat (pH 5,5-6,0) (control) and sphagnum peat mixed with post-harvest substrate *A. aegerita*, in volume ratio 3:1. Healthy and pest free stem cuttings of *Pelargonium zonale* cv. 'Samba' and *Pelargonium hederifolium* cv. 'Ville de Paris Rot' were gathered and potted in these growing media.

The level of chloroplast pigments was determined in two varieties of *Pelargonium* at the beginning of the experiment (before adding the mycelium) and at the end. Changes in chlorophyll content during the experiment has been noted. The increase in chlorophyll content was observed in control plants compared to plants before the experiment. However, in plants grown on medium with the addition the growth rate in comparison to the plants before the experiment was much smaller. Chlorophyll content (chl. a, chl. b, chl. total) in plants grown on medium with mycelium was significantly lower than in control plants. The differences between the tested varieties of *Pelargonium* have been observed. *Pelargonium hederifolium* cv. 'Ville de Paris Rot' showed significantly decrease of the chlorophyll contents in plants grown on medium with the addition than within *Pelargonium zonale* cv. 'Samba'. The further analysis showed also increase content of carotenoids in both of the investigated varieties cultivated on the substrate with the addition of post-harvested substrate.

The inhibitory influence was noted in treatment with waste from cultivation of *A. aegerita* more susceptible was *Pelargonium hederifolium*. In both varieties cuttings rooted in the control media presented higher quality.

### **Залевадна В.**

#### **ФЛОРА ЗАКАЗНИКІВ ЧЕЧЕЛЬНИЦЬКОГО РАЙОНУ ВІННИЦЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова  
пров. Шампанський 2, м. Одеса, 65058, Україна  
e-mail: vetta1989@mail.ru*

Охорона природи – це необхідність, потреба людству для виживання. Рідкісні та зникаючі види, реліктові й ендемічні рослини мають велику наукову і практичну цінність. Вони є стародавніми генетичними комбінаціями – цінним генофондом дикої флори. Ці рослини є свого роду акумуляторами різноманітної біогеографічної інформації. Вони можуть бути використані для моделювання біогеографічних умов часу їх виникнення.

Метою наших досліджень було ознайомитися з флорою існуючих та запропонованих до включення у список заповідних територій Чечельницького району, а також визначити види, занесені до Списку рідкісних та зникаючих рослин області та Червоної книги України.

На землях радгоспу Чечельницького цукрокомбінату розпорядженням Ради міністрів УРСР № 324 від 28.12. 1989 року створено ботанічні заказники місцевого значення - «Терещуків яр» площею 3,8 га та «Ромашкове» (урочище «Крутогори») площею 8,7 га.

Характерною особливістю урочища «Терещуків Яр» є реліктова рослина – відкашник татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Bess. ex. Szafer et al.). В урочищі «Крутогори» серед рідкісних рослин трапляється ковила волосиста (*Stipa capillata* L.). В урочищі Вишенька (Покотилова, Нагириякова та Яцькова стінки), що розташовані у містечку Чечельник, ростуть рідкісні рослини, серед яких – *Stipa capillata* L., вишня степова – *Cerasus fruticosa* Pall., півники угорські – *Iris hungarica* L. тощо.

У ботанічних заказниках Чечельницького району, крім того, зростають як широко розповсю-

джені, так і рідкісні для України види рослин, як, наприклад, рівноплідник рутвицелистий – *Isopyrum thalictroides* L., дуб скельний – *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl., дерен справжній *Cornus mas* L., плющ звичайний *Hedera helix* L., явір *Acer pseudoplatanus* L., свидина кров'яна – *Swida stolonifera* (Miehx.) Rydb., скополія карніолійська – *Scopolia carniolica* L., егоніхон фіолетово-голубий – *Aegonychon purpureo-coeruleum* (L.) Holc, осока парвська *Carex brevicollis* DC., коручка пурпурова *Epipactis purpurata* Smith, шоломниця висока – *Scutellaria altissima* L., перлівка одно квіткова – *Melica uniflora* Retz., лазурник трилопатовий – *Laser trilobum* (L.) Borkh., півники угорські – *Iris hungarica* Waldst. et. Kit., фізаліс звичайний – *Physalis alkekengi* L., ряст Маршала – *Corydalis marschalliana* Pers., бруслина карликова – *Euonymus nana* Bieb. та інші. Усього нами було знайдено 74 види квіткових рослин з 61 роду та 18 родин.

Крім цього, на території, де планується побудувати Національний парк, знайдено рослини, занесені до Червоної книги України, серед яких *Galanthus nivalis* L., *Allium ursinum* L., *Tulipa quercetorum* Klok et Zoz. та інші. Найбільшою кількістю видів представлені родини Orchidaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Cornaceae, Fagaceae, Araliaceae, Solanaceae, Cyperaceae, Poaceae, Liliaceae.

Багато рідкісних рослин є лікарськими, і їх ареал постійно зменшується, а запаси майже вичерпані. Не треба забувати також про естетичну та виховну роль живих пам'яток природи – рідкісних і зникаючих рослин. З часом, у майбутньому оригінальні і неповторні рідкісні рослини, ендеміки будуть вважатися національними реліквіями. Втрата будь-якого представника флори для цивілізації – непоправна, і її нині важко оцінити або передбачити.

### Жураківська С.

#### ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ПОПУЛЯЦІЙ *BETONICA OFFICINALIS* L. (LAMIACEAE) НА ПРИЛУКВИНСЬКІЙ ВИСОЧИНІ (ПЕРЕДКАРПАТТЯ)

Інститут природничих наук Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника  
вул. Галицька, 201, м. Івано-Франківськ, 77008, Україна  
e-mail: Sveta.0212@ukr.net

Об'єктом наших досліджень є популяції *Betonica officinalis* L. Дослідження проводились з травня 2007 до 2010 р. Результати отримані на основі дослідження п'яти популяцій. Популяції I і II зростають на території Галицького національного природного парку. Популяція III розташована у Майданському лісництві Івано-Франківського держлісгоспу, популяція IV – на території Ямницького лісництва Івано-Франківського ДЛГ, V – на території Калуського ДЛГ. Внутрішньопопуляційна мінливість вивчалась шляхом морфометричних досліджень репрезентативної вибірки із популяції (50 генеративних осіб) за такими ознаками: висота надземної частини (см); довжина підземної частини (см); довжина листка (см); ширина листка (см); довжина суцвіття (см); довжина черешка (см); глибина залягання кореневища (см); кількість пагонів (шт.); кількість листків на пагоні (шт.); кількість квіток у суцвітті (шт.); маса надземної частини (г); маса підземної частини (г); маса суцвіття (г).

Отримані значення обчислювали варіаційно-статистичними методами (Злобин, 1984; Зайцев, 1973). Прийнято такі рівні варіювання ознак:  $V \leq 15\%$  – низький,  $16 \leq V \leq 25\%$  – середній,  $V \geq 26\%$  – високий (Плохинский, 1970). Всі значення подані у відсотках.

Довжина підземної частини у I, II та IV популяціях належить до високого рівня мінливості (27,96; 28,82; 33,88). Сюди належать також такі ознаки як довжина черешка (41,47; 36,11; 31,28), кількість пагонів (41,95; 31,59; 34,91), маса надземної частини (40,37; 39,36; 33,81), маса підземної частини (42,71; 38,69; 29,28), маса суцвіття (39,76; 33,56; 37,77), кількість квіток у суцвітті (35,93; 32,86; 28,75). До високого рівня мінливості у I популяції належить також ширина листка (29,45); у II – довжина суцвіття (32,51) та кількість листків (28,65); у IV – маса надземної частини (28,29). Такі ознаки, як висота надземної частини (24,07), кількість листків (25,90), довжина суцвіття (23,25), глибина залягання

кореневища (20,46), довжина листка (21,26) у I популяції представлені середнім рівнем варіації. У популяції II сюди належать висота надземної частини (25,12), довжина і ширина листка (24,42 і 22,79), глибина залягання кореневища (21,04); у IV – кількість листків (22,21), довжина і ширина листка (17,60 і 16,78), глибина залягання кореневища (21,46). До низького рівня варіації в останній популяції належить висота надземної частини (13,16).

Для III і V популяцій ознаками з високим рівнем варіації є кількість пагонів (39,27; 39,72), кількість квіток у суцвітті (25,68; 25,44), маса суцвіття (40,27; 42,22). Кількість листків (30,72), довжина черешка (38,18), довжина підземної частини (26,60) у III популяції теж належать до високого рівня варіації; середній рівень варіації має довжина і ширина листка (19,46 і 20,34), довжина суцвіття (21,26), маса підземної та надземної частин (22,91 і 25,53); ознаками з низьким рівнем варіації є: висота надземної частини (11,98), глибина залягання кореневища (13,23).

Високий рівень мінливості у популяції V мають такі ознаки, як довжина листка (26,65), довжина суцвіття (26,12), маса підземної частини (28,34), маса надземної частини (28,34). До низького рівня належить висота надземної частини (13,20). До середнього – довжина підземної частини (21,36), ширина листка (24,73), кількість листків (19,09), глибина залягання кореневища (16,08.). Якщо порівняти всі популяції, можемо зробити припущення, що довжина листків є таксономічно важливою ознакою даного виду, оскільки у кожній із популяцій належить до середнього рівня варіації. Найбільш мінливими ознаками є висота надземної частини, довжина суцвіття, довжина черешка. Низьковаріабельними є глибина залягання кореневища, маса надземної частини, ширина листка.

### **Żytkowicz M., Plachno B.**

#### **MICROMORPHOLOGY OF THE EXTERNAL PITCHER SURFACE IN TWO DIFFERENT SPECIES FROM THE GENUS NEPENTHES**

*Department of Plant Cytology and Embryology  
Jagiellonian University, 52, Grodzka st., 31-044 Krakow, Poland  
e-mail: mateusz.zytkowicz.uj.edu.pl, bartosz.plachno@uj.edu.pl*

The study analyzed the diversity and micromorphology of the pitcher surface in two different species of the genus *Nepenthes*. Most thoroughly studied was *Nepenthes bicalcarata* Hook. and *N. albomarginata* T. Lobb ex Lindl. Given that both species are extremely specialized, *N. albomarginata* develops at the entrance to the pitcher so-called collar hairs to lure the termites into pitchers. However, *N. bicalcarata* applies a different strategy at the entrance to the pitcher develops two enormous tusks shaped nectaries (unique character in genus) and cooperates closely with ants from the genus *Camponotus*. Our studies revealed the existence of several types of different epidermal origin hairs. Some of these hairs are just as well and in *N. bicalcarata* and *N. albomarginata*. Thyroid-shaped hair is likely to participate in the regulation of water management. Although it was believed that *N. albomarginata* nectaries are weak-developed and the nectar is not produced in large quantities. We discovered that this species has a well-developed nectaries on the outer surface of pitcher and produce well visible nectar. Further studies will be focused on the ultrastructure of nectaries and hairs in both species. Participation in the conference was funded by the Fund of Jan Kochanowski from the Jagiellonian University.

## ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ / GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

**Боднар І. В., Боднар Л. С.**

### НЕБЕЗПЕКА ВИКОРИСТАННЯ АРОМАТИЗАТОРІВ СИНТЕТИЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: bodivas@gmail.com*

Проведене дослідження мутагенної активності новосинтезованих харчових ароматизаторів “М’ята”, “Чорнослив”, “Шоколад”, “Вермут” у тестах на індукцію домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) на *Drosophila melanogaster*, анна-телофазному аналізі на меристемі корінців *Allium cepa* та в тесті Еймса (тест-об’єкт *Salmonella typhimurium*).

Показано генотоксичну дію ароматизатора “М’ята” у тесті на індукцію ДЛМ при дозі 0,002 г/кг, яка відповідає разовій добовій; збільшена у 10 разів добова доза викликала загибель самців *D. melanogaster*, що свідчить про токсичні властивості хімічних речовин, що входять до складу ароматизатора. У тесті Еймса за відсутності метаболічної активації усі досліджувані дози даної домішки виявили генотоксичний вплив слабкої сили на штамі TA100. Після додавання фракції S9 мутагенний ефект спостерігався при дії збільшеної в 10 разів добової дози (0,02 г/кг) на обох штаммах, що свідчить про наявність сполук, які в результаті метаболічних перетворень набувають здатності викликати появу мутацій типу заміни пар основ та зсуву рамки зчитування. Такі мутагенні ефекти скоріше за все зумовлені компонентами даного ароматизатора, серед яких алкілюючі сполуки D-карвон і ментофуран. Істотного негативного впливу на проходження процесів поділу у меристемній тканині *A. cepa* не виявлено.

Виявлений токсичний ефект на проростання насінин цибулі ріпчастої при дії максимальної добової дози ароматизатора “Шоколад” (0,4 г/кг). Інші концентрації тестованої речовини спричиняли появу аберацій різних типів: хромосомних та хроматидних фрагментів, мостів. Відсоток аномалій становив  $24,22 \pm 2,65$  для дози 0,04 г/кг та  $25,88 \pm 3,80$  для дози 0,004 г/кг, що більш ніж втричі вище за показники контролю ( $7,55 \pm 1,30\%$ ). Виявлено значне зниження мітотичного індексу в досліджуваних клітинах ( $61,69\%$  та  $81,01\%$  для добових доз 0,04 та 0,004 г/кг), щодо контрольного рівня ( $117,76\%$ ). Відносна тривалість анафази для даних концентрацій була нижчою за показники контролю, тривалість інших фаз мітозу – коливалася на одному рівні з контрольними даними. Частота ДЛМ для всіх досліджуваних випадків (добова доза 0,02, 0,002 та 0,0002 г/кг) не перевищувала спонтанний рівень. В тесті Еймса не виявлено індукції генних мутацій, спостерігався бактерицидний ефект, який може бути зумовлений наявністю таких компонентів даного ароматизатора, як масляна кислота, дигідрокумарин, діацетил.

Зафіксовано високі значення ембріональної смертності при всіх досліджуваних розведеннях ароматизатора “Чорнослив”, причому найвищі показники спостерігалися для дози 0,0002 г/кг, що відповідає зменшеній в 10 разів добовій. Дані результати свідчать про пригнічення процесів сперматогенезу, що може бути зумовлено такими компонентами як В-дамаскон і етилбутират. Ароматизатор “Чорнослив” індукував також появу хромосомних аберацій при дії допустимої добової дози та дози, збільшеної у 10 разів. Відсоток клітин з аномаліями становив  $13,33 \pm 2,66$  для дози 0,002 г/кг та  $16,67 \pm 3,05$  для дози 0,02 г/кг. Найчастіше спостерігалася формування одинарних фрагментів та хромосомних мостів. Індукції генних мутацій не виявлено.

Виявлена бактерицидна дія ароматизатора “Вермут” у *S. typhimurium* без метаболічної активації, що може бути зумовлено наявністю спиртів, які входять до складу даної харчової домішки. При метаболічній активації фракцією S9 спостерігався вищий токсичний ефект, який, скоріше за все, зумовлений появою ще й альдегідів. Індукції генних мутацій і домінуючих летальних мутацій не зафіксовано.

**<sup>1</sup>Тромико О., <sup>1</sup>Буцяк А., <sup>2</sup>Тодосійчук Т., <sup>1</sup>Федоренко В.**

**ВПЛИВ МУТАГЕННОЇ ОБРОБКИ НА ВИЖИВАННЯ *STREPTOMYCES RECIFENSIS*  
VAR. LYTICUS 2435 – ПРОДУЦЕНТА КОМПЛЕКСУ БАКТЕРІОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна  
e-mail: bytsiak@mail.ru

<sup>2</sup>Національний університет «Київський політехнічний інститут»  
пр. Перемоги, 37, корп. 4, Київ - 56, Україна

На сьогодні ферментні препарати широко застосовуються в промисловості, медицині та сільському господарстві. Існує велика потреба у бактеріолітичних ензимних препаратах, що здатні руйнувати мікробну клітину і мають потенціал як протимікробні засоби.

Штам *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435 продукує ферментний комплекс, до складу якого входять глікозидази, літичні ендопептидази, мурамідази, протеїнази та амілази. На основі цього комплексу розроблений ферментний препарат широкого спектру дії Циторецифен, який має здатність до деградації багатьох патогенних мікроорганізмів, зокрема *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Proteus rettgeri*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*. Такі властивості обумовлюють можливість використання цього препарату у складі антисептичних медичних миючих засобів.

Промислове використання *S. recifensis* var. *lyticus* потребує постійної селекційної роботи з підвищення та підтримання його бактеріолітичної здатності. У селекції продуцентів біологічно активних речовин не втрачають своєї актуальності класичні методи, такі як індукований мутагенез, оскільки дають змогу отримувати штами з високим рівнем синтезу цільових продуктів.

З метою конструювання мутантів *S. recifensis* var. *lyticus* 2435 з підвищеною бактеріолітичною активністю ми дослідили вплив ультрафіолетових променів (УФ) (час опромінення 5–30 с; потужність лампи 40 Вт, відстань від лампи 10 см) і N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідину (НГ) в концентрації 1,0; 2,0; 3,0 мг/мл з часом обробки 20 хв на виживання спор цієї культури. За найменшої дози УФ (5 с) ми спостерігали загибель 95,2% спор досліджуваної культури. Поступове збільшення тривалості обробки до 10–30 с знижувало виживання спор, яке коливалося в межах 1,5 - 0,9х10<sup>-3</sup>%. Після обробки НГ в концентрації 1,0 мг/мл гинуло близько чверті спор *S. recifensis* var. *lyticus* 2435 (виживання 76,3%). Підвищення концентрації мутагену до 2,0 і 3,0 мг/мл знижувало виживання культури до 31,5 і 22,3% спор, відповідно.

За результатами наших експериментів ми встановили, що для пошуку мутантів у *S. recifensis* var. *lyticus* 2435 є опромінення протягом 15 с, при якому виживає близько 0,2% спор штаму. НГ доцільно використовувати у дозах 2,0-3,0 мг/мл з часом обробки 20 хв. За таких умов виживає 20,0-30,0% спор досліджуваної культури.

**<sup>1,2</sup>Філь М. Р., <sup>2</sup>Панчук Р. Р.**

**КЛІТИННІ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ СИНТЕТИЧНИХ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДОНІВ  
LES-3661 LES-3713 НА ЗЛОЯКІСНІ КЛІТИНИ МИШІ І ЛЮДИНИ**

<sup>1</sup>Львівський національний університет ім. І. Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України  
вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005

Незважаючи на стрімкий розвиток медицини та молекулярної біології, проблема ефективного лікування онкологічних захворювань, які займають друге місце по смертності людства в світі, не втрачає своєї актуальності. 4-тіазолідони – це нова група синтетичних гетероциклічних сполук, які



володіють широким спектром активності – від антиоксидантної до протитуберкульозної та антинеопластичної. Особливої уваги заслуговує їх застосування як потенційних протипухлинних препаратів, що дозволило б суттєво розширити арсенал сучасних методів хіміотерапії в клініці.

Науковою групою проф. Лесика Р.Б. (Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького) було синтезовано новітні похідні 4-тіазолідонів Les-3661 та Les-3713. Вони є структурними ізомерами, що відрізняються лише позицією заміщення бічних груп у базовій молекулі тіазолідону. Метою даної роботи було порівняти ефект від заміщення бічної групи у 4-му положенні (Les-3661) та 2-му положенні (Les-3713) на протипухлинну активність цих сполук *in vitro* на різних лініях лейкемічних і карциномних клітин та дослідити молекулярні шляхи індукції апоптозу новітніми тіазолідонами у клітинах Т-лейкемії людини лінії Jurkat.

Нами було показано, що препарати Les 3661 та Les 3713 володіють яскраво вираженою антипроліферативною активністю та здатні інгібувати ріст усіх досліджуваних ліній злоякісних клітин. Однак більш виражений антинеопластичний ефект виявлено у сполуки Les-3661 ( $IC_{50}=0,5$  мкМ, 4-заміщений тіазолідон), що є співмірним з доксорубіцином ( $IC_{50}=0,1$  мкМ), тоді як протипухлинна активність його ізомеру Les-3713 була на порядок нижчою ( $IC_{50}=5$  мкМ, 2-заміщений тіазолідон). Це підтверджує важливість окремих структурних груп та їх розміщення у молекулі тіазолідонів для забезпечення максимального антинеопластичного ефекту цих сполук щодо злоякісних клітин.

Цитоморфологічні дослідження хроматину клітин карциноми шийки матки лінії HeLa, оброблених препаратами 3661 та 3713, показали, що обидві сполуки призводять до конденсації хроматину та фрагментації ядра, що є основними маркерами апоптозу, однак дія препарату 3661 була більш вираженою. За допомогою Вестерн-блот-аналізу із застосуванням специфічних антитіл до ефекторних (-3,-6,-7) та ініціаторних каспаз (-2,-8,-9,-10) було показано, що препарат Les-3661 індукує рецептор-опосередкований апоптоз через активацію ініціаторних каспаз-8 і 10 вже на 6 годину. Ізомерна форма Les-3713 володіє у декілька разів слабшим цитотоксичним ефектом і активує ініціаторні та ефекторні каспази тільки на 12 годину. Таким чином, розташування бічних груп в молекулі похідних 4-тіазолідонів відіграє визначальну роль в їх протипухлинній активності щодо злоякісних клітин та механізмах індукції апоптозу в клітинах-мішенях.

Автори висловлюють подяку проф. Лесіку Р.Б. та к.ф.н. Гаврилюку Д.М. (ЛНМУ ім. Д. Галицького) за надані для досліджень сполуки.

### **Вітушинська М., Черник Я.**

#### **ЧУТЛИВІСТЬ ДО УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА ПАРАМЕТРИ ТРИВАЛОСТІ ЖИТТЯ У МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНАМИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: maryashka4@gmail.com*

Однією з причин порушення діяльності нервової системи та вкорочення життя у людей і тварин є оксидативний стрес (ОС), унаслідок якого утворюються активні форми кисню, що призводить до пошкодження найбільш важливих біополімерів— нуклеїнових кислот, білків та ліпідів. Важливим ферментом антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза (СОД). У дрозофіли є дві форми СОД, саме тому зручною тест-системою для вивчення цих процесів служать мутантні лінії *Drosophila melanogaster* із порушенням функціонування цього ферменту. Мутанти отримані шляхом індукованого гама-випромінювання та Р-інсерційного мутагенезу. Cu/Zn залежна Sod[x-39] локалізована в ядрі (кодується геном Sod1 локалізованим у 3-й хромосомі); Mn залежна Sod[Δ02] локалізована в мітохондріях (кодується геном Sod2 2-ї хромосоми). Використані у роботі лінії характеризуються недостатнім синтезом супероксиддисмутази і чутливістю до ОС. Контролем слугувала лінія дикого типу Oregon.

Культуру утримували на стандартному поживному середовищі при температурі 23-25°C. Досліджували параметри середньої тривалості життя (СТЖ, S50), максимальну тривалість життя (МТЖ) та виживання особин за умов ОС, індукованого 5 % розчином пероксиду водню.

Показники тривалості життя у лінії дикого типу *Oregon D. melanogaster* на стандартному середовищі становили: МТЖ — 58 дн., S50 — 35.6 дн. Мутанти мали знижені показники порівняно з контролем: у лінії Sod[x-39] МТЖ становила 33 дн., а у лінії Sod2[ΔO2] — 27 дн., S50 був зниженим на 21.2% та 33.7% відповідно. На середовищі з 10% розчином сахарози, який був використаний як позитивний контроль, спостерігалось незначне вкорочення життя у всіх проаналізованих ліній; так, МТЖ у лінії *Oregon* становила 45 дн., у лінії Sod[x-39] — 27 дн., у лінії Sod2[ΔO2] — 21 дн. Найнижчі показники максимальної та середньої тривалості життя мали особини, що утримувались на середовищі з 5% розчином пероксиду водню. У них МТЖ зменшилась на 33.4% — 48.3%, а показник СТЖ — на 55.1% — 60.2% відповідно. До умов оксидативного стресу найбільш чутливою виявилась лінія Sod2[ΔO2], виживання якої становило лише 67%, в той час як для лінії Sod[x-39] цей показник дорівнював 77%, а для лінії *Oregon* — 81%.

### **Голуб О., Черник Я., Голуб Н.**

#### **ВПЛИВ ГЕНІВ SEMA 1B ТА SEMA 2B, ЗАДІЯНИХ У МІГРАЦІЇ НЕЙРОНІВ, НА ПРОЯВ МУТАНТНОГО ДИСТРОФІНОВОГО ФЕНОТИПУ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

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

Унаслідок порушень у роботі дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК) виникають м'язові дистрофії, які призводять до повної втрати рухливості та ранніх летальних наслідків. Найважчою важкою формою міопатій є м'язова дистрофія Дюшена, яка найчастіше зумовлена делеціями в гені дистрофіну. Ген дистрофіну розміщений на Х-хромосомі та є складовою частиною ДГК. Зважаючи на важкий перебіг та відсутність ефективного лікування м'язових дистрофій, вивчення природи цих захворювань та розробка нових методів їхньої терапії є актуальною проблемою сучасної біології та медицини. Одним з таких методів є пошук генів-модифікаторів функціонування ДГК. Хорошим генетичним об'єктом для вивчення молекулярних основ виникнення та пошуку нових підходів у лікуванні міопатій є *Drosophila melanogaster*, оскільки у неї виявлені всі гомологи ДГК людини.

Попередньо було встановлено, що існує 6 груп ймовірних генів-модифікаторів функціонування ДГК. Метою нашої роботи було дослідити вплив генів SEMA1a і SEMA2a, що задіяні у міграції нейронів, на прояв мутантного фенотипу за геном дистрофіну.

Об'єктом досліджень була лабораторна лінія *Drosophila melanogaster*, отримана з університету Дж. Вашингтона – NH2-Dys (NH2-DysActGal4/CyO). Дана лінія була сконструйована з використанням антисенс-РНК до С-кінця мРНК гена дистрофіну та характеризується синтезом лише коротких ізоформ дистрофіну. Даний мутант характеризується аномальним розвитком задньої поперечної вени крила, зниженими показниками тривалості життя, порушенням мобільності особин, дегенерацією м'язів, яка починається з 12 дня імаго і прогресує з віком, а також порушеннями полярності овоцитів і фоторецепторних нейронів. Також були використані Р-інсерційні лінії, що несли копії генів SEMA1a і SEMA2a в Р-елементі. Контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon*. На основі побудови кривих виживання розраховували показники середньої (СТЖ) та максимальної тривалості (МТЖ). Для визначення індексу рухової активності проводили climbing-тест.

Для аналізу модифікуючого впливу генів SEMA1a і SEMA2a на мутантний фенотип за геном дистрофіну було проведено схрещування особин цих ліній з мутантами NH2-Dys. Серед потомків відбирали гібридів, які в одному організмі містили досліджуваний ген-модифікатор і генетичну конструк-

цію для інактивації гена дистрофіну. Аналізували потомків  $F_1$  за фенотипом жилкування вен крила. Серед 4084 проаналізованих особин від схрещування  $NH_2-Dys \times SEMA1b$  було відібрано 1005 з потрібним генотипом, серед яких виявлено 191 з нормальною структурою поперечних вен; у схрещуванні  $NH_2-Dys \times SEMA2b$  проаналізовано 5166, відновлення нормального жилкування спостерігалось у 896 з 1268. Частота появи ревертантів становила 19 і 71% відповідно.

У гібридів  $F_1$  з певним генотипом також дослідили тривалість життя та локомоторну активність. На основі аналізу кривих виживання показано, що гени-модифікатори не призводить до зростання параметрів СТЖ, а лише МТЖ, яка для особин  $SEMA1a / NH_2-Dys$  становила 24 доби, а для  $SEMA2a / NH_2-Dys$  – 26 діб, тоді як для лінії  $NH_2-Dys$  – 18 діб.

Показники локомоторної активності у гібридів  $F_1$  впродовж усього життя були достовірно вищими порівняно з дистрофіновими мутантами (у 3 рази у особин  $SEMA1a/NH_2-Dys$  та у 5 разів – в імаго  $SEMA2a/NH_2-Dys$ ). При цьому найвищим індексом рухової активності характеризувалися ті особини, які несли додаткові копії гена  $SEMA2a$ .

Отже, на основі отриманих результатів, за частотою відновлення задньої поперечної вени крила, показниками МТЖ та індексом рухової активності, встановлено, що більш активним геном-модифікатором є ген  $SEMA 2a$ .

### **Горбатюк О., Громико О., Федоренко В.**

#### **ВПЛИВ МУТАГЕНІВ РІЗНОЇ ПРИРОДИ НА ВИЖИВАННЯ ПРОДУЦЕНТА ТЕЙКОПЛАНІНУ *ACTINOPLANES TEICHOMYCETICUS* Lv95**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна*

*e-mail: gorbatyk2012@gmail.com*

*Actinoplanes teichomyceticus* – це актинобактерія, яка має грам-позитивний тип будови клітинної стінки, добре розвинений повітряний і субстратний міцелій, рухомі спори, які утворюються в спорангіях. Штам *A. teichomyceticus* Lv95 є продуцентом глікопептидного антибіотика тейкопланіну. У клінічній практиці тейкопланін використовується для боротьби з важкими інфекціями, спричиненими полірезистентними штамми грам-позитивних бактерій. Виявлено активність цього антибіотика проти *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus* spp., *Corynebacterium jeikeium*, *Propionibacterium acnes*, *Clostridium* spp., включаючи *C. difficile*. Тейкопланін можна застосовувати для лікування сепсисів, інфекцій нижніх дихальних шляхів, шкіри, м'яких тканин, кісток та суглобів у новонароджених дітей, що надає йому переваги перед ванкоміцином – іншим антибіотиком з подібними властивостями.

Широкому використанню препарату перешкоджає його висока вартість. Одним із підходів для подолання цієї проблеми є виділення похідних *A. teichomyceticus* з підвищеним рівнем синтезу тейкопланіну. Застосування індукованого мутагенезу – один із важливих етапів конструювання таких штамів.

Метою нашої роботи було дослідження впливу мутагенів різної природи на виживання *A. teichomyceticus* Lv95. Використали фізичний мутаген – ультрафіолетові промені (УФ) з часом обробки 10-40 с, потужність лампи 40 Вт, відстань від лампи 10 см, та хімічний – N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідин (НГ), що є представником алкілюючих агентів (концентрація 1,0; 2,0; 3,0 мг/мл, час обробки – 20 хв). Після 10 с УФ-опромінення ми спостерігали різке зменшення виживання спор досліджуваної культури, яке становило 16,4%. Після 20 с опромінення рівень виживання спор знижувався в п'ять разів і становив 3,2%. Збільшення тривалості опромінення на 5-20 с спричинювало поступове зниження виживання спор культури від 1,3 до 0,2%.

Найменша з використаних доз НГ (1,0 мг/мл) знизила виживання досліджуваного штаму більш, ніж у 5 разів (17%). Підвищення концентрації цього мутагена удвічі довело виживання спор *A. teichomyceticus* Lv95 до 2,1%, а після використання 3,0 мг/мл НГ гинуло 99% спор.

Отримані дані вказують, що для отримання мутантів *A. teichomyceticus* Lv95 ефективними дозами УФ є 25-40 с опромінення, які знижують виживання до 0,2-1,3%, а НГ – концентрація 1,0 мг/мл з тривалістю обробки 20 хв, за якої виживає 17% спор.

### **Gren T., Ostash B., Fedorenko V.**

#### EXTRACTION AND PHYLOGENETIC POSITION DETERMINATION OF ACTYNOBACTERIA STRAINS INHABITED MINE TAILINGS OF CHERVONOGRAD CENTRAL CONCENTRATING

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

In spite of their importance in the generation of acid mine drainage (AMD), the populations of naturally occurring prokaryotic microorganisms in analogous sites are poorly known. The use of molecular-based analysis has highlighted the significant variability of microbial diversity in AMD environments (Johnson, Hallberg 2003). To date, bacteria from several divisions (proteobacteria, nitrospira, firmicutes, acidobacteria and actinobacteria) have been detected in AMD environments. Among these organisms, the most extensively studied group is the proteobacteria, specifically *Acidithiobacillus* spp. and *Thiobacillus* spp. (Bruneel et al., 2005). The fact, that actinobacteria often are found in AMD-related sites is intriguing (Bruneel et al. 2005; Brofft et al. 2002), but their participation and role in the whole acidophilic community remains totally undefined. There is no doubt, that actinobacteria, usually as parts of heterotrophic group in AMD – group, accomplish their own "task", but the vast majority of researchers leave them without an appropriate attention, or attributed them task of dissolved organic compounds (DOC) mineralization.

Investigation of actinobacteria inhabited AMD sites can clear up their functions in such environments. Five strains (Lviv 1, 3 – 6) with characteristic actinomycete type of growth were obtained from mine tailings of Chervonograd concentrating mill using standard extracting techniques (Fedorenko et al., 2007). For the determination of phylogenetic position we have extracted total DNA of abovementioned strains and amplified parts of their 16SrRNA genes using specially designed and evaluated primers for the class Actinobacteria (Stach et al., 2003). After sequencing analysis we have used derived sequences for multiple sequence alignment with ClustalW algorithm. A set of phylogenetic trees was built utilizing PHYLIP group of programs. In all trees these strains were grouped with different branches of *Streptomyces* genus excepting Lviv 6 strain, which was grouped within *Amycolatopsis* genus. It is known, that representatives of the genus *Amycolatopsis* often have an ability to produce auxins and siderophores which are considered as plant growth promoting substances. Apart from this, members of this genus have shown high copper resistance, which can be important in biotechnological remediation of AMD - related environments (Albarracin et al., 2008). These strains currently are under the investigation for their resistance to metals and production of biologically active compounds. Their probable usage for bioremediation of polluted sites will also be considered.

### **Tsyplik O., Ostash B., Fedorenko V.**

#### HETEROLOGOUS EXPRESSION OF LNDYR GENE IN STREPTOMYCES STRAINS

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: v\_fedorenko@franko.lviv.ua*

Streptomycetes are soil-living bacteria with a complex life cycle. Member of this genus have large genomes and the ability of producing a broad spectrum of biologically active substances, in particular, many known antibiotics. The genomes of these bacteria contain from just a couple to well over 30 secondary metabolite gene clusters. The onset of antibiotics production in *Streptomyces* species is usually coordinated with differentiation events (e.g. development of aerial mycelia and spores) although detailed molecular picture of this process is not yet available. Given the fact that *Streptomyces* possess one of the most complex morphogenetic programs in the prokaryotic world (Flardh and Buttner, 2009) and that they were and remain to be a rich

source of valuable bioactive substances it is essential to further elucidate regulatory mechanisms of metabolic and morphological differentiation in this group of bacteria.

This work deals with gene *lndYR* encoding GntR-like regulator widely represented in actinomycetes (Hoskisson P.A. et al., 2009). Gene *lndYR* is located in landomycin E biosynthetic gene cluster and involved in sporulation and antibiotic production by *S. globisporus* 1912. BLAST results showed that *lndYR* had one or several highly similar counterparts in all sequenced to date genomes of order Actinomycetales. Expression of *lndYR* in *S. coelicolor* increases actinorhodin production (Ostash et al., 2011).

In accordance with this data, we decided to test whether *lndYR* may influence morphogenesis and secondary metabolism in producers of industrially important antibiotics moenomycins (*S. ghanaensis* ATCC14672) and siomycins (*S. sioyaensis* NRRL-B5408).

We amplified 1100 bp region of *S. globisporus* 1912 chromosome, containing *lndYR* gene using polymerase chain reaction. This fragment was digested by *Xba*I/*Bam*HI endonucleases and cloned into *Xba*I/*Bam*HI sites of pKC1218E. The latter contains strong *ermE* promoter that should drive *lndYR* expression. The resulting construct, pKC1218*lndYR*, was introduced into *E. coli* ET12567 and transmitted to *Streptomyces* strains by intergeneric conjugation. Obtained exconjugants were selected for apramycin resistance and appeared at the frequency of  $10^{-7}$ .

Obtained exconjugants did not show significant differences in phenotypes in comparison with wild type strain. Antibiotic production in the obtained exconjugants *S. ghanaensis* pKC1218E*lndYR* and *S. sioyaensis* pKC1218*lndYR* was studied with antibiotic disk diffusion assay. We used *Bacillus cereus* and *Sarcina lutea* as test cultures which are sensitive to moenomycins and siomycin, respectively. As control strains we used *S. ghanaensis* and *S. sioyaensis* which carried empty vector pKC1218E. From the observation and measurement of diameters of growth inhibition zones, we revealed that *lndYR* overexpression in *S. sioyaensis* inhibited siomycin production, but it had no significant effects on moenomycin production by *S. ghanaensis*.

So, *lndYR* is a pleiotropic regulator that influences (directly or indirectly) secondary metabolism and sporulation not only in parental strain, but also in various streptomycetes.

### **<sup>1</sup>Легка Л., <sup>2</sup>Панчук Р.**

#### **ВИКОРИСТАННЯ НОВІТНІХ ПОЛІМЕРНИХ НАНОКОМПЗИТІВ, ФУНКЦІОНАЛІЗОВАНИХ N-АЦИЛЕТАНОЛАМІНАМИ, ДЛЯ ДОСТАВКИ ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ЇХ ДІЇ НА ЗЛОЯКІСНІ КЛІТИНИ**

*<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України*

*вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: Lilya\_Lehka@mail.ru*

Як відомо, більшість протипухлинних препаратів не мають вибіркової дії, знищуючи не лише злоякісні новоутворення, а й нормальні клітини. Тому їхнє застосування ускладнене нерівномірним накопиченням та швидкою елімінацією з організму хворого. Використання біокон'югованих наночастинок дає можливість селективно діяти на пухлинні клітини, вивільняти та накопичувати лікарські засоби у необхідних місцях. N-ацилетаноламіни (NAE) – це біологічно активні ліпіди, які мають цитопротекторною активністю *in vivo* та цитостатичною активністю щодо деяких злоякісних клітин *in vitro*. Метою даної роботи було дослідити біологічний ефект від іммобілізації протипухлинних препаратів та N-ацилетаноламінів на полімерному нанорозмірному носії *in vitro* на різних лініях злоякісних клітин, та вивчити можливі механізми дії цих систем доставки ліків на клітини-мішені.

Дослідження цитотоксичного ефекту доксорубіцину, іммобілізованого на олігомерних носіях, на клітини лейкемічного походження (Jurkat, CCRF-CEM) на 24 та 48 години інкубації показали, що

він значно ефективніше інгібує проліферацію пухлинних клітин, ніж доксорубіцин у нативному стані. Конденсація хроматину у клітинах аденокарциноми молочної залози лінії MDA-MD-231 за дії доксорубіцину, кон'югованого з носієм була теж інтенсивнішою, ніж при дії нативного препарату. Ефективність дії доксорубіцин-нанокмпозитних комплексів підтверджена на молекулярному рівні (за результатами Вестерн-блот аналізу з використанням антитіл до ефекторних каспаз-3,-7 та білка DFF45, який є їх субстратом). Таким чином, іммобілізація доксорубіцину на полімерному носії суттєво посилює його проапоптичну дію на злоякісні клітини.

Виявлено, що N-стеароїлетаноламін (NSE) володіє слабко вираженим антинеопластичним ефектом *in vitro* щодо лейкемічних та карциномних клітин на 24 годину, однак на 48 годину після інкубації з клітинами цитотоксичність препарату зростає. За допомогою подвійного мічення клітин аннексином V та пропідій йодидом показано, що NSE викликає загибель злоякісних клітин шляхом апоптозу. Фарбування псевдонормальних клітин лінії 293T барвником DAPI за дії різних концентрацій NSE та доксорубіцину показало, що NSE не впливає на структуру ДНК цих клітин. Очевидно, що NSE володіє певною вибірковістю дії щодо псевдонормальних та злоякісних клітин, а також проявляє цитопротекторні властивості *in vitro* на імунокомпетентних клітинах. Порівняння цитотоксичної активності NSE, іммобілізованого на полімерному носії, з NSE у вільному стані показало, що ковалентне приєднання етаноламінів до носія не впливає на їхню цитопротекторну активність *in vitro*. Комбінована дія NSE та доксорубіцину на клітини T-лейкемії людини лінії Jurkat пригнічувала антинеопластичний ефект доксорубіцину порівняно з дією нативного доксорубіцину, що підтверджує першочергову цитопротекторну дію NSE. Аналогічні результати були отримані при іммобілізації доксорубіцину та NSE на полімерному носії. Таким чином, нами показано, що одночасне поєднання на нанорозмірному носії молекул протипухлинного препарату доксорубіцину та цитопротектора – ліпиду NSE – знижує цитотоксичність доксорубіцину *in vitro*. В той же час, нанорозмірний носій суттєво посилює проапоптичну активність доксорубіцину. Такий підхід дозволить суттєво знизити побічні ефекти від дії ліків на організм пацієнтів без зниження їх протипухлинного потенціалу, що є надзвичайно важливим у хіміотерапії.

### **Hrubsky Y., Lopatniuk M., Fedorenko V.**

#### **CHARACTERISTIC OF RIFAMPICIN-STREPTOMYCIN-RESISTANCE MUTANTS OF STRAIN *STREPTOMYCES SIOYAENSIS* Lv81**

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

Strain *Streptomyces sioyaensis* Lv81 produces the siomycin complex, a group of related thiopeptide antibiotics with siomycin A (SiA) being the major one. SiA exhibits antibacterial, antiplasmodial and antitumor properties common to thiostrepton-like antibiotics and is currently used in agriculture. It also displays interesting immunosuppressive properties. The unique biological profile of SiA guarantees the interest in development of both chemical and genetic approaches towards generation of SiA derivatives.

We describe a method for improving the production of siomycin from *Streptomyces sioyaensis* by inducing combined drug-resistant mutations.

Initially we had obtained rifampicin-resistance (Rif<sup>R</sup>) mutants Rif49S, which produced more siomycin than wild-type (16%).

Next, we constructed double mutants by generating streptomycin-resistance (Str<sup>R</sup>) mutants from the strain Rif49S, which was used as the parental strain. In time of research we obtained 366 such spontaneous mutants. In group of mutants, which are resistance to concentration of streptomycin 100–1000 mg/ml, we choose mutants № 29, 49, 62, 100 and 112 with enhanced siomycin productivity.

We also obtained 402 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (NG) induced Str<sup>R</sup> mutants of the strain Rif49S. In group of mutants, which are resistance to concentration of streptomycin 100–1000 mg/ml, we

choose mutant №267 with enhanced siomycin productivity and mutant №145 without any antibiotic activity.

We observed resistance Str<sup>R</sup> mutants Rif49S to antibiotics with different mechanism of action and compare these results with wild-type and Rif49S. As we saw, all of mutants, like *Streptomyces sioyaensis*, were resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. All mutants were more sensitive to kanamycin than wild-type and Rif49S.

We investigated antibiotic productivity Str<sup>R</sup> mutants Rif49S. The highest productivity detected for each mutant strain ranged from 144 to 213% the wild-type production level.

Received double mutants can be used in further researches of genetic control of siomycin biosynthesis. It can be able to enhance the level of siomycin production in these mutants by used novel genetic and selection approaches.

### **Kostenko S., Matiytsiv N.**

#### LOCOMOTOR ACTIVITY OF SWISS CHEESE GROUP *DROSOPHILA MELANOGASTER* NEURODEGENERATIVE MUTANT

*Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevsky St. 4, Lviv, 79005, Ukraine*  
*e-mail: solomija89@gmail.com*

It is known many diseases that hurt central nervous system causing degeneration of brain cells. Such structural changes entail memory disturbance, language, locomotor coordination, motor activity and behavior in particular. Most of these derangements have a genetic basis. The behavior is a single and entire system of actions and reactions that can adapt to the diversity of the environment. The basis of all behavioral reactions is motor activity which is as an independent feature and could be measured and evaluated.

*Drosophila melanogaster* is a good test system for the analysis of many aspects of behavior because it's behavioral repertoire consists of both simple and complex behavioral reactions. There is also important fact that about 70% *D. melanogaster* gene are homologue of the human.

We investigated the locomotive activity of four mutant lines in the swiss cheese (sws) group. The wild type Oregon-R was as the control. The sws mutants are characterized by age depended neurodegeneration and early death. The index of motor activity of those strains was determined using the “open field” and the climbing test methods.

The strain 72-7, which has the dopamine neurons degenerating, showed inadequate response after the mechanical shaking, which is the basis of the climbing test. This strain was characterized by the highest index of motor activity in climbing test. While the total parameters of motor activity on the open surfaces were the lowest and were 45% of the time against to 59% for the Oregon-R. With age there is a violation of the motor activity dynamics in this strain which correlates with a specific atrophy of dopaminergic neurons. The mutant 76-15 has shown the index of motor activity on the level of control but has been most active in all indexes of motor activity in open field. The total time of activity of individuals 76-15 was 67%.

Thereby, parameters of mutants locomotor activity were the individual and distinct from that in wild type.

### **<sup>1</sup>Mohylyak I., <sup>1</sup>Chernyk Ya., <sup>2</sup>Fischbach K.-F.**

#### FUNCTIONING OF SWISS CHEESE IN DIFFERENT TISSUE TYPES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

<sup>1</sup> *Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevsky St. 4, Lviv, 79005, Ukraine*  
<sup>2</sup> *Albert-Ludwigs University, Institute of Biology III*  
*Schaenzlesstrasse 1, Freiburg, 79104 Germany*  
*e-mail: irynamohyliak@yahoo.com*

Age dependent degeneration in the adult nervous system is often characterized by a spectrum of abnormalities including neuronal and glial apoptosis, reactive gliosis or abnormal glial sprouting and vacuolar

lesions. In recent times a high number of genes involved in human degenerative disorders was discovered and moved the use of model genetic organisms to the frontline. The rapid generation time and the ability to easily generate transgenic flies together with the variety of genetic tools to control temporal and spatial expression of any given gene makes the *Drosophila* model a very attractive system to study human neurodegenerative disorders.

Mutation in swiss-cheese (*sws*) gene cause progressive vacuolization of brain tissue in young flies, which become increasingly abundant with further aging. The vacuolization is associated with neuronal apoptosis and premature death of the flies. Also multilayered glial cell membranes overwrapping neurons were found, which first appear in the late pupa (Kretzschmar D. (1997), *J. Neurosci.*). The majority of known data about gene functioning was provided using hypomorph mutants, however it is important to investigate phenotype in transgenic flies with functional inactivation of *sws* expression in different cell types.

In our study the Gal4-UAS system was used. After crossing GAL4- and UAS-lines, the GAL4-yeast transcriptional factor binds to the UAS promoter sequence and triggers expression of the gene of interest. When a gene inhibitory palindromic RNA (RNAi) sequence is under UAS promoter control, crossing to GAL4 driver line gives opportunity to make functional inhibition of gene expression in specific tissues, or even cell types (Brand A. (1993), *Development*, Duffy (2002), *Genetics*).

We have used transgenic lines of *Drosophila melanogaster* with RNAi of *sws* gene (UAS-*sws*-RNAi): 5469 (Vienna Stock Center), 2212R1 (Kyoto Stock Center), 31993 (Bloomington Stock Center), and lines with Gal4 activator for driving in different tissue types. Young (1-3 days after eclosion) and old (20 days old) flies from F1 generation after crossings were tested for a degeneration phenotype using paraffin (7 mm) and semithin (1 mm) sections of the brain. The functionality of UAS-*sws*-RNAi constructs was checked by Western-Blot hybridization.

To understand the role of SWS protein in the neuronal tissue we have used two GAL4 driver lines: *elav*-Gal4 which drives expression in all neurons and *ap*-Gal4 which drives exclusively in L4 neurons at the level of lamina and in many medulla neurons. We were not able to detect a strong degenerative phenotype even in old *elav*-GAL4/UAS-*sws*-RNAi heterozygous males. In UAS-*sws*-RNAi/*ap*-GAL4-CD8:GFP males we have performed histological sections of the brain as well as immunofluorescence staining of expression pattern in whole mounts to visualize L4 neurons in the lamina. As in case with *elav*-GAL4, UAS-*sws*-RNAi/*ap*-GAL4 flies did not show a mutant phenotype in neurons. In contrast, using *repo*-Gal4 and 1369-GAL4 lines, which drive in glial cells, we found strong degeneration phenotypes which dramatically became worse with age when UAS-*sws*-RNAi was expressed. These results clearly show the importance of the SWS enzyme in development and functioning of glial tissue. We have also evidence suggesting a role of SWS protein in eye development using driver lines which trigger expression in the eye, i. e. 1369-GAL4 and GMR-Gal4. Our working hypothesis is that the SWS protein is very important for the tissues which are involved in fenestrated membrane development of the eye, and that the glial degeneration is the major phenotype caused by mutations in the *sws* gene.

**<sup>1</sup>Німець О. Я., <sup>2</sup>Гончар М. А., <sup>3</sup>Чайковська А. М., <sup>2</sup>Климишин Д. О., <sup>1</sup>Федоренко В. О.**

СИСТЕМА КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ У ШТАМІ – ПРОДУЦЕНТІ АРАНЦІАМІЦИНУ

*STREPTOMYCES ECHINATUS* DSM40730

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

<sup>3</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська 69, м. Львів, 79010, Україна

e-mail: oksana\_nimets@ukr.net

Штам *Streptomyces echinatus* DSM40730 є продуцентом антрациклінового антибіотика аранціаміцину. Цей антибіотик володіє високою протипухлинною активністю, а його похідні використовую-



ються у хіміотерапії ракових захворювань. Кластер генів біосинтезу аранціаміцину клоновано та секвеновано. Функції окремих генів встановлено шляхом їхньої спрямованої інактивації. Проте існуючі методи перенесення рекомбінантних молекул ДНК у клітини *S. echinatus* є малоефективними через низьку частоту одержання трансформантів та складність методу. Це ускладнює подальше генно-інженерне конструювання продуцента аранціаміцину. Метою роботи було дослідження ефективності перенесення низки реплікативних та інтегративних векторів за допомоги кон'югації між *Escherichia coli* ET12567(pUB307) та *S. echinatus* DSM40730.

Частота появи транскон'югантів *S. echinatus* з використанням реплікативних плазмід рКC1218Е, рКC1139 та рSOK101 в середньому становить  $(6,9 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$ . Транскон'юганти з інтегративними плазмідами з'являлись із частотою  $(4,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$  з плазмідною рSOK804 та  $(2,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$  – з рSET152. Усі інтегративні плазміди зберігають здатність стабільно успадковуватись за умов відсутності селективного тиску. Наявність усіх використаних у роботі векторів не впливає на рівень синтезу антибіотика та морфологічні характеристики (ріст та розмір колоній, здатність до споруляції) *S. echinatus*. З метою дослідження механізмів регуляції біосинтезу аранціаміцину у *S. echinatus* ми провели експресію генів *relA*, *afsS* та *absB*, задіяних у глобальній регуляції вторинного метаболізму в актиноміцетів, у досліджуваному штамі. Експресію цих регуляторів здійснювали в складі реплікативної плазміди рКC1218Е. Частота появи транскон'югантів в середньому становила  $(8,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$ . Експресія генів *afsS* та *absB* суттєво не впливала на морфологічні характеристики транскон'югантів та рівень синтезу аранціаміцину отриманими штамми. Показано, що експресія гена *relA* приводить до зростання рівня синтезу аранціаміцину, в середньому на 20%, порівняно із *S. echinatus* DSM40730.

Таким чином, досліджено ефективність проходження кон'югації в системі *E. coli* – *S. echinatus* DSM40730 із використанням низки інтегративних і реплікативних плазмід. Висока частота перенесення плазмідних молекул ДНК в клітини *S. echinatus* за допомогою кон'югації з *E. coli* робить цей метод зручним інструментом для генно-інженерного конструювання досліджуваного штаму.

**<sup>1</sup>Німець О. Я., <sup>2</sup>Климишин Д. О., <sup>2</sup>Гончар М. А., <sup>1</sup>Грень Т. П., <sup>1</sup>Федоренко В. О.**

**ПЛР-КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ SNOAE, SNOAM ТА SNOAL, ЗАДІЯНИХ У БІОСИНТЕЗІ  
НОГАЛАМІЦИНУ У *STREPOMYCES NOGALATER* LV65**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: oksana\_nimets@ukr.net

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

Нині стрептоміцети є продуцентами більшості відомих антибіотиків природного походження. Сполуки, що синтезуються цими бактеріями, знайшли широке застосування у медицині, сільському господарстві та ветеринарії. Особливу увагу привертають протипухлинні антибіотики, більшість з яких належить до класу антрациклінів. Вивчення генетичного контролю біосинтезу антибіотиків є надзвичайно актуальним завданням і потребує розуміння механізмів регуляції біосинтезу цих сполук. Ключовими ферментами у біосинтезі цих сполук є полікетидциклази, що каталізують реакції згортання полікетидного ланцюга антрациклінів. Одним з антибіотиків, що характеризується високими протипухлинними властивостями є ногаламіцин, що синтезується штамом *Streptomyces nogalater* Lv65 (IMET43360). Цей антибіотик є активним щодо багатьох ліній ракових клітин, включаючи клітини L1210 лейкемії, B-16 меланоми та ін. Спробами модифікувати молекулу ногаламіцину вдалося одержати похідну сполуку – 7(R) – метилногарол, що тепер активно використовується у хіміотерапії окремих ракових захворювань.

Об'єктом наших досліджень є гени *snoaE*, *snoaM* та *snoaL*, імовірно задіяні у циклізації полікетидного каркасу ногаламіцину. До наших досліджень функція цих генів була передбачена лише

на основі результатів гетерологічної експресії та біоінформатичного аналізу. Тому метою роботи було встановити функції цих генів шляхом їх спрямованої інактивації у хромосомі *S. nogalater*.

За допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) ампліфіковано ділянки хромосоми *S. nogalater* розміром 2,1 т.п.н., 3,1 т.п.н. та 3,0 т.п.н., що містять гени *snoaL*, *snoaM* та *snoaE* відповідно. Як матрицю у ПЛР використали сумарну ДНК, виділену з штаму дикого типу *S. nogalater* Lv65. Ампліфіковані фрагменти клонувано у складі вектора pBluescript KS/SK (+) з 3' тимидиловими нуклеотидами. Одержані плазмиди було названо pBluescriptsnoaL, pBluescriptsnoaM та pBluescriptsnoaE. Сконструйовані плазмиди використано для створення мутантних алелів генів імовірних полікетидциклаз ногаламіцину *snoaL*, *snoaM* та *snoaE*.

### **Переверзєва Г., Стасик О.**

#### **КОНСТРУЮВАННЯ ШТАМІВ НАДПРОДУЦЕНТІВ АРГІНІНОСУКЦИНАТСИНТЕАЗИ ЛЮДИНИ НА ОСНОВІ БАКТЕРІЙ *E. COLI***

*Інститут біології клітини НАН України*  
*вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail:bridjut@rambler.ru*

Уже понад 50 років відомо, що голодування за аргініном може зумовлювати загибель багатьох типів ракових клітин, тому що зляксіотрансформовані клітини не здатні перетворювати проміжні продукти циклу сечовини на аргінін, необхідний в процесі росту.

Встановлено, що за умов зниження вмісту аргініну в організмі пацієнтів, хворих на такі форми раку, як гепатокарциноми та меланоми, суттєво гальмується ріст пухлин і має місце канцероцидний ефект внаслідок селективної індукції механізмів програмованої клітинної смерті (апоптозу) у пухлинних клітинах. Надзвичайно важливу роль для використання цієї властивості в клінічних та терапевтичних цілях відіграє з'ясування механізму загибелі багатьох типів ракових клітин при голодуванні за аргініном.

З цією метою здійснюється дослідження ферментів циклу сечовини, в тому числі аргініносукцинатсинтеази.

Метою нашої роботи було одержання продуцентів аргініносукцинатсинтеази на основі бактерій *E.coli*. Для досягнення цієї мети було поставлено ряд завдань: сконструювати вектор експресії pET-42aASS, ввести в клітини реципієнти *E.coli*(штам-DH5α) рекомбінантну ДНК методом хімічної трансформації, відібрати клони з максимальною продукцією аргініносукцинатсинтеази, оптимізувати умови експресії та виділення рекомбінантного білка. Для реалізації поставлених завдань було застосовано ряд методик, а саме, розщеплення ДНК ендонуклеазами рестрикції, електрофорез ДНК в агарозному гелі, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), лігування ДНК-вставки з ДНК-вектором, одержання компетентних клітин для хімічної трансформації, хімічна трансформація бактерій *E.coli*, виділення плазмідної ДНК з клітин *E. coli* у препаративних кількостях, електрофорез білків у ПААГ, афінна хроматографія.

На основі комерційної плазмиди pET-42a, що містить ген резистентності до канаміцину було одержано вектор експресії гену аргініносукцинатсинтеази людини pET-42aASS. κДНК аргініносукцинатсинтеази людини ізолювали з сумарної κДНК виділеної з ракових клітин людини лінії MCF-7 та Her G2, шляхом ПЛР із специфічними праймерами. Для конструювання вектора експресії, комерційну плазмиду pET-42a та ізольовану за допомогою ПЛР κДНК аргініносукцинатсинтеази обробляли ендонуклеазами рестрикції Bam H I та Not I та лігували. Лігацією сумішшю було трансформовано клітини *Escherichia coli* DH5α, з отриманих трансформантів була виділена плазмідна ДНК та проаналізована рестрикційно. Коректно сконструйовані вектори секвенували, та після перевірки використовували для трансформації *E.coli* (штам-BL-21DE3). Отримані трансформанти використовували для індукції та

очищення рекомбінантного білка. Система очищення включала 2 етапи афінної хроматографії за GST-tag та his-tag системами.

Підбір умов індукції та оптимізації умов очистки цільового рекомбінантного білка триває. Наступними етапами стане вимірювання активності аргініносукцинатсинтетази.

**Рабик М. В., Осташ Б. О., Федоренко В. О.**

**ГЕН WbLAGH, ПЛЕЙОТРОПНИЙ РЕГУЛЯТОР СПОРУЮЩІЙ ТА ВТОРИННОГО  
МЕТАБОЛІЗМУ *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC14672**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: Availl@i.ua*

Моеноміцини — єдині відомі природні речовини, що безпосередньо інгібують пептидогліканові глікозилтрансферази (ПГТ). ПГТ – це висококонсервативні білки, що каталізують полімеризацію дисахаридних мономерів пептидоглікану. Біосинтез пептидоглікану є однією із найперспективніших та перевічених мішеней для створення антибіотиків, що стимулює інтерес до моеноміцинів. Однією із перешкод на шляху до моеноміцинів як лікарського препарату є низький рівень їхньої продукції, що ускладнює очищення відомих та нових представників цієї родини сполук.

Кластер генів біосинтезу моеноміцинів (моє) *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672 не містить шлях-специфічних регуляторних генів. Дослідженнями у нашій лабораторії виявлено ортологи багатьох добре досліджених плейотропних регуляторів *S. coelicolor*. Серед них у геномі *S. ghanaensis* виявлено wblAgh, імовірний білковий продукт якого виявляє гомологію до WbiB-подібних білків (Wbl-родини). Ці білки трапляються виключно в актинобактерій; за винятком WblP, вони є порівняно невеликі (81–122 а/к) та містять 4 консервативні залишки цистеїну, які задіяні у зв’язуванні [Fe-S] кластера (den Hengst., 2008). У *S. peucetius* та *S. coelicolor* WblA негативно регулює синтез антибіотиків (Noh J.-H., 2009). Припускають, що Wbl є транскрипційними факторами актинобактерій, які контролюють низку процесів, таких як морфогенез, стійкість до антибіотиків, відповідь на оксидативний стрес (den Hengst, 2008).

Білковий продукт гена wblAgh містить 128 а/к, біоінформативний аналіз підтвердив присутність 4-х консервативних цистеїнів у мотиві C(X21)C(X2)C(X5)C, а також імовірного домену зв’язування ДНК FGVWGGM. Аналіз нуклеотидної послідовності промоторної ділянки гена виявив сайт зв’язування глобального регулятора BldD (GCAACACTGCGTTGC), необхідного для диференціації актиномицетів (den Hengst., 2010). Гомолог WblAgh у *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv — WbiB4 - функціонує як дисульфід-редуктаза (Alam S., 2007). Ми вирішили дослідити роль wblAgh у біології *S. ghanaensis* методами надекспресії та спрямованого руйнування. Ген wblAgh ампліфіковано та клонувано у човниковий вектор pKC1139 і цю конструкцію pKCwblAgh перенесено у штам *S. ghanaensis* за допомогою міжродової кон’югації із *E. coli* ET12567 (pUB307). Аналіз екстрактів проводився методом високоефективної рідинної хроматографії, спряженої з мас-спектрометрією; показано, що рівень синтезу моеноміцину знижується у 2,5 рази при внесенні додаткових копій wblAgh. Також отримано штам *S. ghanaensis* DwblAgh, в якого ген wblAgh заміщено на ген стійкості до канаміцину. Цей мутант фенотипово відрізнявся від штаму дикого типу. Зокрема, *S. ghanaensis* DwblAgh не синтезує споровий пігмент та формує значно менше спор. Такий фенотип відтворювався при вирощуванні мутанта на середовищах різного складу - вівсяному, соєвому, НА, TSB, YMA, Бенета. Також *S. ghanaensis* DwblAgh виявляв підвищену антибіотичну активність, про що свідчить аналіз екстрактів антибіотика методом дифузії з паперових дисків в агар. Отже, ген wblAgh є плейотропним регулятором, який необхідний для процесу морфологічної диференціації штаму, і виявляє негативний ефект на продукцію моеноміцинів у *S. ghanaensis*.

**<sup>1,2</sup>Rishko V., <sup>2</sup>Kucherenko M., <sup>2</sup>Marrone A., <sup>2</sup>Shcherbata H., <sup>1</sup>Chernyk Ya.**  
SCREENING FOR DYSTROPHIN GLYCOPROTEIN COMPLEX MODIFIERS  
IN DROSOPHILA MODEL OF MUSCULAR DYSTROPHY

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi, Lviv, 79005, Ukraine

<sup>2</sup>Max Planck Institute for Biophysical Chemistry  
11, Am Faberg, 37077 Goettingen, Germany  
e-mail: valchyk@gmail.com

*Drosophila melanogaster* is widely used as a model system in indentifying genes, which are involved in different biological processes. It is known that 197 out of 287 genes that causes human diseases have homologues in *Drosophila* (Johnston, 2002). Previously, was shown the similarity between human and fruit fly genes which encode for proteins of Dystrophin-Glycoprotein complex (DGC) (Greener and Roberts, 2000). Disruptions of the components of this complex lead to muscular disorders in human (Meier and Ruegg, 2000).

It has been shown that mutations in *Drosophila* Dystrophin (Dys) and Dystroglycan (Dg) genes cause defects similar to the ones seen in human muscular dystrophies, including age dependant muscle degeneration, decreased mobility, shortened lifespan and disruption of axon-path-finding (Shcherbata et al, 2007). In order to determine new components which could play important role related to DGC signaling, the large-scale genetic screen based on abnormalities in wing vein pattern has been performed. 37 genes were identified to modulate Dys and Dg mutant phenotype (Kucherenko et al, 2008). Among them were the genes involved in different biological processes – muscle and cytoskeleton function, neuronal migration and cell polarity, components of Notch, TGF- $\beta$ , EGFR signaling pathways.

These components were used to carry out a secondary screen in muscle tissue. Almost a half of found components were rejected after this experiment since they did not show a genetic interaction with Dys and/or Dg in muscles (Kucherenko et al, 2011). Later 17 of them were used in performing genetic interaction experiment in axon path-finding process since previously was shown the importance of Dys and Dg in providing proper photoreceptor axon migration during larval brain development (Shcherbata et al, 2007). For executing this screen Dys and Dg loss-of-function mutants were crossed to the flies containing mutation in the gene of interest. Larvae of particular genotype were dissected at L3 stage of development, stained with 24B10 antibody and mounted. Brains were analyzed at the confocal microscope for abnormalities in photoreceptor axons termination in the lamina plexus of the larval optic lobe. The interaction was considered to be present if the mutant phenotype was increased, which would mean that the genes act in related signaling pathways. We identified 4 genes that interact with Dys and 1 gene – with both Dys and Dg. Found genes were also used for ommatidia elongation experiment in *Drosophila* adult eye, since the defects in the eye of Dys and Dg mutants were shown before (Shcherbata et al, 2007). The same cross scheme was used for this experiment. The adult flies of particular genotype were collected. Thin head sections were done using the microtome and stained with H&E. Retina lengths were measured at the light microscope. After this experiment we narrowed our search to two interesting interactors which are being used for further work.

The work was supported by DAAD and Max-Planck-Gessellschaft.

**<sup>1</sup>Шляхтіна Є., <sup>1</sup>Сеньків Ю., <sup>2</sup>Рябцева А., <sup>3</sup>Бойко Н.**

ДОСТАВКА ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ ДОКСОРУБЦИНУ У РАКОВІ КЛІТИНИ ЗА  
ДОПОМОГОЮ ОЛІГОМЕРНИХ НАНОНОСІВ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

<sup>2</sup>Національний університет «Львівська Політехніка»

<sup>3</sup>Інститут біології клітини НАН України

e-mail: lisaschliakhtina@gmail.com

Основним напрямом сучасної хіміотерапії пухлин є застосування препаратів, які знищують ракові клітини, через інгібування певних етапів клітинного поділу. Такі препарати здійснюють цитоток-

сичний і цитостатичний вплив не лише на клітини пухлин, але і на здорові клітини організму. Тому перспективним є створення і використання нанорозмірних носіїв протипухлинних препаратів, які, завдяки своїм унікальним функціональним властивостям (малий розмір частинок, висока стабільність, низька токсичність), можуть бути використані для адресної доставки ліків. Утворення комплексів із нанорозмірними носіями може захистити ліки від небажаного видалення їх із клітин-мішеней транспортною системою, яке забезпечує стійкість пухлинних клітин до протиракових препаратів. Це дає змогу пролонгувати дію протиракового препарату на пухлинні клітини, у тому числі на ті, що мають множинно стійкістю до ліків.

Метою роботи було дослідити вплив та механізм дії протипухлинного препарату доксорубіцину, доставленого у ракові клітини за допомогою олігомерних нанорозмірних носіїв *in vitro* та *in vivo*. Синтез олігомерних носіїв ВЕП-ГМА-ПЕГ (5-(трет-бутилперокси)-5-метил-1-гексен-3-ін-гліцидилметакрилат модифікований поліетиленгліколем) був здійснений під керівництвом к.х.н. Заїченка О.С. на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська Політехніка».

Одержані нами результати *in vitro* показали, що чистий полімер ВЕП-ГМА-ПЕГ без іммобілізованого доксорубіцину не виявив вираженої цитотоксичної активності, що свідчить про його низьку токсичність щодо клітин досліджуваних ліній. Показано, що носії з іммобілізованим доксорубіцином впливали на зменшення приросту клітин гострого лейкозу мишей L1210, Т-клітинної лейкемії людини Jurkat та трансформованих мишачих фібробластів L929 значно більш виразно, ніж чистий доксорубіцин (дія доксорубіцину у концентрації 1 мкг/мл була аналогічна дії препарату у комплексі з носієм в концентрації 0,1 мкг/мл). Методом люмінесцентної мікроскопії було показано, що доксорубіцин, іммобілізований на досліджуваних носіях, проникає у ядро клітини значно швидше, ніж чистий доксорубіцин. Фрагментація ДНК у ракових клітинах, інкубованих з доксорубіцином у комплексі з наноносієм, виражена суттєво сильніше, ніж при дії чистого доксорубіцину в тій самій концентрації. Отже, такі комплекси швидше та у значно меншій концентрації індукують загибель клітин шляхом апоптозу.

Ефективність нанорозмірних систем доставки ліків було підтверджено *in vivo*. У роботі було використано мишей лінії BALB/C із прищепленою їм лімфоною NK/Ly. Проведені дослідження показали, що застосування олігомерних носіїв ВЕП-ГМА-ПЕГ для доставки протипухлинного препарату доксорубіцину у пухлинні клітини *in vivo* дозволяє знизити діючу дозу препарату щонайменше у 10 разів зі збереженням протипухлинного ефекту. Під час хіміотерапії спостерігалось зменшення токсичного впливу доксорубіцину у комплексі з носієм на організм мишей.

Використання нових носіїв для доставки ліків може забезпечити суттєве зменшення негативних побічних ефектів хіміотерапії пухлин. Подальше удосконалення досліджуваних наноносіїв дозволить використовувати їх для доставки інших протипухлинних препаратів, а також для адресної доставки ліків у пухлинні клітини.

Роботу виконано за підтримки гранту УНТЦ № 4953.

### **Сенів О., Черник Я.**

#### **ПАРАМЕТРИ ТРИВАЛОСТІ ЖИТТЯ ТА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ МУТАНТІВ ЗА Х-ХРОМОСОМОЮ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: olya\_seniv@bigmir.net*

Одним із факторів виникнення нейродегенеративних розладів у людини є надлишковий рівень вільних радикалів кисню у тканинах, що супроводжується виникнення оксидативного стресу (ОС), наслідком якого є ураження мембранних структур клітини і порушення цілісності клітинної мембрани.

Мутації, індуковані умовами оксидативного стресу, можуть призвести до патології та смерті клітин або до їх злякисного переродження (раки, лейкози), а мутації в ДНК статевих клітин – до спадкових захворювань. *Drosophila melanogaster* є зручною тест-системою для вивчення даних процесів.

Матеріалом дослідження слугували 3 лінії нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster* за X хромосомою: *sws<sup>1</sup>*, *sws<sup>olFE</sup>*, 72-7. Використані в роботі мутантні лінії характеризувалися швидким розвитком дегенерації тканин мозку. Контролем служила лінія дикого типу Oregon. Як позитивний контроль використана лінія sniffer з підвищеною чутливістю до умов оксидативного стресу. Культуру утримували на стандартному середовищі при оптимальній температурі 23-25°C.

Досліджено інтенсивність реакції перекисного окиснення ліпідів (ТБК-позитивних продуктів і дієнових кон'югатів) в особин у процесі старіння та у молодих мух, які піддавалися впливу оксидативного стресу, індукованого 5% розчином пероксиду водню, 10мМ та 20мМ розчинами метилвіологену. Проаналізовано вплив даних сполук на виживання, дегенеративні зміни структури мозку і параметри тривалості життя ( $S_{50}$  – середня тривалість життя, МТЖ – максимальна тривалість життя).

Результати досліджень показали, що серед молодих особин 3-денного віку найвищим вмістом ТБК-позитивних продуктів характеризувалася лінія *sws<sup>1</sup>*; з віком у всіх нейродегенеративних мутантів цей показник зростає до 2 разів, тоді як у лінії дикого типу Oregon це збільшення становило лише 26%. Рівень утворення дієнових кон'югатів у нейродегенеративних мутантів 3-денного віку був у 1,5–10 разів вищим порівняно з відповідним показником у лінії дикого типу Oregon, а у 21-денних особин він зростає у всіх проаналізованих ліній у 3–7 разів. За умов ОС відбувалося різке зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів та дієнових кон'югатів.

Показано, що за умов ОС знижується відсоток виживання як особин лінії дикого типу Oregon (на 15%), так і нейродегенеративних мутантів ліній *sws<sup>olFE</sup>*, *sws<sup>1</sup>*, 72-7 і sniffer (на 18, 30, 17 і 21% відповідно). Найстійкішою до умов оксидативного стресу була лінія дикого типу Oregon: максимальна тривалість життя під дією перекису водню і 10 мМ розчину метилвіологену становила 26 і 19 діб відповідно (52 доби на стандартному середовищі). Найсуттєвіше скорочення тривалості життя спостерігалось у лінії sniffer:  $S_{50}$  – на 69%, а МТЖ – на 29% порівняно з контролем (стандартне середовище).

### <sup>1,2</sup>Стадник І., <sup>2</sup>Терпиляк О.

#### АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ DQ- ТА DR-ГЕНІВ ГОЛОВНОГО КОМПЛЕКСУ ГІСТОСУМІСНОСТІ У ГРУПАХ ОСІБ З РЕПРОДУКТИВНИМИ ВТРАТАМИ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Державна установа «Інститут спадкової патології АМНУ»

вул. Лисенка, 31а, м. Львів, 79000, Україна

e-mail: irysjastadnyk@gmail.com

На даний час репродуктивні втрати у людей є широко розповсюдженим явищем, і одну з вагомих ніш у їхньому виникненні займає той чи інший набір алелей головного комплексу гістосумісності, зокрема алелі генів DQ та DR II класу. Тому метою нашої роботи було встановити алельний поліморфізм DQA1 та DRB1 генів головного комплексу гістосумісності у групах осіб з різними репродуктивними втратами: з самовільними викиднями, завмерлою вагітністю та з первинним непліддям (по 10 подружніх пар у кожній групі). Для досягнення цієї мети було поставлено ряд завдань: встановити розподіл алелей у подружніх пар у кожній групі, порівняти розподіл алелей у жінок різних груп, а також чоловіків різних груп, використовуючи статистичний показник критерій Пірсона  $\chi^2$ . Для проведення генотипування було застосовано ряд методик, а саме виділення ДНК з периферичної крові, проведення полімеразної ланцюгової реакції (з використанням наборів GenPak HLA-DQA1 PCR test і GenPak HLA-DRB1 PCR test ТзОВ «Лабораторія Ізоген», РФ), з подальшим проведенням горизонтального гелелектрофорезу та наступною детекцією результатів за допомогою транс-ілюмінатора.

У ході проведених досліджень були одержані такі результати: у групі подружніх пар з самовільними викиднями у жінок найчастіше зустрічалася алель \*1401, 1404, 1405 гена DRB1 (частота 20%) та алель \*0501 гена DQA1 (частота 35%), а у чоловіків \*0701-0702 (частота 25%) та \*0201 (частота 30%) відповідно. У групі подружніх пар із завмерлою вагітністю у жінок найчастіше зустрічалася алель \*0401-0411 гена DRB1 (частота 35%) та алель \*0301 та \*0501 гена DQA1 (частоти по 30%), а у чоловіків \*0701-0702 (частота 25%) та \*0501 (частота 40%) відповідно. У групі подружніх пар із первинним непліддям у жінок найчастіше зустрічалися алелі \*0401-0411 та \*1101-1104 гена DRB1 (частоти по 15%) та алель \*0501 гена DQA1 (частота 30%), а у чоловіків \*1601-1602 (частота 25%) та \*0102 (частота 50%) відповідно. Далі була проведена статистична обробка результатів для встановлення вірогідних відмінностей між розподілом алелей з допомогою показника  $\chi^2$ . Порівнявши частоту алелей окремо жінок та чоловіків з груп подружніх пар з самовільними викиднями та завмерлою вагітністю, було встановлено, що у групі жінок із самовільними викиднями порівняно з жінками з групи з завмерлою вагітністю статистично достовірною підвищеною частотою володіє алель \*1401, 1404, 1405 гена DRB1, а у чоловіків з цієї групи – алель \*0401-0411, порівняно з чоловіками з групи з завмерлою вагітністю. Жоден алель гена DQA1 у цих групах не показав статистично достовірних відмінностей. Ці дві групи було об'єднано в одну групу на основі репродуктивних втрат у I триместрі вагітності і встановлено, що у жінок найчастіше зустрічалася алель \*0401-0411 гена DRB1 (частота 22,5%) та алель \*0501 гена DQA1 (частота 32,5%), а у чоловіків алель \*0701-0702 (частота 25%) та алель \*0501 (частота 32,5%) відповідно. Було порівняно цю групу з групою пацієнтів з первинним непліддям і проведена статистична обробка результатів для встановлення вірогідних відмінностей у розподілі алелей з використанням показника  $\chi^2$ . З'ясовано, що у групі з первинним непліддям у чоловіків володіють статистично достовірною підвищеною частотою алелі \*0701-0702 та \*1601-1602 гена DRB1 та алель \*0102 гена DQA1. У жінок жодна алель не володіла статистично достовірною підвищеною частотою.

Отже, на основі вищенаведених даних можна вважати, що алелі \*1401, 1404, 1405 та \*0401-0411 гена DRB1 можуть бути негативним прогностичним фактором для нормального розвитку вагітності, а алелі \*0701-0702 та \*1601-1602 гена DRB1 та алель \*0102 гена DQA1 можуть бути негативним прогностичним фактором для настання вагітності.

### **Бондарчук А. В., Киселёв Д. О.**

#### **ВПЛИВ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК НА ЧАСТОТУ ФЕНОТИПОВИХ МУТАЦІЙ У ДРОЗОФЛИ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони 64., м.Київ, Україна  
e-mail: artemkabondarchuk@gmail.com*

Нові добавки тестуються дуже ґрунтовно, але вони рідко досліджуються на людях. В основному в цих тестах використовуються щури, миші, бактерії і людські клітини. Деякі хвороби викликаються харчовими добавками, звідки витікає, що все залежить від індивідуальної реакції. Частина організмів може реагувати на добавки зовсім не так як тварини, на яких робилися тести. Тому, було вирішено дослідити вплив сучасних харчових добавок, які використовуються для виробництва йогуртів на одному з представників еукаріот - *Drosophila melanogaster*, як досконало вивчений та простий об'єкт для проведення тестів, пов'язані з коротким терміном розмноження, простотою збереження та фенотиповим проявом будь-яких змін в організмі.

В якості індукторів мутацій були використані наступні харчові добавки: 75420-33 Banana Flavour Batch D900021214, Givaudan Schweiz AG Ueberlandstrasem 138, CH- 8600 Dudendorf. Switzerland; 77880-33 Strawberry Flavour, Batch D900021214, Givaudan Schweiz AG Ueberlandstrasem 138, CH- 8600 Dudendorf. Switzerland.

Першим етапом було приготування середовище для культивування ліній *D. melanogaster*. Середовище містило від 0,02 до 0,04% харчових добавок.

Спочатку було культивовано дикий тип на стандартному середовищі без харчових добавок. Далі дикий тип був висаджений на середовище з відповідними концентраціями харчових добавок. Після

отримання нащадків першого покоління, культивування проводилося на середовищі без харчових добавок. Досліджено нащадків першого покоління. Після культивування нащадків F1 було отримані нащадки другого покоління. Отримані результати стали вихідними в дослідженні впливу харчових добавок на фенотичні зміни *D. melanogaster*.

В ході дослідження нащадків другого покоління було виявлено мутації крил, а саме змінна форми крила (short-wingled) та зменшення форми тіла (reducing body). Дані результати вказують на шкідливий вплив харчових добавок на одного з представника еукаріот - *D. melanogaster*.

### **Borzyszkowska J.**

#### ASSOCIATION BETWEEN THE ACE AND CYP11B2 GENES POLYMORPHISMS AND THE EXTENT OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS

*Department of Biology and Genetics Medical University of Gdansk  
Debinki 1, 80 - 211, Gdansk, Poland  
e-mail: katgen@gumed.edu.pl*

Coronary artery disease (CAD) is a major public health problem in many industrialized countries and remains to be the leading cause of death in most of them. Several studies have suggested that the activation of the renin - angiotensin - aldosterone system (RAAS) could be an important contributor to cardiovascular diseases, e.g. CAD. RAAS is an enzyme cascade: an angiotensinogen is cleaved by renin to form angiotensin I, angiotensin I is processed by angiotensin I converting enzyme (encoded by the ACE gene) to generate effector peptide angiotensin II. Angiotensin II stimulates the release and synthesis of aldosterone by aldosterone synthase (encoded by the CYP11B2 gene). Increased activity of RAAS represented by overproduction of angiotensin II and aldosterone are involved in the formation and progression of atherosclerosis and therefore in ethiology of several cardiovascular disorders including CAD, myocardial infraction or hypertension.

The aim of this study was to examine the association between the ACE I/D polymorphism (rs4340) and the CYP11B2 C-344T polymorphisms (rs1799998) and the extent of coronary atherosclerosis in the cohort of patients who underwent elective coronary angiography at First Department of Cardiology Medical University of Gdansk in Poland. The study population consisted of 402 patients with angiographically confirmed clinical diagnosis of CAD. The Gensini scale was chosen to asses the progression of CAD. It is a point scale based on the number of stenosed coronary artery segments involving degree of its luminal narrowing and segment's localisation.

The polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) assays were used to determine the ACE I/D and CYP11B2 C-344T genotypes. The associations between those polymorphisms and the extent of coronary atherosclerosis were tested using the Kruskal-Wallis test, followed by pairwise comparisons using Wilcoxon tests.  $P < 0.05$  were considered statistically significant.

To assess the influence of the considered polymorphisms on the severity of CAD we divided whole populations into groups according to: sex, age, smoking habit, BMI, history of MI, hypertension, diabetes, dyslipidemia, waist circumference. We found a significant correlation between the ACE polymorphism and the extent of coronary lesions in diabetic women ( $P_{\text{Kruskal-Wallis}} = 0.03$ ;  $P_{\text{DDvst allele}} = 0.0128$ ;  $P_{\text{adjusted}} = 0.051$ ).

These results suggest that the polymorphisms investigated have no or little impact on the development of the stenosis of coronary arteries per se, and should be analysed including other known CAD risk factors.

### **Badalyan O., Nikolaichik Y.**

#### APPLICATION OF HOUSEKEEPING GENES AS INTERNAL CONTROLS FOR QPCR MEASUREMENTS OF PR GENE EXPRESSION IN SOLANACEAE FAMILY PLANTS

*Molecular Biology, Belarusian State University  
10, Kurchatova St, Minsk, 220030, Belarus  
e-mail: oliagg@bk.ru*

Quantitative RT-PCR (qPCR) is a standard method of gene expression evaluation. Stably expressed housekeeping genes are usually used as the endogenous control in qPCR.



Based on literature data (Exposito-Rodriguez et al., 2008) we have tested the possibility of application of such housekeeping genes as EF $\alpha$ 1, SAND, TBP, CAC as internal controls in qPCR measurements of transcript levels in the cells of Solanaceae plants. By applying primers to these genes with qPCR the level of expression of tomato PR genes (PR2, PR3, PR5) was determined. The results have shown that CAC primers are largely subject to dimerization and their use for endogenous control is quite complicated. EF $\alpha$ 1 and SAND primers gave most reliable results and formed almost no dimers. Primer data was optimized for use in gene expression evaluation in qPCR.

During the next stage we tested the possibility of these housekeeping genes' application for quantitation of *Solanum tuberosum* cDNA. The results demonstrate that EF1 $\alpha$  and SAND primers can be used for as internal controls for qPCR experiments with *S. tuberosum* cDNA.

**Belokrylova D., Golubitsa A., Zhelezova A., Matveeva N., Kizilova E.**

IN VIVO ANALYSIS OF PLURIPOTENCY OF GFP-MARKED CELL CLONES  
DERIVED BY FUSION OF TWO MOUSE (129/OLA) DIPLOID ES-CELL LINES

*The Institute of Cytology and Genetics  
The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences  
Lavrentyeva Ave. 10, Novosibirsk, 630090, Russian Federation  
e-mail: belokrylova\_dina@mail.ru*

Embryonic stem cells have two important properties – in vitro self renewal and pluripotency. Pluripotency – it is an ability to differentiation into all derivative lineages of the three embryonic germ layers, that's why researchers all over the world are interested in it. Chimeric animals are convenient model for study this property (Manipulating the Mouse Embryo, 1994; Prell, 2002).

The main aim of our study was in vivo analysis of pluripotency of two GFP-marked clones ES-cells, D3T7 and D3T14 (Matveeva et al., 2005). They were derived by fusion of two mouse (129/Ola) diploid ES-cell lines: D3 and Tau-GFP, synonym is E14Tg2aSc4TP6.3. Hybrid clones D3T7 and D3T14 had ES-like phenotype and stably retained near-tetraploid karyotype during long time culturing. D3 and Tau-GFP were control cell lines.

The first step of our experiment was grafting cells of hybrid clones D3T7 and D3T14 and control cell lines D3 and Tau-GFP into an immune-deficient mouse nu/nu (Manipulating the Mouse Embryo, 1994). Histological analysis was carried out teratomas obtained in these experiments. On the second step ES-cells (hybrid clones D3T7, D3T14 and control lines D3 and Tau-GFP) were injected into the C57Bl/J6 mouse blastocysts, which were transferred to the uterus of pseudo pregnant mice F1 C57Bl/J6 x CBA. To examine whether there is chimerism in the germline we put reciprocal crossing for chimeric mice with mice C57Bl/J6. After that a histological analysis of 24 organs and tissues of chimeric embryos, fetuses and adult mice were studied with a fluorescence microscopy.

Teratomas developed in recipient nu/nu mice received ES cells (hybrid clones D3T7 and D3T14 and control lines D3 and Tau-GFP) contained such structure as cartilage, muscles, teeth, neuroglia cells, epithelial tubes, glandular epithelium, etc.

The distribution of D3T7, D3T14, D3 and Tau-GFP cells was demonstrated in all tissue types of chimeric mice. Contribution of ES-cells in mesoderm derivatives was more frequent. There was a contribution of ES-cells in somatic and generative parts gonads of chimeric embryos, but there was a contribution of ES-cells only in somatic part of gonads of adult chimeras. There weren't hybrid descendants with aguti phenotype in reciprocal crossing. So we could conclude that the contribution of hybrid ES-cells D3T7 and D3T14 in germ-line is deficient.

Thus, our results demonstrate that hybrid clones D3T7 and D3T14 could maintain pluripotency in vivo instead of tetraploid/near tetraploid karyotype. Obtained data could be used for prediction the possibilities of hybrid ES-cells differentiation in vivo and expects to be important for cell therapeutic strategies too.

This study was supported by grant from RFFI (project 096-04-01369) and grant from Carl Zeiss, Inc. (2009).

**Білець І. В., Конон А. Д., Пирог Т. П.**

**СИНТЕЗ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* K-4 НА СУМІШІ ЕНЕРГЕТИЧНО НЕРІВНОЦІННИХ РОСТОВИХ СУБСТРАТИВ**

*Національний університет харчових технологій,  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: iryna\_bilec@mail.ru*

Одним із шляхів удосконалення технологій мікробного синтезу є використання суміші ростових і неростових субстратів. Відомо, що культивування мікроорганізмів на змішаних субстратах дає змогу уникнути непродуктивних витрат вуглецю та енергії, які мають місце за використання моносубстратів, а також підвищити ефективність трансформації вуглецю субстратів у біомасу та інтенсифікувати синтез вторинних метаболітів.

Метою даної роботи було дослідити можливість інтенсифікації синтезу поверхнево-активних речовин за умов росту *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 на суміші енергетично нерівноцінних ростових субстратів (гексадекан + глюкоза, гексадекан + гліцерин, гексадекан + етанол).

Бактеріальний штам *A. calcoaceticus* K-4, ізолюваний нами із забруднених нафтою зразків ґрунту та депонований у Депозитарії Інституту мікробіології та вірусології за номером ІМВ В-7241, характеризується здатністю до синтезу метаболітів з поверхнево-активними й емульгуювальними властивостями за умов росту на гідрофільних (етанол, гліцерин, глюкоза) і гідрофобних (гексадекан) субстратах. Дослідження особливостей метаболізму *A. calcoaceticus* K-4 дало змогу класифікувати гексадекан як енергетично надлишковий, а глюкозу, етанол, гліцерин – як енергетично дефіцитні субстрати.

У результаті проведених досліджень встановлено можливість інтенсифікації синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР) за умов росту *A. calcoaceticus* K-4 на змішаних субстратах. Умовна концентрація ПАР (ПАР\*) на суміші ростових субстратів підвищувалася у 1,2–4 рази порівняно з культивуванням штаму K-4 на моносубстратах. Показано залежність ефективності біосинтезу від концентрації субстратів у суміші і способу підготовки посівного матеріалу. Так, найвищі показники синтезу ПАР на суміші гексадекану і етанолу, гексадекану і глюкози спостерігалися за використання інкуляту з відповідних змішаних субстратів, а на суміші гексадекану і гліцерину – у разі застосування посівного матеріалу, вирощеного на моносубстраті гексадекані. У процесі культивування штаму K-4 на суміші гексадекану (0,5%) і гліцерину (0,5%) показник ПАР\* збільшувався на 263% від такого на моносубстраті гліцерині, а за підвищення концентрацій субстратів у суміші до 1,0% – на 322%. При цьому абсолютне значення ПАР\* становило 4,0 і 3,8 відповідно, тобто знижувалося за підвищення концентрацій гексадекану і гліцерину у змішаному субстраті. У той же час за аналогічних умов на суміші гексадекану і глюкози показник ПАР\* становив 426 і 215% від такого на моносубстраті глюкозі.

Отримані результати показують можливість інтенсифікації синтезу поверхнево-активних речовин за умов росту *A. calcoaceticus* K-4 на суміші ростових субстратів та можуть бути використані для підвищення ефективності технологій мікробних ПАР.

**Броннікова Л. І.**

**ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ РОСЛИН *NICOTIANA TABACUM* L., РЕГЕНЕРОВАНИХ ІЗ КЛІТИННИХ ЛІНІЙ, СТІЙКИХ ДО ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України  
вул. Васильківська 31/17, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: Zlenko\_lora@ukr.net*

Клітинна селекція залишається одним із найбільш дієвих біотехнологічних методів. Актуальність її тільки зростатиме в разі залучення нових ідеологій. Нами була запропонована гіпотеза вико-

ристання іонів важких металів (ВМ) для отримання клітинних ліній, що відзначаються комплексною стійкістю.

Методом клітинної селекції раніше нами були отримані клітинні лінії тютюну, які стійкі до важких металів  $Ba^{2+}$ ;  $Cd^{2+}$ ;  $VO_3^-$ ;  $WO_4^{2-}$ . Окрім стійкості до селективних іонів, клони відзначались стійкістю до модельованого осмотичного стресу, а також до вольфрамату. Із цих ліній регенерували рослини, які також характеризувались підвищеним рівнем стрес-стійкості. Встановленим фактом є генотоксична дія іонів важких металів (ВМ).

Клітинні лінії тютюну, що стійкі до іонів тяжких металів, постійно тестували в умовах дії різноманітних стресів. Клони, відібрані на селективних середовищах з іонами барію та кадмію, росли в присутності летальних концентрацій солей морської води, сульфату натрію, маніту. Регенеранти з цих ліній постійно культивували *in vitro* в нормальних умовах. Однак, після перенесення їх в стресові умови рослини демонстрували підвищений рівень стійкості до осмотичних стресів. Аналогічна картина спостерігалась при дослідженні клітинної лінії, яка стійка до ванадату, та відповідного регенеранта. На клітинному рівні та в рослині відмічали підвищену активність нітратредуктази (НР). Ці факти свідчать на користь генетичної природи змін, які відбулися. Тому уявлялося цілеспрямованим дослідити геноми отриманих регенерантів.

Для цього використовували метод флуоресцентної цитометрії, яка дає змогу вимірювати вміст ДНК і визначити, таким чином, плоідність, виявляючи долю анеуплоїдів, міксплоїдів. Вміст ядерної ДНК в рослинних клітинах, визначали на аналізаторі плоідності (АП) компанії «Partec».

Цитометричний аналіз показав, що рослини-регенеранти триплоїди або міксплоїди, в яких, однак вміст ДНК не перевищував 4х. Імовірно, це оптимальна організація геному, при якій можлива одночасна реалізація двох подій: регенерація/експресія ознаки. У той же час, кількісна зміна змісту ДНК не виключає наявності мутацій другого типу, які також можуть бути причиною нових пов'язаних з стійкістю фенотипових реакцій.

### Древаль К. Г.

#### ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ K-1 *IRPEX LACTEUS* (FR.) FR. – АКТИВНОГО ПРОДУЦЕНТА ЦЕЛЮЛОЗОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

*Кафедра фізіології рослин, біологічний факультет, Донецький національний університет,  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: k.dreval@gmail.com*

Останнім часом у світі стрімко зріс інтерес до процесу біотехнологічної конверсії целюлозовмісних відходів з утворенням розчинів цукрів з метою подальшої трансформації їх у біопаливо (Волова, 1999; Лобачева, Желтобрюхов, Прокопов и др., 2005; Bhat, 2000). Однак, однією з основних причин, що стримує промислове впровадження цього процесу, є відсутність високоефективних продуцентів целюлаз в біотехнології. Велика роль базидіальних грибів в процесі деструкції лігноцелюлоз не викликає сумніву (Золотарев, Головина, Сивочуб, 1990). В процесі попереднього скринінгу активних продуцентів нами відібрано штам K-1 *Irpex lacteus* (Fr.) Fr., який здатний активно синтезувати ферменти целюлозолітичної дії (Древаль, Бойко, 2011). Процес синтезу та екскреції у культуральну рідину целюлаз, як і всі інші біохімічні процеси, що відбуваються у грибах, перебуває у залежності від факторів зовнішнього середовища (Даниляк, Семичаевский, Дудченко, 1989). Підібравши експериментальним шляхом оптимальні умови для синтезу целюлаз обраним штамом, можна значно підвищити вихід ферментів, необхідних для біотехнології.

Метою роботи була оптимізація умов культивування штаму K-1 *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. за факторами початкової кислотності живильного середовища та температури культивування.

Для визначення целюлозолітичної активності (ЦА) культурального фільтрату (КФ) штам культивували за температур 24-36°C (з інтервалом 2°C) та при початкових значеннях кислотності в діапазо-

ні 3-9 рН (з інтервалом 1 рН) протягом 14 діб на середовищі Чапека з використанням фільтрувального паперу (200 мг/25 мл) як єдиного джерела вуглецю. Субстратами при визначенні активності ферментів були фільтрувальний папір (ФПА), Na-карбоксіметилцелюлоза (Na-КМЦ-активність), гідроксиетилцелюлоза (ГЕЦ-активність) та целобіоза (целобіазна активність). За одиницю активності (IU) приймали таку кількість фермента, яка утворювала 1 мкмоль редукуючих цукрів (для полімерних субстратів) або 1 мкмоль глюкози (для целобіози) протягом 1 хв в умовах досліду. Редукуючі цукри визначали методом Шомодї-Нельсона, а глюкозу - глюкозооксидазно-пероксидазним методом. Вміст білку визначали спектрофотометричним методом. Отримані дані обробляли статистично методами дисперсійного аналізу, порівняння середніх проводили за методом Дункана.

В результаті проведеної роботи збільшено загальну целюлозолітичну активність штаму K-1 *I. lacteus* на 15% (з 4,82 до 5,56 FPU/ml). Такий максимум активності зафіксовано при температурі культивування 34°C та початковому рН живильного середовища 7 одиниць на 7 добу культивування. Однак, при цьому максимальне значення питомої загальної целюлозолітичної активності достовірно не відрізнялось від даних, встановлених на попередньому етапі досліджень. При цьому целюлозолітичну активність до субстрату Na-КМЦ збільшено у 3 рази (з 7,41 до 22,41 IU/ml), так само як і питома Na-КМЦ-активність підвищилась в 3 рази. ГЕЦ-активність цього штаму збільшено на 2 IU/ml (з 11 до 13 IU/ml), а показник питомої ГЕЦ-активності підвищився на 13,5 IU/ml. Здатність ферментів до деструкції целобіози з утворенням глюкози за цих умов зросла на 10 IU/ml, хоча питомий показник цієї активності не змінився і перебував у межах похибки.

Таким чином, встановлено, що для синтезу грибом K-1 *I. lacteus* ферментів целюлозолітичної дії найбільш оптимальними є такі умови культивування: температура 34°C, рН поживного середовища 7 одиниць.

### Einor D.

#### EXPRESSION OF THE HSP83 GENE IN NATURAL POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* IN UKRAINE

Taras Shevchenko National University of Kyiv  
Department of General and Molecular Genetics  
2/12 Glushkov St, Kyiv, 03022, Ukraine  
e-mail: daniel.einor@gmail.com

Heat shock proteins (HSP) are a highly conserved family of universal stress response proteins. Along with their basic function in protein folding, HSPs are known to take part in trans-membrane transport, receptor activation, enzyme activity regulation, etc. The expression of hsp genes increases in response to different kinds of stress – heat shock, chemical or radioactive contamination, viral or bacterial infection or nutrient deficiency (A. Kaźmierczuk, Z. M. Kiliacska, 2009).

HSP83 – is a drosophila homolog of the mammal HSP90 protein. Recently studies demonstrate that HSP83 suppresses the activity of transposable elements (TEs) that are activated during stress in general and ionizing radiation in particular. Hence, HSP83 is considered to reduce the incidence of mutations (Specchia et al., 2010).

In the present work, we measured the expression of the hsp83 gene in flies from natural populations throughout Ukraine collected from radioactively contaminated and clean regions.

We analyzed populations from near the cities Motovylyvka, Uman, Magarach (clean regions), Chornobyl (the city and the Nuclear Power Plant), the cooling pond of Chornobyl NPP, and Poliske (radioactively contaminated regions). Expression was measured separately for males and females using RT-PCR. The expression level was calculated relative to the house-keeping gene actin.

Our results demonstrate elevated expression of the hsp83 gene ( $p < 0.0001$ ) in male flies from radioactively contaminated regions. Given that P and hobo transposons are currently active, we suggest that, besides the direct influence of radiation, their activity may contribute to the increased expression of the hsp83 gene.

**Ievdokimenko K. S., Rozhok A. I.**

**P TRANSPOSON IN POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* FROM UKRAINE**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
Department of General and Molecular Genetics  
2/12 Glushkov St, Kyiv, 03022, Ukraine  
e-mail: evdokimenkoks@gmail.com*

P transposon (an autonomous ME 2.9 kb long) belongs to a family of transposable elements capable of provoking the so-called P-M hybrid dysgenesis (GD) in drosophila (Kidwell, 1985), revealing itself in reduction of gonads in F1 progeny under a certain crossing scheme. Based on the ability of a fly lineage to repress or activate GD in progeny of disgenic crosses, lineages are divided into M, M', Q, and P cytotypes (Itoh et al., 2001), where M is initial, and P develops in lineages invaded by P transposon with time. P transposon invaded *D. melanogaster* genomes in the 1950s via a horizontal transmission event (Kidwell, 1983; Daniels et al., 1990; Clark and Kidwell, 1997) and has been spreading in populations throughout the world since that time. By the 1980s, P transposon was present in populations around the world. However, it had not been found in flies from the territory of the former USSR (Zakharov, 1984). In Ukraine, incomplete copies of this transposon have been detected in some *D. melanogaster* populations (Kovalenko et al., 2006), although all studied populations had the basic M cytotype.

In the present work, we screened for the presence of P transposon in 10 populations of *D. melanogaster* from Ukraine collected during 2008 and 2009 so that the collection sites are distributed to form a latitudinal cross-section of the territory of Ukraine. Sequencing of the obtained PCR products demonstrates that P transposon is present in all studied populations. Analysis of dysgenic crosses reveals that populations from Odesa (Odesa region), Yalta (Crimea), and Varva (Chernihiv region) have M cytotype, and populations from Uman (Cherkasy region) and the Chornobyl seclusion zone (the city of Chornobyl, the Chornobyl NPP cooling pond, and Poliske village) have P' cytotype.

These results suggest that for the last 20 years full-size active P transposon has spread in populations of *D. melanogaster* over the territory of Ukraine. A process of adaptation of the cytotypes of the studied populations seems to be underway.

**Іномістова М., Храновська Н., Климнюк Г., Павлик С., Шайда О.,  
Свергун Н., Іонкіна Н.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНУ ТИРОЗИН ГІДРОКСИЛАЗИ  
У КІСТКОВОМУ МОЗКУ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА НЕЙРОБЛАСТОМУ**

*Національний інститут раку,  
вул. Ломоносова, 33/43, м.Київ, 03022, Україна  
e-mail: mari4enka@i.ua*

Нейробластома – злоякісна пухлина симпатичної нервової системи, що становить 7-11% загальної кількості злоякісних пухлин у дітей, займаючи четверте місце після гострих лейкозів, пухлин центральної нервової системи і злоякісних лімфом. Частота виникнення нейробластоми становить 0,85–1,1 на 100 тисяч дітей віком до 15 років.

Нейробластома здатна до раннього гематогенного метастазування. У 40-50% дітей метастази у кістковому мозку, кістках, лімфатичних вузлах виявляються вже під час звернення в клініку. У пацієнтів старших 1 року ураження кісткового мозку є стійким індикатором IV стадії нейробластоми, що характеризується несприятливим прогнозом перебігу захворювання. Виявлення метастазів у кістковому мозку є вирішальним для уточнення стадії нейробластоми та вибору оптимального протоколу лікування.

Оскільки клітини нейробластоми здатні до секреції катехоламінів, експресія генів, що беруть участь у біосинтезі катехоламінів може бути використана як потенційних молекулярних маркерів за-

хворювання. Експресія гену тирозин гідроксилази є характерною для нейробластоми та слугує специфічним маркером для виявлення раних мікрометастазів захворювання у кістковий мозок та диференціації нейробластоми від інших дрібноклітинних пухлин дитячого віку.

Експресію гена тирозин гідроксилази було досліджено у зразках кісткового мозку 32 дітей віком від 1 до 5 років з верифікованим діагнозом нейробластома. Як біологічний матеріал було використано РНК, отриману з кісткового мозку (пунктат з грудини, лівого і правого крила клубової кістки) методом кислотно-фенольної екстракції. Загалом проаналізовано 105 зразків кісткового мозку. Дослідження проводили методом зворотно-транскрипційної полімеразно-ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) з детекцією результатів в режимі реального часу з використанням специфічних праймерів та флуоресцентних Taq-Map зондів.

Експресію гену тирозин гідроксилази було виявлено у біологічному матеріалі 20 хворих на нейробластоми (62,5%), що свідчить про наявність метастазів у кістковому мозку. За результатами молекулярно-генетичного дослідження у цих 20 хворих було встановлено IV стадію нейробластоми.

За допомогою імуноцитохімічного дослідження з використанням панелі маркерних моноклональних антитіл наявність пухлинних клітин в кістковому мозку було визначено лише у 15 хворих (47%), що на 15,5% менше, ніж при дослідженні методом ЗТ-ПЛР. Імуноцитохімічні методи дослідження є високоінформативними, але не завжди достатніми при виявленні дисемінованого ураження кісткового мозку та мінімальної залишкової хвороби. В таких випадках більш ефективним є використання молекулярно-генетичних методів дослідження, а зокрема ЗТ-ПЛР, яка дає можливість визначити високоспецифічні молекулярно-генетичні маркери та дозволяє ідентифікувати одну пухлинну клітину серед  $10^5$ – $0^7$  ядровмісних кровотворних клітин.

Одним з найважливіших шляхів покращення результатів лікування дітей, хворих на злоякісні новоутворення, є чітке дотримання сучасних протоколів лікування. При використанні сучасної протокольної терапії найбільш розповсюджених пухлин дитячого віку необхідною умовою є чітка диференційна діагностика морфологічного субтипу пухлини, рання діагностика мікрометастазів, оцінка ймовірності розвитку рецидивів, дослідження мінімальної залишкової хвороби, оптимізація програм терапії та моніторинг ефективності лікування. Виявлення мРНК тирозин гідроксилази при нейробластомі допомагає відрізнити локалізоване ураження від метастатичного і виявити повторне захворювання швидше за традиційні методи.

### **Kislik G., Barkevich I.**

#### **HUMAN APP OVEREXPRESSION CAUSES FUNCTIONAL DISRUPTION IN NEUROMASCULAR JUNCTION OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

*Petersburg Institute of Nuclear Physics Russian Academy of Sciences*

*Gatchina, Orlova Roscha, Russia, 188306*

*e-mail: kislikgalina@hotmail.com*

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by deposition of extracellular amyloid plaques, intracellular neurofibrillary tangles, and neuronal loss. However, in earliest clinical phase of disease the loss of neocortical and hippocampal synapses precedes amyloidosis and neurodegeneration and closely correlates with memory impairment. While many mechanisms may contribute to cell dysfunction and loss of synapses, it is important to determine which ones are critical for AD. Mutations in the amyloid precursor protein (APP) cause familial AD and result in the increased production of a highly amyloidogenic forms of amyloid- $\beta$ -protein (A $\beta$ ) (Walsh D.M. and Selkoe D., 2004). However, it is not still clear the role of APP in nervous system and its contribution to synaptic abnormalities in AD. Moreover, independent evidences indicated that abnormal metabolism of APP (mutant APP or APP overexpression) might contribute to synaptic dysfunction independently from A $\beta$  (Stokin G.B. et al., 2008; Sarantseva et al., 2009).

To gain insight into APP function, we expressed wild-type APP and its mutant form APP-Swedish in larval motoneurons to understand the effect of APPs in the neuromuscular junction (NMJ). We showed that APPs overexpression caused a dramatic functional disruption in NMJs: the NMJs exhibited abnormal endo/exocytosis that was determined by incorporation of the styryl dye FM2–64. Analysis of distribution of mitochondria showed that motor neurons overexpressing APP (APP-Swedish) had a significant reduction of functional mitochondria in the presynaptic terminal.

To explain our results it is necessary to note that *Drosophila* APP homologue APP-like protein (APPL) increases synaptic activity in transgenic flies (Torroja L. et al., 1999). Therefore, we propose that overexpression of human APP in flies interferes with APPL expression and results in disruption of axonal transport of synaptic vesicles and defects in expression of synaptic proteins. In summary, we propose that APP as well as APPL regulates synaptic structure and functions but its overexpression leads to synaptic pathology independently from neurotoxic effect of Av.

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research 09-04-00647.

### Лучко К. М.

#### ВПЛИВ ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ НАСЕЛЕННЯ НА РИЗИК ПРОЯВУ ГІПЕРТОНІЧНОЇ ХВОРОБИ

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна,  
пл. Свободи, 4, м.Харків, 61077, Україна  
e-mail: ekaterina\_luchko@mail.ru*

Динаміка генофондів міського населення складається під впливом цілого ряду етнодемографічних і соціально-екологічних чинників. В термінах демографічної генетики міграція населення — це міграція генів людини. Міграції між популяціями ведуть до зміни існуючої раніше генетичної структури. Генетичний ефект тим значніший, чим більшою є доля мігрантів і чим більші відмінності між ними і корінними жителями (зокрема, чим більший різновид етнічного складу і більша географічна відстань від місця народження мігрантів до населеного пункту, в який вони прибули) (Курбатова, 2006). Протягом останнього десятиліття спостерігається корінна зміна в структурі людської популяції, населення старіє і велика частина населення проживає в місті і тому зростає поширення хвороб з пізньою маніфестацією. Хвороби з пізньою маніфестацією мають генетичну компоненту і тому залежать від генетико-демографічних процесів в популяції.

Метою дослідження було вивчити вплив демографічних показників місця народження на ризик виникнення гіпертонічної хвороби. Визначити вплив статусу (корінний житель або мігрант) на ризик виникнення гіпертонічної хвороби у жителів мегаполісу.

У дослідженні взяли участь 165 жителів міста Харкова. Збір інформації проведений з врахуванням етичних вимог при роботі з людиною. Віковий період становив 45-65 років. Всі піддослідні були розділені на дві групи: гіпертоніки, що відвідують поліклініку (чоловіки – 17 осіб, жінки – 31 осіб), і популяційна група, серед якої: гіпертоніків чоловіків – 9 осіб і жінок – 13 осіб, і здорових чоловіків – 48 осіб, жінок - 47 осіб. Випробовуваним були поставлені такі питання: їх місто народження і місто народження їх батьків, вік, стать, професія, професійні шкідливості. Зібрані родоводи по пробанду. Вибірка популяції формувалася випадковим чином. Статистичний аналіз проводили методом кутової трансформації долей.

Серед гіпертоніків 78% мігрантів чоловіків і 61% мігрантів жінок і корінних жителів серед гіпертоніків 22 і 39% відповідно. Динаміка генетичних процесів в популяції перебуває в русі і можливо впливає на ризик прояву гіпертонічної хвороби. Групу популяції становили 18% гіпертоніків і 82% здорових осіб. З них серед мігрантів 77% гіпертоніків і 49% здорових осіб.

Дослідження показало, що факт міграції впливає на ризик прояву гіпертонії (серед гіпертоніків 65% мігрантів і 49% здорових осіб серед мігрантів). Генофонд формується в певних клімато-геогра-

фічних умовах. Якщо відбувається перенесення генів в нове клімато-географічне середовище, виникає стресова ситуація для організму, слідством чого може служити прояв гіпертонічної хвороби.

Викладений матеріал можна вважати попереднім. Робота над дослідженням даного питання триває.

Висловлюю вдячність проф. Л.А. Атраментовій за надану тему дослідження і за обговорення результатів дослідження.

### **Нежигай Л. М., Чеченєва Т. М.**

#### **ПРОЯВ ОЗНАК ОСНОВНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ПРОДУКТИВНОСТІ У ГІБРИДІВ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: loli-nezh@ukr.net*

Підвищення врожайності м'якої озимої пшениці на сьогодні досягається завдяки застосуванню новітніх біотехнологічних методів і більш традиційних – експериментального мутагенезу та внутрішньовидової гібридизації. Останній залишається чи не найважливішим для розширення меж мінливості для подальшого добору форм з необхідними параметрами врожайності, стійкості до несприятливих факторів зовнішнього середовища, якості зерна. Метою наших досліджень було встановлення ступеня фенотипового домінування (hp) (Бівол І., 2010) та величини істинного та гіпотетичного гетерозису (Гіст та Ггіп) за основними елементами продуктивності у гібридів F1 озимої м'якої пшениці.

Експериментальні дослідження виконано в умовах дослідного поля ДСВ ІФРГ НАНУ, смт Глеваха. Матеріалом слугували 12 гібридів F1, одержані від схрещування 6 високопродуктивних сортів озимої м'якої пшениці, оптимально адаптованих до місцевих умов, що вказує на доцільність використання їх при створенні нових сортів. Насіння вихідних форм було люб'язно надано акад. Моргуном В.В.

Математичну обробку експериментальних даних проведено за допомогою загальноприйнятих статистичних методик (Рокіцький П.Ф., 1973) та програми Microsoft Office Excel 2003.

За ознакою «висота рослини» у 10 гібридних форм спостерігається гетерозис чи наддомінування ознаки кращого (вищого) вихідного зразка. Винятком є гібриди Миронівська 61ЧБілоцерківська напівкарликова та Колумбія ЧБілоцерківська напівкарликова, у яких відзначено депресію (негативне наддомінування) за вказаною ознакою. У гібридів Ятрань 60ЧБілоцерківська напівкарликова та Миронівська 61ЧПоліська 90 встановлено проміжне успадкування ознаки «довжина колоса». Негативне наддомінування за цією ознакою спостерігали лише у варіанту Миронівська 61ЧБілоцерківська напівкарликова. Величина показника hp решти зразків вказує на прояв ознаки «довжина колоса» за типом позитивного домінування та гетерозису.

За масою зерна з колоса виявлено наддомінування ознаки кращої батьківської форми у шести гібридів. Крім того, високі значення коефіцієнта варіації вказують на значну неоднорідність всередині гібридних популяцій за цим показником, особливо у гібрида КолумбіяЧПодолянка. Позитивний Гіст виявлено у восьми гібридів, та ще у трьох спостерігається позитивне значення Ггіп.

За дуже важливою господарсько-цінною ознакою «маса зерна з рослини» серед усіх гібридних комбінацій лише Білоцерківська напівкарликоваЧПоліська 90 достовірно відрізнялась від обох батьківських форм. Якщо однією з вихідних форм був сорт з високим значенням даного показника (Колумбія – 7,31 г, Подолянка – 7,59 г, Миронівська 61 – 6,44 г), спостерігали проміжне успадкування, негативне домінування чи депресію за проявом ознаки у гібриду. Винятком є гібрид Колумбія ЧПодолянка: hp – 0,83, що вказує на позитивне домінування. Слід звернути увагу, що проміжне успадкування мало місце при схрещуванні сортів Колумбія, Подолянка та Миронівська 61 з Білоцерківською напівкарликовою, вона ж має найменше значення за цим показником – 4,83г зерна з рослини.



У цілому, виявлено дуже широкий спектр мінливості за досліджуваними ознаками. Так, у комбінації Миронівська 61ЧБілоцерківська напівкарликова виявлено депресію за 4 ознаками: висотою рослин, довжиною колоса та масою зерен з нього, масою зерна з рослини. Слід відзначити комбінації Колумбія ЧПодільська та Білоцерківська напівкарликова ЧПоліська 90, що проявили позитивний гетерозис чи позитивне домінування за досліджуваними ознаками і таким чином є перспективними для подальшої роботи.

### **Огороднічук Ю. О., Стародуб М. Ф.**

#### **ІМУННИЙ БІОСЕНСОР НА ОСНОВІ ЕЛІПСОМЕТРІЇ ПОВНОГО ВНУТРІШНЬОГО ВІДДЗЕРКАЛЕННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ САЛЬМОНЕЛ**

*Кафедра молекулярної генетики та біобезпеки  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: ogorodniichuk@mail.ru*

Бактерії роду *Salmonella* викликають поліетиологічну хворобу, яка дедалі більше набирає розповсюдження в Україні ([www.golosua.com](http://www.golosua.com)) і яку розпізнають на основі клінічних, епідеміологічних та лабораторних даних. Достовірність і діагностична значимість останніх, особливо в умовах реального часу, може бути повною мірою забезпечена за допомогою інструментальних аналітичних засобів на основі принципів біосенсорики. Раніше нами було розроблено імунний біосенсор на основі поверхневого плазмонного резонансу (ППР) для визначення *Salmonella typhimurium*, чутливість якого перебуває в межах  $10^3$ – $10^7$ кліт/мл. Оскільки інфекційна доза патогенних бактерій, як правило, становить менше, ніж 10 клітин на 100 мл (Ivniński D., 1999), то виникає необхідність подальшого пошуку нових принципів реєстрації бактеріальних клітин. У попередніх дослідженнях (Nabok A.V., Starodub N.F., 2005) оптичний біосенсор на основі еліпсометрії повного внутрішнього віддзеркалення (ЕПВВ) було використано для кількісної оцінки вмісту деяких мікотоксинів у ряді об'єктів довкілля і було продемонстровано його високу чутливість при одночасній простоті та швидкості виконання аналізу. Експериментальні результати щодо випробовування імунного біосенсора на основі ЕПВВ для реєстрації *S. typhimurium* є предметом розгляду у даній доповіді.

Поверхню трансдюцера спочатку обробляли поліелектролітом (поліалаламіном гідро-хлоридом), або додекантіолом і на утворений шар іммобілізували білок А з *Staphylococcus aureus*. Далі наносили специфічну до *S. typhimurium* антисироватку у розведенні 1:4 або 1:8. Клітини інактивованих бактерій у фізіологічному розчині були попередньо розведені, починаючи з концентрації  $10^7$  клітин/10 мл, у співвідношенні 1:10.

Встановлено, що інкубація проби з підготовленою поверхнею трансдюцера імунного біосенсора протягом 15 хвилин є оптимальною. При цьому спостерігається величина відгуку, яка у подальшому майже не змінювалася протягом 30 хвилин інкубації. Мінімальний рівень чутливості виявлено при концентрації бактерій 5-10 клітин на 10 мл. Діапазон контрольованих концентрацій бактерій перебуває у межах від 5-10 до  $10^5$  клітин в 10 мл. Відновлення поверхні трансдюцера може бути здійснене за допомогою його обробки розчинами з рН близько 3,5. Після цього трансдюцер здатний до виконання вимірювань не менше 5 проб підряд зі зміною величини відгуку не більше 5%. Проміжні шари з поліелектроліту та додекантіолу давали змогу отримати аналогічні результати, однак стабільність роботи імунного біосенсора була дещо вищою в останньому випадку.

Таким чином, застосування ефекту ЕПВВ допомагає значно підвищити чутливість імунного біосенсора, що становить понад декілька порядків порівняно з тим, що базується на основі ППР. Отримані дані узгоджуються з нашими попередніми результатами (Nabok A.V., Starodub N.F., 2005) щодо чутливості визначення інших біохімічно значимих параметрів за допомогою вказаних вище підходів. Разом

з тим, слід зазначити, щоб виконати усі вимоги практики, зокрема, щодо реєстрації інфекційно-небезпечного рівня сальмонел у продуктах харчування, треба зосередити увагу на розробці ефективних засобів попередньої підготовки зразка для аналізу, а саме здійснення деякої концентрації бактерій в розчині, що в подальшому буде піддаватись контролю за допомогою імунного біосенсора.

### **Оверченко О., Оверченко В.**

#### **ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ ТА КЛОНАЛЬНЕ МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ НАПІВАМПЕЛЬНОГО СОРТУ ПЕТУНІЇ *TUMBELINA SUSANNA***

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: overv@i.ua*

Унікальна пристосованість петунії до різних умов вирощування, ґрунту і клімату, простота агротехніки, тривалість і яскравість цвітіння зробили її однією з улюблених культур квіткарів і озеленювачів. У даний час петунія займає одне з перших місць за популярністю серед однорічників, і з появою нових груп і гібридів, інтерес до неї дедалі зростає. Така популярність петунії стала наслідком і причиною того, що значні зусилля генетиків, ботаніків і селекціонерів всього світу спрямовані на створення все нових сортів, гібридів і садових груп петуній. Кожна з цих груп по-своєму приваблива і займає певне місце в озелененні. Традиційно з петуній роблять клумби, рабатки і бордюри, висаджують на балконах. Сучасні гібриди завдяки могутній кореневій системі добре ростуть у місткостях з обмеженим обсягом (контейнери, кашпо, підвісні кошики і вази). Застосування методу мікроклонального розмноження дає можливість в достатній кількості отримати якісний, однорідний, оздоровлений садивний матеріал. Метою нашої роботи було введення в культуру *in vitro* нового перспективного напівампельного сорту петунії *Tumbelina Susanna*. Робота включала в себе отримання асептичних первинних експлантів, підбір живильного середовища для калюсогенезу, морфогенезу та ризогенезу, та проведення адаптації рослин – регенерантів до умов *in vivo*. Рослини – донори були вирощені в умовах закритого ґрунту. Як первинні експланти використовували молоді, свіжозрізані пагони довжиною до трьох сантиметрів, а також молоді листки, які будуть слугувати матеріалом для калюсогенезу. Стерилізацію проводили поетапно: відмивання в детергенті – 20 хв, витримання в 70% етанолі 1 хв. та 1,25% гіпохлориді натрію з часом експозиції 25 хв, 1,7% - 20 хв, з подальшим відмиванням в стерильній дистильованій воді три рази по 10 хв. Вихід стерильних експлантів становив 50,0 і 66,0%. Для культивування використовували базове живильне середовище по Мурасіге і Скуга (МС). Кожен етап мікроклонального розмноження модифікували гормональним складом живильного середовища, доповнюючи його: БАП, НОК, ІМК і кінетин. Рослини – регенеранти культивували в термальній кімнаті з 16-годинним фотоперіодом, температура світлового дня становила 22°C, не світлового 18-19°C, вологість 70-75%, освітлення 3,5-4 т. люкс. Одержання калюсної тканини на листових експлантах із подальшою індукцією органогенезу спостерігали на середовищі МС + 0,05 мг/л НОК і 0,5 мг/л БАП, одержали масову регенерацію пагонів. З початком калюсогенезу проходила індукція морфогенезу, закладання бруньок в калюсній тканині і розвиток пагонів (кількість пагонів на один експлант становила до 6 штук). Отримання максимальної кількості пазушних бруньок – пагонів на стеблових експлантах (> 10 штук на один експлант довжиною 1,5-2 см через 25 діб, > 25 штук, 3 см – через 50 діб) спостерігали на середовищі МС + 2,0 мг/л кінетин і 0,1 мг/л ІМК. В подальшому проводили мікроживцювання пагонів на середовищі 0,3 мг/л ІМК, що дало можливість досягти частоти укорінення – 100%. Укорінені рослини переносили в контейнери заповнені сумішшю: торф, глина, перегній, пісок (1:1:1:0,5) для подальшої адаптації в умовах *in vivo*.

**Петрачкова Т. А., Проніна О. В., Шепета Ю. Б., Рушковський С. Р.**

**ПОРІВНЯННЯ ПРОЦЕСІВ СТАРІННЯ В КОЛОНІЯХ  $\rho\text{HO}^+$  ТА  $\rho\text{HO}^0$   
ШТАМІВ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

*Кафедра загальної та молекулярної генетики, Навчально-науковий центр  
«Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: tanya.petrachkova@gmail.com*

Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є відомою моделлю для вивчення вікових змін та механізмів регуляції тривалості життя. Відомо, що важливу роль в процесах старіння відіграють мітохондрії та вільні радикали, які вони генерують. Таким чином, метою нашої роботи було порівняння вікових змін, які відбуваються в клітинних популяціях колоній  $\rho\text{HO}^+$  (клітини, які мають функціональні мітохондрії) та  $\rho\text{HO}^0$  (клітини, які втратили мітохондріальну ДНК та дефектні щодо мітохондріального дихання) штамів.

Робота проводилася на гаплоїдному штамі дріжджів DLY640 *Saccharomyces cerevisiae*, та отриманому від нього  $\rho\text{HO}^0$  клоні. Втрату мітохондріальної ДНК підтверджували за допомогою люмінесцентної мікроскопії (прижиттєве фарбування DAPI). Колонії культивували на повному поживному середовищі YPD при температурі 28 °С. Протягом періоду спостереження (35 діб) з періодичністю 5 діб з матеріалу колоній робили цитологічні препарати. На цитологічних препаратах оцінювали розміри клітин, їх морфологію та кількість клітин у скупченнях (характеристика проліферативної активності культури). Для оцінки інвазивного росту колонії змивали з поверхні поживного середовища струменем води й аналізували клітини, що проросли в поживне середовище за допомогою світлової мікроскопії.

Старіння  $\rho\text{HO}^+$  колоній супроводжувалося появою вторинного росту (наявність так званих «бородавок» - вторинних колоній - на поверхні основної колонії), який з'являвся на колоніях починаючи з 15-ї доби експерименту. При подальшому культивуванні вторинний ріст поширювався по поверхні вихідної колонії. На поверхні  $\rho\text{HO}^0$  колоній появи вторинного росту зареєстровано не було протягом всього періоду спостереження. При змиванні 35 денних  $\rho\text{HO}^+$  колоній була виявлена інвазія їх клітин у поживне середовище. При мікроскопії змивів інвазивних колоній в поживному середовищі в значній кількості були виявлені типові клітини псевдоміцеліального росту. Такі клітини були зареєстровані також в змивах надповерхневої частини старої колонії даного штаму. При змиві 35 денних колоній  $\rho\text{HO}^0$  клону інвазивний ріст візуально не реєструвався. При мікроскопії поживного середовища виявлялася незначна кількість інвазивних колоній, клітини яких мали типову округлу дріжджову форму. В суспензії з 35 денних  $\rho\text{HO}^0$  колоній типові клітини інвазивного росту також не реєструвалися.

При аналізі цитологічних препаратів було показано, що для клітин старіючої культури дріжджів характерний високий рівень морфологічної мінливості: в суспензії присутні клітини неправильної форми зі значними деформаціями, зустрічаються гігантські клітини. Серед округлих поодиноких клітин, типових для стаціонарної фази росту, зустрічаються клітини з бруньками. По мірі старіння культури збільшується доля поодиноких клітин, але в 35 денних культурах як  $\rho\text{HO}^0$  та  $\rho\text{HO}^+$  колоній відсоток 2 та 3-х клітинних скупчень зростає, що може бути ознакою відновлення процесів розмноження клітин.

Таким чином, нами були виявлені відмінності при старінні колоній  $\rho\text{HO}^+$  та  $\rho\text{HO}^0$  штамів дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, які стосувалися утворення вторинного росту та інвазії в поживне середовище.

**Чеботар Г. О.,**

**ЕВОЛЮЦІЙНІ ВІДМІННОСТІ DELLA-ПРОТЕЇНІВ ОДНО- ТА ДВОДОЛЬНИХ РОСЛИН**

*Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААН Україн  
Овідіопольська дор., 3, м. Одеса, 65036, Україна  
e-mail: gchebotar@rambler.ru*

Підродина DELLA-протеїнів з родини GRAS-протеїнів відіграє важливу роль в процесах росту та розвитку рослин. DELLA-протеїни є транскрипційними регуляторами ростових процесів та від-

повідують за чутливість рослин до дії гіберелової кислоти завдяки своїй структурі, а саме DELLA та VHYNP мотивам в N-термінальному кінці, які важливі для зв'язування з гібереловим рецептором (наприклад, GID1 у арабідопсису) та протеолізу DELLA-протеїнів 26S-протеасомою.

На сьогодні секвеновано геноми багатьох рослинних організмів. Секвеновано й гени Rht-D1 та Rht-B1, які кодуєть DELLA-протеїни пшениці. Мутантні алелі Rht-D1b та Rht-B1b цих генів призводять до нечутливості рослин пшениці до дії гіберелової кислоти, що фенотипово проявляється у короткостебловості таких рослин.

Згідно даних Blast-аналізу послідовності DELLA-протеїну Rht-D1a гену в базі даних NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) було знайдено синонімічні сиквенси протеїнів більш ніж 17 культур, як дводольних так і однодольних. Це свідчить про наявність DELLA-протеїнів у квіткових рослин, та підтверджує дані (Tian et al., 2004). Послідовності DELLA-протеїнів секвеновані для таких культур як квасоля звичайна, горох лущильний, пшениця, рис, кукурудза, кліщівина звичайна, культурна соя, салат латук, львиний зев, полин, капуста, декількох видів роду яблуні, арабідопсиса, бавовника. Також існують послідовності білків, функції яких ще не встановлені, проте їх структура показує великий відсоток гомології з послідовністю DELLA-протеїну пшениці, наприклад, гіпотетичні DELLA-протеїни сорго та винограду.

Загалом досліджувані у нашій роботі за допомогою Blast-аналізу DELLA-протеїни розділилися на 4 окремих кластери на дендрограмі, три з яких сформовано дводольними рослинами, а один складається виключно з однодольних. В середині однодольних можливо виділити 2 субкластери. До першого з субкластерів відносяться DELLA-протеїни кукурудзи, сорго та гібридів сахарного тростнику, при чому більш схожими є DELLA-протеїни сорго та гібридів цукрової тростини, в той час як протеїни кукурудзи можливо відокремити до іншого підкласу. До другого субкластеру відносяться також два підкласи протеїнів, перший включає протеїни роду рис, а другий підклас складають DELLA-протеїни ячменю та пшениці.

Серед трьох кластерів сформованих при аналізі послідовностей сиквенсів DELLA-протеїнів дводольних, можливо помітити, що послідовності DELLA-протеїнів одного виду можуть відноситися до різних кластерів. Наприклад, у домашньої яблуні, винограду, бавовника, егілопса, квасолі, кліщівини та тополі, що може свідчити про паралогічність цих білків. Паралогічними назвають білки, які трансклюються з гомологічних генів, що виникли в наслідок дуплікації.

Показано генетичну близькість DELLA-протеїнів ряду ендемічних родів з родини Asteracea, що ростуть на Гавайських островах, таких як *Dubautia*, *Wilkesia* та *Argyroxiphium*. Секвеновані послідовності DELLA-протеїнів цих родів формують окремий субклас на дендрограмі, що є додатковим підтвердженням даних про генетичну близькість цих родів.

### **Skrypnik K., Kosobokova E., Kosorukov V.**

#### **EXPRESSION OF RECOMBINANT MONOCLONAL ANTIBODIES IN PLANTS**

*Russian N.N. Blokhin Memorial Cancer Research Center*

*Laboratory of Transgenic Substances, Kashirskoe shosse, 24, Moscow, 115478, Russia*

*e-mail: kssa@yandex.ru*

Plant biotechnology enables to produce a lot of valuable recombinant molecules including monoclonal antibodies (mAbs). Plants have a lot of benefits such as reduced health risks from human and animal pathogen contamination, high product yield and low cost of the target substance.

Using of recombinant monoclonal antibodies is one of the most perspective approaches in clinical oncology. Breast cancer is successfully treated by a humanized monoclonal antibody, trastuzumab (Herceptin). A target for trastuzumab is human epidermal growth factor receptor-2 (HER2/neu). Trastuzumab treatment course is rather expensive. Agrobacterium-mediated expression system makes it possible to produce mAb against HER2/neu in plant cells.

Tobacco mosaic virus- and Potato virus X-based vectors encoding heavy and light chains of mAb, respectively, were constructed. Full-sized antibodies were transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* host plant, then extracted and purified from plant leaves. Purification process included ammonium sulfate precipitation stage followed by affinity chromatography.

Biological activity of plant-made trastuzumab was studied in *in vivo* and *in vitro* experiments. Immunoglobulin bound to HER2/neu oncoprotein of SK-BR-3 cells and inhibited SK-BR-3 cells proliferation. It was shown that it suppresses tumor growth and cell proliferation and its activity was similar to Herceptin.

### **Tratsiakova V.**

#### TEMPERATURE DEPENDENCE OF PR GENES EXPRESSION AND POTATO TUBER TISSUES MACERATION BY STRAINS PECTOBACTERIUM AND DICKEYA

Belarusian State University  
4, Nezavisimosti Ave., Minsk, 220030, Republic of Belarus  
e-mail: o.tratsiakova@gmail.com

Phytopathogenic pectolytic, *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi*) are capable to cause tissue maceration in various kinds of plants during the vegetative period and at crop storage and thus cause essential losses of agricultural production. Bacteria are widespread in the nature and cause a number of diseases of the higher plants, in particular the potato, therefore it is necessary to gather more data on features of interaction of these pathogens with plants and induction of genes of resistance of a potato in reply to bacteria infections. The objective of this study was to determine whether there is a correlation between maceration activity and of PR gene expression.

Two potato cultivars were used throughout this research – Vesnjanka and Skarb.

Tubers of the cultivars Vesnjanka have appeared to be more susceptible to infection with *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya dadantii*, than tubers of cultivars Skarb. The species of *Pectobacterium* differed in virulence (degrees of tuber tissue maceration potato). The greatest virulence characterized bacteria *Pectobacterium carotovorum* and the least *Pectobacterium atrosepticum* at 28°C. Similar pattern was noticed earlier Wolters P. and Collins W. when testing of varieties of a potato of American selection at temperature 25°C (P. Wolters, W. Collins, 1994). As the temperature falls (18°C), the virulence of bacteria *Pectobacterium carotovorum* becomes less than that of bacteria *Pectobacterium atrosepticum*.

During the incubation of the infected potatoes at 33°C the mechanism of tissues maceration remained virtually the same as that at 28°C bacteria *P. carotovorum* *P. atrosepticum*. However, the maceration activity of bacteria *Dickeya dadantii* considerably increased at 33°C. *Dickeya dadantii* as potato pathogen can be found in European countries such as Great Britain and Poland, but it causes actual damage only in climate zones with high temperatures, for example in Brazil, Cuba, and the USA (R. Czajkowski, J. Grzegorz, 2009). Our results also correspond to the increase in virulence of *Dickeya dadantii* with temperature. The variations in the resistance of the potato to illnesses may be related to the PR genes expression. Real Time PCR method on device DT-96 was used to quantitatively determine the expression of two genes that code for stability proteins (PR-3, PR-5t) in accordance with the EF16 gene.

The maximum expression of protective protein PR - 3 was observed when a potato was infected by strain *Dickeya dadantii* ENA49 at 18°C; the minimum expression occurred at 33°C in cultivar Vesnjanka. This result correlates with the earlier obtained data on the degree of tissue maceration in a potato tuber. The same pattern is observed in the case of the expression of protective protein PR - 5t at infection by strain *Pectobacterium atrosepticum* 36 A in cultivar Skarb. The maximum expression of this protein was occurred at 18°C and the minimum at 33°C. This result also correlates with the data on the degrees of tissue maceration in a potato tuber.

Thus, the experiments show that the cultivars of a potato studied are affected by the bacterial soft rot to different degrees; the experiments also reveal a pattern of induction in resistance genes of potato that occurs in response to bacterial infections.

**<sup>1</sup> Цирульник А., <sup>1</sup> Снітинський В., <sup>2</sup> Стойка Р.**  
**МОДИФІКАЦІЯ ГЕНА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА STAT5A**  
**ШЛЯХОМ ВАС-РЕКОМБІНАЦІЇ**

*<sup>1</sup> Львівський національний аграрний університет,  
вул. В. Великого, 1, Львів-Дубляни, 80381, Україна*

*<sup>2</sup> Інститут біології клітини національної академії наук України,  
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: a\_tsygulnyk@yahoo.com*

Транскрипційні фактори родини STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) є важливими регуляторами експресії генів, стимульованих цитокінами, що впливають на різні клітинні процеси. Транскрипційний фактор STAT5a опосередковує стимуляцію клітинного росту, проліферації та ангиогенезу (Takeda, 2000; Murray, 2007; Li, 2008). Сучасні дослідження механізмів біологічної дії білків STAT проводять шляхом створення трансгенних мишей, що містять у геномі штучно синтезовані та модифіковані форми генів відповідних транскрипційних факторів (Tsuuyama, 2002; Hiai, 2003; Ye, 2006). Метою даної роботи був синтез модифікованого гена STAT5a, білковий продукт якого володіє конститутивною активністю та його включення у штучну бактерійну хромосому шляхом гомологічної рекомбінації. Використання штучної бактерійної хромосоми дає змогу ввести у геном миші не лише модифікований ген STAT5a, але й усі його вихідні регуляторні ділянки, що забезпечує високий рівень експресії цього транскрипційного фактора та створення ефективної трансгенної моделі для вивчення ролі гіперактивації STAT5a у забезпеченні патологічних змін в організмі.

**Удовиченко К., Господарик А., Удовиченко В., Поліщук В.**  
**ВИКОРИСТАННЯ ЗТ-ПЛР ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ УКРАЇНСЬКИХ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСІВ ГРУШІ**

*Інститут садівництва НААН України, вул. Садова, 23, м. Київ, 03027, Україна  
e-mail: k\_udovychenko@rambler.ru*

Віруси ямкуватості деревини яблуні (ВЯДЯ), борознистості деревини яблуні (ВДЯ) та хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ) широко розповсюджені у насадженнях груші, яблуні та інших представників родини розоцвітих. Вони спричиняють економічні втрати шляхом зниження урожайності та погіршення якості плодів. За нашими даними середній рівень інфікованості цими вірусами продуктивних та колекційних насаджень груші у регіонах України становить майже 20%. Для діагностики вірусів ЯДЯ, БДЯ та ХПЛЯ використовують біотести і ELISA (ензим-зв'язаний імуносорбентний аналіз). Але чутливість даних методів значно нижча у порівнянні з методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). Тому нашим завданням був підбір оптимальних умов для детекції українських ізолятів вірусів ЯДЯ, БДЯ та ХПЛЯ, виділених зі зразків груші методом ЗТ-ПЛР і ЗТ-ПЛР з попереднім імунозахватом (ІЗ-ЗТ-ПЛР).

Оскільки груша характеризується значним вмістом фенольних сполук і полісахаридів, які у процесі екстракції зв'язуються з РНК і роблять її непридатною для синтезу кДНК, у першу чергу нами було проведено пошук оптимальної методики екстракції тотальної РНК. З цією метою використовували рекомендовані авторами методики з власними модифікаціями і комерційні набори (Invitrogen, Epicentre, Agilent, Promega). Оптимальним для екстракції тотальної РНК зі зразків груші виявився набір виробництва фірми Promega. Отримана НК задовольняла вимоги для успішного проведення ЗТ-ПЛР, про що свідчило використання внутрішнього контролю pad5.

За результатами ELISA було відібрано 15 зразків сортів та гібридів груші з моно- та поліінфікуванням вірусами ХПЛЯ, БДЯ та ЯДЯ. Для діагностики використовували праймерні послідовності до ділянки гену капсидного білка вірусів, рекомендовані Menzel, 2002. Проведення однокроковий ЗТ-ПЛР дало змогу отримати продукти ампліфікації очікуваної довжини: 677 п.н. для ВХПЛЯ, 370 п.н. для ВЯДЯ та 273 п.н. для ВДЯ.

Для уникнення етапу екстракції РНК було відпрацьовано методику ІЗ-ЗТ-ПЛР. Ця методика є комбінацією серологічного та молекулярно-біологічного методів діагностики і за літературними даними для детекції вірусів яблуні є в 4 рази чутливішою ніж ЗТ-ПЛР. Для стадії імунозахвату використовували стандартні антитіла до вірусу ХПЛЯ виробництва фірми LOEWE у розведенні 1:200, інкубація з соком проходила протягом ночі. ЗТ-ПЛР успішно проводили безпосередньо в пробірках, в яких відбувалася взаємодія між антитілами та вірусними частками.

Таким чином, було підібрано ефективний метод екстракції РНК зі зразків груші; визначено, що найкращим матеріалом як для виділення НК, так і для імунозахвату є молоде листя. За результатами тестування з відібраних зразків груші було виділено 4 ізоляти вірусу ХПЛЯ, 6 ізолятів вірусу ЯДЯ і 4 ізоляти вірусу БДЯ. Отримані продукти ампліфікації будуть просиквензовані та буде проведено аналіз їх філогенетичної спорідненості з уже відомими ізолятами відповідних вірусів.

### **Кисельов Д.**

#### **ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ДОМІНАНТНИХ АЛЕЛЕЙ ГЕНУ КОЛОНОВИДНОСТІ Со**

*Інститут садівництва НААН України, вул. Садова, 23, 03027, м. Київ, Україна  
e-mail: kiselevda@ukr.net*

Для виробництва необхідні сорти яблунь, які б мали високі смакові якості та товарний вигляд плодів, при цьому витрати на вирощування були мінімальними. Для того, щоб отримати такі результати необхідним є постійний контроль за інтенсивністю росту та архітектурою крони дерев. Архітектура крони яблуні важлива для продуктивності, якості плодів, одночасного досягання та зменшення витрат виробника. Тому це є одним з напрямів селекційно-генетичної роботи по яблуні. Архітектура дерев дуже різноманітна, але деякі типи габітусу дерев є більш бажаною виробниками, ніж інші, із-за компактної крони. Дерев з колоновидним габітусом найбільш повно відповідають цим вимогам.

Принципово нові можливості були відкриті при використанні в селекції компактної колоновидної форми Мекінтош «Wісік», компактність росту у якої контролюється домінантним геном Со в гетерозиготному стані. Також висувається припущення, що наявні гени – модифікатори головного гену. При схрещуванні даної форми з сильнорослими сортами, у нащадків спостерігається розщеплення 1:1, тобто вищеплюється 50% компактних гібридів, які характеризуються колоновидним габітусом росту, невеликим розміром однорічного приросту, низьким числом бічних пагонів та короткими міжвузлями.

З метою збільшення продуктивності насаджень в обіг сортів поступово входять колоновидні сорти яблуні, що характеризуються центральним провідником та вкороченими міжвузлями та бічними пагонами. Ген колоновидності активує явище апікального домінування, тобто змінюється відношення ауксинів до цитокінінів. Моногенний контроль колоновидного габітусу росту у Мекінтош «Вожак» та його компактних похідних, було в подальшому підтверджено зарубіжними та вітчизняними вченими.

Ознаки компактності добре виявляються у сіянців у дворічному віці, тому добір необхідних генотипів фенотипові проводять на другому році вегетації рослини. В якості критеріїв оцінки компактності сіянців можна використовувати декілька показників. Таким чином, сіянці, отримані з участю спурової форми Мекінтош «Вожак», характеризується меншою довжиною однорічних приростів, меншою кількістю бічних пагонів, більш короткими міжвузлями.

В дослідженні були використанні вітчизняні та зарубіжні сорти та гібридні форми, фенотипово контрасні за ознакою колоновидності крони. Для детекції домінантних алелей гену Со був використаний домінантний SSR-маркер SSRСо. За допомогою цього маркеру можна ідентифікувати лише наявність домінантного алелю, але не можна робити висновок про алельний склад геному певного сорту. Ампліфікація фрагменту молекулярною масою 170 п.о. свідчить про наявність домінантних алелей гену Со.

Серед 47 сортів та гібридних форм було детектовано домінантні алелі гену *Co* у 18 сортів та гібридних форм, зокрема вітчизняної селекції 12.

Результати проведеного молекулярно - генетичного скрінігу відповідають фенотипу досліджуваних сортів та гібридних форм. Дана методика може бути рекомендована для добору гібридних форм в перший рік вегетації, коли фенотипово не можливо відрізнити колоновидні та неколоновидні форми. Також при розробці системи ДНК паспортизації сортів яблуні необхідно враховувати відомості щодо наявності/відсутності домінантних алелей цього гену.

**Оберемок В. В., Барабан Т. В., Зайцев О. С., Красильщикова С. І., Сізіх Л. М.**  
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ОДНОЛАНЦЮГОВИХ ДНК-ФРАГМЕНТІВ ВІРУСУ  
ЯДЕРНОГО ПОЛІЕДРОЗУ НЕПАРНОГО ШОВКОПРЯДА НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Таврійський національний університет імені В.І. Вернадського*  
*пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, Україна*  
*e-mail: genepcr@mail.ru*

Вивчали вплив водних розчинів двох одноланцюгових фрагментів гена-інгібітора апоптоза вірусу ядерного поліедрозу непарного шовкопряда (*iar-3* ген) (Kuzio et al., 1999) та одного випадкового декануклеотида *olig 35* на життєздатність 1-2-добових личинок *D. melanogaster* (лінія *ebony*). Послідовності ДНК були такими: 1) фрагменти *iar*-гена: а) GCC GGC GGA ACT GGC CCA (анти-сенс); б) CGA CGT GGT GGC ACG GCG (сенс) (metabion international AG, Німеччина; (100 пмоль/мкл); HPLC); 2) *olig 35*: TGCGCAGCCC (SibEnzyme, Росія; 4,3 ОО/мл).

Одним із можливих шляхів проникнення фрагментів ДНК в тіло личинки є зовнішній. Відомо, що наявність розвиненої епікутикули деякою мірою обмежує проникність покривів комах. Хлороганічні та інші контактні інсектициди легко потрапляють в організм комахі крізь найбільш проникні ділянки її покривів (Тыщенко, 1986). Одноланцюгові молекули ДНК мають як гідрофільні (цукрово-фосфатний остов), так і гідрофобні (бази) групи, які допомагають їм проникати крізь полярні й неполярні частини тканин комахі. Після 20-хвилинного витримування у розчинах рахували кількість особин, які дійшли до стадії імаго. У дослідній групі (*iar-3* ген) загинуло 40% особин, а у контрольній (дистильована вода) – 16,7% ( $\chi^2 = 4,87$ ; d. f. = 1;  $P < 0,05$ ), що вказує на істотний вплив розчину з одноланцюговими ДНК-фрагментами *iar*-гена на життєздатність особин комахі у порівнянні з контрольною групою. Більшість загиблих у дослідній групі личинок відрізнялись від загиблих у групі контролю морфологічно, що свідчить про неоднаковість причин, які призвели їх до загибелі. Загиблі личинки комахі з дослідної групи мали чорний колір, а загиблі личинки з контрольної групи були звичайного білого кольору. Смертність у дослідній групі з *olig 35* була на 3,3% вища, ніж у контролі ( $P > 0,05$ ).

У результаті пошуку методом ПЛР фрагментів геному *D. melanogaster*, які збігаються з використаними частинами *iar*-гена вірусу ядерного поліедрозу непарного шовкопряда, було отримано 6-10 ДНК-фрагментів для кожного індивідуального спектра личинок *D. melanogaster*. Як праймери використали фрагменти *iar-3* гена, якими оробляли личинок комахі. Ампліфікацію ДНК із специфічними праймерами проводили в реакційній суміші об'ємом 30 мкл на термоциклері «Терцик» (ДНК-Технологія, Росія) з використанням реактивів для полімеразної ланцюгової реакції «АмплиСенс-200-1» (АмплиСенс, Росія).

Отримані результати можуть пояснювати вплив одноланцюгових фрагментів вірусу на комахі за механізмом ДНК-інтерференції (Kawai-Toyooka et al., 2004), або схожого на нього процесу (наприклад, антисенс-технології). Раніше ми отримали схожі результати для непарного шовкопряда (Оберемок, 2009), що вказує на поширеність цього явища.

Наша основна теза полягає у такому: екзогенно внесені у клітину ДНК-фрагменти, які співпадають з послідовністю ДНК самої клітини, мають впливати на її біохімічні реакції, тому що несуть



у собі частину інформації про керування життєдіяльністю клітини. Відомо, що деякі антиапоптичні гени (іар-гени) бакуловірусів є гомологічними генам антиапоптозу людини, нематод, комах (Жимулєв, 2007), тому отримані нами результати є достатньо прогнозованими і можуть мати практичне застосування (наприклад, створення ДНК-інсектицидів, лікарських препаратів).

**Конон А. Д., Пирог Т. П.**

**ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ ПОПЕРЕДНИКІВ НА СИНТЕЗ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* K-4**

*Національний університет харчових технологій  
Кафедра біотехнології мікробного синтезу  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: KononA@meta.ua*

Поверхнево-активним речовинам (ПАР) мікробного походження притаманні мультифункціональні властивості: від антимікробної дії до здатності сорбувати важкі метали та полегшувати розкладання нафтових забруднень мікроорганізмами. Крім того, на відміну від синтетичних аналогів, вони підлягають біодеградації та є нетоксичними.

Останнім часом перед людством постають такі глобальні питання, як забруднення навколишнього середовища ксенобіотиками, виникнення невиліковних хвороб, поширення резистентних форм мікроорганізмів, необхідність утилізації відходів виробництва тощо. Одним із шляхів вирішення цих питань є використання мікробних ПАР та вуглеводеньокиснювальних мікроорганізмів.

Промислове виробництво мікробних ПАР стримується високими витратами на біосинтез через використання дорогих субстратів та складного обладнання для очищення і концентрування цільового продукту. Одним із підходів до підвищення ефективності технологій мікробного синтезу є його інтенсифікація за рахунок внесення у середовище екзогенних попередників культивування продуцента – проміжних продуктів метаболізму ростового субстрату (первинні метаболіти), що є вихідними для процесів конструктивного метаболізму або регуляторами (індукторами) синтезу цільового продукту.

У попередніх дослідженнях виділено штаб нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, та встановлено умови його культивування на етанолі, що забезпечують максимальні показники синтезу ПАР. Показано, що ПАР *A. calcoaceticus* K-4 являють собою комплекс гліко-, аміно- та нейтральних ліпідів. Мета даної роботи – дослідження можливості інтенсифікації синтезу ПАР *A. calcoaceticus* K-4 на етанолі за присутності фумарату (попередника глюконеогенезу) і цитрату (регулятора синтезу ліпідів).

Експерименти показали, що одночасне внесення фумарату (0,01 %) і цитрату (0,01 %) у кінці експоненційної фази росту штаму K-4 на середовищі з етанолом (2 % по об'єму) супроводжується підвищенням кількості синтезованих ПАР на 195 % у порівнянні із показниками синтезу на середовищі без органічних кислот.

Підвищення синтезу ПАР за присутності фумарату і цитрату зумовлене збільшенням у 1,7-7 разів активності ферментів біосинтезу гліколіпідів (фосфоенолпіруватсинтетази і трегалозофосфатсинтети) і аміноліпідів (НАДФ<sup>+</sup>-залежної глутаматдегідрогенази), а також одночасним функціонуванням двох анаплеротичних шляхів (гліюксилатного циклу і фосфоенолпіруваткарбоксилазної реакції).

Встановлені нами закономірності по впливу попередників біосинтезу на утворення ПАР *A. calcoaceticus* K-4 відрізняються від встановлених раніше для штаму *Rodococcus erythropolis* EK-1: по-перше, оптимальна концентрація фумарату і цитрату для штаму K-4 у 10 разів нижча; по-друге, за присутності органічних кислот відбувається посилення синтезу тільки поверхнево-активних речовин; по-третє, ефект від сумісного внесення органічних кислот у середовище культивування штаму K-4 з етанолом суттєвіший – концентрація ПАР збільшується майже в три рази, у той час як для штаму *R. erythropolis* EK-1 – у 1,5–2 рази.

Одержані результати показують можливість регуляції процесів біосинтезу ПАР у *A. calcoaceticus* K-4 і зміни їх направленості у бік утворення ПАР, а також можуть бути використані для вдосконалення технологій мікробних поверхнево-активних речовин.

**Жураховська Д. І., Демиденко К. В.**

**ПЕРЕРОБКА ВІДХОДІВ ДЕРЕВООБРОБНОЇ ТА ПАПЕРОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ШЛЯХОМ АНАЕРОБНОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ З ОДЕРЖАННЯМ ВОДНЮ**

*Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»*

*пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: dashkina13@ukr.net*

Накопичення відходів – невід’ємна складова розвитку будь-якого цивілізованого суспільства. З кожним роком кількість відходів зростає, тому активно ведеться пошук новітніх підходів і методів їх утилізації. Найбільш дешевим та поширеним способом є спалювання та захоронення на полігонах, що завдає шкоду навколишньому середовищу та здоров’ю населення. Натомість відходи можна переробляти біологічним шляхом з отриманням корисних продуктів. Наприклад, відходи паперової та деревообробної промисловості є потенційною сировиною для отримання водню. Як відомо, водень є екологічно чистим енергоносієм. При його спалюванні виділяється 122 МДж/кг енергії й утворюється чиста вода. У розвинених країнах вміст паперу серед твердих побутових відходів (ТВП) досягає 50% і переробка їх біологічним шляхом значно скоротить об’єми ТПВ.

Мета даної роботи – переробка відходів деревообробної та паперової промисловості шляхом анаеробної ферментації з одержанням водню.

Відходи деревообробної промисловості характеризуються високим вмістом целюлози, геміцелюлози та лігніну. Мікробіологічна деструкція лігніну проходить дуже повільно, при цьому він затрудняє доступ мікроорганізмів-деструкторів до волокон целюлози. Тому необхідною є попередня обробка відходів парою. Певні спеціалізовані види мікроорганізмів можуть розкласти целюлозу завдяки комплексу целюлолітичних ферментів. Ці ферменти містяться у спеціальних утворах – целюсосомах, що прикріплені до поверхні клітини, тому мікроорганізми перебувають в адсорбованому стані на волокнах целюлози. Саме тому на швидкість ферментації впливає розмір частинок відходів, і для інтенсифікації процесу необхідне їх попереднє подрібнення.

Для експерименту використовували консорціуми мікроорганізмів, взятих в природних умовах. Культивування проводили за використання різних субстратів: папір, дерев’яні ошурки, гідроксиметилпропілцелюлоза, гілля, листя, соломка, кора тощо. В процесі ферментації за анаеробних умов спостерігалося стабільне виділення газу, кількість якого коливалась в залежності від субстрату та умов проведення процесу. Встановлено оптимальні значення рН середовища (8-8,5) і температури (35°C). Домінували представники таких родів, як *Clostridium* і *Bacillus*.

Для встановлення найбільш продуктивного консорціуму - зразки мікроорганізмів, взяті з середовищ різного походження культивували на середовищі Омелянського, з використанням фільтрувального паперу в якості джерела вуглецю. В процесі целюлозного бродіння конкурують два процеси: утворення водню та метаногенез. Для пригнічення метаногенезу використовували попередню температурну (нагрівання протягом 1 год. При 90°C) і кислотну обробку (зниження рН до 5), а також відведення водню з зони реакції. За використання консорціумів мікроорганізмів взятих з донного мулу, що містить листя, можливе утворення сірководню в результаті діяльності сульфатредукуючих мікроорганізмів. Щоб запобігти цьому проводили температурну обробку та зміну складу поживного середовища (зменшили вміст сульфатів). Для якісного визначення вмісту водню в газі, що утворився в процесі ферментації, використовували метод газової хроматографії.

Застосування біологічної переробки целюлозних відходів дає змогу утилізувати відходи дере-

вообробної та паперової промисловості, зменшити обсяги ТПВ та одержати в результаті екологічний дешевий енергоносіє - водень.

### **Kuznetsova K.**

#### CALLUS CULTURE OF WHEAT AS A MODEL OBJECT FOR CROP IMPROVEMENT

*National aviation University, Department of Biotechnology  
1, Komarova St., Kyiv, 03680, Ukraine  
e-mail: kira.nevskaja@mail.ru*

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important species of food crop. Therefore, it has been extensively investigated with respect to plant regeneration from in vitro culture. The present research is an important step in linking and understanding the potential utility of in vitro cell screening. The work was undertaken to study an effect of culture filtrate concentration of fungus *Fusarium* strain on the induction of callus and plant regeneration in vitro culture of wheat. Reaction of explants manifested in decreasing the frequency and intensity of callus induction and plant regeneration, phytopathological variety evaluation. Identified stronger inhibitory effect of cultural filtrate of low pathogenic strain and stages of morphogenesis in vitro. Obtaining of regenerates in pots is proposed.

The aim of this work is to investigate factors which influence the callusogenesis of wheat *Triticum aestivum* L. in vitro and define methods of cell selection of wheat resistance against *Fusarium* spp. The main idea of the work is that in vitro selective technique is possible to realize during a year when classical selection of wheat takes 10 years.

Moreover cultivation of resistance cultivars is one of most ecologically safe and cheap ways of struggle. It is known, than genetical sources of resistance to this pathogen is not many. That is why using of cell selection methods for obtaining of resistance plants is expedient.

One of most ecologically safe and cheap ways of struggle is cultivation of resistance cultivars. It is known, that genetical sources of resistance to this pathogen is not many. That is why using of cell selection methods for obtaining of resistance plants is expedient.

Cultivars of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) were studied for in vitro manipulation. For establishment of callus culture, as quality explants apical sites of aseptic roots and shoots meristems, parts of leaves were used. Explants cultivated on medium by Murashige and Skoog (MS) with a full set of macro- and microsalts. Cultures were examined daily, observing the morphology, the color of the medium, and the density of the cells. Cultural filtrate (CF) added to MS medium, on which in the further cultivated callus cultures in concentration of 5-50 %. It is noted, that presence even minimal CF concentration in a nutrient medium suppressed growth of calluses, reduced their weight, caused necrosis spots, which have been painted brown or black.

As a result of cell selection callus lines can be selected, which keep ability to normal growth at presence of sublethal concentration of the selective agent. By a method of selection can callus lines be selected, which are characterized by the raised resistance to toxic CF influence. This problem has great scientific interests, that is why further investigations need to be done.

### **Зінченко М. О., Бавол А. В., Гончарук О. М.**

#### ПОРІВНЯННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ СЕЛЕКТИВНИХ СИСТЕМ З ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЕМ І МАНІТОМ ДЛЯ ДОБОРУ ТОЛЕРАНТНИХ ДО СУХИ ФОРМ ПШЕНИЦІ

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України  
бул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: utulien@rambler.ru, bavol1@rambler.ru*

Посуха - один із найголовніших стресових чинників довкілля, які знижують продуктивність рослин. У сучасних умовах традиційні методи селекції, що ґрунтуються на комбінативній мінливості

та схрещуваннях з носіями бажаних ознак не можуть повною мірою задовольнити потреби селекціонерів. Тому значні перспективи для селекційного процесу може мати технологія клітинної селекції, як метод створення нових форм рослин шляхом виділення мутантних клітин і соматональних варіацій у селективних умовах. Експериментально доведено, що стійкі до біотичних і абіотичних факторів генотипи пшениці можна добирати в культурі *in vitro* і залучати їх до селекційного процесу (Lu et al., 2000; Анапиев, 2001).

При отриманні методом клітинної селекції толерантних до посухи рослин з метою імітації *in vitro* стресового ефекту застосовують поживні середовища з осмотично активними речовинами, зокрема високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) (Abdel-Ghany et al., 2004; Galovic et al., 2005) та низькомолекулярним манітом (Abdel-Nady, et al., 2007). Оскільки чутливість до осмотиків значною мірою може залежати від генотипу, рекомендовані в літературі селективні концентрації ПЕГ та маніту суттєво відрізняються. У зв'язку з цим на першому етапі досліджень визначалась чутливість калусної тканини пшениці до різних концентрацій ПЕГ та маніту. Матеріалом досліджень був сорт-дворучка м'якої пшениці – Зимоярка. Як експлант використовували верхівку пагона 3-добових стерильних проростків. Культивування матеріалу проводили згідно з описаними методиками (Бавол та ін., 2007).

Для визначення селективних концентрацій стресорів калус культивували на середовищі з цими осмотиками, у таких концентраціях: ПЕГ – 2,5; 5; 10; 15; 20 та 25%, маніт - 0,6; 0,8; 1,0 та 1,2 М. В ході досліджень аналізували такі показники: відносний приріст сирової маси калусів та частоту утворення морфогенного калусу. Інгібування росту культури було відмічене вже при концентрації ПЕГ 2,5% та спостерігалось зниження приросту сирової маси калусу до 88% щодо контролю. При збільшенні концентрації ПЕГ приріст маси калусу поступово зменшувався. На середовищі з 25% ПЕГ виживало приблизно 20% висаджених калусів. Використання маніту в концентрації 0,6 М викликало зниження приросту маси калусу більш ніж у 2 рази, проте клітини залишались живими та зберігали здатність до регенерації рослин. При збільшенні концентрації маніту до 0,8 М пригнічення росту було виражене ще сильніше - приріст сирової маси зменшився у 4 рази, на частині калусів з'явилися зони некрозу. Маніт, починаючи з концентрації 0,8 М, повністю інгібував морфогенез. На середовищах з 1,0 та 1,2 М маніту росту калусу практично не було. В ході дослідження встановлено, що із збільшенням концентрації ПЕГ частота утворення морфогенного калусу поступово знижувалася, та при максимальній концентрації (25%) становила менше 5%. На відміну від селективних середовищ з ПЕГ на середовищах з манітом частота утворення морфогенного калусу знизилася більш ніж у 2 рази вже за концентрації 0,6 М, проте частина клітин зберігала життєздатність та здатність до морфогенезу. Найнижчою частотою утворення морфогенного калусу була при дозі даного осмотика - 1М – 3%.

Таким чином, нами з метою підбору умов проведення клітинної селекції були апробовані дві осмотично активні речовини: високомолекулярний непроникаючий у клітину поліетиленгліколь та низькомолекулярний проникаючий маніт. Селективна система з манітом забезпечила більш повну елімінацію чутливих клітин, що дає змогу використовувати саме такий підхід для отримання форм м'якої пшениці, стійких до даного абіотичного стресу.

### **Aliieva O., Menzhun V.**

#### **APPLICATION OF SIDE PRODUCTS OF POLYMYXIN ANTIBIOTIC MANUFACTURE SUCH AS WASTE WATER TREATMENT**

*National Aviation University*

*1, Cosmonaut Komarov's Av., Kyiv, Ukraine, 03058*

*e-mail: aliyeva\_oks@mail.ru*

Human activities, such as mining operations and the discharge of industrial wastes, have resulted in the accumulation of metals in the environment, which poses serious health threats as these heavy metals tend

to persist environment indefinitely (Volesky, Holan, 1995). In recent years, there has been a significant effort to search for new mechanisms of heavy metal removal from contaminated sites. Along with it nowadays the problem of utilization and recuperation of side products and waste of different production areas rapidly appears. This also concerns the biotechnological industry because it often uses a range of different resources for gaining a narrow product, for example antibiotic production.

Polymyxin antibiotic production is also oriented in such a way. Polymyxin acts bacteriostatically on microorganisms that are either in stage of multiplication or rest. Resistance to polymyxin develops slowly (Falagas, 2008), so this antibiotic is widely produced and applied. *Paenibacillus polymyxa* is used as producer, it grows on simple, cheap nutrient medium (Tabacchioni, 2009); after cultivation is completed antibiotic is separated out from the slurry. Unfortunately nutrient medium is not enough resource for the production, it requires a number of other materials such as air for fermentation process aeration, ethanol for ready product separation and purification, etc. All these matters need to be treated after manufacture is over. Together with this after fermentation we obtain accumulated biomass and cultural liquid containing some beneficial compounds.

In a case of problem of treatment of such substances as air and biomass the question is decided. Thus air is filtrated and returned to the process or emitted in the atmosphere, biomass is separated from slurry, dried, powdered and can be effectively used in agriculture. But situation with other matters is more complicated. Ethanol is expensive resource, so discharge ethanol is obligatory rectified, mixed with fresh portions and returned into production. For reduction in price it is recommended the scheme of waste nutrient medium application, in a result of which ethanol is produced after yeast fermentation and rectification of mash.

The main attention is paid to the exopolysaccharides that are produced by *P. polymyxa* during fermentation and accumulated in slurry. In heavy metal pollution, bacterial exopolymers have become an alternative of interest as metal-binding agents in detoxification of contaminated waters. Exopolysaccharides can be easily extracted from cultural liquid by means of boiling or centrifugation and directly applied for waste waters treatment. Exopolysaccharides from *P. polymyxa* can be applied for water treatment from copper ions, but the process of copper removal was inhibited in the presence of other ions. A study on the combined effect of two or more metals need to be conducted to evaluate the potential of this exopolysaccharides for use in bioremediation of metal-polluted waters (Acosta Prado, 2005). Their application is preferable due to their biodegradability and their lack of toxicity (Sutherland, 2003).

Also polysaccharides can be incorporated into foods to alter the rheological properties of the water present. Polysaccharides used are employed because of their ability to thicken or to cause gel formation. In such a way whole process of polymyxin antibiotic production is optimized and resources conservative tendency is followed.

### **Антоненко Л. О., Клечак І. Р.**

#### **ОКИСЛЮВАЛЬНІ ФЕРМЕНТИ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ РОДУ CORIOLUS (TRAMETES)**

*Кафедра промислової біотехнології*

*Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»*

*пр. Перемоги, 37, корп. 4, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: prombt@ukr.net*

Відомо, що вищі базидіальні гриби здатні до синтезу широкого спектру гідролітичних ферментів (Гаврилова, 1983; Королева, 2000; Ребриков, 2006). Гриби білої гнилі, серед яких і рід *Coriolus* Quel (Trametes Fr.), становлять інтерес і як продуценти окислювальних ферментів (Бисько, 1983; Даниляк, 1983), що здатні розкладати лігнін. Дослідження ферментативної активності базидіальних грибів роду *Coriolus* (28 штамів 5 видів) з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України на прикладі монофенол-монооксигенази, дає змогу встановити екологічну пристосованість грибів, тобто їх приналежність до збудників білої гнилі деревини.

Метою роботи був скринінг базидіальних грибів роду *Coriolus* за активністю монофенол-монооксигенази. В дослідженні використано широкий спектр поживних середовищ: пивне сусло (ПС), молочна сироватка (МС), глюкозо-пептонне середовище (ГП), глюкозо-амонійне (ГА), картопляно-глюкозне (КГ), середовище Норкранса (СН) з та без додавання відвару дубової кори (СН+дуб). Культивування проводили в стаціонарних умовах протягом 7 діб при температурі 28 або 30°C в залежності від виду базидіальних грибів.

За результатами дослідження встановлено, що з семи поживних середовищ різної природи найбільша монофенол-монооксигеназна (МФМО) активність в межах  $6,0 \times 10^{-2}$  –  $42,0 \times 10^{-2}$  од/см<sup>3</sup> для *C. zonatus* і *C. hirsutus* відзначена при культивуванні на ГА середовищі. Так, величина МФМО активності для штамів *C. zonatus* 5300 і *C. hirsutus* 5137 перевищувала в 23 і 60 разів відповідні значення МФМО, визначені при культивуванні цих штамів на ПС. Той факт, що ГА середовище забезпечувало високу МФМО активність не для всіх штамів одного виду, пояснюється тим, що здатність продукувати ферменти (в даному випадку екстрацелюлярні) у різних штамів базидіальних грибів визначається їх генотипом, тому і проявляється індивідуально у відповідних штамів.

Культивування на натуральних середовищах (ПС, МС) по різному впливало на активність МФМО видів *C. hirsutus*, *C. zonatus*, *C. villosus*. Наприклад, на ПС значення ферментативної активності не перевищували  $2,0 \times 10^{-2}$  од/см<sup>3</sup>, а на МС у видів *C. hirsutus*, *C. villosus* та деяких штамів *C. zonatus* МФМО активність була відсутня.

Додавання відвару дубової кори до складу синтетичного СН збільшувало значення МФМО активності для видів *C. zonatus* і *C. hirsutus* мінімально в 3,5 рази для штаму *C. zonatus* 301, а максимального у 18 разів для штаму *C. hirsutus* 5137 і 20 разів для штаму *C. zonatus* 5022, але не перевищувало величину даної активності на ГА середовищі. Загалом, позитивна дія відвару дубової кори на збільшення активності МФМО пов'язана з тим, що дубова кора містить стимулятори екстрацелюлярних фенолоксидаз, наприклад, галову кислоту.

Відзначимо, що в умовах нашого експерименту у досліджених базидіальних грибів видів *C. versicolor* і *C. pubescens* МФМО активність не проявилась. Проте ми не виключаємо можливість появи активності при збільшенні тривалості культивування або при введенні у середовище індуктора ферменту.

Отже, за показником синтезу МФМО були відібрані перспективні для подальших досліджень продуценти й оптимальне поживне середовище, що забезпечувало максимальну активність МФМО.

### Antoszevska E.

#### MUTATIONAL ANALYSIS OF THE LOW PENETRANCE CANCER SUSCEPTIBILITY MRE11/RAD50 AND NBS1 GENES IN HEREDITARY BREAST-OVARIAN FAMILIES FROM NORTHERN POLAND

Department of Biology and Genetics Medical University of Gdansk,  
Debinki 1, 80 - 211, Gdansk, Poland,  
e-mail: katgen@gumed.edu.pl

Mutation in high penetrance genes, mostly BRCA1/2 account for only 25% of families with hereditary breast cancer. The remainder breast cancer risk is unexplained and likely due to cooperative defects in low-penetrance genes. The MRN complex proteins interact with BRCA1, which makes MRE11, RAD50 and NBS1 candidate genes for predisposition to breast and ovarian cancers that may also modify the penetrance of BRCA1/2 mutation in carriers.

To investigate the frequency of MRE11, RAD50 and NBS1 genetic variants in Polish families with hereditary breast and/or ovarian cancer. The study comprises 121 families with clustering of breast and/or ovarian cancer who were identified and referred to the Regional Oncological Outpatient Clinic in Gdansk for oncogenetic counselling. All cases had previously been screened for mutations in BRCA1/2 genes. Among 121 women 25 displayed constitutional mutation in these genes. The coding regions and exon-intron boundaries

of the whole MRE11, RAD50 and NBS1 genes have been screened for germline mutations using DHPLC and DNA sequencing analysis. To investigate the effect of the identified alteration, we evaluated their possible pathogenicity using bioinformatics prediction tool: SIFT.

NBS1: six among 16 coding and flanking intronic regions were screened in 121 patients. Five common polymorphisms were found: c.102G>A, c.320+17T>A, c.320+64A>G, c.553G>C, c.703-18G>A. In exon six a single “Slavic” mutation was detected: c.657del5. In exon five two mutations were observed, each in two different patients: c.511A>G (p.171I>V) and c.506G>A (p.169R>H) which was predicted by SIFT as potentially pathogenic. RAD50: The whole exon five was screened so far and one mutation c.749C>T (p.250P>L) was detected. Intronic variant c.576+5C>T was identified in one patient. MRE11: 17 among 20 exons and introns boundaries were analysed and the common polymorphism c.2043G>A (p.681S>S) and several intronic variants were observed. In exon 13, in three patients, mutation c.1475C>A (p.492A>D) was detected. In four patients mutation predicted by SIFT as potentially pathogenic was found: c.1096G>A (p.366R>Q).

Our analysis of MRE11, RAD50 and NBS1 genes indicates that present sequence variations may be regarded as risk-alleles and further analysis will be needed to fully ascertain the exact impact of those variants on breast and ovarian cancer susceptibility.

**Auzina A., Grauda D., Mikelsone A., Rashal I.**

**RETROTRANSPOSONS-BASED MOLECULAR MARKERS AS A TOOL FOR DETECTION OF GENETIC VARIATION IN FLAX SOMATIC TISSUE CULTURES**

*Institute of Biology, University of Latvia, Miera St., 3, Salaspils, Latvia  
e-mail: auzinaaija@gmail.com*

Tissue culture generates a wide range of genetic variation in plant species which can be incorporated in plant breeding programmes. The potential of somaclonal variation, induced by some kinds of tissue cultures, is not fully exploited by breeders, even though a few flax cultivars have been created on the base of somaclonal variants. Retrotransposons-based molecular markers are new type of markers spreading over all chromosomes. There are developed several primers of such markers with high level of polymorphism in different plant species. If somaclonal variation is induced by enhancing of movement of transposable elements, it should be reflected by increasing variation of retrotransposons-based markers. Aim of this study was to test variation after cultivation of flax somatic tissue cultures. Explants of two flax varieties – ‘Lirina’ and ‘Blue di Riga’ were used for calli induction. The most promising for flax variation analyses retrotransposons-based markers were selected from tested 31 markers. In the presentation data will be shown regarding influence of plant genotype and cultivation conditions on genetic variability revealed by those markers.

**Буга Н., Коломієць Ю.**

**ЦИТОЛОГО-ГІСТОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ РОСЛИН ТОМАТІВ,  
УРАЖЕНИХ ФІТОПАТОГЕНАМИ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: julyja@i.ua*

Томати є цінною сільськогосподарською культурою, яка широко використовується в Україні. Однією з основних причин зниження рівня та якості урожаю томатів є високий ризик зараження рослин фітопатогенними організмами.

Більшість хвороб томатів викликається деструктивними ендопаразитами, які ослаблюють рослини і викликають їх загибель. Зовнішні ознаки хвороби проявляються на пізніх стадіях, коли патологічні зміни набувають незворотного характеру.

Цитологічні та гістологічні дослідження дають змогу виявляти хворобу на ранніх стадіях, ви-

значати структурно-гістологічні характеристики рослин в залежно від рівня їх стійкості до даного типу патогену.

Важливим елементом цитологічних і гістологічних досліджень є з'ясування можливості проникнення та місць локалізації фітопатогенів у вегетативних та генеративних органах. Це дає змогу оптимізувати технологію використання певних частин рослин для отримання оздоровленого посадкового рослинного матеріалу в умовах *in vitro*.

Мікроскопічне дослідження корінців проростків томатів дає змогу підрахувати кількість хромосом та виявити можливі морфологічні зміни, спричинених рядом хвороб, які передаються насінням.

Ретельний аналіз і обробка результатів цитологічних, гістологічних та генетичних досліджень дає змогу розробити найбільш досконалу технологію оздоровлення, відбору стійких рослин у лабораторних умовах, а також адаптації рослин-регенерантів до умов відкритого ґрунту для зменшення витрат і підвищення ефективності боротьби із найбільш поширеними хворобами томатів при їх промислового вирощуванні.

**<sup>1</sup>Cech G. M., <sup>2</sup>Arluison V., <sup>1</sup>Szalewska-Paiasz A., <sup>1</sup>Wegrzyn G.**  
A NEW PHENOTYPE FOR THE HFQ GENE MUTATION IN *ESCHERICHIA COLI*

<sup>1</sup>University of Gdansk, Department of Molecular Biology  
ul. Kiadki, 24, 80-822, Gdansk, Poland  
e-mail: g.cech@biotech.ug.gda.pl

<sup>2</sup>Laboratoire Jean Perrin, Laboratoire Leon Brillouin and University Paris Diderot,  
Paris, France

The *Escherichia coli* Hfq protein, 102 amino acid residues, forms homohexamers and belongs to the thermostable Sm proteins family. It was originally described as a host factor required for bacteriophage Q $\beta$  RNA replication. Since then, variety of research approaches have provided us with deeper knowledge about the multiple functions of this protein: for instance it has been shown that Hfq interacts with proteins involved in RNA decay (PAP I, PNP and RNase E), fulfills the role of RNA chaperone for the interaction between regulatory small noncoding RNA and target mRNA and is also a nucleoid organizer. Accordingly, the Hfq protein was shown to be present in bacterial cell in high abundance (about 50 000 to 60 000 copies) and is present in the cytoplasm, in the nucleoid or in close proximity of the inner membrane.

Due to many cellular functions, deletion of hfq gene exhibits pleiotropic defects. Those described so far are increased cell length, decreased growth rate, increased sensitivity to mutagens and decreased negative supercoiling of plasmids. Our preliminary studies revealed some new aspects of Hfq function: we found that the efficiency of plasmid DNA transformation was much lower in hfq mutant. Moreover, we observed that bacteriophage P1 lytic development is significantly inhibited in the hfq mutant host, both observations unveiling a possible function for Hfq in replication. Even is the physiological significance of these observations is not fully understood yet, our results and hypothesis will be presented herein.

**Чайка О. В., Метрусенко О. Г.**  
ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ  
ГЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ *PLEUROTUS OSTREATUS*

Донецький національний університет  
вул. Щорса, буд. 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: bio.graff@yandex.ua

Реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є важливою ланкою багатьох метаболічних процесів, що відбуваються в клітинах всіх живих організмів, зокрема в міцелії грибів. Ініціаторами перекисного окиснення є так звані радикальні сполуки, серед яких найбільше значення мають супероксидний радикал та гідроксильний радикал, а також нерадикальні (перекис водню), що являють собою активно-



вані форми кисню. Основний субстрат ПОЛ – ланцюги поліненасичених жирних кислот, що входять до складу клітинних мембран, а також ліпопротеїдів. Атака кисневими радикалами цих субстратів призводить до ряду хімічних перетворень, що сприяє утворенню міжмолекулярних зшивок і супроводжується порушенням структури біологічних мембран, макромолекул, та, як наслідок, дезорганізації їхнього функціонування. Тому відносно низький рівень інтенсивності цих реакцій контролюється діяльністю антиоксидантної системи і є показником фізіологічного стану організму. В нормі процеси вільнорадикального окиснення пов'язані з регулюванням росту і поділу клітин грибів, а продукти ПОЛ мають важливе значення для розвитку грибів (Бадалян, 2003; Капич, 1995).

Базидіоміцети характеризуються не лише високою харчовою цінністю, але й здатністю до синтезу різноманітних біологічно активних речовин, що зумовлює також їх велике лікарське значення. Плодові тіла гливи звичайної є цінним дієтичним продуктом харчування, оскільки мають низьку калорійність, а за вмістом та амінокислотним складом білків майже рівноцінні з м'ясними продуктами. Також вони є джерелом як водорозчинних, так і жиророзчинних вітамінів, мікроелементів і інших БАР (Бисько, 1982; Дудка, 1992; Соломко, 1985).

Враховуючи вищезазначене, метою досліджень було вивчення динаміки перекисного окиснення ліпідів та біохімічних характеристик росту штаму P-107 гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kuntz. Штам виділено з дикоростучих плодових тіл, зібраних в НПП „Святі Гори”. Досліджуваний штам культивували на глюкозо-пептонному середовищі при температурі 27,5°C. Для оцінки інтенсивності ПОЛ в міцелії та культуральному фільтраті, використовували тест з тіобарбітуровою кислотою – ТБК-тест (Федотов, 2007). Отримані експериментальні дані обробляли з використанням програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів (Приседський, 1999).

Дані, що були отримані в ході дослідження, дають змогу зазначити, що під час культивування відбувалося збільшення повітряно-сухої біомаси міцелію до максимального значення 3,28 г/л на 15-ту добу росту. Спостерігалось поступове зниження водневого показника культуральної рідини з 6,43 на початку експерименту до 5,05 на 15-ту добу. Мінімальний рівень кислотності живильного середовища збігається з максимальним накопиченням штамом біомаси. Це, можливо, викликано накопиченням екзометаболітів кислої природи чи зміною співвідношення розчиненого кисню та вуглекислого газу в середовищі. Максимальний вміст продуктів ПОЛ в культуральному фільтраті зафіксовано на 6-ту добу ферментації, з плином часу цей показник знижувався та досяг мінімального рівня наприкінці культивування. В міцелії на 6-ту добу була відзначена висока концентрація продуктів, активних до тіобарбітурової кислоти, яка на 9-ту добу дещо знизилася, а на 15-ту, навпаки, досягла свого максимального рівня за весь період культивування. Після цього спостерігали зниження інтенсивності ПОЛ до мінімального рівня у кінці терміну культивування. Вміст білку в культуральному фільтраті протягом культивування коливався в незначних межах щодо початкового значення. До 12-ї доби визначалася тенденція до зменшення, а на 15-ту добу було зафіксоване незначне підвищення концентрації білка.

### **Чепієвський Я., Малієнко В.**

#### **ЦІЛЬОВІ ГЕНИ ТА РЕГУЛЮЮЧІ ЕЛЕМЕНТИ ЛІНІЙ СОЇ, ЯКІ ДОЗВОЛЕНІ ДО ПРОМИСЛОВОГО ВИКОРИСТАННЯ У СВІТІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: vadmalienko@mail.ru*

З огляду на величезну кількість населення, яке використовує ГМ-продукти (сою, кукурудзу, рис, картоплю), і на невизначеність їх ефектів, особливо віддалених, на людський організм важливою проблемою є контроль їх використання в продуктах харчування та харчовій сировині. Особливо актуально це для такої культури, як соя, що широко використовується в світі як джерело рослинного білка. У 2009 році

з 90 млн. га в світі посівних площ, які займає ця культура, 69 (77%) були засіяні трансгенними сортами.

На сьогодні в різних країнах світу зареєстровано для промислового використання 11 конструкцій для генетичної трансформації сої. З них вісім забезпечують стійкість до гербіцидів, три контролюють зміни жирно-кислотного складу соєвої олії.

Серед стійких до гербіцидів конструкцій 4 належить фірмі Bayer. В них використовують дуже подібні між собою гени фосфотрицин-N-ацетилтрансферази з бактерій *Streptomyces viridochromogenes* (Pat) (лінії A2704-12, A2704-21, A5547-35, A5547-127, GU262) або *S. hydroscopicus* (bar) (W92, W98), які забезпечують стійкість до гліфосатину амонію. Регулюючі елементи всіх цих конструкцій - промотор і термінатор вірусу 35S мозаїки цвітної капусти. Лінії фірми Monsanto GTS40-3-2 і MON89788 для стійкості до гліфосату використовують ген енолпірувілшикімат-3-фосфат синтетази, донором якого є штаб CP4 *Agrobacterium tumefaciens* (CP4EPSPS). Контролюючими елементами лінії GTS40-3-2 є промотор 35 S і термінатор наполін синтетази *A. tumefaciens* (NOS). В лінії MON89788 використано синтетичний химерний промотор Pr TMV-TSF1 і термінатор T-E9 з гороху. Лінія BPS-CV127-9 фірми BASF використовує ген великої субодиниці ацетогідроксикислої синтетази (crs1-2) з *Arabidopsis thaliana* під контролем власних промотору і термінатора. Фірма Pioneer має ще одну конструкцію, яка забезпечує стійкість до гліфосатину амонію (лінія DP356043-5). В ній використано ген гліфосат-N-ацетилтрансферази з *Bacillus licheniformis* під контролем синтетичного промотора SCP1 та термінатора інгібітору протеїнази II картоплі.

Конструкції, що впливають на склад жирних кислот спрямовані на збільшення вмісту олеїнової і зменшення ланолінової кислоти. Конструкція ліній G-94-1, G-94-19, G-168 має додаткову копію гена дельта (12) субодиниці дегедрогенази жирних кислот (GmFad2-1). Регулюючими елементами цього гена є специфічний для насіння сої промотор гену конгліценіну та термінатор - полі-А сигнал kwasолі. Ця конструкція має маркерний ген gus (в-D-глюкоуронідази з бактерії *Escherichia coli*) під контролем промотор вірусу 35 S і термінатора NOS. Такий же цільовий ген але в 7 копіях має лінія DP-305423-1 фірми Pioneer, однак контролюючими елементами у цьому випадку є промотор й термінатор гена інгібітору трипсину Кунітц. Ще одна лінія - OT96-15 (Agriculture & Agri-Food Canada) – одержана шляхом звичайної селекції і несе ген fan1, локалізація і послідовність нуклеотидів якого невідомі, але він дає змогу у два рази зменшити вміст ланолінової кислоти.

Таким чином, найбільш розповсюдженим елементом конструкцій сої є промотор 35S, наявність якого дає змогу виявити шість конструкцій, які використовують у лініях трансгенної сої A2704-12, A2704-21, A5547-35, A5547-127, GU262, W92, W98, GTS40-3-2, G-94-1, G-94-19, G-168. Додатково необхідно використати гени GmFad2-1, який дасть змогу виявляти як лінію DP-305423-1, яка не виявляється за наявності промотору 35S, так і лінії G-94-1, G-94-19, G-168, які його мають. Дві лінії можна виявити за наявності гена CP4EPSPS одна з яких MON89788 не має промотора 35S а інша GTS40-3-2 – має. Ще три лінії: BPS-CV127-9, DP356043-5 та OT96-15 не мають спільних елементів з іншими трансгенними лініями сої, і їх необхідно виявляти окремо.

### **Чорнобров О. Ю., Ключащенко А. А.**

ОСОБЛИВОСТІ ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO РОСЛИН *SALIX VIMINALIS* L.

І *POPULUS NIGRA* L. Ч *POPULUS BALSAMIFERA* L.

Проблемна лабораторія фітовірусології і біотехнології, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

e-mail: [virlab@nauu.kiev.ua](mailto:virlab@nauu.kiev.ua)

Однією з актуальних проблем мініротаційного плантаційного вирощування є отримання якісного садивного матеріалу швидкорослих деревних порід, зокрема *Populus* L. та *Salix* L. (Фучило Я. Д., 2006). Серед видів даних порід, а також гібридів одними із найперспективніших є *Salix viminalis* L. та *Populus nigra* L. x *Populus balsamifera* L., що вирізняються високою продуктивністю (близько 49 т/га та 35 м<sup>3</sup>/га за рік відповідно, Фучило Я.Д. та ін., 2009). Насіннєве розмноження *Populus* та *Salix* не дає

можливості отримати генетично однорідний рослинний матеріал; насіння вказаних порід дуже швидко втрачає схожість (Шиманюк А. П., 1967; Гордієнко М.І., 2002). Крім того, здатність до укорінення *Populus* є не видовою ознакою, а властивістю окремих форм (Богданов П. Л., 1965). Тому використання культури тканин та органів *in vitro* дасть змогу ефективно вирішити ці проблеми.

Метою нашої роботи було отримання асептичних життєздатних експлантатів *S. viminalis* L. та *P. nigra* L. x *P. balsamifera* L. для масового клонального мікророзмноження.

Для досліджень використовували високопродуктивні фенотипово нормальні трирічні рослини-донори *S. viminalis* L. та п'ятирічні *P. nigra* L. x *P. balsamifera* L. Як експлантати використовували апікальні меристеми, вегетативні бруньки та частини пагонів з однією брунькою. Рослинний матеріал ізолювали щомісячно упродовж весняно-літнього та осінньо-зимового періоду. Експлантати отримували як безпосередньо із навколишнього середовища, так і шляхом активації меристем у контрольованих умовах кліматичної кімнати ( $T=24\pm 2^{\circ}\text{C}$ , відносна вологість повітря 60-70%). Стерилізацію експлантатів проводили стерилізуючими речовинами: 70%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , 2,5%  $\text{NaClO}$ , 1%  $\text{AgNO}_3$ , 25%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0,1%  $\text{HgCl}_2$  з різною експозицією (Калинин Ф. Л., 1980). При вирощуванні культур *in vitro* використовували базове живильне середовище Мурашіге та Скуга (Murashige T., Scoog F. A, 1962) та стандартні умови культивування (Кушнір, Сарнацька, 2005).

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що для забезпечення високої ефективності стерилізації ступінь “жорсткості” останньої повинен збільшуватись зі збільшенням ступеня здрев'яніння експлантатів. Експлантатам, що були ізолювані із рослин-донорів у весняно-літній період, необхідна триваліша стерилізація у порівнянні із експлантатами, отриманими у контрольованих умовах кліматичної кімнати. Експлантати, що були ізолювані із рослин-донорів у осінньо-зимовий період, виявились інфікованими як зовнішньо, так і внутрішньо, що, на нашу думку, зумовлено особливостями анатомічної будови і фізіологічним станом здрев'янілих пагонів; тому для підвищення ефективної стерилізації необхідно використовувати сполуки, що містять ртуть та антибіотики.

Встановлено, що частини пагонів з однією брунькою характеризуються вищою регенераційною здатністю порівняно із бруньками та меристемами (на 30 та 70% відповідно).

Виявлено вплив фізіологічної фази на кількість експлантатів, здатних до морфогенезу і регенерації в культурі *in vitro*. Так, тканини та органи *S. viminalis* L. і *P. nigra* L. x *P. balsamifera* L., ізолювані на початку вегетації рослин (березень-травень), мають більший морфогенетичний потенціал, ніж тканини, ізолювані в стані глибокого спокою (листопад-січень). В цілому найбільша інтенсивність регенерації збігається з активним ростом рослин *S. viminalis* L. і *P. nigra* L. x *P. balsamifera* L. у природних умовах і є генетично зумовленою.

У результаті проведених досліджень були отримані асептичні життєздатні культури

*S. viminalis* L. та *P. nigra* L. x *P. balsamifera* L. з ефективністю стерилізації понад 80%, що в подальшому використовуються в експериментах з морфогенезу *in vitro*.

### **Демиденко К. В., Жураховська Д. І.**

#### **МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ПУРПУРНИХ БАКТЕРІЙ РОДИНИ RHODOSPIRILLACEAE ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОВОДНЮ**

*Факультет біотехнології і біотехніки*

*Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»*

*пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: demkat@ukr.net*

Що станеться з нашим світом, коли вичерпаються запаси вугілля, нафти і газу? Фахівці прогнозують, що у найближчому майбутньому викопні види палива замінить невичерпний водень. Незаперечною перевагою водню є надзвичайно висока теплоємність. Важливо відмітити, що при використанні водню не буде шкідливих викидів в атмосферу, особливо вуглекислого газу, адже єдиним продуктом

його згоряння є вода.

Метою роботи є розгляд методів одержання водню за допомогою пурпурних бактерій родини *Rhodospirillaceae*.

Існує два можливих шляхи використання пурпурних бактерій для виробництва водню. Перший – бродіння. Пурпурні бактерії можуть продукувати водень як в темряві, так і за наявності світла. Вони мають лише одну пігментну систему, що автоматично виключає можливість інгібування продукування водню киснем. У темряві в анаеробних умовах пурпурні бактерії здатні розкласти органічні субстрати з виділенням водню, за участю гідрогенази та нітрогенази. При освітленні водень виділяється за участю нітрогенази та нокс-гідрогенази. Кількість водню, утвореного бактеріями і швидкість його утворення залежать від активності окремих штамів, віку культури, характеру окислювальних субстратів. Субстратами, що забезпечують високу швидкість фотовиділення водню рядом пурпурних бактерій і можуть повністю розкладатися до  $H_2$  та  $CO_2$ , є малат, піруват, сукцинат і лактат, метаболізм яких пов'язаний з функціонуванням в анаеробних умовах циклу трикарбонових кислот. Швидкість фотовиділення водню залежить від інтенсивності світла (оптимальне значення освітлення 6500 лк). Типові значення швидкості виділення водню різними видами пурпурних бактерій в оптимальних умовах, лежить в діапазоні  $100-250 \text{ мл } H_2 \cdot \text{год}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$  сухої біомаси (Rocha J., 2001).

Відомо, що існують конкуруючі з виділенням водню процеси: синтез полігідроксиалконітів та рециклізація водню за рахунок функціонування *hup*-гідрогенази. Однак не розроблені методи інгібування цих процесів.

Другий шлях: отримання водню шляхом конверсії  $CO$ . Цей метод базується на унікальній реакції, відкритій Уффеном. Культури штаму пурпурної бактерії, описаної Уффеном, виділяють водень в результаті так званої шифт-реакції. Утворення водню в цьому випадку відбувається з води. Ця реакція проходить в темряві при кімнатній температурі в одну стадію. Виділення водню каталізується гідрогеназою і специфічною  $CO$ -гідрогеназою, що працюють разом. При цьому можлива швидкість виділення водню цими бактеріями варіює від 140 до 700 мл/год на грам сухої клітинної біомаси (С.А. Марков, 2007). Враховуючи високі швидкості процесу, пурпурні бактерії є перспективними об'єктами для одержання водню, тому необхідно інтенсифікувати роботи по пошуку дешевих субстратів для виділення водню (характеризуються дуже вузьким спектром використовуваних органічних сполук). Побічним продуктом темного виділення водню за використання мікроорганізмів родів *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* в основному є леткі жирні кислоти, які легко засвоюються пурпурними бактеріями, тому можна запропонувати об'єднання темного виділення водню зі світлозалежним. В цьому випадку можна збільшити вихід водню при використанні целюлозовмісних відходів до 11 молів на моль глюкози, при чому до 4 молів водню може утворюватися в реакторі для темного процесу та до 8 молів в фотобіореакторі з пурпурними бактеріями з жирних кислот, одержаних у процесі бродіння.

### **Грочова М. А., Воробйова Л. І.**

#### **СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ У ЕКСПРЕСІВНОСТІ ОЗНАКИ EY ТА ПРОЯВІ ДЕЯКИХ АДАПТИВНО ВАЖЛИВИХ ОЗНАК У ЛІНІЇ EYELESS *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УМОВАХ ДІЇ ВНУТРІШНІХ І ЗОВНІШНІХ ФАКТОРІВ**

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна  
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна  
e-mail: rarog70@mail.ru*

Відомо, що стать є важливим еволюційним фактором (Геодакян, 2005). Поряд з поширеною точкою зору, що особини гомогаметної статі є більш життєздатними, результати численних досліджень свідчать про те, що характер та спрямованість статевих відмінностей за показниками різних кількісних ознак, в т.ч. й адаптивно-важливих, залежить від генотипу, онтогенетичних та зовнішніх факторів

(Никольченко, 1992; Jenkins, Hoffman, 1994). У зв'язку з цим для вивчення механізмів адаптації особин даного виду є важливим аналіз статевих відмінностей в експресивності мутацій та показників життєздатності в умовах дії факторів внутрішнього та зовнішнього середовища.

В даній роботі були проаналізовані статеві відмінності в експресивності ознаки *eyeless* (*ey*), теплостійкості (ТС) та тривалості життя (ТЖ) у особин лінії *eyeless Drosophila melanogaster* під впливом різного генетичного оточення мутації *ey*, віку батьків, зростання щільності культури. Дослідження проводили на неселектованій лінії *eyeless Drosophila melanogaster*. Мух вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому середовищі при температурі  $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Для вивчення впливу різного генетичного оточення мутації *ey* на показники, що вивчалися, мутацію *ey* переводили на генетичний фон ліній НА (низькоактивна), ВА (високоактивна) (Кайданов, 1979) та Oregon-R згідно із загальноприйнятою схемою насичувальних схрещувань. Оцінку впливу віку батьківських імаго на кількісні ознаки у потомків проводили шляхом отримання послідовних кладок яєць при пересадці батьківських особин кожні дві доби на свіже поживне середовище. Щільність культури задавали кількістю батьківських особин (від 1 до 7) на одну культуру.

Встановлено статистично вірогідний вплив статі на прояв всіх ознак, що вивчалися, в умовах дії заданих у експерименті генетичних, онтогенетичних та зовнішніх факторів. За експресивністю ознаки *ey* самиці значно перевищували самців; ці відмінності значно зростали при переведенні мутації на генетичний фон ліній НА, ВА, Oregon-R (за рахунок більш різких змін показника у самців) та в умовах високої щільності культури (за рахунок більш різкого зростання показника у самиць). За ТС та ТЖ самиці вірогідно перевищували самців. При різному генетичному фоні мутації *ey* найбільш значна перевага самців за ТЖ була в лініях, що мали найменші адаптивні показники. При збільшенні віку батьків у потомків спостерігали зростання переваги самців над самицями за ТС. В умовах високої щільності культури встановлені зміни спрямованості статевих відмінностей за ТС і ТЖ та протилежний характер змін цих показників у самиць та самців. Показана залежність від статі коефіцієнтів кореляції між показниками, що вивчаються.

### **Кальченко А. А., Жураховська Д. І.**

#### **МОЖЛИВІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ДИМОВИХ ГАЗІВ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МІКРОВОДОРОСТЕЙ І ОТРИМАННЯ БІОДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА**

*Національний Технічний Університет України «Київський Політехнічний Інститут»  
пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна  
e-mail: s2dent@ukr.net*

Нині в світі, особливо в розвинених країнах, почали досить активно використовувати біодизельне паливо. Зазвичай для його отримання застосовують ліпиди технічних олійних культур вищих рослин. Проте внаслідок виснаження ґрунту олійними культурами та відведення під їх вирощування значної кількості сільськогосподарських площ, проводяться розробки одержання ліпідів, отриманих з мікроводоростей.

Метою даної роботи є аналіз можливості використання димових газів при культивуванні мікроводоростей виду *Chlorella vulgaris* та біосинтезу ліпідів з подальшим отриманням біодизельного палива.

Димові гази – це гази, що виділяються під час спалювання палива в котлах теплоелектростанцій чи інших установках, двигунах внутрішнього згорання або під час термічної переробки твердих відходів. До основних компонентів таких газів належать водяна пара, оксиди азоту, вуглецю, сірки. Концентрація даних сполук залежить від складу спалюваного палива.

Для нормального росту та розвитку клітин мікроводоростей їх необхідно забезпечувати джерелами вуглецю, нітрогену, фосфору, сірки, калію, натрію, магнію та інших елементів. Зазвичай для культи-

вування виду *Chlorella vulgaris* застосовують поживне середовище Громова №6. Димові гази у вигляді оксидів містять багато елементів, які у вигляді солей необхідні для нормальної життєдіяльності мікрободоростей, тому вони можуть стати основним джерелом поживних речовин. Таким чином можна, по-перше – утилізувати шкідливі для навколишнього середовища гази, а по-друге – зекономити на частині компонентів поживного середовища. Проте перед використанням слід повністю очистити гази від токсичних домішок. Отже, необхідна розробка системи підготовки димових газів для їх застосування при культивуванні мікрободоростей, яка б вмішувала такі процеси: охолодження газів та їх очистка від твердих нерозчинних димових частинок; доокислення CO до CO<sub>2</sub> та NO до NO<sub>2</sub>; підготовка поживного середовища, до складу якого входять компоненти димових газів та мінеральні солі, необхідні для життєдіяльності водоростей (В.Ю. Трифонов, 2009).

Нами показано, що культивування *Chlorella vulgaris* можливе за використання димових газів від вугілля та торфу після охолодження без стадії доокиснення та очищення від токсичних елементів в потоці повітря. Найбільший приріст біомаси відбувається за умов концентрації CO<sub>2</sub> в газовій суміші 4-8%. Також на приріст біомаси впливає концентрація оксидів сульфуру та нітрогену, оскільки перевищення порогового рівня приводить до зниження рН культурального середовища і, відповідно, до загибелі водоростей. Ліпіди виділяють за стандартною методикою та піддають переетерифікації для отримання біодизельного палива. Кількість ліпідів у біомасі *Chlorella vulgaris*, що культивувалася за використанням димових газів становить 16-20%.

Отже, використання димових газів можливе для культивування мікрободоростей виду *Chlorella vulgaris* та забезпечення їх основними необхідними поживними компонентами, при цьому в процесі відбувається очищення газових викидів, що поліпшує екологічний стан довкілля.

### Катеринчук О. М.

#### ВПЛИВ НОВИХ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ ІЗ КЛАСУ НІТРОЗОАЛКІЛСЕЧОВИН НА РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В М<sub>1</sub>

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України*

*вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022*

*e-mail: katernychuks@mail.ru*

Серед зернових культур озима пшениця є головною продовольчою культурою і за посівними площами займає в Україні перше місце. Для підвищення врожайності та росту валових зборів зерна важливим є збагачення та удосконалення генофонду пшениць. З метою розширення спадкової мінливості та добору селекційно цінних форм озимої пшениці широко використовується метод експериментального мутагенезу, важливим завданням якого є пошук та вивчення специфіки дії нових мутагенних чинників.

Останнім часом при синтезі нових хімічних сполук звертається увага на їх хіральність або несумісність молекул зі їхнім дзеркальним відображенням. Різниця між оптичними ізомерами проявляється у їх активності та специфічній дії на організми. Так, хіральність багатьох лікарських препаратів обов'язково враховується при виготовленні та їх застосуванні у медицині, зокрема у кардіології. Мутагенна активність хіральних хімічних сполук на рослинах нами вивчається вперше.

Матеріалом для дослідження використано насіння двох сортів озимої м'якої пшениці: сорт Federer чеської селекції та вітчизняний сорт Кірена (Роксолана). Хіральні мутагени S(+) 1- N - нітрузо - 1 - N - метил- 3 - N - втор-бутилсечовину (S(+))НМвБС) і R(-) 1- N - нітрузо - 1 - N - метил- 3 - N - втор-бутилсечовину (R(-))НМвБС) синтезовано в лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики Російської академії наук. У кожному варіанті дослідження обробляли по 1000 зерен хіральними мутагенами у концентраціях: 0,005; 0,01; 0,03; 0,05% за загальноприйнятою методикою. Для порівняння у досліді використані відомі і добре вивчені мутагени нітрузоетилсечовина (НЕС) у оптимальних концентра-

ціях 0,0125 і 0,025% та гамма-промені (Гп) у дозі 100 Гр. Експозиція при обробці насіння хімічними мутагенами 18 годин.

Вплив мутагенних чинників на ріст і розвиток рослин  $M_1$  вивчався за показниками польової схожості, виживання рослин після перезимівлі, проведено структурний аналіз за показниками: висота рослин, загальна і продуктивна кущистість, довжина головного колоса, кількість колосків і зерен у головному колосі, маса зерна з головного колоса і рослини, маса 1000 зерен та цитологічний аналіз частоти і спектра хромосомних аберацій.

Встановлено, що нові хіральні мутагени не проявили суттєвої токсичної дії на схожість насіння та ріст проростків. Однак спостерігалась стимуляція росту і розвитку рослин  $M_1$  за окремими ознаками: загальною кущистістю при дії стереоізомера S(+)-НМвБС, масою зерна з рослини при дії R(-)-НМвБС у сорту Кірена. Зниження показників у порівнянні з контролем виявлено за такими ознаками як кінцева висота рослин, довжина головного колосу, кількість колосків та зерен у головному колосі при дії стереоізомера S(+)-НМвБС у найвищій концентрації 0,05%.

У ході цитологічних досліджень мітозів клітин встановлено, що за частотою хромосомних аберацій (від 5,7- до 37,7%), енантіомер (S+) НМвБС у окремих концентраціях активніший майже удвічі за (R-) НМвБС. Хіральні нітрозозалкілсечовини викликають не лише типові хромосомні аберації, але і різні патології мітозів, серед яких порушення спіралізації і деспіралізація хромосом, нерозходження та їх злипання, поява поліплоїдних клітин, затримка мітозу на стадії метафази, асиметричний мітоз, триполюсний мітоз та інші, чим суттєво відрізняються за цитогенетичними ефектами від таких відомих мутагенів, як нітрозоетилсечовина і гамма-промені.

**Kopylova O. I., Nikitin A. G., Lavrikova E. Y., Nosikov V. V.**

**ASSOCIATION OF GENES PTPN11 AND SH2B3 WITH TYPE 1 DIABETES**

*State Research Center GosNIIGenetika, Moscow, Russia*

*e-mail:okopylova7@gmail.com*

Last years the association with T1DM of some new locus including researches on the basis of full genomic searches with use of microchips of high density is found out (Levy and al.,2009). In our research we investigate gene PTPN11, coding for T-lymphocyte type 11 tyrosine phosphatase and gene SH2B3 (the chromosomal area 12q24.12), which codes for adaptor protein LNK.

In work we used samples of blood from group of patients T1DM (176 persons), the Russian Academies of Medical Science observed in Endokrinologicheskyy center of science (Moscow), and group of healthy individuals (206 persons) Russian origin used. Genotyping was made, using the Taqman-analysis on thermocycler ABI 7500. The statistical analysis of distribution of frequencies of alleles and genotypes was done with use of software SPSS 11.0.

For investigation of independent influence of polymorphic markers of gene PTPN11 on development T1DM, we have studied association with disease of a polymorphic marker rs17696736 and markers rs12425405, rs11066284, rs7974468 and rs11066301. The comparative analysis of distribution of frequencies of alleles and genotypes of polymorphic markers of gene PTPN11 in groups of patients T1DM and healthy individuals has revealed statistically significant distinctions for polymorphisms rs17696736, rs11066284 and rs11066301. Association of allele T had raised risk of development T1DM. At the same time, the association allele A with the lowered risk of development T1DM has been established. Thus, the polymorphic marker rs11066284 gene PTPN11 in Russian population is associated with T1DM. The comparative analysis of distribution of allele frequencies and genotypes of a polymorphic marker rs3184504 gene SH2B3 has revealed statistically significant distinctions between groups T1DM of sick and healthy individuals. The authentic increase in allele T frequency (OR = 1.69, p = 0.0003) and genotype TT (OR = 2.05, p = 0.002) in group of T1DM patients speaks about association of allele T with the raised risk of development of the given pathology and about

the raised risk of development T1DM in carriers of a genotype of a TT. At the same time, the association allele C with the lowered risk of development T1DM (OR = 0.59, p = 0.0003) is established that carriage of genotype CC (OR = 0.49; p = 0.002) correlates with the lowered risk of development of this disease. Thus, it is possible to draw a conclusion that the polymorphic marker rs3184504 (Trp262Arg) of gene SH2B3 in Russian population is associated with T1DM. In chromosomal area 12q24.12 the block of linkage disequilibrium in the size more than 1,5 million bp has been localized In which have found out a polymorphic marker rs17696736, associated with development T1DM (Concannon and al., 2009), located between genes SH2B3 and PTPN11. The further works have led to identification presumably etiology variant of Trp262Arg (rs3184504) in gene SH2B3, but functional importance tyrosine phosphatase SHP-2, coded by gene PTPN11, allows to consider it as the potential gene-candidate bringing the independent contribution in pathogenesis of T1DM.

Locus PTPN11 is an independent locus of predisposition to T1DM and the area contribution 12q24.12 in pathogenesis of diseases in Russian population is much more evident, than in other European populations and polymorphic marker rs3184504 (Trp262Arg) of gene SH2B3 in Russian population is associated with T1DM.

### **Кумскова А., Коломієць Ю.**

#### **ОТРИМАННЯ КАЛЮСНОЇ ТКАНИНИ РІПАКУ *BRASSICA NAPUS* L**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: julyja@i.ua*

Відомо, що клітинні технології, засновані на культивуванні *in vitro* клітин і тканин, можуть полегшити й прискорити традиційний процес створення нових генотипів при використанні таких методів, як: соматональна мінливість, мутагенез *in vitro*, клітинна селекція, тощо. Калюсна тканина, що складається з генетично різноманітних клітин, являє собою легко доступний матеріал, що найчастіше використовують для реалізації цих методів (Шевелуха й ін., 1998). Одним з важливих етапів при розробці клітинних технологій є оптимізація умов культивування для одержання калюсної культури *in vitro*.

Ріпак – олійна культура, яка нині займає друге місце в світі за виробництвом харчової та технічної олії, а отриманий після переробки насіння шрот використовують як цінний корм в тваринництві. Ріпакова олія також має велике значення як сировина для виробництва біодизельного палива. Аналізуючи світовий ринок рослинницької продукції, можна стверджувати, що найближчими роками перспективним залишається виробництво олійних культур і в першу чергу ріпака (Ситник І. Д., 2006). Тому, в останні роки інтенсивно ведеться селекційна робота спрямована на покращення агрономічних показників ріпаку.

Суттєві перспективи для селекційного процесу має розробка методу культур клітин і тканин для отримання клітинних ліній і рослин в умовах *in vitro*.

Метою роботи було вивчення впливу складу поживного середовища й типу експланту на індукцію утворення калюсу в культурі *in vitro* в ярого ріпаку.

Об'єктом дослідження слугували сорти ярого ріпаку Марія, Оксамит, Аїра, Отма, Сіріус, Антоціан української селекції. Як експланти використовували фрагменти стебла і листків. Експланти поміщали на середовище за Мурашіре і Скугом, доповнене фітогормонами 6-бензиламінопурином (6-БАП), нафтилоцтовою кислотою (НОК), гібереловою кислотою (ГК) та аденіном у різних концентраціях і співвідношеннях.

Активність утворення калюсу в основному залежала від вихідного генотипу і типу первинного експланту. Найкраще утворення калюсу відзначалося на листових пластинках для всіх досліджуваних сортів ріпаку. Встановлено, що на безгормональному середовищі МС утворення калюсу не відбувалося. При додаванні в середовище 6-БАП (1 мг/л), ГК (0,1 мг/л), НОК (1 мг/л) і аденіну (20 мг/л) частота



калюсоутворення для сортів Марія становила 60%, Оксамит – 56%, Аіра – 45%, Отма – 48%, Сіріус – 49%, Антоціан – 52%. На середовищі з додаванням тільки 6-БАП (1 мг/л) частота калюсоутворення була вищою для всіх сортів (Марія – 88%, Оксамит – 85%, Аіра – 67%, Отма – 69%, Сіріус – 70%, Антоціан – 82%) на 30-37%. На середовищі МС з вмістом 1,0 мг/л НОК і 2,0 мг/л 6-БАП на листкових пластинках спостерігали значне утворення кореневих проростків.

Отже, в результаті досліджень було з’ясовано, що найінтенсивніше утворення калюсу відбувається на середовищі МС з додаванням цитокініну 6-БАП (1 мг/л).

### **Кунда-Пронь І., Радіонов Д.**

#### **СЕЗОННІ ПОКАЗНИКИ ГЕНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ У ПОПУЛЯЦІЇ *DROSOPHILA MELANOGASTER* М. ДРОГОБИЧА**

*Дрогобицький державний педагогічний університет ім. І. Франка  
вул. Івасюка, 11, м. Трускавець, Львівська обл., 82200, Україна  
e-mail: ira-kunda@yandex.ru*

*Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна  
e-mail: pancovae@yandex.ru*

Процес адаптації організмів з коротким репродуктивним циклом (10-20 днів) до сезонних варіацій факторів навколишнього середовища часто супроводжується змінами у структурі їх генотипів. Тому метою нашого дослідження було проаналізувати частоту і спектр видимих мутацій у чотирьох поколіннях лабораторного інбредного розведення у представників природних популяцій, встановити частоту рекомбінації між локусами *white* (*w*, 1-1,5) і *cut* (*ct*, 1-20,0), оцінити спонтанний рівень летальних зчеплених зі статтю мутацій і ступінь генетичного поліморфізму за локусом гена в-специфічної карбоксиестерази (*Est-6*) у природній популяції *Drosophila melanogaster* м. Дрогобича Львівської області у період липень-вересень 2010 року.

Дослідження фенотипового прояву мутацій проводили за допомогою світлової мікроскопії. Для оцінки спонтанного рівня летальних зчеплених зі статтю мутацій використовували самок лінії *C(1)DX* зі зчепленими *X*-хромосомами. Визначення частоти рекомбінації проводили з використанням віргінних самок лінії *w ct*. Для визначення поліморфізму за локусом *Est-6* використовували індивідуальні гомогенати тканин самців та самок із популяції Дрогобич (по 30 особин), які піддавали електрофоретичному розподілу у системі лужного (рН 8,3) вертикально-пластинчастого 7,5% поліакриламідного гелю. Наявність різних молекулярних форм в-специфічних карбоксиестераз (*EST-6*) визначали за допомогою стандартного гістохімічного методу. Алозими ферменту (швидкий (*F*) та повільний (*S*)) диференціювали за показниками *Rf*.

За весь період досліджень частота виходу видимих мутацій у популяції *Drosophila melanogaster* м. Дрогобича не перевищувала 0,06%. У той же час, рівень зчеплених зі статтю летальних мутацій у мух досліджуваної популяції у липні та вересні статистично достовірно не перевищував контрольного. Відмінностей у частоті рекомбінаційних подій на ділянці між генами *white* і *cut* встановлено не було (17,3% у липні до 19,4% у вересні).

Аналіз частот показав, що *S*-форма в-специфічних карбоксиестераз протягом періоду досліджень (липень-серпень / вересень) у досліджуваній популяції *D. melanogaster* траплялася значно частіше за *F*-форму. Частота алеля *Est-6<sup>S</sup>* у середині і кінці літнього сезону становила 0,73 і 0,77, відповідно. Це відповідає частотам, отриманим для популяцій, які існують на широтах м. Дрогобича. Незначне збільшення частоти більш повільного алозиму у кінці серпня та початку вересня виявилось статистично недостовірним ( $\chi^2=0,83$ ). Частоти генотипів мух у досліджуваної популяції за локусом *Est-6* у липні становили: *Est-6<sup>S</sup> / Est-6<sup>S</sup>* - 0,55; *Est-6<sup>S</sup> / Est-6<sup>F</sup>* - 0,35 та *Est-6<sup>F</sup>* - 0,1. Частота гомозигот за алелем *Est-6<sup>S</sup>* та

гетерозигот до кінця серпня незначно збільшилася (до 0,58 та 0,39 відповідно), а частота гомозигот Est-6<sup>S</sup> / Est-6 становила 0,3.

Таким чином, усі досліджувані показники з липня до вересня 2010 року залишались незмінними, що свідчить про генетичну стабільність досліджуваної популяції.

**Лободюк Ю. Ю., Карабан Г. М., Усатенко В. Р., Мерлич А. Г., Халахурда Д. В.,  
Коротасва Н. В., Сергєєва Ж. Ю., Лиманська Н. В.**

**ПЛР-ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІЙНОГО РАКУ У ПУХЛИНАХ ВИНОГРАДУ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова  
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна  
e-mail: grotesk05@list.ru*

Бактерійний рак винограду – це системна інфекція. Збудники потрапляють до рослини через поранення та поширюються по судинах (Lehoczky J., 1968). У місцях потрапляння патогенних ризобій *Rhizobium vitis* і *R. radiobacter* (за минулою номенклатурою – *Agrobacterium vitis* і *A. tumefaciens*) утворюються пухлини. Незважаючи на те, що *R. vitis* і *R. radiobacter* є чинниками пухлинного росту, дослідження показують, що близько 90% штамів, що виділяються з пухлин, є авірулентними. Таке явище пояснюють впливом захисних факторів рослини, що призводять до мутаційних процесів у генах патогенності збудників (Belanger C., 1995).

У зв'язку з цим метою роботи було виявлення патогенних штамів *R. vitis* і *R. radiobacter* у пухлинах винограду за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Усього було досліджено десять пухлин винограду сорту Каберне Совіньон, відібраних на десяти різних рослинах насаджень Одеської області влітку 2010 року. Для ПЛР-ідентифікації використовували оптимізовану методику (Haas J.H., 1995; Лиманская Н.В., 2003).

Результати досліджень показали, що патогенні ризобії виділялися на традиційне середовище Рой і Сасера (Roy M., 1983) у випадку семи з десяти досліджених пухлин. Для семи пухлин було протестовано 66 штамів ризобій, які вирости після посіву рослинних тканин на середовищі Рой і Сасера. З них 18,2% штамів виявилися такими, що несуть ген патогенності *ipt* – ген ізопентенилтрансферази, що бере участь у синтезі гормону росту рослини (Haas J.H., 1995). Для пухлин окремих рослин результати були такими: збудники бактеріального раку становили від 11,1 до 50% виділених штамів ризобій. Решта штамів виявилися непатогенними, що підтверджує дані літератури (Belanger C., 1995).

Отже, ПЛР-ідентифікація показала наявність збудників бактеріального раку у 70% досліджених пухлин, що, можливо, вказує на те, що дані пухлини є вторинними (Wuig T.J., 1999), або ж підтримують дуже низьку щільність популяції патогену, яка не виявляється рутинними методами діагностики, а основна ж частина популяції збудників бактеріального раку втратила патогенні властивості через дію рослинних чинників (Belanger C., 1995).

**Maksymov L., Malienko V.**

**THE RISKS AND ADVANTAGES OF BIOPHARMING USAGE AND ITS POTENTIAL  
TO MANUFACTURING DRUGS AND CHEMICALS IN UKRAINE**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
15, Heroyiv Oborony, Kyiv, 03041, Ukraine  
e-mail: leon.maks@gmail.com*

The last advances in molecular genetics and plant biotechnology have shifted the concept of growing crops as a food source to serving as a bioreactor for the production of therapeutic recombinant proteins. Plants are potential biopharming factories because they are capable of producing unlimited numbers and amounts of recombinant proteins safely and inexpensively.

During the last decade of XX century, new production techniques were developed in biotechnology, which have a specific application in practice and one of them that concerns biopharming is an experimental application of biotechnology in which plants are genetically engineered to produce pharmaceutical proteins and chemicals they do not produce naturally.

The most popular biopharm plants are: soybean, tobacco and rice. The advantages of using the biopharm plants are: the lack of plant pathogenic contaminants; low cost of production; ease of agricultural scale-up compared to other currently available conventional production systems and etc.

Many different antibody forms have been expressed successfully in plants include: full-size antibodies, large single-chain antibodies, camelid heavy-chain antibodies, Fab fragments, scFvs, bispecific Fvs, diabodies, minibodies and others.

The problems of using biopharming are: the ability to control the seeds that can be transported for a long distances by birds or animals and could be harmful to human health or environment; the regulation biopharm crop cultivation, commercial use of biopharm plant products; does plants engineered pharmaceuticals, enzymes and industrial chemicals will contaminate the human food supply; does biopharming will prove to be expensive and/or non-viable due to difficulties in purifying drugs and chemicals from plants, the costs of mitigating gene flow, and litigation and liability costs from contamination and other.

All of this confirms that the future success of biopharming may require more vigorous steps of improved biotechnology by scientific community, governments and industry. Successful use of biopharming is highly dependent on stewardship and active risk management by the developers of this technology.

That is why the purpose of this paper is to examine improved options for the production of high-value compounds in transgenic plants to modern Ukrainian requirements and tendencies along with determining priorities on the way to food-safe and medicine supply and, in particular, the issue of Ukrainian opportunities to contribute to the development of such biopharming methods on the global level. The author underlines the necessity of rethink of the strategy of using major plant crops in biopharming during the numerous episodes of unexpected consequences on the finish chemicals and medicine products and development the state Ukrainian program based on the current great biopharming potential and its future importance to the human race.

### **Menzhun V., Aliieva O.**

#### **SILVER NANOPARTICLES FOR WATER DESINFECTATION AND MICROBIAL CONTROL**

*Department of Biotechnology, National Aviation University  
1, Kosmonavta Komarova Ave. Kiev, 03058, Ukraine  
e-mail: v\_menzhun@bigmir.net*

Silver is traditionally well-known antimicrobial material. It is believed that this metal reacts with proteins by combining the -SH groups of enzymes; consequently, this reaction leads to the inactivation of the proteins. (Jeon H.J. et al., 2003) When this metal is prepared in the form of very small particles, it is expected to show better antimicrobial characteristics because of their larger specific surface area. There were investigated the antimicrobial effect of silver nanoparticles against *Escherichia coli* and investigated the antimicrobial activities of silver-containing nanostructures. It is believed that the silver nanoparticles interact with the elements of bacterial membrane, causing structural change, dissipation of the proton motive force, and finally cell death (Sondi I, et al., 2004).

The rapid growth in nanotechnology has spurred significant interest in the environmental applications of nanomaterials. Nanomaterials are excellent adsorbents, catalysts, and sensors due to their large specific surface area and high reactivity. More recently, several natural and engineered nanomaterials have also been shown to have strong antimicrobial properties, including silver nanoparticles (nAg) (Morones, J.R., et al., 2005). Unlike conventional chemical disinfectants, this antimicrobial nanomaterial is not strong oxidant and is relatively inert in water. Therefore, it is not expected to produce harmful DBPs. If properly incorporated

into treatment processes, the nanoparticles are the potential to replace or enhance conventional disinfection methods.

Silver ions interact with thiol groups in proteins, resulting in inactivation of respiratory enzymes. It was also shown that  $\text{Ag}^+$  ions prevent DNA replication and affect the structure and permeability of the cell membrane. Silver ions are also photoactive in the presence of UVA and UV-C irradiation, leading to enhanced UV inactivation of bacteria and viruses (Kim J.Y., et al., 2008). Physicochemical properties play an important role in the antimicrobial activity of nAg. In general, particles of less than 10 nm are more toxic to bacteria such as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Silver nanoparticles ranging from 1 to 10 nm inhibit certain viruses from binding to host cells by preferentially binding to the virus' gp120 glycoproteins (Elichiguerra J.L., et al., 2005). nAg has found applications in diverse consumer products and industrial processes, including water treatment, as antimicrobial agents. As to the current applications they are used in portable water filters, clothing, medical devices disinfectants, and coatings for washing machines, refrigerators, and food containers. In the future developments silver nanoparticles can be used at surface coatings and membranes for prevention of biofilm formation and further corrosion.

Antimicrobial nanomaterials show promise as alternatives to traditional chemical disinfectants that are prone to generate harmful disinfection byproducts. Although current economic consideration and undetermined human health and environmental impacts preclude the application of nanotechnology-based water treatment processes in the immediate future, the increasing interest in decentralized water treatment and reuse systems driven by concerns on stressed water distribution systems will likely stimulate research activities in this area in the decades to come. Future research addressing scalability, economics, and safety of these systems is likely to overcome many of the current limitations and create opportunities to revolutionize drinking water treatment.

### **Навроцька Д. О., Чеченєва Т. М.**

#### **ВИДІЛЕННЯ ПЛАЗМІД ДЛЯ ПОДАЛЬШОЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА D-ТИРОЗИН ТРНК D-АЦЕЛАЗИ**

*Кафедра молекулярної генетики та біобезпеки  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: [dasha\\_fire@ukr.net](mailto:dasha_fire@ukr.net)*

Метою дослідження було отримати плазмиду рЕТ-29b(+) та плазмиду з вбудованим геном D-тирозин ТРНК D-ацелази термофільної бактерії *Esternus termophilus*. Вони будуть використані як початковий матеріал для експресії гена D-тирозин ТРНК D-ацелази. Вказаний ген є важливим при біосинтезі ферменту, який розрізняє D- та L-ізомери амінокислот.

Плазміда рЕТ-29b(+) має бактеріальне походження з *Escherichia coli* і складається з 5,4 тисяч пар нуклеотидів. Клітини DH5 $\alpha$  після електропорації плазмидою рЕТ-29b(+) вирощували на середовищі LB з канаміцином (як селективним фактором) при 37°C до оптичної щільності 4,0. Далі, після центрифугування при 5000g протягом 15 хв при 4°C, виділяли плазмиду рЕТ-29b(+) на колонці NucleoBond Xtra Midi для низькокопійних плазмід. Клітини, що містять плазмиду з вбудованим геном D-тирозин ТРНК D-ацелази, вирощували таким же чином на середовищі LB з канаміцином до оптичної щільності 3,0. Отриману культуру центрифугували при 5000 g протягом 10 хв при 4°C, а потім виділяли плазмиду на колонці NucleoBond Xtra Midi для висококопійних плазмід.

Виділені плазмиди розчинили в 50  $\mu\text{l}$  буферу TE, а потім за допомогою спектрофотометрії встановили різну оптичну щільність, яка для рЕТ-29b(+) становила 96 о.о./ml, а у плазмиди з геном D-тирозин ТРНК D-ацелази - 58 о.о./ml. Далі, шляхом розведення довели концентрації до 100  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$ . З отриманими зразками провели електрофорез.

Результати гель-електрофорезу підтвердили наявність нативних плазмід і забезпечили можливість використовувати виділені плазмиди для рестрикції та подальшої роботи над експресією гена D-тирозин ТРНК D-ацелази.

**Німилович М.**

**ФЕРМЕНТНІ БІОСЕНСОРИ В АНАЛІТИЧНІЙ ПРАКТИЦІ**

*Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка*

*вул. В. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна*

*e-mail: bioddy@ukr.net*

Постійно зростаюча необхідність поліпшення охорони навколишнього середовища, контролю біотехнологічних процесів, перевірки якості харчових продуктів і питної води, збільшення кількості клінічних тестів у медичній і ветеринарній діагностиці потребує дедалі ширшого використання нових методів аналізу. Традиційні підходи до визначення аналітів недостатньо селективні або неекономічні у повсякденному їх використанні у лабораторії. З огляду на це, сьогодні є актуальним питання створення більш зручного, швидкого та дешевого методу визначення вмісту різних аналітів у досліджуваних зразках. До нього відносять біосенсиори, головними перевагами яких є висока специфічність, швидкість отримання результатів, легкість обробки даних, низька собівартість аналізу, широкий діапазон речовин, які можна детектувати.

Ознайомлення з методами конструювання і використання ферментних біосенсорів в аналітичній практиці.

Біосенсор – автономний аналітичний прилад, який забезпечує кількісний аналіз з використанням біологічного розпізнавального елемента, що перебуває у прямому контакті з фізичним перетворювачем. Прилад складається з двох частин: біоматриці – детектувального шару іммобілізованого біоматеріалу (ферментів, антитіл, органел, мікроорганізмів) та перетворювача (амперометричного, акустичного, оптичного, потенціометричного, кондуктометричного, термічного). Біосенсор перетворює первинний сигнал, генерований при взаємодії біоелементу з аналітом, що веде до зміни фізико-хімічних характеристик контактного трансдуктора з амплітудою, яка залежить від концентрації певної речовини в розчині. Незважаючи на великі переваги біосенсорів, виділяють певні недоліки: обмежена стабільність і складність у приготуванні біоселективної мембрани. До методів іммобілізації біологічного матеріалу відносять: зв'язування молекул ферменту з нерозчинним полімером, використання механізмів зв'язування, за яких фермент знаходиться всередині полімеру, використання подвійного фосfolіпідного шару, при цьому фермент перебуває у водному розчині в середовищі фосfolіпідів чи у гідрофобній частині подвійного шару фосfolіпідів. Перетворювач біосенсорів складається із електропровідного робочого електрода і підкладки. Для виготовлення робочого електрода найчастіше використовують платину, золото, срібло, високоякісну сталь, графіт, активований вуглець, сажистий вуглець. Для виготовлення непровідної підкладки застосовують кераміку, скло, кремній (Дзядевич С.В., Солдаткін О.П., 2006).

Амперометричні біосенсиори – найуспішніший клас приладів з погляду комерціалізації, принцип роботи якого ґрунтується на вимірюванні густини чи сили струму за постійного потенціалу. Існують три групи таких біосенсорів: безмедіаторні (вимірюють концентрацію природних субстратів і продуктів ферментативної реакції), медіаторні (використовують медіатори як переносники електронів з активного центру ферменту на електрод) та амперометричні біосенсиори, основою роботи яких є пряме перенесення електронів з активного центру фермента на електрод. Кондуктометричні біосенсиори – перспективний клас високочутливих приладів, в яких електродні електрохімічні реакції не відбуваються, а концентрація субстрату визначається на основі величини провідності розчину електроліту, яка залежить від концентрації та рухливості його іонів; під час біоспецифічної реакції можуть утворюватися нові іони, змінюватися їх концентрації та рухливість, що веде до зміни провідності (Дзядевич С.В., Солдаткін О.П., 2006).

Сучасні досягнення біосенсоріки: біосенсиори на основі глюкозооксидази, на основі уреазы, на основі алкогольоксидази, на основі холінестерази, на основі пеніцилінази та ряд інших (Дзядевич С.В., Солдаткін О.П., 2006).

**Огородник Ю., Антоненко Л., Ільєнко І.****АНТИОКСИДОВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ СПИРТОВИХ ЕКСТРАКТІВ БІОМАСИ І КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФІЛЬТРАТУ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ РОДУ CORIOLUS***Кафедра промислової біотехнології**Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»**пр. Перемоги, 37, корп. 4, м. Київ, 03056, Україна**e-mail: prombt@ukr.net, yuliaflow@gmail.com*

Дереворуйнівні базидіальні гриби роду *Coriolus* Quel (*Trametes* Fr.) широко застосовуються в таких галузях промисловості, як деревообробна, текстильна, шкіряна (для знешкодження стічних вод), косметична, харчова, а також в процесі отримання нанопокриттів.

Останнім часом увагу дослідників привернув той факт, що деякі дереворуйнівні гриби мають антиокислювальну активність (АОА), тобто можуть гальмувати перекисне окислення ліпідів клітинних мембран. Загалом, ксилотрофні базидіальні гриби мають підвищений антиоксидантний статус, як результат адаптації до виживання в умовах окислювального стресу під час розкладу лігніну. Відомо, що вираженими антиоксидантними властивостями володіють речовини фенольної природи (поліфеноли, флавоноїди), сірковмісні амінокислоти та їх похідні, тритерпенові сполуки, фосфоліпіди та стерини, алкалоїди, протеїни, хітин і його похідні, зокрема хітозан (Капич А.Н., 1995). Таким чином, існує можливість використання грибів для отримання антиоксидантів природного походження, що є актуальним. В цьому напрямку досліджувались такі лікарські гриби, як *Ganoderma lucidum* (Reishi), *Lentinus edodes* (Shiitake), *Inonotus obliquus* (Chaga). Щодо грибів роду *Coriolus* в літературі (Бабицька та ін., 1994, 2008; Капич А.Н., 1995, 2006), є дані про АОА екстрактів міцелію *Coriolus hirsutus*, яка гальмує процеси перекисного окислення ліпідів в клітинних мембранах. Але при цьому відсутня інформація: чи проявляє АОА культуральний фільтрат грибів роду *Coriolus*.

Метою роботи було дослідження та порівняння АОА спиртових екстрактів біомаси і культуральних фільтратів базидіоміцетів роду *Coriolus*.

Об'єктами досліджень були 4 штами *C.villosus* 1009, *C.versicolor* 353, *C.zonatus* 5302, *C.hirsutus* 5137 базидіальних грибів роду *Coriolus* з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ. Культивування проводили на глюкозо-пептонному середовищі протягом 7 діб. Встановлено, що спиртові екстракти біомаси та культуральні фільтрати досліджуваних штамів базидіальних грибів роду *Coriolus* проявляють АОА. За результатами проведених досліджень для штамів *C.versicolor* 353 і *C.zonatus* 5302 значення АОА були в 1,5 рази вищими для спиртових екстрактів біомаси, ніж для культуральних фільтратів. Серед спиртових екстрактів біомаси досліджуваних штамів найбільшу АОА проявив штам *C.versicolor* 353 ( $8,14 \cdot 10^{-4}$  дм<sup>3</sup>/(см<sup>3</sup> Ч хв.)). Варто зазначити, що підвищення АОА в екстрактах біомаси супроводжувалось збільшенням виходу біомаси до 3,5 г/дм<sup>3</sup>. Серед культуральних фільтратів найбільше значення АОА продемонстрували штами *C.versicolor* 353 ( $4,14 \cdot 10^{-4}$  дм<sup>3</sup>/(см<sup>3</sup> Ч хв.)) і *C.villosus* 1009 ( $4,3 \cdot 10^{-4}$  дм<sup>3</sup>/(см<sup>3</sup> Ч хв.)). Значення АОА культурального фільтрату для штамів *C.hirsutus* 5137 і *C.villosus* 1009 перевищувало в 1,2 рази даний показник для спиртових екстрактів цих штамів. Дослідження вмісту фенольних речовин в культуральних фільтратах показало, що за умов нашого дослідження не спостерігався взаємозв'язок між вмістом фенольних речовин і величиною АОА культуральних фільтратів досліджуваних штамів. Можливо, поява антиокислювальної активності у досліджених штамів викликана речовинами нефенольної природи.

Таким чином, встановлені штамові особливості прояву АОА екстрактами біомаси та культуральних фільтратів 4 штамів базидіоміцетів роду *Coriolus*.

**<sup>1,2</sup>Окунєв О. В., <sup>2</sup>Паливода О. Г., <sup>1,2</sup>Константинова Г. О.,**

**<sup>1,2</sup>Іродов Д. М., <sup>1,2</sup>Похоленко Я. О.**

**КЛОНУВАННЯ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-10 ЛЮДИНИ (hIL-10) ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ЙОГО СИНТЕЗ У КЛІТИНАХ *E. COLI***

*<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,*

*вул. Заболотного 150, м. Київ, 03680, Україна*

*<sup>2</sup>«Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України»*

*вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114, Україна*

*email: greensnake@ukr.net*

Інтерлейкін-10 людини (hIL-10) є ключовим протизапальним цитокином. Він синтезується переважно моноцитами периферичної крові, а також Т-хелперами другого типу, дендритними клітинами і епітеліальними клітинами. hIL-10 безпосередньо інгібує експресію IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, IL-12, INF- $\gamma$ , TNF $\beta$ , а також пригнічує презентацію антигенів антиген-презентуючими клітинами. hIL-10 зменшує активність цитотоксичних клітин кілерів та природніх кілерів та макрофагів. Крім цього, він здатний направлено викликати загибель активованих макрофагів, нейтрофілів та цитотоксичних Т-клітин. Проте, як і більшість інших цитокинів, дія hIL-10 є різноспрямованою. Так він сприяє розвитку гуморальної складової імунної відповіді. Понижений рівень експресії hIL-10 спостерігається при багатьох патологічних станах, зокрема при псоріазі, цукровому діабеті 1 типу, екземі, розсіяному склерозі, спонтанних викиднях та ін. Його експресія клітинами деяких злоякісних пухлин, зокрема лімфом, призводить до інгібування протипухлинного імунітету та прогресії захворювання. Виділення hIL-10 із джерел його природного синтезу у достатній кількості є неможливим, тому одержання рекомбінантного hIL-10 для його дослідження та можливого подальшого застосування для лікування патологій є актуальним питанням.

Метою даної роботи було клонування кДНК гена hIL-10, одержання продукту та дослідження впливу компонентів поживного середовища на продукцію hIL-10 клітинами *E.coli* штаму BL21(DE3).

Тотальну РНК виділяли з лейкоцитарної маси периферичної крові людини, стимульованої ЛПС *E.coli*. PolyA<sup>+</sup>-РНК виділяли на Oligo(dT)-целюлозі. Виділену мРНК- PolyA<sup>+</sup> використовували як матрицю для синтезу кДНК за допомогою зворотної транскриптази та олігонуклеотидної затравки (oligo dT). Одержану кДНК використовували для синтезу гена hIL-10 в реакції ПЛР із використанням Pfu-полімерази та специфічних праймерів. Фрагмент ампліфікованої кДНК, розміром 516 пар нуклеотидів був клонований в плазмідну ДНК pUC19 для визначення первинної послідовності.

Для експресії цільовий ген клонували у плазмідний вектор рЕТ-24a(+), який містить промотор одного з ранніх генів фага T7 та трансформували в клітини штаму-реципієнта *E.coli* BL21(DE3). Клітини-продуценти hIL-10 вирощували у складних поживних середовищах. Ферментацію проводили в умовах інтенсивної аерації протягом 3-18 год після додавання індуктора – IPTG – до кінцевої концентрації 1 ммоль.

Електрофоретичний аналіз білкової фракції клітин, що містили плазмідну ДНК, продемонстрував наявність поліпептиду з очікуваною молекулярною масою 18 кДа, яка відповідає мономерові hIL-10. У контрольному варіанті рекомбінантний білок електрофоретично не виявився. Також було продемонстровано, що вихід цільового білка не варіює залежно від складу поживного середовища.

**Петренко О., Шульга В., Дрозд П., Оверченко В.**

**МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАТЕНТНОГО ВІРУСУ ХМЕЛЮ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: overv@i.ua*

Патогени вірусної природи широко розповсюджені на рослинах хмелю, які уражують їх у різних формах. У 80-х роках минулого століття було показано, що ураженість вірусами окремих сортів хмелю становить понад 90%, що призводить до значних втрат врожайності та погіршення якості хмелесировини. Найвірулентніші штами вірусів, що уражують хміль в Україні, відносять до груп Parvirus,

Нерovirus та Carlavirus. Зовнішні симптоми, які проявляють уражені рослини хмелю дуже різноманітні: вони можуть бути чітко виражені або зовсім слабо виражені. Проте деякі рослини і навіть сорти та лінії хмелю є безсимптомними носіями вірусів, що локалізовані у латентній формі. До них відносять латентний вірус хмелю (ЛВХ), який є надзвичайно вірулентним і призводить до значних втрат врожаю та погіршення якості шишок хмелю. У результаті обстеження хмільників Житомирської області було виявлено симптоми скручування листя – на сортах хмелю Заграва, Потіївський, Промінь та Слов'янка; хлороз – виявили лише на сорті хмелю Потіївський; міжжилкова мозаїка спостерігалася на Альті, Зміні, Кумирі, Промені та Регенті, енації – на Заграві і Слов'янці, карликовість – на Заграві. Візуальна діагностика вірусних хвороб хмелю не завжди дає змогу зробити висновки про вірусну природу патогену. Подальші дослідження безпосередньо зразків сортів Промінь, Заграва та Слов'янка показали, що з перелічених рослин-індикаторів на квасолі відмічалися системні некрози деградації листків у відповідь на зараження латентним вірусом хмелю. Під час проведення електронно-мікроскопічних аналізів зразків рослин нових сортів хмелю та рослин-індикаторів у препаратах було виявлено вірусні частки ниткоподібної форми розмірами 670 x 19 нм із внутрішнім каналом 3,5-3,7 нм. Для створення дизайну праймерів, специфічних до нуклеотидних послідовностей ЛВХ, було проведено біоінформативний аналіз, першим етапом якого став скринінг консервативних послідовностей генів, що кодують білок оболонки відповідного вірусу за допомогою генетичного банку даних (GenBank). На підставі узагальнених даних щодо відомих нуклеотидних послідовностей вірусних геномів було виявлено специфічні консервативні нуклеотидні послідовності, які в подальшому використано як матрицю для олігонуклеотидних загравок у процесі синтезу вірусспецифічних фрагментів нуклеїнових кислот. Аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення «MultAlin» (Multiple sequence alignment). Використовуючи консенсусну нуклеотидну послідовність гена, що кодує білок оболонки латентного вірусу хмелю, за допомогою програмного забезпечення «Primer3» було створено дизайн праймерів. Дані пари праймерів виявляють стовідсоткову специфічність до геному латентного вірусу хмелю. Аналізуючи пари праймерів за GC-складом, встановлено, що вони знаходяться в оптимальному діапазоні. Тому дану пару праймерів було рекомендовано до синтезу, яка також не виявляла специфічності до нуклеотидних послідовностей геномів інших організмів (з утворенням ПЛР-продукту розміром 330 пар нуклеотидів), які занесено до генетичного банку даних. У подальшому праймери дістали назву: Forward – HpLV1 1 і Reverse – HpLV2. Виділений вірус ідентифікували за допомогою зворотної транскрипції полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ ПЛР). З отриманих електронно-мікроскопічних результатів, на основі даних зроблено припущення про належність досліджуваного вірусу до групи Carlavirus. У результаті аналізу відібраних проб з дев'яти сортів хмелю ЗТ ПЛР було виявлено, що зразки сортів Промінь, Заграва та Слов'янка мали однаковий продукт ампліфікації розміром 330 п.н., що відповідає теоретично розрахованій довжині ПЛР-продукту для латентного вірусу хмелю. У результаті досліджень на вірусоносійство рослинного матеріалу трьох новітніх ароматичних сортів хмелю з синтезованими ПЛР праймерами до ЛВХ отримано продукти ампліфікації з сортів Промінь, Заграва та Слов'янка, що підтверджує попередні дослідження та вказує на присутність ЛВХ у досліджуваних зразках.

### **Mazur O., Piankova O., Karpenko V.**

#### **APPLICATION OF GLYCEROL IN CITRIC ACID SYNTHESIS BY *ASPERGILLUS NIGER***

*National Aviation University*

*1, Kosmonavta Komarova Ave., Kiev, 03058, Ukraine*

*e-mail: o.piankova@ukr.net*

Citric acid is widely used industrial product. Produced primarily by fermentation, its production volume is second yielding only to industrial ethanol as a fermentation product. Molasses, hydrolysates of plant raw materials are usually used as sources of carbon for citric acid production. But their price constantly



increases. Nowadays there is a great problem of searching of the alternative kinds of raw materials for any biotechnological production.

Since the number of biodiesel producing units is steadily growing, glycerol waste from that production is becoming easily available on a large commercial scale. Utilization of wastes with high content of glycerol is one of the key positions in the organization of environmentally safe and economically efficient production. The very low cost of raw glycerol makes it very attractive raw material for microbial industry. Raw glycerol could be utilized in microbial bioconversions for production of a range of high value-added products that could be either as end-products or as precursors for production of other chemicals.

Bioconversion of glycerol to citric acid by *Aspergillus niger* was studied in order to determine if fermentation process is possible when the pure glycerol is used as a sole carbon source.

We investigated the possibility of citric acid synthesis by aerobic culture *Aspergillus niger* from pure glycerol carrying out a series of experiments: growth, biomass accumulation of producer and citric acid synthesis. All experiments were carried out in two replications and calculated the average meaning of investigated values. The obtained results on medium with glycerol were compared with results obtained on medium with sucrose.

For experiments it was used the medium of following content (g/ml):  $\text{NaNO}_3$  – 2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4$  – 0,03; distilled water – 1000 ml. As carbon source we used sucrose (as control) 30 g/l and sucrose 40 g/l. Initial pH was 5,0. As inoculum used the spore suspension of *A. niger* in quantity  $7,5 \cdot 10^6$  spores/ml.

Citric acid synthesis was carried out in Erlenmeyer flasks with volume 250 ml by surface fermentation. Duration of fermentation – 12 days at temperature 28-30 °C.

After fermentation fungal biomass was separated from cultural liquid on filter paper. Quantity of biomass was determined gravimetrically after drying of biomass in chamber at temperature 105 °C. The content of citric acid was determined by titration with 0,1 N solution of NaOH.

The content of citric acid in ml of cultural liquid obtained on glycerol was 0,19 g/ml, that is in 3,5 times lower obtained on medium with sucrose (0,053 g/ml). The yield of citric acid in% from initial carbon concentration: on glycerol – 0,047%, on sucrose – 0,173%. Producing ability of producer *A. niger* was higher on sucrose 0,075, while on glycerol – 0,035.

Pure glycerol from biodiesel production can be used for aerobic culture *Aspergillus niger*, giving the final concentration of citric acid in quantity 0,019 g/ml. Significantly lower concentrations of citric acid by *A. niger* from glycerol (0,019 g/ml) in comparison with sucrose (0,053 g/ml) resulted from the fact that given culture is not a superproducer of citric acid from glycerol. Also the biomass accumulation was observed rapidly on sucrose. So, to obtain the high concentration of citric acid from glycerol it is necessary to carry out the mutation of *A. niger* and the following selection.

Given theme represents the scientific interest as glycerol is a suitable substrate for citric acid production, and at the same time utilization of glycerol as by-product of biodiesel production will solve the problems related with environmental pollution.

### **Щербак Д., Оверченко В.**

#### **ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ МАЛИНИ СОРТУ ПОЛАНА**

*Лабораторія фітовірусології та біотехнології  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: overv@i.ua*

Малина – цінна ягідна культура, що має унікальні й дієтичні властивості, як у свіжому так і в консервованому вигляді. Ягоди малини характеризуються високим вмістом заліза. Має гематогенним комплексом активних з'єднань. Малиновий сік має приємний вигляд і аромат свіжих ягід, загальна

дегустаційна оцінка – 4,7 – 4,9 бала. Вміст аскорбінової кислоти, який зберігся в ньому становить 60%. Існуючі технології розмноження малини зеленими та здерев'янілими живцями забезпечують укорінення до 27-30% рослин, що звичайно не покриває потреб ринку. Впровадження нових технологій виробництва високоякісного посадкового матеріалу дасть змогу вирішити проблему кількості і якості садивного матеріалу. Серед таких методів чільне місце посідає мікроклональне розмноження. Ефективність методів *in vitro* при вирощуванні безвірусного посадкового матеріалу дедалі частіше розглядають як серйозну альтернативу традиційним технологіям розмноження. Для введення в культуру *in vitro* брали фенотипово нормальні (без видимих аномалій та хвороб) однорічні пагони малини сорту Полана. Стерилізуючим агентом слугував комерційний препарат “Білізна”. Додатково застосовували 70%-й розчин етанолу. Експозиція стерилізації становила 10 хв, при цьому ми отримали від 55 до 65% асептичних життєздатних експлантів. Для введення в культуру *in vitro* малини для регенерації повноцінної рослини-регенеранта використовували базове безгормональне агаризоване поживне середовище МС (Myrashige, Skoog, 1962), яке модифікували різними регуляторами росту їх співвідношеннями та концентраціями: БАП (0,1–1,5 мг/л), кінетин (1,0-1,5 мг/л), НОК (0,1-0,2 мг/л), ІМК (0,1-0,2 мг/л), ГК (0,5-1,5) мг/л. Як абсорбуючу речовину краще використовувати активоване вугілля, що значно покращує технологію приготування поживного середовища, є більш економічно вигідним та дає бажаний результат. В подальшому наші дослідження були пов'язані з розробкою оптимального складу поживного середовища для індукції ризогенезу та адаптації рослин – регенерантів до умов відкритого ґрунту. Таким чином вдосконалено технологію мікророзмноження малини звичайної (*Rubus idaeus* L.) сорту Полана. Проліферація ініційованих мікропагонів на середовищі МС, що містить 1,0 мг/л БАП. Після отримання необхідної кількості рослин – укорінення на цьому ж середовищі, але зі зменшеним вмістом макросолей. Адаптація укорінених пагонів, що виростили до 2 см і більше, до умов *in vitro* на легких субстратах з хорошою аерацією, підвищеною вологістю, за контрольованих температур й освітлення. Отриманні нами результати щодо мікроклонального розмноження даного сорту малини підтверджують високу результативність цього методу. Впровадження у виробництво оздоровленого посадкового матеріалу сприятиме збільшенню продуктивності маточних і плодоносних плантацій. Урожайність рослин малини, отриманих *in vitro*, зростає на 15-30%, а продуктивність маточних рослин – у 2-2,5 рази. Подорожчання посадкового матеріалу, вирощеного в культурі *in vitro*, окупується в кілька разів за рахунок збільшення виходу товарної продукції порівняно з рослинами, розмноженими традиційним способом. Мікроклональне розмноження малини дасть змогу прискорити впровадження у виробництво цієї нової та перспективної для садівництва України культури.

### **Шаванова К., Кисельов Д.**

#### **АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ В МЕЖАХ РОДУ AESCULUS L. ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
email: shavanova@gmail.com*

До теперішнього часу в науковій літературі існують істотні розходження як у поділі на роди, так і в кількості видів (Hemming, 1948; Тахгаджян, 1981), що потребує детального перегляду систематики роду *Aesculus* L. Адекватно це можливо зробити із застосуванням сучасних молекулярно-генетичних методів. Вони дають змогу провести ідентифікацію та паспортизацію видів і гібридів, виявити філогенетичні зв'язки між видами. За морфологічними ознаками види роду *Aesculus* L. об'єднані в 5 секцій: *Aesculus*, *Calothyrsus*, *Macrothyrsus*, *Parryana*, *Pavia* (Hardin, 1960). В Україні доволі широко представлені рослини секцій *Aesculus*, *Macrothyrsus* та *Pavia*.

Нами було здійснено аналіз рівня генетичного поліморфізму та вивчено філогенетичні зв'язки інтродукованих в Україні видів і гібридів роду *Aesculus* L. з використанням узагальнених даних трьох вивчених маркерних систем (RAPD, ISSR, IRAP).

Вихідним матеріалом для дослідження видів і гібридів роду *Aesculus* L. (*A. hippocastanum* f. *Baumannii*, *A. hippocastanum* L., *A. carnea* Hayne., *A. pavia* L., *A. octandra* Marsh., *A. parviflora* Walt., *A. glabra* Willd., *A. hybrida* D. C.) був рослинний матеріал із зелених гіркокаштанових насаджень України (м. Київ, Львів, Ялта) по 30 рослин у вибірці.

ДНК виділяли з використанням гексадецилтриметил амоніум бромиду – ЦТАБ (Сиволап, 1998). Ампліфікацію проводили за модифікованою методикою (Шаванова та ін., 2010). Продукти ампліфікації геномної ДНК аналізували за допомогою електрофорезу в агарозному 2,0%-ному гелі з додаванням 0,5 мкг/мл бромистого етидію в трис-ацетатному буфері за напруги електричного поля 2 В/см впродовж 7-8 год. Опрацювання результатів електрофорезу здійснювали за допомогою пакета програмного забезпечення TotalLab v2.01.

Для оцінки алельної різноманітності локусів використано показник частоти трапляння алелів ( $n_a=1,7692$ ) та показник ефективної кількості алелів ( $n_e=1,4112$ ). Виходячи з того, що максимальна кількість алелів на локус для використаних методів становить 2, отримані показники свідчать про досить високий рівень алельного варіювання у вибірці. Інформаційний коефіцієнт Шенона для даних маркерних систем становить  $I=0,3832$ .

Для оцінки генетичної різноманітності роду *Aesculus* L. були розраховані показники середньої гетерозиготності: рівень середньої гетерозиготності, що спостерігається, дорівнював 0,2500, а середньої очікуваної гетерозиготності – 0,3125. Це свідчить про те, що від 25,0 до 31,3% виявлених локусів знаходяться у гетерозиготному стані. Всі використані маркерні системи виявилися досить інформативними для вивчення міжвидового поліморфізму роду *Aesculus* L.

Також дослідження виявили високий рівень гетерозиготності та генетичних відмінностей всередині родини. За результатами аналізу поліморфних локусів визначали генетичні дистанції за Неєм та Лі (Nei, 1975). Цей показник розглядається нами як міра генетичного різноманіття і перебуває для досліджуваних об'єктів у межах 0,1671–0,4855, що свідчить про значну генетичну гетерогенність досліджуваного роду.

Загалом, результати молекулярної філогенії підтверджують розподіл видів гіркокаштанів по секціям за морфологічними ознаками. За спектром ампліфікованих фрагментів найподібніші між собою *A. hippocastanum* f. *Baumannii* та *A. hippocastanum* L. і *A. pavia* L. та *A. octandra* Marsh. В один кластер увійшли представники секції *Aesculus* – *A. hippocastanum* L. і *A. hippocastanum* f. *Baumannii*. Другий кластер становили види і гібриди секції *Pavia* – *A. pavia* L., *A. hybrida* D. C., *A. carnea* Hayne., *A. octandra* Marsh. та *A. glabra* Willd. Окремим кластером виявився вид *A. parviflora* Walt. (секція *Macrothyrsus*). Значна кількість видоспецифічних фрагментів засвідчує більшу генетичну відокремленість цього виду від інших.

### **Таран М., Шаванова К.**

#### **ВПЛИВ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК НА МІТОТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ALLIUM SERA НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: shavanova@gmail.com*

Харчовими добавками називають групу природних або синтетичних речовин, які спеціально додають до продовольчої сировини, напівфабрикатів або готових продуктів з метою надання їм певних якісних показників. Суміш речовин, що входить до складу копчено-варених ковбас потенційно може проявляти токсичну дію (мутагенну, канцерогенну, алергенну), яка буде залежати від співвідношення мутагенних, антимутагенних й інших токсичних сполук і їх взаємної адитивної, синергічної чи антагоністичної дії.

Рослинні біотести рекомендовано для первинного скринінгу мутагенів. Метод біотестування на цибулі звичайній (*Allium sera*) – легкий та чутливий спосіб визначення загальної токсичності, викликаної хімічним впливом, який проявляється в інгібуванні росту корінців цибулин. Метод доповню-

ється цитогенетичною оцінкою впливу на тест-об'єкт і дає змогу визначити існування або відсутність мутагенності проби.

Метою нашої роботи було дослідити вплив харчових добавок копчено-варених ковбас на мітотичну активність *Allium* сера.

Вплив харчових добавок на меристеми коренців цибулі вивчали на проростках сорту Стригуновський. Однодобові проростки інкубували за концентрації 4,5-13,5 мкг/мл (контроль – вода), впродовж 48 годин за температури 25°C. Фіксували кінчики корінців у фіксаторі Кларка. Мацерували меристеми у 1 н HCl, фарбували 1% ацетоорсеїном. Цитологічні дослідження проводили на тимчасових давлених препаратах, за 400-кратного збільшення з використанням світлового мікроскопа. Розраховували значення мітотичного індексу (МІ) і відносну тривалість кожної з фаз мітозу.

Мутагенна дія харчових добавок полягає у зниженні енергії проростання насіння та уповільненні росту рослин. В цілому, порівняно з контролем, характерно пригнічення росту корінців та суттєве зниження величини МІ під дією харчових добавок залежно від концентрації. Обробка призвела також до зміни відносної тривалості фаз мітозу. Механізмом указаних ефектів, ймовірно, є пригнічення мітотичної активності клітин під дією харчових добавок.

### **Tkachenko N., Sofronova Yu., Rodin D.**

#### **FAILURE OF SYNAPTOGENESIS IN THE BRAIN TRANSGENIC *DROSOPHILA MELANOGASTER* WITH HUMAN APP OVEREXPRESSION**

*Petersburg Nuclear Physics Institute Russian Academy of Sciences  
Gatchina, Orlova Roscha, 188306, Russia  
e-mail: mcaine@yandex.ru*

Although abnormal processing of amyloid-b precursor protein (APP) has been implicated in the pathogenic cascade leading to Alzheimer's disease (AD), the normal function of this protein and its role in synaptic dysfunction in AD is poorly understood. A large number of studies suggested that the defective processing of APP and formation of neurotoxic amyloid beta protein (A $\beta$ ) oligomers is a main cause of synaptic dysfunction in AD (Walsh D.M. and Selkoe D.J., 2004). At the same time, deficits in synaptic plasticity and cognitive functions were detected in APP knockout or APP knockdown animal models (Seabrook G.R. et al., 1999; Senechal Y. et al., 2006). Moreover, independent evidences indicated that abnormal metabolism of APP (mutant APP or APP overexpression) might contribute to synaptic dysfunction independently from A $\beta$  (Stokin G.B. et al., 2008; Sarantseva et al., 2009).

In our study, transgenic *Drosophila melanogaster* was established as a model to analyze AD-like pathology caused by APP overexpression. This fly system has been characterized by the processing of APP by a- and g-secretase. However, *Drosophila* does not have activity of b-secretase (BACE) and flies do not generate A $\beta$ . Therefore, we expected that overexpression of human APP in neural tissues could induce specific effects independently from A $\beta$  generation. In contrary, effects of A $\beta$  we hope to observe in double transgenic flies expressing simultaneously human APP and BACE. We used elav-GAL4c155 driver, which is known to induce preferential expression in neural cells in *Drosophila*. Different transgenic lines containing UAS-APP695 expressing system including UAS-APP695-Swedish (familial AD mutation) were analyzed. Overexpression of APP resulted in loss of synaptic density detected by decreased accumulation of presynaptic protein synaptotagmin and synaptobrevin in mushroom bodies. We showed a significant reduction of level for synaptotagmin expression in brain of transgenic flies. We suggest that disruptions of the cellular functions of APP and formation of the neurotoxic forms of A $\beta$  could independently contribute to the neuropathology observed in AD.

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research № 09-04-00647.

**<sup>1,2</sup>Кисельов Д. О., <sup>2</sup>Українець С. В.**  
**МАРКУВАННЯ ГЕНА Vf СТІЙКОСТІ ДО ПАРШІ**

*<sup>1</sup>Інститут садівництва НААН України  
вул. Садова, 6, м. Київ, 03027, Україна*

*<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: ukraine.sergij@gmail.com*

Сьогодні у світі існує надзвичайна сортова різноманітність яблуні (налічується більше восьми тисяч). Таке різноманіття ускладнює процес диференціації сортів за фенотиповими ознаками, які залежно від клімато-географічних умов та технологічних особливостей утримання насаджень можуть широко варіювати в межах норми реакції. Тому помологічна оцінка сортів та типів підщеп навіть досвідченими спеціалістами не завжди може бути об'єктивною і має доповнюватися більш чутливими та достовірними методами.

В сучасному садівництві для ідентифікації сортів плодових культур дедалі більшого поширення набувають молекулярно-генетичні маркери, отримання яких базується на використанні полімеразної ланцюгової реакції (ПЛІР). Велика кількість модифікацій цього методу надає широкі можливості щодо діагностування генотипів в залежності від цілей дослідження. Важливою складовою селекційної роботи по паспортизації сортів плодових культур та виявлення філогенетичних взаємовідносин між ними є маркерні системи, які дають змогу отримувати полілокусні ампліфікаційні спектри анонімною геномною ДНК, фланкованої інвертованими повторюваними послідовностями. Для рослин вказані методи особливо перспективні з огляду на широку представленість в рослинних геномах повторюваних послідовностей різних класів.

Суть роботи полягає в оцінці вихідного та селекційного матеріалу яблуні молекулярно-генетичними методами, зокрема оцінка генетичного різноманіття, виявлення алельних варіантів гена стійкості проти парші Vf, паспортизація вітчизняних сортів, добір батьківських форм для схрещування.

Для прискорення селекційних процесів та цілеспрямованого добору батьківських форм необхідним є виявлення алельних варіантів господарсько-цінних ознак (QTL) з залученням в селекційні схеми з використанням маркерів (MAS). Створення імунних та високо стійких сортів яблуні до найбільш розповсюджених хвороб та шкідників займає провідне місце в селекційно-генетичній роботі, оскільки із введенням у виробництво таких сортів відкриває нові можливості з раціонального вирішення проблеми захисту рослин на безпестицидній основі, що в кінцевому результаті дасть змогу отримати екологічно чисту продукцію та знизити забруднення навколишнього середовища.

Результативність селекційно-генетичної роботи значною мірою визначається вихідним матеріалом та правильним добором батьківських пар. На сьогодні, генетичний контроль стійкості до парші встановлений для багатьох видів яблуні. Ідентифікований ряд неалельних генів стійкості: Vf – *Malus floribunda* 821, Vb – *Malus baccata* Dolgo, Vbj – *Malus baccata* jackii Dg R 27 T 1, Vm – *Malus micromalus* 245 – 38, Vr – Russian seeding R 12740 – 7A. Більшість ідентифікованих маркованих генів кодують моногенну форму резистентності (вертикальної стійкості) до основних фітопатогенів та шкідників.

**Вихрєва М., Чопей М., Зажицька М., Афанасьєва К.**  
**ОСОБЛИВОСТІ ВИХОДУ ДНК У НЕЙТРАЛЬНИХ І ДЕНАТУРУЮЧИХ УМОВАХ**  
**ПІД ЧАС КОМЕТНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: m\_vihreva@i.ua*

Наші експерименти були спрямовані на дослідження ефективності формування комет під час лужного та нейтрального варіантів електрофорезу ізольованих клітин. Під час електрофорезу в денатуруючих умовах ефективність виходу ДНК залежить від попередньої інкубації клітин в лужному буфері. Кінетика виходу ДНК як під час лужного, так і під час нейтрального електрофорезу, є подібною. На

відміну від класичної постановки лужного варіанту електрофорезу, у випадку, коли клітини обробляли лугом, а потім піддавали нейтральному електрофорезу, ми не спостерігали формування комет взагалі, незалежно від тривалості попередньої інкубації в лужному буфері. Після попередньої обробки клітин протеазою К спостерігалось утворення комет, так само, як і у випадку з необробленими в лузі клітинами у двох варіантах електрофорезу. Після опромінення клітин дозою 8 Гр спостерігалось ефективне формування комет під час нейтрального електрофорезу, крім того - утворення атипичних комет з відсутністю зв'язку між хвостом та головою комети. Такі комети формуються численними фрагментами ДНК невеликого розміру, які втратили зв'язок з білками матрикса і здатні вільно рухатися в електричному полі. Однак після попередньої обробки опромінених клітин лугом з подальшим нейтральним електрофорезом ми спостерігали низький рівень формування комет. Цей рівень був ідентичний відсотку атипичних комет, який спостерігали в нейтральних умовах.

Як було показано раніше у наших експериментах щодо виходу ДНК в нейтральних умовах, хвіст комети в інтактних клітинах формується за рахунок релаксованих петель, які кінцями закріплені на ядерному матриксі. Обробка клітин у лужному буфері приводить до денатурації спіралі ДНК, внаслідок чого порушується зв'язок ДНК з матриксом. Потім в результаті ренатурації в ході нейтрального електрофорезу структура спіралі відновлюється, однак петельні домени ДНК перестають існувати, і лізована клітина являє собою сплутаний клубок високомолекулярної ДНК, що і унеможливує її рух. Результати, отримані в ході експериментів з протеазою К, вказують на те, що фермент не розщеплює білки ядерного матриксу, і його зв'язок з ДНК зберігається. Після індукції пошкоджень ДНК високою дозою гамма-опромінення (8 Гр) під час нейтрального електрофорезу окрім класичних комет, спостерігали формування атипичних комет, що вказують на фрагментацію ДНК. Після витримки опромінених клітин в лужному буфері з подальшим нейтральним електрофорезом спостерігали формування комет, яке було співрозмірне кількості атипичних комет, тобто в ході електрофорезу мігрували лише лінійні фрагменти, які втратили зв'язок з ядерним матриксом. Отримані результати обговорюються.

**<sup>1,3</sup>Wyjtowicz E., <sup>1,3</sup>Kliza K., <sup>2</sup>Krygowska-Wajs A., <sup>1</sup>Jura J.**

**HETERODUPLEZ ANALYSIS IN PARK2 GENE IN PATIENTS WITH AUTOSOMAL RECESSIVE EARLY-ONSET PARKINSONISM**

*<sup>1</sup>Department of Cell Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland*

*<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Collegium Medicum Jagiellonian University, Krakow  
e-mail: finnika@gmail.com*

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease with complex clinical features and multifactorial etiology characterized by a loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra and the presence of Lewy bodies. One of the form of parkinsonism seen in individuals under the age of 40, is autosomal recessive early-onset parkinsonism (AREP).

In the past decade our knowledge regarding with the genetics of PD and parkinsonism has evolved dramatically with discovery of numerous mutations in 7 genes as well as some genetic variants that increase risk for PD. Mutations of three of them have been associated with AREP: Parkin, PINK1 and DJ-1. About 18-49% patients have mutations in PARK2 gene. This gene codes a Parkin protein with ubiquitin ligase activity. Mutations in PARK2 gene may lead to Parkin accumulation in the patient's brain and cause neurodegeneration. This gene consists of 12 exons harboring point mutations, insertions, frameshift mutations and deletions in patients suffering from early-onset parkinsonism. Community-based studies indicate that almost 50% of familial cases with early onset are due to homozygous or compound heterozygous mutations in PARK2. But there are also cases with only one mutation in Parkin and there is a supposition that the second mutation can occur in promoter or introns or even in another gene involved in the same pathway in the pathogenesis of PD (digenic inheritance).

The aim of our project was mutation analysis in PARK2 gene in three patients with AREP. We used polymerase chain reaction to amplify all 12 exons of PARK2 gene followed by heteroduplex analysis to select

potential exons with mutations. In the next step selected exons were sequenced and the results of sequencing were compared with the data from database NCBI (using EMBOSS Pairwise Alignment Algorithms).

Our study shows that three examined patients with AREP have no pathogenic mutations in PARK2 gene. All authors contributed equally to this work

### **Захандревич О., Король Ц., Жукова Я., Насирова Г.**

#### **ВПЛИВ РЕЖИМІВ ПАСТЕРИЗАЦІЇ НА ДИНАМІКУ АЗОТОВМІСНИХ СПОЛУК У М'ЯКИХ СИРАХ ІЗ БІЛОЮ ПЛІСЕННЮ**

*Технологічний інститут молока та м'яса НААНУ*

*вул. М. Раскової, 4а, м. Київ, 02660, Україна*

*e-mail: i-lab@timm.kiev.ua*

Останнім часом у світовому виробництві м'яких сичужних сирів дедалі більшої популярності набувають сири із білою плісінню, які завдяки своїм смако-ароматичним властивостям належать до елітних. Сполуки, що надають специфічної органолептики продуктові, утворюються в результаті ферментативних перетворень у сирній масі, зокрема, протеолітичного розщеплення білків та накопичення вільних амінокислот та аміаку. Важливість вимірювання вмісту аміаку і встановлення його оптимальної кількості пояснюється тим, що у разі надмірної кількості він може надавати сирам гіркуватого нашатирного аромату, а при його випаровуванні спостерігаються втрати загального азоту і висихання сиру.

Метою даної роботи було вивчення інтенсивності протеолітичних процесів та накопичення вмісту аміаку в сирах із білою плісінню залежно від температури пастеризації вихідної сировини – 67 °С, 10 хв (сир А) та 82 °С, 20 сек (сир Б). Сири було виготовлено за традиційною технологією. Вихідне молоко було нормалізовано до масової частки молочного жиру 3,2%, охолоджено до температури 32 °С та інокульовано рідкою бактеріальною закваскою для сирів з низькою температурою другого нагрівання “Lyofast ST 0,62” (виробник “SACCO”, Італія) у кількості 2,0%. Суспензію спор плісені *Penicillium caseicolum* (виробник “SACCO”, Італія) вносили безпосередньо у молоко перед застосуванням молокозсідального ферменту. Останній вносили з розрахунку зсідання молочної суміші упродовж 60 хв.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що температура пастеризації впливала на фізико-хімічні та біохімічні властивості сирів. Так, у сирі А після пресування активна кислотність дорівнювала 4,76 од. рН, а у сирі Б – 4,93 од. рН, однак ці відмінності не впливали на розвиток плісені і гідроліз білків сирної маси обох продуктів. Вміст сухих речовин у сирі А після пресування становив 51,8%, а в сирі Б – 45,75%. З 7-го дня визрівання значення рН почало поступово збільшуватись і на 25 день дорівнювало у сирі А - 6,05 од. рН і 6,77 од. рН у сирі Б, при цьому вміст сухих речовин становив 56,5% та 50,1%, відповідно.

Виявлено відмінності фракційного складу азотовмісних сполук в залежності від температур пастеризації вихідної сировини. Так, після пресування продукту масова частка загального азоту була більшою у сирі А майже на 7%, ніж у сирі Б. При цьому відмінності вмісту розчинного і небілкового азоту були аналогічними. Проте, на 25 добу визрівання ці показники відрізнялися суттєво. У перерахунку на сухі речовини розчинний азот у сирі А становив 25,9% від загального, а у сирах Б – 50,1%, розчинний небілковий азот - 17,2% та 32,4% від загального, відповідно. Наявність невеликих кількостей аміаку у сирах виявлено на 14 день визрівання сирів, що збігалось з початком активного розвитку культури *Penicillium caseicolum* на поверхні продукту. Було встановлено залежність накопичення аміаку від режиму пастеризації. У сирі А вміст цієї сполуки на 25 добу визрівання становив 7,53% від загального азоту, а у сирі Б – 17,47%. Органолептичний аналіз сирів показав, що сир А мав щільну консистенцію і приємний грибний присмак, у той час як сиру Б була притаманна мазуча консистенція і різкий аромат.

Таким чином, режим пастеризації, який є невід'ємною частиною гарантування мікробіологічної безпечності продукту, суттєво впливає на інтенсивність протеолітичних процесів у сирах з білою плісінню, а вміст аміаку може вважатись одним з органолептичних критеріїв якості, який слід враховувати при розробленні нових сирів цієї групи.

## ЕКОЛОГІЯ / ECOLOGY

**Рій О., Бойко І., Кобилицька М.**СТРЕСПРОТЕКТОРНА РОЛЬ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЗА УМОВ ДІЇ  
КАДМІЄВОГО СТРЕСУ НА РОСЛИНИ*Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна**e-mail: olenka.ua@bigmir.net*

Взаємозв'язок стресових навантажень і відповідної адаптивної реакції є однією з головних проблем фізіології, екології та популяційної генетики. Вважається, що стрес (або загальний адаптаційний синдром) – це неспецифічна реакція організму на будь-яку вимогу до нього (Сельє, 1997). Виділяють три стадії стресової реакції: тривоги, адаптації та виснаження. Однією з причин виникнення стресових ситуацій для організму рослини є вплив важких металів. У результаті виникнення стресу, ініційованого іонами важких металів (ІВМ), розвивається реакція, під час якої організм рослини намагається зберегти свою цілісність за умов впливу чужорідного середовища, при цьому можливі значні зміни внутрішнього середовища організму (Шевченко, 1992). При вивченні стресових ситуацій, викликаних впливом ІВМ, важливим елементом є встановлення взаємозв'язків між інтенсивністю, тривалістю, раптовістю дії стрес-фактора і адаптивною відповіддю рослинного організму (Жученко, 1988).

Важливим стрес-фактором для рослинного організму є іони важких металів. Вони в невеликих концентраціях потрібні всім живим організмам, оскільки входять до складу ферментів і беруть участь у багатьох фізіологічних реакціях і процесах, які в них проходять (Добролюбский, 1956). Під впливом ІВМ фізіологічні процеси залежно від їх концентрації або пригнічуються, якщо вона недостатня або надмірна, або відбуваються нормально, коли концентрація оптимальна. Токсичний вплив ІВМ відображається на морфометричних параметрах рослин, впливаючи на процеси росту і розвитку (Школьник, 1957). Підвищені концентрації важких металів у середовищі зростання рослин можуть призводити до загальних та специфічних фізіологічних і біохімічних змін. Деякі дослідники до загальних проявів стресу, зумовленого надлишком важких металів, відносять пошкодження мембран, зміни активності ферментів, інгібування росту коренів. Ці порушення ведуть до цілого ряду вторинних ефектів, таких як гормональний дисбаланс, дефіцит необхідних елементів, інгібування фотосинтезу, порушення руху фотоасимілятів, зміна водного режиму та ін., котрі, у свою чергу, посилюють гальмування росту рослини, а в кінцевому результаті призводять до її загибелі (Barcelo, 1990).

Не менш важливим аспектом є дослідження сполук, які володіють стрес-протекторними властивостями. Серед таких сполук активно вивчається саліцилова кислота (СК). Застосування СК показує підвищення рівня стійкості рослин до дії багатьох біотичних і абіотичних стресів (Raskin, 1995). Вона є ефективною у стимулюванні захисних механізмів рослин в умовах стресу, оскільки має регуляторний вплив на активізацію біохімічних шляхів, пов'язаних з її участю в сигнальних механізмах рослинного організму. СК може виступати в ролі стреспротектора завдяки здатності активувати захисні механізми проти стрес-агресорів. Вона може повністю усунути згубні наслідки абіотичних стресів (Klessig, 1998). Також відомо, що саліцилова кислота має позитивний вплив на фотосинтез рослин і стан продигової системи в умовах дії стресу на рослини (Barkosky, 1993).

Саліцилова кислота може впливати на такі фізіологічні функції, як: поглинання поживних речовин, функціонування мембран, регуляція продигового апарату рослин, механізм якого ще не до кінця з'ясований, та інші (Dickson, 1998). Таким чином, СК може бути використана для зменшення токсичних ефектів, зумовлених токсичним впливом іонів важких металів (Davis, 1999).

Завданням нашого дослідження є вивчення ростових, фізіологічних і біохімічних параметрів рослин за дії стрес-фактора – іонів кадмію та стрес-протектора – саліцилової кислоти.



**Бабушок О., Баланда О.**

**СУЧАСНІ АЛЬТЕРНАТИВНІ ДЖЕРЕЛА ЕНЕРГЕТИКИ В УКРАЇНІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: anatolij@svitonline.com*

Екологічна криза на планеті, що проявляється через руйнацію ландшафтів, ерозію ґрунтів, забруднення Світового океану, збіднення озонового шару, потребує створення нових технологій використання альтернативних джерел енергетики (вітру, сонячної енергії, біологічного палива). У багатьох країнах протягом останніх десятиріч активно розробляються і використовуються вище-наведені технології. Однак в Україні впровадження альтернативних джерел енергетики проводиться надзвичайно повільно, тут переважає використання класичних джерел енергетики (вугілля, нафта, газ). Щорічно в Україні споживається близько 200 мільйонів тонн умовного палива, при цьому видобуток із природних джерел країни становить лише 80 млн. т. Значним потенційним ресурсом при такому балансі власної та імпортованої енергетичної сировини може стати біопаливо. У науковій літературі останнім часом дедалі більше з'являється інформації про розробку технологій виробництва біопалива, джерелом якого є різні види водоростей.

Об'єктом наших досліджень були альгологічно чисті культури синьо-зелених водоростей (Cyanophyta): *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Breb. HPDP-26, *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. HPDP-6, *Oscillatoria limosa* (Ag.) HPDP-12. Встановлено, що за умов лабораторного культивування ціанобактерій на середовищі Фітцджеральда у модифікації А.Цендера і П.Горема №11 (Сіренко, Сакевич, Осіпов, 1975), найбільшу відносну швидкість росту мала *Anabaena flos-aquae* – 0,15, а в інших культур, що досліджувались (*Microcystis aeruginosa* і *Oscillatoria limosa*), цей показник відповідно становив 0,08 і 0,06 мг/дм<sup>3</sup> за добу. Таким чином, для масового культивування у лабораторних умовах як ресурсний об'єкт накопичення біомаси є достатньо перспективним вид *Anabaena flos-aquae*.

В евтрофованих водоймах синьо-зелені водорості (ціанобактерії) стали одним із найбільш масових забруднювачів води (Щербак, Майстрова, 2001). Достатньо відзначити, що, за даними цих дослідників, за сезон “цвітіння” тільки у водосховищах Дніпра розвивається до 400 тис. т біомаси водоростей (у сухій вазі), що спричиняє помітний негативний вплив на екосистеми водойм. Використання ціанобактерій, зібраних під час «цвітіння» з акваторій відкритих водойм і водосховищ для отримання біопалива, є одним із ефективних способів поліпшення їхнього екологічного стану та прилеглих до них територій, а також зменшення витрат на очищення води, збільшення продуктивності риби. Крім того, клітини синьо-зелених водоростей синтезують значну кількість природних жирів, або ліпідів, які можуть бути використані для переробки на біодизель, тобто пальне, що виготовлене з біологічної сировини, — замітник звичайного дизельного пального з нафти. Дослідниками з Національної лабораторії відновлюваної енергії США (Керц, Сіберт, 2007) встановлено, що на одному акрі ґрунту можна виростити кукурудзу, якої вистачить для виробництва приблизно 18 галонів палива на рік, акр пальмової плантації дає пальмової олії для виробництва 700-800 галонів біопалива на рік, а ферма на основі біореакторів з водоростей може за рік виробити ліпідної сировини для виготовлення до 20 тис. галонів палива. Більш того, залежно від виду палива, яке планується виготовити, можна змінювати склад синтезованих культурою жирів завдяки модифікаціям у складі середовища вирощування.

Постійне підвищення цін на енергоресурси та погіршення стану навколишнього середовища внаслідок нераціонального використання викопного палива з кожним роком дедалі більше турбують суспільство і потребує більш інтенсивного впровадження сучасних альтернативних джерел енергії. В Україні вже розпочате створення власної біодизельної галузі промисловості, тому подальший прогрес і розвиток суспільства безумовно залежить від інтенсивного розвитку цього напрямку досліджень.

**Bak A., Rekowski E.**

## POTAMOGETON ALPINUS BALBIS RAISING EXPERIMENT – PRELIMINARY STUDIES

*University of Gdansk, al. Legionow 9, 80-441, Gdansk, Poland**e-mail: a.bak@ug.edu.pl*

Potamogeton alpinus Balbis (reddish pondweed) is an aquatic perennial herb attached to the substratum by roots and rhizomes. It is a circumboreal species of slowly running waters, although it may inhabit a wider range of freshwater habitats less than 1.5 m deep (Wiegleb and Todeskino 1983). As many of the submerged species, it rarely produces fruits and relies instead on turions, winter buds and other vegetative structures for propagation and maintenance of populations (Sculthrope 1967). The life cycle of *P. alpinus* starts in spring from turions, and also new stands usually arise from turions and not from seeds (Brux et al. 1987). A clonal plant, such as *P. alpinus*, is a complex network of ramets (= potentially independent units with leafy shoot and roots) interconnected by rhizomes (Wolfer et al. 2006), and the architectural growth follows species-specific clonal rules (Callaghan et al. 1990, Evans and Cain 1995).

The aim of the present study was to fill the gap in the knowledge of the biology of *P. alpinus* by describing the life cycle of this species. Reproductive organs were collected from a stream in late autumn and stored in the dark at 4°C until the experiment started. Fifteen turions were planted in an aquarium filled with natural substrate and tap water at an optimal temperature (approximately 19°C). The following features were measured twice a week for four months: number and length of ramets, rhizome branching, length of rhizome spacers (= rhizome connection between two neighbouring shoots), and number and length of peduncles and flower clusters.

All the planted turions were viable and began growing immediately. The average turion height at the beginning of the experiment was  $2.7 \pm 1.3$  cm (mean  $\pm$  S.D.), range 1.0 – 5.2 cm. Elongation growth was visible from the first measurement (average elongation growth  $2.3 \pm 0.5$  cm/week in the first week of research). Elongation growth remained uninterrupted to the 13<sup>th</sup> week of the trial, with the maximum average elongation growth  $6.0 \pm 1.4$  cm/week in the second week and the maximum average ramet height  $23.0 \pm 27.6$  cm (range 0.2 – 91.0 cm) in the 13<sup>th</sup> week of the trial. From the 14<sup>th</sup> week the average elongation growth had a negative value ( $-0.1 \pm 2.1$  cm) and decreased to  $-2.14 \pm 10.7$  cm at the last measurement. This means that the plants were senescent and decomposing.

After two weeks from the start of the experiment rhizome branches and new ramets emerged. The total amount of ramets increased to 175 after fifteen weeks of the trial (conforming average 12 ramets per clone; range 7 – 32).

Flower clusters emerged after six weeks of research. The largest amount of spikes peaked in the 15<sup>th</sup> week (in total 93 flower clusters, conforming average 6.2 spikes per clone). Fruits set after twelve weeks of the experiment with the maximum number of fruit clusters at the end of the experiment (in total 80 fruit clusters, conforming average 5.3 clusters per clone).

**Бальвас К., Маєвська А., Баланда О., Марченко О.**

## ВУГЛЕВОДНІ ВОДОРОСТЕЙ – СУЧАСНЕ АЛЬТЕРНАТИВНЕ ДЖЕРЕЛО ЕНЕРГІЇ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України**вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна**e-mail: anatolij@svitonline.com*

Водорості як фотосинтезуючі організми відіграють важливу роль у загальному кругообігу речовин у природі. Відомо, що їхня продуктивність у морях і океанах в 6–9 разів перевищує продуктивність вищих рослин на суші. За рік морські водорості створюють до *j* всіх органічних речовин на планеті. Водорості та їх метаболіти використовують у багатьох галузях промисловості, у тому числі як джерела технічної сировини, БАР, фармпрепаратів, продуктів харчування, парфумерно-косметичних засобів, нових об'єктів біотехнології тощо.

Водорості, подібно до вищих водяних рослин і бактерій, здатні синтезувати речовини вуглеводневої природи. Вуглеводні водоростей – головна альтернативна сировина для виробництва етанолу, оскільки вони не конкурують із поживним крохмалем або цукрами на продовольчому ринку. Одним із перспективних продуцентів поновлюваного джерела енергії (рідких вуглеводнів) вважається зелена водорість *Botryococcus braunii*, вивченню якої протягом останніх десятиріч учені приділяють велику увагу. Цей вид поширений у прісних і солонуватих водах помірних і тропічних зон, містить близько 75% вуглеводнів від маси сухої речовини, залежно від умов росту і різновидів водорості (Золотарьова О.К., Шнюкова Є.І., 2010). Загалом 95% вуглеводнів містяться на поверхні клітинної оболонки клітин водорості. Водорості з великим вмістом цих речовин здатні утримуватися на поверхні водойм. З біомаси водоростей вуглеводні легко виділяються різними методами екстракції, зокрема будь-яким органічним розчинником. Таким чином, можна отримати речовину, що близька за своїм складом до дизельного палива і гасу.

Кількісні та якісні показники вмісту вуглеводнів значно вирізняються у водоростей, що належать до різних систематичних груп. Найбільше їх міститься в ліпідному комплексі зелених водоростей, а найменше – в біомасі планктонних синьо-зелених водоростей, дещо більше – у перифітонних водоростей. Так, у ліпідному комплексі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* парафіни становлять 8,56%, розгалужені вуглеводні – 6,46% і ароматичні – 15,30%. У зеленої водорості *Desmodesmus armatus* звичайні вуглеводні становлять 41,84%, розгалужені – 22,64 і ароматичні – 10,76%. Об'єктом наших досліджень була альгологічно чиста культура зеленої водорості *Chlorella vulgaris* Beijer. ССАР-211/11b (IBASU-A197), що належить до найпоширеніших культур, які використовуються для біотехнологічних досліджень у світі. Біомаси *Chlorella* досить успішно застосовуються за кордоном у сільськогосподарському виробництві (при розведенні худоби, свинарстві, птахівництві, бджільництві тощо) як харчові домішки до раціону різних тварин, а також для підвищення родючості ґрунтів, схожості насіння тощо. За допомогою варіювання умов культивування в даній біомасі водоростей дуже легко отримувати необхідні співвідношення білків, вуглеводів, ліпідів, вітамінів та інших сполук. Так, при вирощуванні на звичайних мінеральних середовищах у сухій біомасі хлорели міститься 40-55% білка, 35% вуглеводів, 5-10% ліпідів та до 10% мінеральних речовин. Хлорела, що культивується на середовищі, збагаченому азотом, накопичує переважно білки, а при дефіциті азоту вона починає синтезувати, головним чином, ліпіди і вуглеводи. Нами встановлено, що у ліпідному складі альгологічно чистої культури *Chlorella vulgaris*, вирощеної на середовищі Фітцджеральда у модифікації А.Цендера і П.Горема №11 (Сіренко Л.А., Сакевич О.Й., Осіпов Л.Ф., 1975) переважали розгалужені вуглеводні та жирні кислоти.

Оскільки сучасний світ прагне до глобалізації та урбанізації, то зелені водорості – це нова перспективна галузь біотехнології, яка потребує широкого вивчення і поширення.

**Бєлоцька А., Лапоша О., Цвіліховський В.**  
**ОХРАТОКСИН А ЯК НЕБЕЗПЕЧНИЙ КОНТАМІНАНТ КОРМІВ**  
**ТА КОРМОВОЇ ПРОДУКЦІЇ В УКРАЇНІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*  
*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*  
*e-mail: ann-belockaya@ukr.net*

Охратоксин А (ОТА) є токсичним вторинним метаболітом мікроскопічних грибів родів *Aspergillus* і *Penicillium*. Гриби даних родів є широко розповсюдженими у природі і часто виявляються контамінантами різної сільськогосподарської продукції, особливо зернових. ОТА є дуже небезпечним токсином, що набув значного географічного поширення у різних країнах, зокрема в Україні. Він має виражену нефротоксичну, імуносупресивну, канцерогенну та тератогенну дію. Основним фактором утворення мікотоксинів та контамінації ними кормів є стан сировини, завезеної з поля на зберігання та

власне умови зберігання. Некондиційне зерно утримує більше вологи, ніж здорове, й оскільки розподіл вологи у насипі зерна є нерівномірним, то у місцях із підвищеним її вмістом активно розвивається пліснява, продукуючи продукти своєї життєдіяльності – мікотоксини.

Вважається, що гриби родів *Aspergillus* і *Penicillium* є саме «комірними» грибами, тобто утворюються при зберіганні продукції, отже, ймовірніше за все, ОТА продукується безпосередньо у зерносховищах.

Протягом 2009-2010 років на базі Української лабораторії якості й безпеки продукції АПК на вміст ОТА було проаналізовано 53 зразки різної сільськогосподарської продукції, такої як зерно кукурудзи, пшениці, ячменю, вівса, а також силос, солома, сіно, макуха, комбікорм і зразки ґрунту. Були досліджені зразки урожаю 2008-2009 років, ті, які вже довгий час зберігалися на складах, і урожаю 2009-2010 року – ті, які були щойно завезені з поля для зберігання. В експерименті були задіяні господарства Київської, Чернігівської та Кіровоградської областей.

Для визначення вмісту ОТА у продукції був застосований метод високоефективної рідинної хроматографії з флуоресцентним детектуванням. Нижня межа детектування ОТА становила 1,5 мкг/кг.

У результаті дослідження ОТА був виявлений у 60% зразків, а саме: кукурудза – 5%, пшениця – 12%, комбікорм та дерть – 17%, овес – 2%, ячмінь – 7%, сіно, солома та макуха – 3%. Загальний відсоток зразків, уражених польовими мікотоксинами становив 31%, тоді, як комірними – 69%. Незважаючи на те, що ОТА є дуже небезпечним і має значний ареал розповсюдження, він все ж не нормується Українським нормативним законодавством. Беручи до уваги норми законодавства ЄС 10 % проб, що містили ОТА, мали потенційну небезпеку для здоров'я тварин. Хоча кількість цих зразків не надто велика, не варто недооцінювати вплив мікотоксинів на живий організм, адже вони мають здатність до накопичення.

Підсумовуючи вищезазначене, можна сказати, що загострення уваги на даній проблемі та винайдення дієвих шляхів боротьби з пліснявою і продуктами її життєдіяльності є пріоритетним та актуальним питанням, що потребує додаткового вивчення для забезпечення екологічної безпеки та здоров'я нації.

### **Білім Ю., Самаруха І.**

#### **ВПЛИВ СКЛАДУ СУБСТРАТУ НА ЕЛЕКТРОГЕНЕЗ У МІКРОБНОМУ ПАЛИВНОМУ ЕЛЕМЕНТІ**

*Національний технічний університет України «КПІ»*

*пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: julia706@mail.ru*

Розробка наукового підґрунтя функціонування мікробних паливних елементів (МПЕ) є одним із ключових напрямів сучасних досліджень у сфері екологічної біотехнології, адже мікробне виробництво електричної енергії може стати напрямом біоенергетики, що знайде широке застосування у майбутньому, тому що МПЕ дає можливість вилучити енергію з надзвичайно широкого спектра розчинних складних органічних відходів і відновлюваної біомаси та перетворити в електроенергію з високою ефективністю й без утворення небезпечних відходів.

У мікробному паливному елементі субстрат є одним із найбільш важливих технологічних чинників, який впливає на продукування електроенергії, оскільки речовини, що містяться у ньому, слугують джерелом електронів і є визначальним фактором росту та розвитку мікроорганізмів. Наразі доведено, що широке розмаїття субстратів може бути використане в МПЕ для виробництва електроенергії - від істинних однокомпонентних розчинів до складних сумішей органічних речовин, як це притаманно складу стічних вод.

Метою дослідження є аналіз науково-технічної літератури з питань використання різноманітних субстратів у МПЕ та їх результуючого впливу на продуктивність МПЕ за отриманою електричною енергією.

У дослідженнях МПЕ на предмет ефективності вироблення електричної енергії найчастіше використовують натрієву та калієву сіль ацетату, який є простим субстратом і активно використовується для стимуляції росту асоціації (а іноді й чистої культури) електроактивних мікроорганізмів. Крім того, перевагою використання солей оцтової кислоти є їхня інертність до участі в альтернативних шляхах анаеробної мікробної конверсії (бродиння та метаногенез) за кімнатної температури. Також ацетат є кінцевим продуктом ряду метаболічних шляхів перетворення високомолекулярних вуглецевісних сполук, включаючи дисиміляцію глюкози – метаболічний шлях Ентнера-Дудерова. При використанні ацетату в МПЕ ККД перетворення хімічної енергії в електричну сягнув найвищого значення у 73%, тоді як за використання бутирату ККД становить 43%, пропіонату – 36%, а для глюкози ККД налічує лише 15% (Pant, 2009). Порівняно з протеїновісними субстратами ККД при використанні ацетату було вдвічі вищим (Liu, 2009). У ранніх дослідженнях МПЕ використовували глюкозу (Kim, 2000; Rabaey, 2003). Вивчення процесів у МПЕ з культурою *Proteus vulgaris* показало цікавий факт, що додавання глюкози у середовище сприяє прискореній адаптації культури безмедіаторного екзоелектрогенезу порівняно з галактозою (густина струму 216 Вт/м<sup>3</sup>, фериціанідний катод). Однак при використанні глюкози спостерігаються значні втрати, оскільки глюкоза як субстрат може використовуватися й іншими групами анаеробних мікроорганізмів, окрім екзоелектрогенів (метаногенез, різні типи бродиння). Використання лігноцелюлозовмісної біомаси є багатообіцяючим субстратом для дешевого продукування електричної енергії, однак вона не може бути безпосередньо використана в МПЕ, оскільки потребує стадії розкладу до моносахаридів або інших низькомолекулярних сполук (Ren, 2007).

Розуміння біотехнологічних і електрохімічних процесів у МПЕ на прикладі простих субстратів є важливим етапом в дослідженнях, адже вони дають змогу передбачити можливі складнощі у використанні в МПЕ стічних вод харчової промисловості, що є найпривабливішим напрямом для впровадження МПЕ в Україні. Крім того, в нашому випадку, вихідний субстрат є визначальним параметром для селекції асоціації мікроорганізмів, які слугують основною ланкою в даній системі перетворення енергії, адже використання чистої культури для багатокомпонентного субстрату змінного складу є неможливим.

### **Bogdziewicz M., Rychlik L., Zwolak R.**

#### **SMALL MAMMAL DYNAMICS IN MANAGED BEECH STANDS OF WESTERN POLAND: PRELIMINARY RESULTS**

*Adam Mickiewicz University*

*ul. Umultowska, 89, 61-614, Poznan, Poland*

*e-mail: michalbogdziewicz@gmail.com*

We evaluated the effects of habitat structure (shaped by different types of forest management) and masting on small mammal populations in beech stands of western Poland. Animals were live-trapped during summer of 2009 (pilot study: six trapping grids, 1 470 trapnights) and 2010 (eight trapping grids, 10 240 trapnights). In 2009, four grids were located in undisturbed forest and two in partially logged (shelterwood) stands. In 2010, we added two more grids, both in shelterwood stands that were scarified to improve beech regeneration.

The yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis* and the bank vole *Myodes glareolus* represented the majority of individuals captured (69% and 23%, respectively). In 2009, the overall rodent abundance was very low and almost all (26 out of 28) rodents were found at only two grids (one undisturbed and one partially logged). In 2010, rodent abundance was high due to large crop of beech seeds. In June, average abundances of *A. flavicollis* differed significantly among management types, with 9,5 individuals captured per grid in scarified shelterwood, 18,5 in undisturbed stands, and 53,5 individuals in shelterwood stands. Later in the season, the abundances evened out. There were no significant differences in *M. glareolus* abundances

among management types, although one of the shelterwood grids was characterized by consistently elevated *M. glareolus* abundances (probably due to very high vegetation cover at that site). Patterns of sex ratio and reproductive activity were similar among sites.

In conclusion, we found few differences in rodent populations among forest management types. However, during year 2010 the patterns of habitat selection could have been suppressed by high rodent abundances associated with masting. When population dynamics is controlled by rare food pulses such as masting, it might take data from multiple years to evaluate responses to habitat alterations. Therefore, the study is ongoing and more data will be collected.

### **Бондар О., Юрченко Д., Приходько С.**

#### **ПЕСТИЦИДИ ЯК ФАКТОР БІОКОРОЗІЇ СТАЛІ У ҐРУНТІ**

*Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка*

*вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013, Україна*

*e-mail: kurmakova@mail.ru*

Діяльність людини у сфері сільськогосподарського виробництва призводить до постійного надходження у природне середовище токсикантів штучного походження, зокрема пестицидів. Їх діючі речовини, як біологічно активні, впливають на кількісний і якісний склад мікробних угруповань ґрунту. За дії полютантів відбувається зміна домінуючих груп бактерій в тому числі й у корозійному мікробному угрупованні, наслідком чого може бути прискорення корозійних процесів. Вплив пестицидів на корозійно небезпечні бактерії ґрунту і процес біокорозії металевих споруд є важливою складовою питання екологічної безпеки, але він практично не вивчений.

Мета роботи – оцінити вплив пестицидів Зенкор і Раундап на розвиток корозійно небезпечних мікроорганізмів ґрунту та швидкість біокорозії маловуглецевої сталі.

Дослідження проводили гравіметричним і мікробіологічним методами. Для гравіметричного корозійного дослідження використовували зразки сталі Ст3пс (площа поверхні пластин 24 см<sup>2</sup>). Корозійні середовища - ґрунт (дерново-підзолистий, рН=6,47, вологість – 100%) та поживне середовище Постгейта «В», що є оптимальним для розвитку сульфатвідновлювальних бактерій та не обмежує ріст їх супутників. Середовища інокулювали суспензією корозійного мікробного угруповання, до складу якого входили: сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні, денітрифікувальні й амоніфікувальні бактерії у кількості 10<sup>8</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>8</sup> та 10<sup>7</sup> кл/мл відповідно. Час експерименту: у ґрунті - 1 місяць (концентрація пестициду 0,02 г/100 г ґрунту); в поживному середовищі «Постгейта В» - 10 діб (концентрація пестициду 1 г/л). Чисельність бактерій у феросфері визначали методом граничних десятикратних розведень і перераховували на 1 г абсолютно сухого ґрунту. Для виділення сульфатвідновлювальних бактерій використовували середовище Постгейта «В», залізовідновлювальних – Каліненка, денітрифікувальних – Гільтая, амоніфікувальних - м'ясо-пептонний бульйон. Культивування проводили при температурі 28±2°C. За результатами експерименту розраховували: швидкість корозії -  $K_m$  (г/м<sup>2</sup>·год); коефіцієнт гальмування -  $g_m$ ; захисний ефект –  $Z$  (%). Повторність дослідів трикратна. Після статистичної обробки відносна похибка наведених результатів не перевищує 5%.

Встановлено, що пестициди впливають на розвиток корозійного мікробного угруповання та швидкість корозії сталі у ґрунті. Чисельність залізовідновлювальних бактерій за присутності як Раундапу, так і Зенкору зростає порівняно з контролем на порядок до 2,5·10<sup>4</sup> кл/г, ріст денітрифікувальних бактерій пригнічується і становить 6,0·10<sup>4</sup> кл/г (у контролі 6,0·10<sup>6</sup> кл/г). Присутність пестицидів практично не впливає на розвиток у феросфері сульфатвідновлювальних бактерій. У досліді, як і в контролі їх чисельність становить 1,3·10<sup>5</sup> кл/г. Чисельність амоніфікувальних бактерій також залишається на рівні контролю – 2,5·10<sup>4</sup> кл/г. Розрахунок швидкості корозії сталі у ґрунті показав, що за присутності Раундапу вона зростає у 2,9 разу, за присутності Зенкору - у 2,3 разу. В той же час встановлено, що у

рідкому середовищі Постгейта «В» пестициди гальмують корозію сталі, зокрема Раундап виявляє зачисний ефект 80,2%, а Зенкор – 78,0%. Одержані результати можна пояснити неоднозначним впливом на біокорозію сталі продуктів природної деградації пестицидів у ґрунті.

Отже, пестициди Зенкор і Раундап впливають на корозійно активні бактерії та швидкість біокорозії сталі, що необхідно враховувати при моніторингу ґрунтів для гарантування екологічної безпеки. Потребує подальшого дослідження вплив продуктів природної деградації пестицидів на ріст мікроорганізмів ґрунту і швидкість біокорозії сталі у довготривалому експерименті.

### **Мицик Л., Голубєва М., Губська М.**

#### **ВПЛИВ ЛІСОСМУГИ НА ТРАВСТІЙ СТЕПОВОЇ ЦІЛИНИ**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна*

Про лісосмуги наявна значна фахова література. Детально описано їхнє значення для ґрунтів сільськогосподарських угідь, для урожайності рослин на сусідніх полях і т. ін. Автори не обминули увагою травостій лісосмуг, але у відомих нам джерелах дані про вплив цих насаджень на степову цілину рослинність або відсутні, або є лише побіжні зауваження. У зв'язку з цим ми поставили на меті з'ясувати, як саме змінюється структура степового угруповання під впливом лісосмуг.

Як об'єкт дослідження обрана рослинність корінної цілини, розташованої в околицях біосферного (біогеоценологічного) стаціонару Дніпропетровського національного університету (с. Андріївка Новомосковського району Дніпропетровської області) та безпосередньо прилеглої до неї зі сходу лісосмуги, витягнутої з півдня на північ. Це насадження – з домінуванням *Robinia pseudoacacia* L. та з чагарниковим підліском і з *Swida sanguinea* (L.) Oriz, зосередженим досить нерівномірно. Для вивчення просторових змін травостою закладали “ланцюжки” пробних площ, розмірами 1x1 м (у кожному з них по 15 таких прямокутників), уздовж лісосмуги на відстані від неї 2,5 м, 10 м, 40 м і 75 м. Три таких ряди “метрівок” розташували в лісосмузі. Один – всередині, уздовж насадження, два інші – на узліссях, безпосередньо біля крайніх стовбурів деревних рослин зі східної та західної сторін, але в межах деревного насадження. Ще один ряд таких площ заклали, для порівняння, для відстані 2,5 м від цього насадження зі східної сторони, за 4–5 метрів від поля соняшників однорічних (*Helianthus annuus* L.). На кожній площі (1 м<sup>2</sup>) взяли до уваги всі види вищих рослин та їхнє проективне покриття.

Про вплив лісосмуги на степову рослинність свідчило, поряд з іншими показниками, видове багатство обстежених ділянок (загальна кількість видів рослин у межах 15 «метрівок»). Виявилось, що з наближенням до лісосмуги цей показник послідовно зменшувався – відповідно 44, 43, 40 і 35 видів. У насадженні ця величина ще менша – з боку цілини – 14, всередині – 13, від поля соняшнику – 20. Видова насиченість у перших трьох варіантах, закладених на цілині (10, 40 і 75 м від лісосмуги), майже не змінювалась (відповідно 10,8; 11,5; 10,8 видів/м<sup>2</sup>), але була меншою зі статистично вірогідною різницею ( $P \geq 0,05$ ) на площах, що на відстані 2,5 м від деревного насадження – 8,1 вида/м<sup>2</sup>. У лісосмузі цей показник ще менший – у середньому 3,2; 4,3; 4,2 види/м<sup>2</sup>.

За твердженням корифея степового лісознавства Г. М. Висоцького «головним ворогом» лісу в степу є злаковий дерен. У зв'язку з цим ми, крім іншого, визначали фітоценотичну активність дерноутворюючих видів (*Festuca valesiaca* Gaud., *Poa angustifolia* L., *Stipa capillata* L. та ін.) у всіх зазначених вище варіантах. Цей критерій знаходили, перемножуючи величини середнього проективного покриття виду та його трапляння і знаходячи квадратний корінь з отриманого добутку. Виявилось, що чим ближче до лісосмуги, тим менший цей показник – у середньому відповідно 10,0; 9,0; 8,1; 6,0; в лісосмузі скраю від цілини – 1,7, всередині – 0,7, від поля – 2,2.

Отже, трав'яна рослинність індукує підвищення зволоження ґрунту степової цілини та зниження його задернованості з наближенням до лісосмуги. Під впливом останньої корінна рослинність змі-

нююється із зональної, типової для конкретного плакорного місцезростання, на угруповання, характерні для північніших варіантів степу.

**Гурч О., Винарчик В., Стецик Р.**  
**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СКЛАДУ ТРАВ'ЯНИСТИХ РОСЛИН**  
**ПРИРОДНИХ І АНТРОПОГЕННИХ ФІТОЦЕНОЗІВ ОКОЛИЦЬ М. ТРУСКАВЦЯ**

*Дрогобицький державний педагогічний університет ім. І. Франка*  
*вул. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна*  
*e-mail: n-koval@inbox.ru*

Рослини – найцінніший витвір природи, їх слід використовувати розумно, ставитися до них дбайливо. Сьогодні, як ніколи раніше, культура ставлення людини до природи вступає у гостру суперечність з дедалі зростаючою роллю техно- й антропогенних чинників у навколишньому середовищі.

Метою нашого дослідження було порівняти видовий склад трав'янистих рослин на антропогенних відвалах і природних фітоценозах околиць м. Трускавця.

Дослідження проводили на діаметрально протилежних територіях: ділянках, які не зазнали значних антропогенних змін, і ділянках, де є відвали будівельних матеріалів і побутового сміття (висота відвалів не більша 2м). Для визначення рясності, за якою можна визначити ступінь участі особин виду в ценозі, ми застосовували окомірний метод прямого обліку. Такий облік проводили за шкалою чисельності виду у фітоценозі, зокрема, за шкалою, запропонованою О.Друде (1913).

Територія м. Трускавця є складовою частиною Передкарпаття, тому для неї характерне таке ж флоронаселення. На підставі зібраного матеріалу і літературних джерел ми встановили, що на ділянках природних фітоценозів росте понад 30 видів рослин, а на антропогенних їх кількість значно менша. На природних ділянках переважають рослини, які зникаються надземними частинами. Це подорожник ланцетолистий (*Plantago lanceolata*), пирій повзучий (*Eletriga repens*), конюшина повзуча (*Trifolium repens*), кропива дводомна (*Urtica dioica*), кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale* Wigg). На цій ділянці трапляються також рідкісні та зникаючі види рослин: медуника темна (*Pulmonaria obscura*), жовтець повзучий (*Ranunculus repens*), первоцвіт лікарський (*Primula officinalis*), молочай сонячний (*Euphorbia helioscopia*), живокість лікарський (*Symphytum officinale*), пшінка весняна (*Ficaria verna*), калюжниця болотна (*Caliha palustris*), анемона лісова (*Anemone sylvestris*) (потребує охорони), м'ята польова (*Mentha arvensis*), пижмо звичайне (*Tanacetum vulgare*), підсніжник білосніжний (*Galanthus nivalis*) (потребує особливої охорони). Низьку чисельність у флорі становлять фіалка запашна (*Viola odorata*) і деревій звичайний (*Achillea millefolium*).

Умовно відвали на антропогенній ділянці за висотою ми поділили на три частини: верхня (2 км), середня (1 км), нижня. На середній частині ростуть рослини, які належать до різних груп градації. Хвощ польовий (*Equisetum arvense*), мати-й-мачуха (*Tussilago Farfara*), полин гіркий (*Artemisia absinthium*) – рослини, які трапляються рідко. До групи рослини поодинокі належать: конюшина повзуча (*Trifolium repens*), полин звичайний (чорнобиль) (*Artemisia vulgaris*), кропива дводомна (*Urtica dioica*), гірчак перцевий (*Polygonum hydropiper*).

Ми визначили, що у нижній частині трапляються такі види рослин, які за шкалою оцінки рясності виду можна погрупувати так: конюшина повзуча (*Trifolium repens*), кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale* Webb), гірчак перцевий (*Polygonum hydropiper*), належать до рослин досить рясних; рослини рідкі – лобода біла (*Chenopodium album*), кропива жалка (*Urtica urens*). За системою оцінки рясності такі рослини, як латух дикий (*Lactuca serriola*), щавель кінський (*Ramex confertus* Willd), морква дика (*Daucus carota*), очеретянка звичайна (*Phalaroides arundinacea*), належать до поодиноких рослин.

Таким чином встановлено, що на антропогенній ділянці рослинний покрив є розірваний, а місцями поодинокий, тобто заростання нерівномірне, порівняно з природним фітоценозом, де рослинність є щільною. Спостерігаємо, що на верхній частині рослинний покрив відсутній.



**Hadwiczak M., Wojczulanis-Jakubas K., Jakubas D.**

**GLAUCOUS GULL (LARUS HYPERBOREUS) PREDATION  
ON THE LITTLE AUK (ALLE ALLE) IN MAGADALENEFJORDEN, NW SPITSBERGEN**

*University of Gdansk, al. Legionow, 9, 80-441, Gdansk, Poland*

*e-mail: magda.hadwiczak@gmail.com*

How predators affect the size of prey populations still remains an open question of classical ecology (Creswell 2010). Here, we investigated the Glaucous Gull (*Larus hyperboreus*) predation pressure on the Little Auk (*Alle alle*) population in Magdalenefjorden (NW Spitsbergen). The Glaucous Gull is main predator of the Little Auk during the breeding season on Spitsbergen. It hunts on adults, nestlings and fledglings, with the latter being the most vulnerable kind of prey. However, it is commonly assumed that Glaucous Gull affect the little auk's population only at little extent, mostly due to high breeding synchronization of the Little Auk. Indeed, impact of Glaucous Gull predation in Hornsund (SW Spitsbergen) has been shown to be relatively low (7,6% chicks of little auk killed by Glaucous Gull; Stempniewicz 1995, Wojczulanis et al. 2005). High synchronization of Little Auk breeding in Hornsund (hatching period lasts a week; Wojczulanis-Jakubas 2007) seems to minimize the predatory pressure of Glaucous Gull. The aim of the present study is evaluation of Glaucous Gull impact on the Little Auk in the condition of low synchronization of Little Auk breeding. Such conditions were found in Little Auk colony in Magdalenefjorden. This is one of the most important breeding site of Little Auk on Spitsbergen, where hatching period lasts ca. one month.

The study was conducted during the nesting and fledgling period of Little Auk (13 July – 14 August) in 2010. One-hour watches (N = 105) were performed during the whole nesting period. Number of gulls and attacks were recorded. During the fledgling period (first five days), the watches (15 min) were carried out in the time of the highest rate of Little Auk colony departure (22:00 - 06:00). Number of fledglings departing the colony, number of gulls and their attacks were recorded

We found that the predation changed during the season, with the tendency to the highest impact in the second half of the chick rearing (Kruskal-Wallis test,  $H_{2,161} = 6,26$ ,  $P = 0,04$ ). High Glaucous Gull activity in that period is presumably associated with higher Little Auks chicks activity in the colony surface in that time wing exercising in the entrance of the nest chamber. Glaucous Gull were present in Little Auk colony for considerable amount of time (43,9%). There were no differences in the Glaucous Gull presence (t-test,  $t_{103} = 0,41$ ,  $P = 0,68$ ) and hunting activity (Mann-Whitney U test,  $Z_{103} = -1,56$ ,  $P = 0,12$ ) between “day” and “night” hours. The highest Glaucous Gull hunting pressure was recorded during Little Auk departing the colony, when 194 successful Glaucous Gull attacks were recorded. That constituted 19,4% of the observed fledglings.

Glaucous Gull pressure in Magdalenefjorden was relatively high compared to the impact in Hornsund. One of the reasonable explanation for this discrepancy might be the low synchrony of breeding in Magdalenefjorden.

**Колесников С. В.**

**ОЦІНКА РІВНЯ РЕКРЕАЦІЙНОЇ ПОРУШЕНОСТІ УРОЧИЩА ЛИПОВЕ  
РЛП «ЗУЇВСЬКИЙ» ЗА ФЛОРИСТИЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ**

*Донецький національний університет*

*вул. Університетська, 24, Донецьк, 83001, Україна*

*e-mail: kolesnikov-dn@ukr.net*

Донецька область є регіоном, природа якого зазнає сильного антропогенного пресингу: як рекреаційного, так і техногенного. Тому тут велику роль відіграють об'єкти ПЗФ, що виконують водно-час рекреаційні та природоохоронні функції. Проблема вивчення сучасного стану, біотичного потенціалу та балансу в таких об'єктах, а також їх динаміки під впливом різних екологічних чинників є дуже актуальною.

Наукова новизна роботи: вперше у регіоні оцінено сучасний екологічний стан рекреаційної зони м. Харцизька – байрачного лісу Липова Балка РЛП «Зуївський» на підставі комплексних польових і дистанційних фітосозологічних досліджень, розроблено й апробовано умовну шкалу рівня рекреаційного навантаження на екосистеми байрачних лісів з використанням даних фітосозологічних досліджень. У ході даної роботи нами було проведено фітосозологічний аналіз двох екотопів урочища Липове, що відрізняються різним рівнем рекреаційного використання. Перший екотоп (північні схили балки) майже не використовується для рекреації, а другий (південні схили) протягом вегетаційного періоду постійно потерпає від її впливу.

Для індикації ступеня порушеності екосистем нами було використано такі параметри:

- відносна фотосинтезуюча біомаса (NDVI);
- кількість видів підліску (UW);
- кількість видів судинних рослин (BD);
- частки у загальному флористичному спектрі: сільвантів (Sil), рудерантів (Ru);
- родовий коефіцієнт (K).

Як показник, що відображає відносну фотосинтезуючу біомасу, нами було використано індекс NDVI, який визначали з використанням мультиспектральних знімків супутників Landsat 5 і Landsat 7. Використовували наявні у відкритому доступі знімки, зроблені з 1986 по 2010 рік у вересні. Інші параметри було отримано шляхом безпосередніх польових досліджень, які проводилися протягом 2006-2010 років.

Згідно з проведеними дослідженнями для першого екотопу (північні схили балки), отримані показники становлять: NDVI – 0.488, кількість видів підліску – 77, кількість видів судинних рослин – 86, частка сільвантів – 63,98%, 100% – частка рудерантів – 71%, 100% – родовий коефіцієнт – 23,26% (останні два параметри при збільшенні антропогенного навантаження збільшують свої значення, тому для подальшої розробки умовної шкали рекреаційного впливу використано різницю між 100% і значеннями цих параметрів). Для другого екотопу значення контрольних параметрів є такими: NDVI – 0.467, кількість видів підліску – 63, кількість видів судинних рослин – 68, частка сільвантів – 70,58%, 100% – частка рудерантів – 66,2%, 100% – родовий коефіцієнт – 22,06%. Максимальне зареєстроване значення NDVI для вересня становить 0,6, тому для ранжування цього параметра використовуємо таку формулу: Ранг (NDVI)=NDVI\*1000/6.

Для параметрів, що відображають кількість видів, ми використовуємо умовний максимум у 100 видів, тому їхні ранги у балах відповідають кількості видів в екотопах. Для параметрів, що виражаються у відсотках, за максимум приймаємо 100 відсотків. Кількість рангових балів для кожного екотопу відповідає значенню параметра у відсотках. Остаточна формула визначення умовного рівня рекреаційної порушеності має вигляд:

$$\text{Рівень рекреаційної порушеності} = 100 - (\text{NDVI} * 1000 / 6 + \text{UW} + \text{BD} + \text{Sil} + \text{Ru} + \text{K}) / 60 * 100$$

Для північних схилів ця величина становить 46 балів, для південних – 52 бали.

Отже, використаний підхід дає змогу оцінити умовний рівень рекреаційного впливу на територію і може бути використаний у практичних дослідженнях.

### **Kulaszewicz I., Jakubas D., Wojczulanis-Jakubas K.**

#### **VARIATION OF MORPHOLOGICAL PARAMETERS AND STRESS LEVEL IN THE SAVI'S WARBLER LOCUSTELLA LUSCINIODES IN RELATION TO SEX AND AGE**

*University of Gdansk, al. Legionow, 9, 80-441 Gdansk, Poland*

*e-mail: izabela.kulaszewicz@wp.pl*

Birds of different sex and age are known to differ in morphology and physiology. The Savi's Warbler *Locustella luscinioides* is a small migratory passerine bird breeding in reebeds. The main objective of the

study was a comparison of body size and stress level of the Savi's Warbler of various sex, age and breeding status. This species is monomorphic. Thus, sex was determined using DNA-based techniques. Field work was carried out in the “Druino Lake” reserve in the north Poland - breeding area and important stopover during the migration of Savi's Warblers. Birds were caught during the post-breeding period (July-August 2010) including post-breeding dispersion and partial molting. Studies of morphology and stress level of Savi's Warblers of known sex have never been performed before during this period. Captured birds were ringed, measured [wing-length (WL), head-length (HL), bill-length (BL) and claw-length (CL)] and weighed. Additionally small blood samples were collected for leukocyte counts (number of heterophils (H), lymphocytes (L), eosinophils (E) and heterophils/lymphocyte ratio (H/L), number of leucocytes, lymphocytes and heterophils per 10,000 erythrocytes). The H/L is considered as an index of stress level in birds. All values are presented as mean  $\pm$  SD. Analyses revealed intersexual differences in body size. In immatures, males were significantly bigger (WL: 70.1 $\pm$ 1.56, N=52; HL: 33.0 $\pm$ 0.76, N=52; BL: 10.66 $\pm$ 0.82, N=52 and CL: 7.3 $\pm$ 0.37, N=52) than females (WL: 69.1 $\pm$ 1.55, N=26, HL: 32.4 $\pm$ 0.71, N=26, BL: 9.9 $\pm$ 0.82, N=26 and CL: 7.1 $\pm$ 0.40, N=26). In terms of age, adult birds, regardless of sex (mean body mass 15.7 $\pm$ 1.14, N=31), were heavier than young (mean body mass 15.1 $\pm$ 0.97, N=81). Leukocyte values differed between adult and immature birds. Adults had higher values of H (43.7 $\pm$ 1.89, N=31), E (6.2 $\pm$ 1.77, N=31) and H/L (1.4 $\pm$ 0.12, N=31) and lower L (31.6 $\pm$ 2.09, N=31) than immatures (H: 34.1 $\pm$ 1.68, N=81; E: 11.8 $\pm$ 1.6, N=81; H/L: 0.77 $\pm$ 0.07; L: 44.5 $\pm$ 2.7, N=81). Also the mean number of leucocytes, lymphocytes and heterophils per 10,000 erythrocytes were significantly higher in adults (leucocytes: 26.5 $\pm$ 2.22, N=31; L: 10.6 $\pm$ 1.18, N=31; H: 15.8 $\pm$ 1.96, N=31) compared to immatures (leucocytes: 17.6 $\pm$ 2.61, N=81; L: 9.1 $\pm$ 1.44, N=81; H: 8.5 $\pm$ 1.53, N=81). In immatures, the stress level (H/L) was positively correlated with bill-length ( $r_{80}$ =0.30,  $p$ =0.007). Also the wing-length was related to the body mass ( $r_{80}$ =0.32,  $p$ =0.004). High values of leukocyte count in adult birds are considered as a signal of increased traffic of granulocytes in stress situations. This may be caused by molting which concerned the majority of mature birds. Higher stress level (the H/L ratio) of studied adults compared to immatures could have resulted from investments on breeding. Lack of sex differences in stress level in adults may indicate the similar parental efforts of males and females during the breeding period. Inexperienced young birds had smaller body mass than adults. However, their stress level was lower than in adults.

### **Lukanus K., Grochowalska R.**

#### FORMS OF NATURE CONSERVATION IN THE WSCHOWA DISTRICT

*University of Zielona Gora*

*Prof. Szafrana, 1, 65-516, Zielona Gora, Poland*

*e-mail: kimluk@interia.pl; r.grochowalska@wnb.uz.zgora.pl*

Presented thesis was devoted to nature conservation in the Wschowa district, that is to forms of nature protection of individual municipalities. The aim of this thesis was to discuss the diversity of nature occurring in the Wschowa district (Lubuskie Province, Poland). The specific objectives of the project included creation of educational nature path “At Slawskie Lake” and preparation of information folder about the path.

The inventory forms of nature protection in individual municipalities were made on the available literature and field research. In the first instance, there were presented general characteristics of the existing forms of nature conservation in district, focused on the protection and natural wealth, protected animals and plants of this area. Every form of nature protection was located in the district and shortly described. The Wschowa district is rich in forms of nature conservation. Over 50% of its area is covered by various forms of the legal protection. Such forms include: landscaped park, protected landscape area, three Natura 2000 areas, two ecological sites, natural monuments (78) and protection of plants and animals species.

Additional, a natural – educational path “At Slawskie Lake” was designed. The substantial content of particular board as well as its technical form of work were described. The source materials include:

publications and scientific articles, a Polish and foreign language books, acts and specialized web sites of nature conservation in Poland. Particular attention was paid to the largest recreational water reservoir on this region, Slawskie Lake, because it is the place where educational natural path has been located. This is a unique path for its two aspects. First aspect presents lake, its characteristics and genesis, on the other hand shows dangers and lake protection methods. The following boards describe the process of eutrophication, remediation program and ichthyofauna of lake. The final stage of the path was planned in municipal sewage treatment plant, which role is very important for the water quality of Slawskie Lake. Additionally, an informational folder was created, which shows the natural values of the Wschowa district.

### Лужна М.

#### БІОІНДИКАЦІЙНА ОЦІНКА МІСТА КАЛУША ЗА МОРФОМЕТРИЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ *PICEA ABIES* (L.) KARST.

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна*

Однією з нагальних проблем Прикарпаття є ситуація, що склалася навколо Калуського промислового вузла. Необхідною передумовою її вирішення є адекватна оцінка екологічного стану Калуської урбоекосистеми методом біоіндикації. Цінними індикаторними властивостями володіють представники Pinopsida, які безпосередньо входять у систему озеленення міст. В антропогенно модифікованих умовах вони відчувають на собі комплексний хронічний вплив середовища, що проявляється зміною низки морфометричних параметрів (Илькун, 1978; Николаевский, 1979; Трешоу, 1988).

Метою роботи було здійснити порівняльну біоіндикаційну оцінку екологічного стану окремих ландшафтно-географічних районів міста Калуша («Загір'я», «Підгірки», «Височанка», Центрально-міського і Північно-Західного промислового районів), які відрізняються за характером та інтенсивністю урботехногенного навантаження. Об'єкт дослідження – хвоя найбільш поширеного виду хвойних в озелененні міста – *Picea abies* (L.) Karst. Відбір проб хвої та визначення морфометричних показників (довжина, ширина, тривалість життя, рівень некротичного ураження хвої та маса 1000 штук хвоїнок) проводили відповідно до апробованих методик (Клейн, 1974; Руденко та ін. 2005). Одержані результати опрацьовували статистично (Лакин, 1990).

Результати досліджень показали достовірне зменшення лінійних розмірів хвої *Picea abies* у послідовному ряді досліджених мікрорайонів урбоекосистеми: «Височанка» (довжина хвої – 21 мм; ширина – 0,6 мм) → «Загір'я» (відповідно 19 мм і 0,6 мм) → «Підгірки» (відповідно 15 мм і 0,5 мм) → Центральный район (відповідно 14 мм і 0,3 мм) → Північно-західний промисловий (індустріальний) район (відповідно 12 мм і 0,3 мм). В аналогічному ряді урботехногенних біотопів відбувається зменшення біомаси хвої та зростає рівень її некротичного ураження. Маса 1000 хвоїнок флукує в діапазоні від 6,554 г («Височанка») до 3,696 г (індустріальний район міста). Рівень некротизації тканин хвої у мікрорайоні «Височанка» становить 5%, а у центральному і північно-західному промислового районах сягає максимальних значень (відповідно 45 і 60%). В умовах урбоекосистеми Калуша відзначено зближення хвоїнок на ділянці однорічного пагона (10 см), що виражається зростанням їх кількості. Мінімальне значення показника встановлено для модельних особин мікрорайону «Височанка» (71 шт), а максимальне – для рослин центрального і промислового мікрорайонів (відповідно 157 та 213 шт). За всіма аналізованими морфометричними ознаками у досліджених особин ялини європейської збільшується гетерогенність групової реакції, про що свідчить зростання коефіцієнта варіації ( $C_v$ ). Найвищі значення показника відзначені для рослин центрального та промислового району:  $C_v > 15\%$ .

Характерною особливістю рослин індустріального і центрального районів Калуша є спотворення крони за рахунок опадання хвої у її нижній і середній частині. Рослинам інших районів міста більш притаманне опадання хвої з верхівки крони.

Отже, морфологічні зміни *Picea abies* є ранніми біоіндикаційними ознаками та можуть використовуватися при здійсненні біомоніторингових досліджень на урбанізованих і техногенно змінених територіях. Максимально інформативними є такі показники, як рівень некротизації хвої, маса 1000 хвоїнок і кількість хвоїнок на 10-сантиметровій ділянці однорічного пагона. В умовах урбоєкосистеми Калуша вплив урботехногенних факторів інтенсифікується у послідовному ряді мікрорайонів міста: «Височанка» → «Загір'я» → «Підгірки» → Центрально-міський район → Північно-західний промисловий (індустріальний), що зумовлено локалізацією промислових об'єктів у межах міста й особливостями міграції та перерозподілу поллютантів у просторі.

### **Маловічко О., Серик С.**

#### **СУЧАСНИЙ РОЗВИТОК ЕКОЛОГІЧНО БЕЗПЕЧНОГО ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ ТА ЙОГО ПЕРСПЕКТИВИ В УКРАЇНІ**

*Національний авіаційний університет  
пр. Комарова, 1, м. Київ, 03039, Україна  
e-mail: simbad28@ukr.net*

Отримання екологічно безпечних продуктів харчування на сьогодні є однією із головних проблем людства. Якісні продукти харчування за останні десятиріччя стає отримувати дедалі важче. Цьому сприяє екологічний стан природного середовища, який різко погіршується, і природне середовище повністю не виконує екологічні функції. Такі проблеми характерні для України, і тому на сьогодні проведення такого дослідження актуальне і має науково-практичне значення (Даниленко, 2004).

Україна прагне відповідати світовим критеріям розвитку, тому серед головних пріоритетів нашої держави – створення соціально-економічної системи, здатної до постійного вдосконалення та спрямованої на екологізацію виробництва продуктів харчування. Питання розвитку екологічно безпечного виробництва в Україні є мало дослідженими та недостатньо висвітленими у науковій літературі. В Україні є всі умови для сталого розвитку екологічного виробництва. Реалізація стратегії сталого розвитку – запорука швидкого економічного зростання, яка водночас забезпечує підтримання екологічного балансу та збереження комфортних умов існування людства у довкіллі.

Аналізуючи перспективи сучасного розвитку екологічно безпечного виробництва, можна констатувати таке: виробництво екологічно безпечної продукції є чи не найважливішою проблемою сьогодення. Вважається, що вона може бути вирішена шляхом дотримання комплексу організаційно-господарських і агротехнічних заходів, створення видового різноманіття рослин з урахуванням їх позитивного впливу на розвиток корисних комах і репелентних властивостей, застосування мікробіологічних препаратів тощо (Луцькіна, 2003). Екологічно безпечна продукція характеризується тим, що вміст різних токсикантів (нітрати, важкі метали, залишки пестицидів, радіонукліди) не перевищує встановлених для них гранично допустимих концентрацій (ГДК). Екологічно безпечна продукція містить незначну кількість токсичних речовин і призначена для дитячого та дієтичного харчування (Клименко, 2009).

Сучасний розвиток екологічно безпечного аграрного виробництва на сьогодні потребує: формування відповідної державної підтримки на регіональному рівні; організації підготовки та перепідготовки фахівців у сфері впровадження екологічно безпечного виробництва.

Таким чином, успішний розвиток виробництва і реалізація екологічно безпечної продукції впровадження нових напрямів аграрного виробництва у вітчизняному сільському господарстві сприятиме: створенню постійного моніторингу проектів екологічно безпечного виробництва; створенню нових напрямів розвитку аграрного виробництва; сертифікації за міжнародними та вітчизняними стандартами.

Усе це сприятиме створенню розвитку аграрного виробництва і передумов виробництва та реалізації екологічно безпечних продуктів харчування, зміцнення конкурентоспроможності та забезпечення сталого розвитку України.

**Мішанюк Н. В., Свистунова І. В.**  
ТВЕРДЕ БІОПАЛИВО В ТЕПЛОЗАБЕЗПЕЧЕННІ СЕЛА

*Національний університет біоресурсів та природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 13, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: irinasv@ukr.net*

Використання сировини біологічного походження для енергетичних цілей дає можливість значно заощаджувати енергетичні й сировинні ресурси, знижувати забруднення навколишнього середовища, а також створити велику кількість додаткових робочих місць. Світовий досвід свідчить про стрімке поширення технологій виробництва біопалив і їх ефективне застосування в агропромисловому комплексі. Біоенергетичне забезпечення сільської місцевості базується на виробництві й використанні енергетичних культур (біомаси) та інших місцевих ресурсів. Розвиток біоенергетики є досить актуальним для України з її значним потенціалом біомаси, доступної для отримання енергії, – близько 24 млн т у. п./рік. Основними складовими потенціалу біомаси є солома та інші відходи сільського господарства (стебла, початки, лушпиння та ін.), а також деревні відходи, рідкі палива з біомаси та енергетичні культури (Гелетуха та ін., 1998).

Таким чином, метою досліджень є забезпечення максимально ефективного використання вирощеної рослинної продукції та продуктів її переробки для теплопостачання виробничих і побутових приміщень в агропромисловому комплексі.

Для досягнення економічної віддачі, підвищення теплотворної здатності твердих біопалив, забезпечення простоти транспортування їх до теплових установок і легкості управління процесом горіння, біопалива повинні перероблятися в гранули (пелети) або брикети. Останні мають величезні переваги порівняно з традиційними видами палива, в тому числі завдяки відсутності негативного впливу на оточуюче середовище.

Щоб одержати якісні гранули, необхідно виконати три основні умови: використовувати якісне обладнання, чітко дотримуватися технології виробництва, використовувати якісну сировину. Після виготовлення якість гранул необхідно зберегти. Для цього слід виключити можливість попадання в них вологи та звести до мінімуму деформуючі навантаження. Найкраще гранули зберігати в закритих мішках. Зовнішній вигляд якісних гранул: поверхня має бути блискучою, гладкою, без тріщин і здуття; колір не повинен бути сірим; запах – легкий солодкуватий запах клею.

Сучасні технології енергетичного використання біомаси в Україні лише розвиваються. На сьогодні Україна споживає деревного палива близько 1 млн т у. п. при традиційному використанні дров для опалення приватних будинків, а також у понад тисячі котлів, що встановлені на підприємствах лісової та деревообробної галузей України.

Крім звичайного прямого спалювання, технологіями термохімічної переробки деревної біомаси є газифікація (перетворення твердого палива в горючий газ) і піроліз (розкладання дерева при нагріванні до 450-550°C без доступу повітря з утворенням газоподібних продуктів). При цьому паливо не горить полум'ям, а лише жевріє, і процесом його спалювання можна керувати, змінюючи кількість поданого повітря. На відміну від котлів поверхневого горіння, газогенераторні моделі виробляють димові гази, які практично не містять токсичних та інших домішок (Шевченко, 2009).

**<sup>1,2</sup>Mitaishvili N., <sup>1</sup>Natroskvili G., <sup>1</sup>Tediashvili M.**

ISOLATION AND STUDY OF ECOLOGY OF *AEROMONAS* SPP. AND *VIBRIO* SPP.  
FROM GEPRGIAN AQUATIC ENVIRONMENT

<sup>1</sup>*G. Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi, Georgia*

<sup>2</sup>*Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia  
e-mail: n\_mitaishvili@yahoo.com*

Several species of *Vibrio* and *Aeromonas* represent clinically important human pathogens, mostly associated with gastroenteritis but capable infect open wounds and cause septicemia. These bacteria are mainly observed in areas with a warm climate and can be carried by numerous sea-living animals, such as crabs or

prawns, and has been known to cause severe infections in humans after exposure. Pathogenic vibrios include *V.cholerae* (the causative agent of cholera), *V.parahaemolyticus*, and *V.vulnificus*. *A.hydrophila*, *A.caviae*, and *A.veronii* have been shown to be involved in human diarrheal disease and extra-intestinal infections, including septicemia, and are considered as emerging pathogens (Martin-Carnahan et al, 2005). *Aeromonas hydrophila* is the most virulent and often resistant to antibiotics and disinfectants. *A. salmonicida* is associated with fish diseases causing furunculosis and septicemia.

Up to 191 isolates of *Aeromonas* spp. were obtained in 2006-2010 from water environment in Georgia (Black Sea coastal zone, Lisi Lake, Tbilisi Sea and Kumisi Lake in Tbilisi surroundings). Bacterial isolates have been studied by conventional bacteriological methods followed by biochemical identification including API tests. In total 9 species of *Aeromonas* spp. have been revealed in this study. The abundance and biodiversity of different species, seasonal distribution, and influence of abiotic factors (such as salinity, temperature, pH) on isolation frequency of *Aeromonas* spp. was studied. Susceptibility to antibiotics of isolates was determined by disc-diffusion method using a set of 15 commonly used antibiotics.

Besides, up to 230 *Vibrio* spp. isolates collected in the same period and categorized as non-specified *Vibrio* group, were subjected to additional detailed biochemical profiling. As a result 14 species of *Vibrio* spp. were revealed in this group and identified on species level.

The majority of *Vibrio* strains were isolated from freshwater reservoirs (Tbilisi Sea, Kumisi Lake and Lisi Lake). Namely *V.mimicus* comprised 91% of total freshwater *Vibrio* isolates, *V.cholerae* – 60%, *V.vulnificus* – 85%, *V.orientalis* – 67%, *V.splendidus* – 60%, *V.marinus* – 67%, *V.campbellii* – 100%, *V.nereis* – 100%, *V.nigripulchritudo* – 100%, *V.alginolyticus* – 100%, while *V.parahaemolyticus* comprised 89% of total marine water *Vibrio* isolates, *V.natriegens* – 100%, and *V.pelagius* – 86%; 91.5% of *Aeromonas* strains were isolated from freshwater reservoirs and 8.5 % – collected from marine environment.

The work was in part supported by grant GG-13, provided by US Defense Threat Reduction Agency (DTRA).

### **Napierala M., Przybyła Cz., Bykowski J., Mroziak K.**

#### RESTORATION OF POLDER'S ZAGOROW WATER MANAGEMENT AS A BASE OF THE SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF NATURAL AND AGRICULTURAL ENVIRONMENT

*University of Life Sciences in Poznan*

*e-mail: michnap@up.poznan.pl*

The aim of project that is being carried out by researchers of a few units of the University of Life Sciences in Poznan is a quality and quantitative evaluation of the natural compensation on the polder Zagorow.

So far the polder composed the closed part of the valley Konin-Pyzdry entirely cut away from periodic of swelling of the River Warta by floodbank. The lack of the possibility of cyclical flooding this area at a fast pace contributed to their drying. Consequently, it led to changes of water ratios as well as habitat conditions occurring in polder. In 2009, within the framework “Restoration of the river water circulation in the middle of the Warta river valley between Zagorow and Lad” made a possibility of the natural compensation for this area.

On the basis of conducting scientific researches, optimum principles of the water management on polders will be established. However, firstly for the existing specific flora and fauna (area of Nature 2000-PLB300002 and PLH 300009) the influence of the restoration on the balance of nature will be determined.

### **Osiecka K.**

#### ARE WIND-FARMS SUSTAINABLE?

*University of Gdansk*

*ul. Armii Krajowej 119/121, 81-824, Sopot, Poland*

*e-mail: kat.osiecka@wp.pl*

The aim of this article is to describe the ecological and social issues which led to stopping the development of wind farms in the north of Poland. To fulfill the sustainable policy Poland began to promote sources

of renewable energy. Among many sustainable energy plants, the wind farms became the most popular in Poland. The special attention was given to wind farms in Pomerania (northern Poland). Between 2001 and 2005 around 50 wind farms were built in Pomerania, each having 10 – 30 turbines. In 2006 it was decided that 100 new wind farms can be built in Pomerania. Although the wind farms create a great amount of energy used in the poorest regions (each farm produces 180MW per day), they were not accepted by local communities. The local communities argue that wind farms have a bad influence on the condition of human health (both mental and physical), and also on the condition of the environment. Thanks to the research of invited ecologist it was proved that wind farms have a negative influence on such important areas as: the state of wildlife in the neighborhood of wind – farms, the state of landscape, the number of tourists, the state of local ecological areas (such as: beaches, fields, swamps). In many communities and small administration areas the wind farms were thought not to be sustainable. This way many investments were stopped and the permissions for wind farms development were cancelled.

### **Osiecka A., Wrobel A., Zwolak R.**

#### WHAT HAPPENS TO RODENT-DISPERSED BEECH SEEDS?

*Adam Mickiewicz University  
ul. Umultowska, 89, 61-614 Poznan, Poland  
e-mail: ann.osiecka@gmail.com*

The “seed-dispersal hypothesis” postulates that masting (intermittent production of large seed crops by plants) improves dispersal of seeds by animals. We investigated the magnitude of beech (*Fagus sylvatica*) seed removal and the fate of removed seeds in mast year 2009 (high seed availability, low abundance of rodents) and non-mast year 2010 (low seed availability, high rodent abundance). We tracked 644 seeds (256 in 2009 and 388 in 2010) using the common method of seed tagging (seeds marked with plastic tags attached with a thin, 10 cm-long wire) at four forest sites. The average removal rate varied strongly across the years, with 52,9% of seeds removed in 2010 and only 6,3% in 2009 ( $p = 0,01$ ). We were able to find most of the removed seed in both years: 76,74% in 2009 and 90,5% in 2010 ( $p > 0,05$ ). Of the recovered seeds, more were eaten in 2010 (71,84%) than in 2009 (9,09%) ( $p = 0,04$ ). Seeds were dispersed further in 2010 (median: 0,54 m) than in 2009 (median: 0,08 m) ( $p < 0,0001$ ). In conclusion, while masting improved the survival of seeds removed by rodents, it negatively affected their dispersal distance.

### **Остроух І., Ткачук Н.**

#### ФІТОТОКСИЧНІСТЬ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ 4-АМІНО-3,5-ДИМЕТИЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛІУ

*Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка  
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013, Україна  
e-mail: smykun\_nata@list.ru*

Одним зі способів внесення біоцидів для захисту металеві корозії є додавання їх до шару ґрунту (2-15 см), який безпосередньо контактує з підземним металевим об'єктом (Бочаров, 1983). На території України розташовано майже 40 тис. км магістральних нафто- і газопроводів (Похмурський, 2003), частина з яких проходить у безпосередній близькості від сільськогосподарських угідь. Тому постає питання впливу таких сполук на рослини. Метою даної роботи було дослідити фітотоксичні властивості деяких похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію.

Похідні синтезовано на кафедрі хімії Чернігівського національного педагогічного університету імені Т.Г.Шевченка під керівництвом д.фарм.н. А.М. Демченка. Чутливою до політантів рослиною є крес-салат (*Lepidium sativum* L.), який широко використовується в біотестуванні якості доквілля (Багдасарян, 2005). Токсичність сполук концентрацією 100 мкг/мл досліджували за проростанням насіння крес-салату та морфометричними показниками проростків (Федорова, 2001).



Встановлено, що енергія проростання та схожість насіння крес-салату в присутності похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію перебуває в межах контролю. Відзначено, що проростки тест-рослини достовірно стимулювалися (покращення росту надземної частини) похідним, яке не містить замісників у 2-оксо-2-фенілетильному залишку. Так, зафіксовано покращення росту надземної частини в 1,2 рази порівняно з контролем. На довжину коріння та масу проростків сполука не вплинула. Порівняння фітотоксичної активності споріднених сполук, які містять атоми хлору в 2-оксо-2-фенілетильному залишку (пара-, мета-, орто-) свідчить, що введення атомів хлору забезпечує зміну токсичних властивостей щодо крес-салату. Сполука С1-замісником в орто-положенні так само, як і сполука без замісників достовірно стимулювала порівняно з контролем ріст надземної частини та коренів в 1,2 разу та в 1,1 разу відповідно. Хоча зафіксовано пригнічувальну дію цієї сполуки щодо маси кореня проростків. Вона менше, ніж в контролі в 1,2 рази. Похідне з С1-замісником в пара-положенні проявило фітотоксичні властивості, достовірно пригнічуючи ріст кореня тест-рослин в 1,2 разу. Похідне з С1-замісником у мета-положенні проявило стимулюючу дію щодо морфометричних показників крес-салату. Зокрема, відзначено достовірне покращення росту надземної частини в 1,1 рази. Маса надземної частини більше, ніж в контролі в 1,5 рази, але маса кореня менше, ніж в контролі в 1,1 разу.

Проростки тест-рослини виявилися чутливими до сполуки, яка містить 2-гієніл-2-оксоетил. Так, зафіксовано достовірне стимулювання довжини та маси надземної частини проростків (в 1,1 разу та в 1,9 разу відповідно) і достовірне пригнічення маси кореня (в 1,3 разу). В присутності сполуки, яка містить фенілкарбамоїлметильний фрагмент, виявлено стимулювання порівняно з контролем маси надземної частини (в 1,2 рази) та пригнічення довжини корінців в 1,2 рази. При дії похідного, яке містить 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафтеніл)-етильний залишок, відзначено достовірне пригнічення морфометричних параметрів коренів: довжини в 1,9 разу порівняно з контролем, маси – в 1,4 рази. Сполука проявила достовірну стимулювальну дію щодо маси надземної частини проростків крес-салату порівняно з контролем в 1,9 разу.

Таким чином, встановлено, що рослини крес-салату проявляють незначну чутливість щодо досліджених похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію. Фітотоксичність посилюється у похідних, що містять С1-замісник у пара-положенні 2-оксо-2-фенілетильного залишку та 2-оксо-2-(1,2,3,4-тетрагідро-6-нафтеніл)-етильний радикал у першому положенні гетеросистеми.

### **Паренюк О., Ілленко В.**

#### **ОЦІНКА СТРУКТУРИ ҐРУНТОВОЇ МІКРОФЛОРИ НА РАДІОНУКЛІДНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: rovenahp@gmail.com*

Відомо, що внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС було створено Зону відчуження – унікальну територію з високими щільностями радіонуклідного забруднення. Одним із найцікавіших процесів, що відбувається у групах Зони Відчуження є функціонування мікрофлори та можливі зміни її структури. За нашими даними, таких досліджень досі не проводилося, тому метою даної роботи є простежити та показати структуру і біорізноманіття ґрунтової мікрофлори на прикладі основних таксономічних груп.

Були проведені мікробіологічні дослідження зразків дерново-підзолистого ґрунту з чотирьох лісових і одного польового біоценозів із різною щільністю радіонуклідного забруднення територій (чотири точки – з території Зони відчуження, одна – у Зоні безумовного (обов’язкового) відселення). Найвищу щільність радіонуклідного забруднення має біогеоценоз на території відселеного після аварії на Чорнобильській АЕС с. Копачі, яке розташоване у кількох кілометрах на південь від АЕС, поверхнева активність тут сягає  $2280 \pm 13$  кБк/м<sup>2</sup>. Майже вдвічі менш забруднені луки поблизу того ж селища

– щільність радіонуклідного забруднення тут  $1170 \pm 8$  кБк/м<sup>2</sup>. Зразки ґрунту з лук були відібрані для порівняльної оцінки відмінностей між лісовими і лучними біоценозами з близьким рівнем забрудненості.

Найменшим радіонуклідним забрудненням характеризується територія, розташована за межами Зони відчуження, у Зоні безумовного (обов'язкового) відселення. Тут щільність забруднення становить  $51,3 \pm 8$  кБк/м<sup>2</sup>.

Оцінку якісного складу бактерій і стрептоміцетів проводили шляхом посіву ґрунтової суспензії на середовище Звягінцева (Егоров, 1974). Оцінку мікроміцетів проводили на твердому поживному середовищі Чапека, при цьому для пригнічення росту бактеріальної мікрофлори до нього додавали розчин стрептоміцину. Культивування мікроорганізмів відбувалось у термостаті при температурі 28°C протягом 4–7 діб відповідно.

У подальшому для оцінки якісного складу ґрунтової мікрофлори у варіантах польового досліду використовували показники частоти і щільності видів. Після цього домінуючі морфотипи бактерій виділяли в чисту культуру. Враховували особливості росту виділених бактерій на специфічних поживних середовищах. Морфологічні та біохімічні ознаки виділених прокаріотів визначали загальноприйнятими мікробіологічними методами (Егоров 1974, Теппер, Шильнікова, Переверзева, 2004).

Так було встановлено, що при підвищенні щільності радіонуклідного забруднення ґрунту спостерігається збільшення чисельності мікроорганізмів від 49 при найнижчій до 152 млн/г ґрунту при найвищій. За результатами мікробіологічних досліджень було виділено 15 домінуючих морфотипів ґрунтової мікрофлори.

Таким чином, встановлено, що зі зміною радіоактивності ґрунту змінюється співвідношення домінуючих представників ґрунтової мікрофлори у польових біоценозах. Так, у даному дослідженні представленість морфотипів № 03 і 06 збільшилася з 31 до 61% і з 2 до 18% відповідно. Також встановлена істотна різниця у якісному складі ґрунтових мікроорганізмів на території лісу і луків – морфотипи 11, 12, 13, 14 є характерними лише для мікробіоценозу лучних територій і майже не трапляються у лісових.

### **Перерва Є. С.**

#### **ВИЗНАЧЕННЯ СПІВВІДНОШЕННЯ СУБСТРАТУ Й ІНОКУЛЯНТУ ДЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТІВ З МЕТАНОВОГО ЗБРОДЖУВАННЯ**

*Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»*

*пр. Перемоги 37, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: pererva.egor@gmail.com*

Цінова політика на ринку паливних енергоносіїв для України складається таким чином, що вартість останніх постійно зростає. Згідно з офіційними джерелами, вартість імпортного природного газу піднялася з позначки 61 долар за 1000 куб. м у 2005 році до 264 станом на I квартал 2001 року і, за попередніми прогнозами аналітиків, середня вартість блакитного палива протягом поточного року становитиме 280-285 доларів за 1000 куб. м. Незважаючи на той факт, що ця цифра не є максимальною за зазначений період (так, у I кварталі 2009 року ціна була на рівні 360 доларів, а протягом відповідного періоду 2010 року - 310), витрати споживачів газу продовжують зростати як у комунальному секторі, так і в промисловому.

Можливою альтернативою природному газу є біогаз. Але придатність останнього до використання як енергосія визначається теплотворною здатністю і хімічною агресивністю компонентів газової суміші. Тому на сьогоднішній день важливими питаннями дослідження процесу метанового збродження є питання підбору умов і субстрату; методи очищення біогазу від небажаних складових, в першу чергу сірководню, меркаптанів; збагачення на метан; зберігання і подальше використання.

Для успішного проведення експерименту з дослідження процесів метанового збродження важливим є співвідношення внесеного посівного матеріалу і субстрату. У вітчизняній літературі не

наводяться дані, що стосуються цього питання, тому були прийняті показники, наведені у німецькому стандарті VDI 4630 «Fermentation of organic materials Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests». У цьому стандарті говориться про те, що розрахунок цієї величини варто проводити на підставі вмісту сухої органічної речовини в матеріалі, що виступає субстратом, та інокулянті. У цьому документі також стверджується, що співвідношення органічної частки субстрату до вмісту сухої органіки в посівному матеріалі має бути меншим за 0,5. В іншому випадку відбуватиметься зростання кислотності ферментаційного середовища, наслідком чого буде гальмування або повна зупинка процесу метанового зброджування. Саме гальмування матиме місце, оскільки оптимальне значення рН для процесів метаногенезу перебуває в межах 6,5-8,5.

Для визначення вмісту сухої органічної речовини в інокулянті й субстраті було проведено аналіз на вміст сухої речовини та зольного залишку з подальшою математичною обробкою цих даних. Одним з компонентів субстрату було обрано гноївку, тому в якості методики для визначення сухого залишку використовувався ГОСТ 26713-85 «Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка», що чинним і зараз. Для озолення була використана методика, наведена в ГОСТ 26714-85 «Удобрения органические. Метод определения золь», що теж є чинним і сьогодні. Ці самі методики були використані і для визначення показників вмісту сухого і зольного залишку в посівному матеріалі та кукурудзяному силосі, котрий був обраний другим субстратом для використання в експерименті з сумісного метанового зброджування.

За отриманими даними були зроблені розрахунки для подальшого проведення експерименту.

### **Приймак О.**

#### **ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ҐРУНТІВ ЗА ДІЇ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОЛОГІЧНИХ ТЕСТІВ**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна  
e-mail: eko.lena@mail.ru*

Забруднення ґрунтів нафтопродуктами є однією з нагальних проблем сьогодення, оскільки призводить до їх деградації і тривалого відчуження земельних ресурсів. Екотоксикологічна оцінка ґрунтів, забруднених нафтовими вуглеводнями, є важливою і повинна включати встановлення залежностей «доза-біоефект» (Джура, 2006; Мірошниченко, 2002). Такого роду дослідження є рідкісними (Ковалева, 2004), а оцінка впливу нафтових похідних на формування цитотоксичних і кластогенних властивостей ґрунтових факторів на Україні не проводилася. Це зумовлює актуальність даного дослідження.

Метою роботи було дослідити біотоксичність ґрунту за умови нафтового забруднення з використанням біологічних тестів. Об'єкт – зміна параметрів біотесторів за дії нафтових вуглеводнів різної концентрації (I – 10 г нафти/кг ґрунту; II – 20 г/кг; III – 50 г/кг; IV – 100 г/кг). Дослідження проводили у лабораторних умовах протягом 2008-2010 років. Фітотоксичність нафти і її похідних оцінювали у ростовому тесті з використанням *Lepidium sativum* на основі обрахунку коефіцієнта фітотоксичності (Руденко, 2005; Горова, Куліна, 2006). Кластогенні й цитотоксичні властивості нафтозабруднених ґрунтів визначали з використанням ана-телофазного аналізу в *Allium sera*-тесті. Аналіз та інтерпретацію даних виконували методами математичної статистики (Лакин, 1990).

Результати досліджень показали підвищення фітотоксичності ґрунтового середовища за дії нафтового забруднення, на що вказують значення відповідного коефіцієнта (ФТ). ФТ флукує у діапазоні від 57,8% (при 1% вмісті нафти у ґрунті) до 100% (при 10% вмісті нафти), що відповідає рівню «вище середнього» та «максимальному» рівню токсичності. При концентрації нафтопродуктів 20 і 50 г/кг відмічено формування «високого» і «максимального» рівнів фітотоксичності відповідно. Схожість насіння крес-салату на ґрунтах з 10-відсотковим вмістом сирової нафти складалася 0%, 5-відсотковим

– 16%, 2-ох відсотковим – 28% та одинвідсотковим – 49% при 100% у контролі. При експонуванні на III ґрунтовому зразку відзначено загибель рослин на 3-5-ий день експерименту.

Нафтозабруднені ґрунти відзначаються підвищеним цитотоксичним ефектом, що проявляється в *Allium* сера-тесті інгібіцією мітотичної активності у 1,25–2,00 рази, порівняно з контролем. Найвищі значення мітотичного індексу (МІ) встановлено для зразків ґрунту з концентрацією нафтопродуктів 1 та 2% (29,90 та 26,16% відповідно при 37,37% у контролі). Для рослин, експонованих на ґрунтах з концентрацією нафтопродуктів 5%, МІ становить 22,42%. Максимальну інгібіцію проліферативної активності спричинюють нафтові вуглеводні у концентрації 100 г/кг (МІ=18,69%).

За дії нафтових вуглеводнів зростає кластогенний ефект, на що вказує зростання частоти аберантних ана- і телофаз (у 1,6–2,6 рази) та клітин з мікроядрами (у 3,47–7,93 рази) прямопропорційно концентрації нафтопродуктів у ґрунтових зразках. Рівень хромосомних аберацій при концентрації нафти 10 г/кг становить 2,10%, а при 20 г/кг – 2,40%. Максимальна індукція хромосомних аберацій властива ґрунтам з 10% вмістом нафти – 3,48%. Аналогічна тенденція відзначена і для мікроядерного індексу.

Встановлено наявність тісних корелятивних зв'язків між зміною тест-параметрів та концентрацією нафтопродуктів. Значення коефіцієнта кореляції Пірсона в усіх випадках перевищує 0,75. Найбільш тісні корелятивні залежності встановлені між рівнем забруднення ґрунту нафтою й індукцією хромосомних аберацій ( $R^2=0,85$ ); найслабші – у випадку впливу нафтопродуктів на формування фітотоксичності ґрунту ( $R^2=0,65$ ). Характер зв'язку між аналізованими показниками біотесторів і рівнем забруднення нафтою близький до лінійного (В-критерій Блекмана <11,37), що вказує на перспективність застосованих тест-ознак для біомоніторингу нафтового забруднення ґрунтів.

### **Rekowska E., Bak A.**

#### **EFFECT OF LIGHT ON THE GROWTH OF NEW RAMETS OF *CHARA GLOBULARIS***

*University of Gdansk, Legionow, 9, Gdansk, 80-441, Poland*

*e-mail: e.rekowska@ug.edu.pl*

Charophytes (Charales) are submerged green algae with a macroscopic thallus attached to the substratum by rhizoids. They grow from close to the water surface down to 30 m (Schwarz et al. 1996) at an irradiance as low as about  $14.5 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  or even lower (Steinman et al. 1997). Charophytes, along with some other submerged macrophytes, have a variety of morphological or physiological reactions (e.g. thallus elongation) to available light. The aim of the study was to assess elongation rate of new individuals of *Chara globularis* in different light conditions.

In the experiment, 20 thallus fragments of *C. globularis* each were used in 3 different irradiance variants. In the 1<sup>st</sup> one the light conditions were the best for the growth of new ramets ( $45.54 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , De Winton et al. 2004). In the 2<sup>nd</sup> one the irradiance level was 50% ( $22.78 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) of the optimal light, whereas in the 3<sup>rd</sup> variant only 7% ( $3.52 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). After a 7-day preincubation period, the height (distance from the holdfasts to the thallus tip) of each new ramet was measured every 4 days during the period of 7 weeks. The proportion of fragments producing new ramets (the ratio between the number of fragments giving rise to new ramets and number of thallus sections used in the experiment) and the regenerative potential (the ratio between the new ramets produced by a section and the number of thallus sections that resumed growth) were determined.

The lowest elongation rate of new individuals of *C. globularis* was found under optimal light conditions ( $3.5 \pm 2.7 \text{ cm/4 days}$ ). A bit faster growth of new ramets was observed in the tank with the lowest irradiance ( $4.9 \pm 4.5 \text{ cm/4 days}$ ). The fastest stonewort growth was found under intermediate irradiance conditions ( $6.2 \pm 4.6 \text{ cm/4 days}$ ). There were statistically significant differences between the individuals growing in the 1<sup>st</sup> and in the 2<sup>nd</sup> variant (Kruskal-Wallis,  $P < 0.05$ ). All the thallus fragments of *C. globularis* used in the 1<sup>st</sup> variant formed new ramets. Their regenerative potential came to 2.63, which means that an average thallus fragment produced 3 new ramets. In the 2<sup>nd</sup> variant, 94% of fragments sprouted and their regenerative potential reached

2.63. In the 3<sup>rd</sup> one, 90% of fragments formed new ramets but their regenerative potential was 1.77.

The conducted investigations showed that the ramets growing in suppressed light had the highest elongation rate. The lowest elongation rate characterized those under full irradiance conditions, but their regenerative potential was the same. This is probably connected with the ability of stoneworts to persist in suppressed light. In such conditions, stoneworts preferred vegetative propagation. As it was shown in Skurzycski and Bociąg's investigations (2011), stoneworts from a depth of 5 m, which is below the irradiance optimum, have the fastest growth and the highest regenerative potential.

### **Серебряніков Б.**

#### **ЗАСТОСУВАННЯ МІКРОКОСМІВ У СУЧАСНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ В УКРАЇНІ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Володимирська, 64, м.Київ, 01601, Україна*

*e-mail: silvern@bigmir.net*

Об'єктом дослідження екології як науки є екосистеми різного рівня складності й організації (Уиттекер Р., 1980; Федоров В.Д., Гильманов Т.Г., 1980; Голубець М. А., 2000; Гандзюра В.П., 2003, 2009). Щоправда, перш ніж дійти цього висновку, протягом сотні років тривали дискусії з приводу предмету і завдання екології. Та саме визначення властивостей екосистеми як предмету екології, а дослідження структурно-функціональної організації екосистем і процесів, що в них відбуваються, як завдання екології, дозволяє виокремити її з-поміж біологічних наук.

Методи екологічних досліджень прийнято (Федоров В.Д., Гильманов Т.Г., 1980; Гандзюра В.П., 2003) розділяти на три групи: спостереження, експеримент і моделювання. Спостереження особливо велику роль відігравали на ранніх етапах розвитку екології, проте зараз все більшого значення набувають експеримент і моделювання (Гительзон И.И., Лисовский Г.М., 1994). Часто експериментальні та модельні дослідження поєднують, інакше кажучи, ставлять експеримент на моделі, тому що вплив на реальну екосистему мав би недопустимо сильні негативні наслідки або масштаб екосистеми не дає змогу провести такий експеримент.

Відтак, якщо екологічним вважати дослідження, що має з'ясувати роль того чи іншого об'єкта або явища в екосистемі, очевидно, що дослідникові необхідна модель екосистеми, на якій можна ставити експерименти. Розвиток обчислювальної техніки відкрив у 70-х рр. минулого століття шлях до побудови великомасштабних математичних моделей біосфери (Моисеев Н.Н., 1988). Водночас, ще з 50-х рр. розробляються методи різномасштабного експериментального моделювання екосистем. Експериментальні моделі дрібного розміру названі мікрокосмами. Термін «мікрокосм» був введений ще в ХІХ ст. Форбсом (Forbs, 1887), і його визначення мікрокосму надзвичайно близьке до сучасного визначення поняття «екосистема» (Гандзюра В.П., 2003). Наразі існує велике різноманіття методів створення мікрокосмів (Руденко С.С., Костишин С.С., Ситнікова І.О., 2006). Вони можуть бути як наземного, так і водного типу, а вартість їх коливається від кількох центів до сотень доларів США. Більше того, використання мікрокосмів у дослідженнях вже давно стандартизоване (Ecological Effects Test Guidelines: Site-Specific Aquatic Microcosm Test, Laboratory, 1996) і популярне на Заході.

Втім, на теренах України така практика з певних причин мало поширена. Навіть автори (Гандзюра В.П., 2003; Гандзюра В.П., Грубінко В.В., 2008), які активно розвивають думку про те, що центральним об'єктом дослідження екології є саме екосистеми, більшу частину власних досліджень проводять на біосистемах організменого рівня, таким чином вимушено залишаючись на рівні розуміння екології Геккелем. Ми в жодному разі не нівелюємо справді високого значення досліджень названих вище авторів, проте вважаємо, що подальші дослідження українських вчених-екологів мають проводитися із більш широким застосуванням модельних екосистем-мікрокосмів. Адже саме це дозволить піднести екологію з рівня вчення про виживання організмів у навколишньому середовищі до рівня науки

про екосистеми і фундаментальні процеси, що в них відбуваються.

На нашу думку, слід обов'язково використовувати мікрокосми і в галузі викладання екології у школах та ВНЗ. Лише екосистемна парадигма, покладена в основу цього, здатна покласти край хаосу, пов'язаному з надмірною поширеністю мерологічного підходу в науці. Програми нормативних курсів мають ґрунтуватися на екосистемній парадигмі, тому центральне місце у викладання екології слід відвести вченню про екосистеми, а на прикладі різноманітних екосистем (у першу чергу, мікрокосмів) показати, як «працюють» загальні закономірності функціонування екосистем (Гандзюра Л.А., Калита В.С., Серебренников Б.А., 2010).

### **Сорока Т.**

#### **РІЧНА ДИНАМІКА ВМІСТУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ВОДІ Р.ЗБРУЧ**

*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка*

*вул. М.Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46000, Україна*

*e-mail: tan.soroka2010@yandex.ua*

Природні води значною мірою використовуються для господарських і виробничих потреб. Внаслідок цього у водоймах порушується екологічна рівновага. Крім того, що відбувається втручання в перебіг природних процесів у водоймах, вони ще й значною мірою забруднюються різними токсикантами, до яких належать і сполуки важких металів. Унаслідок цього досить гостро постає питання моніторингу стану водних об'єктів, як у глобальному, так і в регіональному масштабах.

Нами досліджено вміст важких металів (Zn, Mn, Fe, Cu, Pb, Co, Ni, Cd) та простежено його річну динаміку (квітень 2009 – березень 2010 рр.) у воді р. Збруч (в межах м. Волочиськ Хмельницької обл.), яка є лівою притокою р. Дністер. Вміст металів визначали після концентрування води на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 М1 з використанням відповідних детекторів на кожен з досліджуваних металів.

Вміст цинку на початку дослідження (квітень 2009 р) становив 0,0071 мг/дм<sup>3</sup>, поступово зменшувався до 0,0016 мг/дм<sup>3</sup> у вересні, а протягом наступних місяців зменшився настільки, що було виявлено лише його сліди. Вміст марганцю у квітні становив 0,0049 мг/дм<sup>3</sup>, дещо збільшився у травні – 0,006 мг/дм<sup>3</sup>, у червні-липні зменшився до 0,0011 мг/дм<sup>3</sup> та підвищився у серпні-вересні до 0,0026 мг/дм<sup>3</sup>, протягом наступних місяців, як і у випадку з Zn, у воді було виявлено лише сліди Mn. Вміст заліза у квітні становив 0,0098 мг/дм<sup>3</sup>, у травні спостерігалось його значне зростання до 0,0222 мг/дм<sup>3</sup>, а надалі – поступове зменшення протягом наступних місяців, аж до серпня, коли вміст становив 0,0038 мг/дм<sup>3</sup>, вже у вересні він знову зріс до 0,0112 мг/дм<sup>3</sup>, і, як у випадку з Zn та Mn, у наступні місяці у воді виявлено лише сліди Fe. Вміст міді у квітні був на рівні 0,0074 мг/дм<sup>3</sup>, у наступні місяці не виявлено чіткої спадаючої чи зростаючої динаміки до вересня, коли концентрація металу різко збільшилась до 0,01 мг/дм<sup>3</sup>, а протягом наступних місяців зменшувалась до показника 0,0016 мг/дм<sup>3</sup> у грудні, а потім поступово зросла до 0,0026 мг/дм<sup>3</sup> у березні. Вміст свинцю у квітні досягав 0,0065 мг/дм<sup>3</sup>, далі динаміка мала флюктуаційний характер до серпня-вересня, коли вміст металу збільшився і становив 0,0132 мг/дм<sup>3</sup>, у жовтні мало місце деяке зменшення його вмісту – до 0,0108 мг/дм<sup>3</sup>, а вже протягом наступних місяців концентрація збільшилась до 0,0274 мг/дм<sup>3</sup> у лютому і зменшилась у березні до 0,0258 мг/дм<sup>3</sup>. Щодо вмісту кобальту, то у квітні було виявлено лише його сліди, у травні він становив 0,0038 мг/дм<sup>3</sup>, в червні – 0,0043 мг/дм<sup>3</sup>, у наступні три місяці концентрація металу знову знизилася до слідових кількостей, а вже у жовтні було виявлено 0,0035 мг/дм<sup>3</sup>, протягом наступних місяців вміст поступово збільшувався до 0,0141 мг/дм<sup>3</sup> у березні. Вміст нікелю на початку дослідження становив 0,0056 мг/дм<sup>3</sup>, різко збільшився до 0,0385 мг/дм<sup>3</sup> у червні й також різко знизився до 0,0015 мг/дм<sup>3</sup> у липні, а надалі не спостерігається визначеної тенденції в бік збільшення чи зменшення, у березні концентрація Ni становить 0,0072 мг/дм<sup>3</sup>. Протягом усього періоду дослідження концентрація кадмію була невисокою –

менше 0,0001 мг/дм<sup>3</sup>, за винятком червня, коли вона досягла рівня 0,0003 мг/дм<sup>3</sup>.

Проаналізувавши динаміку вмісту важких металів у воді р. Збруч, варто зауважити відсутність спільної для всіх металів сезонної динаміки. Виняток становлять цинк і залізо, для яких простежується зменшення концентрації у воді протягом вегетаційного періоду, що пояснюється їх важливим значенням у перебігу фізіологічних процесів у водних організмах (Романенко, 2001). Щодо інших металів, то, очевидно, поясненням такої динаміки їх вмісту є ряд інших закономірних і випадкових факторів (Федоренко і ін., 2006).

### **Степанчук І.**

#### **УТИЛІЗАЦІЯ ДИМОВИХ ГАЗІВ МІКРОВОДОРОСТЯМИ ДЛЯ ВИРІШЕННЯ ЕКОЛОГІЧНИХ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОБЛЕМ**

*Національний технічний університет України „Київський політехнічний інститут”*

*пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна*

*e-mail: nebus@ukr.net*

Об’єкти теплової енергетики, які в переважній більшості працюють на твердому паливі, є на даний момент найбільшими джерелами забруднення атмосферного повітря. Відомі шляхи утилізації вуглекислого газу як сировини для хімічної промисловості, але їх використання веде до додаткового антропогенного навантаження на природне середовище.

Мікродорості у процесі виробництва енергоносіїв (біодизелю, біоетанолу, біоводню та біогазу) перетворюють викиди вуглекислого газу з проблеми у фактор прибутку. У їх конструктивному метаболізмі головна роль належить вуглецю, який вони, як і інші фототрофні організми, отримують головним чином шляхом фіксації CO<sub>2</sub> (Золотарьова, 2008). Проте низький вміст вуглекислого газу є фактором, що обмежує інтенсивність процесу фотосинтезу і накопичення біомаси водоростей. Дефіцит CO<sub>2</sub> – більш серйозна проблема, ніж нестача елементів мінерального живлення.

Покрити дефіцит CO<sub>2</sub> можливо за рахунок використання штучних джерел. При виборі альтернативного джерела пропонується використовувати димові гази, що утворюються при спалюванні мінерального палива, твердих побутових відходів або інших речовин. Для економічної ефективності доцільно будувати фотобіореактори з мікродоростями безпосередньо поблизу джерел утворення вуглекислого газу (наприклад, ТЕЦ), при цьому надлишкове тепло спрямовується на підтримання температурного режиму культивування у фотобіореакторі. Залежно від режиму роботи печі, конструкції палиника, кількості кисню склад димових газів може змінюватися. Середній вміст CO<sub>2</sub> перебуває в межах 5–11 % (Сидельковский, 1988). Використання димових газів для подачі у фотобіореактор можливе лише при повному очищенні його від токсичних газів (оксиди азоту та сірки). Але можливе перетворення цих оксидів на солі і подальше їх використання як поживне середовище при культивуванні водоростей.

При достатньому забезпеченні елементами мінерального живлення подача CO<sub>2</sub> у воду збільшує приріст біомаси до 80%, час подвоєння скорочується в 1,5–2 рази. За добу отримується 500 мг сухої біомаси на 1 м<sup>2</sup> поверхні фотобіореактора, що в кілька разів вище, ніж при звичайному способі вирощування мікродоростей (Yusuf Chisti, 2007). Використання вуглекислого газу – це ефективний інструмент управління процесом фотосинтезу. Наприклад, підвищення концентрації CO<sub>2</sub> до 2–5% з легкістю компенсує нестачу освітлення. Натомість збільшення концентрації цього газу у воді знижує вміст нітратів у мікродоростей.

У промисловому варіанті функцію фотобіореактора може виконувати спеціально спроектований басейн або інше водоймище. Можливо також використання фотобіореакторів трубчастого типу.

Залежно від виду водоростей, району та умов вирощування водорості продукують від 50 до 60% ліпідів від маси, які використовуються для одержання біодизелю. Крім того, побічні продукти, такі як жмих з водоростей і карбогідрати, можуть бути продані або перероблені на інші енергоносії і принести додатковий прибуток.

Таким чином, привабливість даної технології в тому, що димові гази можна отримувати протягом усього року. Основна вимога до процесу піролізу – працювати у постійному режимі, забезпечувати повне згоряння решток або палива, тим самим підтримуючи тепловий режим фотобіореактора. А найголовнішим є те, що при цьому зменшуються викиди вуглекислого газу в атмосферу, який, як відомо, є парниковим газом і високотоксичною сполукою.

### **Сусли Т., Марченко О.**

#### **ЗЕЛЕНІ ВОДОРОСТІ ЯК АЛЬТЕРНАТИВНЕ ДЖЕРЕЛО В ЕНЕРГЕТИЦІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: anatoij@svitonline.com*

Серед рослинних організмів, що здійснюють унікальний процес запасаєння сонячної енергії в органічних продуктах фотосинтезу, водорості займають особливе місце. Саме вони є первинними продуцентами органічної речовини у водах Світового океану та прісних водоймах, до того ж річна продуктивність морських водоростей перевищує продуктивність усієї наземної рослинності, включно з сільськогосподарськими насадженнями.

Об'єктом наших досліджень були альгологічно чисті культури зелених водоростей (Chlorophyta): *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. IBASU-A270, *Chlorella vulgaris* Beijer. CСAP-211/11b (IBASU-A197), *Selenastrum gracile* Reinsch IBASU-A317. Ця група водоростей відрізняється найбільшим вмістом білків – 40-45%, вуглеводів – 30-35%, до їх складу входять бікарбонатні кислоти, аланін, алгінін, лептин тощо. Крім того, їх клітини є природними продуцентами жирів, або ліпідів (понад 10%), які можуть бути перероблені на біодизель, тобто пальне, що виготовлене з біологічної сировини — замітник звичайного дизельного пального з нафти. На базі цього можуть створюватися новітні екобіотехнології, які є альтернативним напрямом в отриманні екологічно чистих і відновлюваних джерел енергії.

Нами встановлено, що за умов лабораторного культивування водоростей на середовищі Фітцджеральда у модифікації А.Цендера і П.Горема №11 (Сіренко, Сакевич, Осіпов, 1975), найбільшу відносну швидкість росту мала *Chlorella vulgaris* – 0,36 мг/дм<sup>3</sup> за добу, а у інших культур, що досліджувалися (*Desmodesmus armatus* і *Selenastrum gracile*), цей показник відповідно становив 0,21 і 0,16 мг/дм<sup>3</sup> за добу.

Слід відзначити, що у фільтратах 10–15-добових культур водоростей виявлено лише сліди низькомолекулярних жирних кислот, тоді як у виділеннях молодих культур водоростей вони містяться в більшій кількості. Так, максимальна кількість жирних кислот 8,9% на суху біомасу у культурі *Chlorella vulgaris* виявлена на 3 добу росту, в той час як на 10 добу цей показник становив менше 5%. Ці зміни, на нашу думку, пов'язані з окисленням жирних кислот. На фазі інтенсивного росту водоростей цей процес мінімальний, тобто спостерігається максимальна антиокислювальна активність, яка при старінні водоростей зменшується. Зі збільшенням клітинного розпаду органічних речовин відносний вміст ліпідів збільшується, а відповідно кількість білків і вуглеводів зменшується. Для ліпідів характерна найменша швидкість розщеплення. У наших дослідженнях максимальна кількість ліпідів 14,5% виявлена у *Selenastrum gracile*, таким чином вона серед досліджених лабораторних культур є найбільш перспективною для отримання біодизелю.

Вже відомо, що водорості теоретично здатні перетворювати 10% сонячної енергії, яка може бути використана на виробництво біопалива. Для порівняння: на отримання кукурудзяного етанолу використовується лише 0,05% перетвореної енергії. Водорості можна культивувати у спеціальних резервуарах - біореакторах або в штучних водоймах, які займатимуть набагато меншу площу, ніж поширені «біопаливні» сільськогосподарські культури. Таким чином, звільняються значні площі родю-



чих земель, що можуть бути використані для вирощування основних харчових сільськогосподарських культур. У той же час екстракція жироподібних речовин з водоростей технологічно набагато простіша, ніж у вищих судинних рослин, які мають міцну целюлозну оболонку. При цьому немає необхідності здійснювати переробку органічних жирів як проміжного етапу. Отже, біоінженерія мікроросточей є економічно вигідним напрямом для виробництва безпосередньо біопалива, а також перспективним екологічним напрямом досліджень.

### Тагунова Є.

#### МН ТА РВ В ЛІСОВИХ ЕДАФОТОПАХ ПРИСАМАР'Я ДНІПРОВСЬКОГО

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара*

*вул. Казакова, 10, м. Дніпропетровськ, 49044, Україна*

*e-mail: zapisky@bk.ru*

Незважаючи на той факт, що вміст мікроелементів у живих істотах не перевищує 1·10<sup>-2</sup>%, відомо, що вони відіграють важливу роль у нормальному перебігу фізіологічних процесів, виступаючи кофакторами багатьох ферментів. Відповідно до цього дефіцит мікроелементів викликає серйозні порушення у функціонуванні живих організмів. Проте і надмірне надходження до організму навіть життєво необхідних мікроелементів може спричинити важкі отруєння та патологічні зміни. Природним джерелом мікроелементів для рослин, тварин і людини є ґрунт. Разом із цим, унаслідок антропогенного накопичення і трансформації сполук мікроелементів, ґрунт як підсумковий компонент біогеоценозу може являти собою реальну загрозу для його існування (Фоновий вміст, 2003). У зв'язку з цим важливим є вивчення закономірностей вмісту та розподілу елементів в едафотопі, зокрема розкриття взаємозв'язків між вмістом мікроелементів та фізико-хімічними параметрами ґрунтів із перспективою залучення отриманих результатів до розробки шляхів регулювання мікроелементного складу ґрунту.

Мікроелементи Mn і Pb за ступенем можливого негативного впливу на ґрунт, рослини, тварин та людину належать до двох полярних класів небезпеки: Mn – до III (малонебезпечні важкі метали), Pb – до I (високонебезпечні важкі метали) (Охорона ґрунтів, 2004). Mn являє собою широко розповсюджений у земній корі біогенний мікроелемент, Pb – малопоширений елемент, один із пріоритетних забруднювачів довкілля. Метою даної роботи було дослідити закономірності вмісту Mn та Pb у ґрунтах лісових біогеоценозів Присамар'я Дніпровського, зокрема кореляційні зв'язки між фізико-хімічними властивостями та концентрацією цих мікроелементів у ґрунті.

Об'єктами дослідження було обрано ґрунти таких лісових насаджень: природної липово-ясеневі діброви центральної заплави та природного сухуватого бору на арені, розташованих на території Присамарського міжнародного біосферного стаціонару (с. Андріївка, Новомосковський район Дніпропетровської області) в межах долинно-терасового ландшафту. У роботі застосовувалися загальноприйняті методики відбору й обробки проб ґрунту, визначення фізико-хімічних властивостей ґрунту; вміст рухомих форм важких металів у ґрунті досліджувався методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії, як екстрагент використовували амонійно-ацетатний буфер. Отримані результати опрацьовували за допомогою методів варіаційної статистики з використанням програми Ms Excel 2003, 2007; прийнятий рівень значущості – 0,05.

Були розраховані коефіцієнти кореляції між вмістом гумусу, вмістом фізичної глини, сухим залишком та рН водної витяжки, гідролітичною кислотністю, ємністю поглинання та вмістом у досліджених ґрунтах Mn та Pb. Виявлено, що вміст рухомих форм Mn у заплавно-лучно-лісовому ґрунті липово-ясеневі діброви найбільш сильно корелює із вмістом гумусу та рН водної витяжки ґрунту (коефіцієнти кореляції  $r$  дорівнюють 0,60 – для обох випадків, кореляція оцінюється як середня), вміст рухомих форм Pb у цьому ж ґрунті найбільше корелює із вмістом фракції фізичної глини ( $r = 0,89$ ), ємністю поглинання ( $r = 0,89$ ), рН водної витяжки ґрунту ( $r = 0,78$ ) та відсотком гумусу у ґрунті ( $r = 0,77$ ) – кореляційні зв'язки середні. Вміст рухомого Mn у дерново-боровому ґрунті має сильний

кореляційний зв'язок і з сухим залишком ґрунту ( $r = 0,91$  – дуже висока кореляція) та гідролітичною кислотністю ( $r = 0,87$  – висока кореляція), вміст рухомого Рb тут найбільше корелює із рН водної витяжки ґрунту ( $r = -0,93$  – дуже висока від'ємна кореляція) та вмістом гумусу ( $r = 0,87$  – дуже висока кореляція). Результати дослідження можуть бути використані для підбору порід під час створення лісових насаджень у степовій зоні.

### **Тищук Н., Постоєнко О.**

#### **ВПЛИВ АБІОТИЧНИХ І БІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ НА ФІТОВІРУСОЛОГІЧНИЙ СТАН АГРОЦЕНОЗІВ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ НА МЕЖІ ЖИТОМИРСЬКОЇ І ВІННИЦЬКОЇ ОБЛАСТЕЙ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна*

*e-mail: Nataalka-1989@ukr.net*

Оскільки шляхи автотранспортного сполучення будь-якого навантаження є одним із джерел потрапляння ксенобіотиків в екосистеми, ми розглядали їх як один із елементів абіотичного впливу на агроценози цукрового буряку. За біотичний чинник впливу на останній ми обрали рослини-бур'яни. Як абіотичні, так і біотичні фактори в кінцевому рахунку можуть впливати на біологічні властивості як збудника, так і рослини господаря.

Зразки відбирали з агроценозів цукрового буряку на межі Вінницької та Житомирської областей. Стан рослин діагностували за зовнішніми ознаками або симптомами ураження, які в подальшому були відповідно згруповані. Серологічну діагностику вірусних захворювань проводили методом імуноферментного аналізу в непрямому варіанті за загальноприйнятою методикою.

Аналіз даних по впливу абіотичного фактора показав, що рослини, які зростають поряд з автомагістралями і, ймовірно, отримують більше техногенне навантаження, характеризуються більшим відсотком уражених рослин порівняно з такими, які зростають в місцях, віддалених від шляхів сполучення. Більш того, на наш погляд, ширина і склад лісосмуги, яка відділяє трасу Житомир - Вінниця від промислових насаджень, суттєво зменшує техногенне навантаження і, як наслідок, сприяє більшій стійкості рослин до вірусної інфекції. Поява нових симптомів для наших агроценозів - скручування верхівок листової пластинки та ліycopодібне скручування листків може свідчити про наявність у рослинах недетектованих патогенів, або про вплив фактору, який раніше не враховувався при дослідженні агроценозів цукрового буряку. Це цілком можливо, адже поживлення торговельних і економічних відносин з більшістю європейських країн, а саме імпортування насінневого матеріалу, може виявитися джерелом нових для України вірусів.

Аналіз флористичного складу бур'янів показав присутність двох характерних для бурякових полів рослин, які раніше нами не реєструвалися у цих агроценозах, а саме - кучерявець Софії та шавель кучерявий. Це може свідчити про можливість зміни флористичного складу агроценозу, що, у свою чергу, може викликати і появу в подальшому нових вірусів, оскільки більшість бур'янів є також господарями для більшості вірусів цукрового буряку.

Таким чином ми зробили висновок про кореляцію фітовірусологічного стану агроценозів цукрового буряку з їх розташуванням щодо шляхів автотранспортного сполучення різного навантаження. Аналіз змін флористичного складу рослин-бур'янів дав нам змогу припустити, що поява нових вірусів в агроценозах цукрового буряку може бути пов'язана із рослинами-бур'янами та використанням імпортованого насінневого матеріалу.

### **Wrobel A., Osiecka A., Zwolak R.**

#### **IN A DIFFERENT LIGHT: TWO POPULAR SEED TRACKING METHODS COMPARED**

*Adam Mickiewicz University, ul. Umultowska, 89, 61-614 Poznan, Poland*

*e-mail: wrobel\_a1@wp.pl*

Plant recruitment is often strongly influenced by granivorous rodents behavior. Germination may be increased by removing seed from under the mother plants, dispersing and caching, or decreased by seed

consumption. Understanding ecological consequences of the interplay between seed dispersal and consumption requires using effective seed tracking methods. In our study, we compared two commonly used seed tracking methods: seed tagging (seeds marked with plastic tags attached with a thin, 10 cm-long wire) and fluorescent tracking (seeds marked with fluorescent powder and tracked with uv-flashlights). We tracked 768 seeds of European beech *Fagus sylvatica*, half of which were marked with tags and half with fluorescent powder. The seeds were removed by rodents (mostly *Apodemus flavicollis* and *Myodes glareolus*) at similar rates: 50% for tagged and 45% for fluorescent seeds ( $P > 0,05$ ). We were able to find 88% of removed tagged seeds but only 25% of removed fluorescent seeds ( $P = 0,009$ ). The average dispersal distance equaled 140 cm for tagged seeds (range 1-941 cm) and 193 cm for fluorescent seeds (range 5-671 cm). Of the recovered seeds, 76% (tagged) and 41% (uv) were eaten ( $P < 0,001$ ). Summarizing, seed tagging appears to be more effective than fluorescent tracking. However, differences in the fate of removed seeds indicate that the tracking methods may influence rodent behavior.

### **Яковлєва Л., Арнаута О.**

#### **ВПЛИВ ПЕСТИЦИДІВ НА БЕЗПЕКУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПРОДУКЦІЇ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України,*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: alex\_arnauta@mail.ru*

Пестициди – це хімічні речовини, які використовуються як засоби захисту рослин і тварин від шкідливих організмів. Їх широко використовують у сільському господарстві для зменшення втрат урожаю та підвищення якості продукції. В Україні на даний час дозволено до використання близько 300 видів пестицидів. За призначенням пестициди поділяють на групи: для боротьби з бур'янами – гербіциди; з комахами – інсектициди; з гризунами – зооциди; з круглими червами – нематоциди; проти збудників бактеріальних хвороб – бактерициди; проти збудників грибкових хвороб – фунгіциди; для знищення кліщів – акарициди; личинок, гусені та комах – афіциди. Пестициди мають різну хімічну природу і тому їх поділяють на класи (фосфорорганічні, хлорорганічні, препарати міді, сірки та ін.). Залежно від ступеня небезпечності для людей і тварин пестициди поділяють на високотоксичні, середньотоксичні та малотоксичні; за нагромадженням у харчових продуктах: надакумулятивні, з вираженою, помірною і слабо вираженою акумуляцією; за стійкістю: дуже стійкі, стійкі, помірно стійкі та малостійкі.

Хімізацію сільськогосподарського виробництва, що інтенсивно розвивається, можна оцінювати з двох позицій – як економічно вигідну і як екологічно небезпечне для довкілля і для самої людини. Не є секретом, що застосування пестицидів часто є ненормованим. Це призводить до того, що у продуктах харчування їх міститься більше, ніж передбачено максимально допустимими рівнями.

Сільськогосподарська сировина та харчові продукти забруднюються пестицидами прямим шляхом під час обробки сільськогосподарських культур, тварин і птиці, зерна, фуражу та інших продовольчих запасів. До непрямих шляхів забруднення харчових продуктів пестицидами відносять: транслокацію їх із ґрунту у рослини (плоди, овочі); забруднення рослин при розпушуванні ґрунту або випаровуванні з нього пестицидів; занесення пестицидів у період обробки на непередбачені площі та у водосховища; використання забрудненої води для повторної обробки рослин; поїння тварин забрудненою водою і використання для них кормів, забруднених пестицидами; обробка лісів та лісонасаджень пестицидами, які потрапляють у гриби, дикорослі плоди і ягоди, в організми диких тварин та птахів.

Пестициди мають здатність накопичуватися у продуктах харчування, тому тривале їх споживання є дуже небезпечним. При гострому отруєнні пестицидами виникає головний біль, запаморочення, втрата апетиту, нудота, біль у животі, м'язях, кінцівках, підвищення температури та ін. Крім того, близько 90% усіх фунгіцидів, 60% гербіцидів і 30% інсектицидів є канцерогенами.

Тому контроль за використанням пестицидів, їх зберіганням, утилізацією та вмістом у харчових продуктах є, без перебільшення, завданням державного масштабу, від реалізації якого багато в чому залежить здоров'я нації.

### **Замай О., Чудайкін Е.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ОЧИЩЕННЯ ПРОБ ВОДИ Р.СТРИЖЕНЬ ЗА ДОПОМОГОЮ БІОПРЕПАРАТУ «ПОНД ТРІТ»**

*Національний технічний університет України "КПІ",  
пр. Перемоги, 37, м. Київ, Україна  
e-mail: inkeys@mail.ru*

Важливим показником якісного стану річкових вод є кількість у воді біогенних речовин, зокрема сполук Нітрогену (наявність Нітрогену амонійного свідчить про анаеробні умови формування хімічного складу води і про її незадовільну якість, нітритного – про потенціальну токсичність води і її канцерогенність), сполук Фосфору. Тому для оцінки ефективності очищення води р. Стрижень, що є правою притокою р. Десна, було обрано визначення гідрохімічних показників її води до і після застосування біопрепарату.

Біопрепарат Понд Тріт містить (6-12) видів природних і факультативних мезофільних природних мікроорганізмів аеробів, науково відібраних (не генетично модифікованих) мікроорганізмів, підібраних для швидкого розкладання біомаси (шламу) і споживання поживних речовин, включаючи нітрати і фосфати. Мікроби в біопрепараті Понд Тріт суворо сапрофітні, тобто розкладають тільки неживі та мертві матеріали, для цих бактерій основним джерелом енергії життєдіяльності є вільна органіка у воді і донних відкладеннях водоймища. Це штучно створений мікробіологічний консорціум природних мікроорганізмів-гідробіонтів, одержаних у результаті виділення і порівняльного аналізу мікробіоти з екосистем здорових і евтрофованих водойм.

Під час дослідження вихідних проб води з р. Стрижень фіксується перевищення ГДК для водойм рибогосподарського призначення II категорії по амонію сольовому в 3,8 разу, нітридах в 1,2 разу і заліза загального у 2 рази, виявлено високий вміст зважених речовин, біогенних елементів, синьо-зелених водоростей та донного осаду (Чудайкін Е., Замай Ж., 2010 р). До 5 л води р. Стрижень протягом п'яти тижнів вносилося відповідно по 1,50; 1,00; 0,50; 0,25; 0,15 г досліджуваного біопрепарату.

Зміни при візуальному спостереженні почалися вже через 2 тижні з початку обробки води біопрепаратом: спочатку відбулась коагуляція грубодисперсного осаду на дні посудини; зникли неприємні запахи. Протягом 3-го тижня осад згрупувався на дні та повністю осів, завислі частинки також осіли на дно посудини. На 4-й тиждень збільшилася прозорість води, знизився рівень донного осаду. На 5-ий тиждень вода стала більш прозора, донний осад почав розчинятися та значно збільшилася кількість ракоподібних і водних комах майже у всіх досліджуваних пробах води, змінився колір води з сіро-зеленого до прозорого; більшість маси синьо-зелених водоростей розкладалася та перетворилася в незначний біологічний осад, який є кормом для живих водних організмів.

У результаті порівняння визначених гідрохімічних показників води р.Стрижень до і після використання біопрепаратів були одержані такі результати: після внесення «Понд Тріт» відбулось суттєве зниження вмісту фосфатів (у 4,3 разу), заліза загального (у 3,5 разу). Майже втричі знижуються показники ХПК, вмісту нітриту, нітратів, сульфатів, хлоридів, а також завислих речовин; вміст амонію сольового знижується майже у 2 рази, лужність води зменшується в 1,3 разу.

Проведені дослідження дають змогу стверджувати, що біопрепарат «Понд Тріт» продемонстрував високу ефективність очищення природних вод. Із всіх методів оздоровлення малих річок біологічне очищення дає змогу відновити біохімічне самоочищення за рахунок штучного відновлення видового складу корисної мікрофлори багатократним збільшенням концентрації корисних мікроорганізмів у

водоймищі, що в багато разів активізує процеси самоочищення, прискорюючи відновлення біологічної рівноваги.

### Злацький І.

#### ВПЛИВ ІОНІВ НІКЕЛЮ НА ЕМБРІОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК РИБ

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна*

*e-mail: zlatskiy@ukr.net*

Дослідження впливу сполук важких металів на водні організми є актуальним завданням сучасної екології. Найбільш чутливими до забруднення водойм і якості водного середовища є ембріони, личинки та молодь риб. Шкідливий вплив сполук важких металів на ранніх стадіях їх розвитку може призвести до зниження життєвих функцій як окремого організму, так і в популяції чи угрупованні.

Метою нашої роботи було дослідження впливу різних концентрацій іонів нікелю ( $\text{Ni}^{2+}$ ) на ембріональний розвиток риб.

Досліди проводили на ембріонах риб виду *Danio rerio* (Hamilton, 1822). Для встановлення летальних, сублетальних та безпечних концентрацій у дослідженнях використовували концентрації іонів  $\text{Ni}^{2+}$ , кратні рибогосподарським гранично допустимим. Спостереження проводили за стандартною методикою ембріотоксикологічних досліджень (Nagel R., 2002). Дослідні ембріони перебували під постійним спостереженням протягом 72 годин від моменту початку впливу іонів  $\text{Ni}^{2+}$  у певній концентрації.

У результаті досліджень показано, що за дії нікелю у концентрації 1 мг/л токсична дія виявлялася вже після 5 годин від початку досліду, а після доби експозиції спостерігалася 100% загибель всіх ембріонів. За концентрації нікелю 0,1 мг/л токсична дія спостерігалася після першої доби. Поступово до кінця експерименту ми спостерігали летальну дію іонів нікелю у цій концентрації. Наприкінці досліду залишилося менше 20% живих ембріонів, які мали помітні порушення пігментації. За концентрації іонів нікелю 0,01 мг/л токсична дія, яка б приводила до летальних наслідків протягом першої доби не спостерігалася. Слід відзначити, що за цієї концентрації на всіх стадіях у живих ембріонів спостерігалися відхилення від нормального розвитку (повільний розвиток, не відділення хвоста, порушення серцебиття, порушення пігментації), що свідчить про сублетальну дію токсиканту. На другу добу виживаність ембріонів зменшувалася на декілька десятків відсотків і до кінця досліду сягнула позначки 60% живих ембріонів. Наші дослідження показали, що найбільш безпечною концентрацією іонів нікелю є 0,001 мг/л. За цієї концентрації було відзначено найбільшу виживаність ембріонів, причому не було виявлено сублетальних проявів протягом усього експерименту. Найбільша виживаність та нормальний розвиток спостерігалися у групі контрольних риб, де смертність ембріонів не перевищувала 10%, що є в межах нормального розподілу.

Отже, на прикладі ембріонів *Danio rerio* нами було показано, що іони нікелю можуть чинити значний токсичний ефект на ембріогенез риб. У результаті досліджень встановлено летальні концентрації іонів нікелю, які лежать у межах від 1 мг/л і більше та призводять до 100% смертності ембріонів. Показано, що сублетальні концентрації, які перебувають у межах від 0,1 мг/л до 0,01 мг/л призводять до загибелі половини ембріонів, чи морфологічної зміни в їх розвитку. Найбільш безпечною визначено концентрацію нікелю – 0,001 мг/л, за якої спостерігалася найменша летальна дія токсиканта.

**ЗООЛОГІЯ / ZOOLOGY****Рогуля А.****МІГРАЦІЯ ТА ЗИМІВЛЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ МАРТИН НА ПІВНОЧІ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: Avosetta@ukr.net*

Основними завданнями роботи було виявити основні місця скупчень мартинів під час зимівлі на півночі Львівської області, дослідити динаміку їх чисельності під час міграції у заказнику "Чолгинський" Яворівського району Львівської області, який є моніторинговою площадкою обліків мартинів, проведених протягом 1995-2009 рр. На водосховищі Добротвірської ТЕС, що розташоване на відстані близько 50 км на північний схід від Львова, провели спостереження за зимівлею мартинів. Для збору інформації використовували метод маршрутних обліків, описаний А. П. Савченком (Савченко, 1991). Для опрацювання облікових даних використовували методику Буссе (Busse, 2000), яка передбачає поділ року на пентади (5-денні відрізки часу) і в кінцевому результаті підрахунок середньої та максимальної кількості птахів на прольоті в кожному з пентад.

У межах досліджуваного регіону здійснюють міграції 6 видів роду *Larus*, а саме: мартин звичайний (*Larus ridibundus* L.), жовтоногий (*Larus cachinnans* Pallas), сивий (*Larus canus* L.), малий (*Larus minutus* Pallas), чорнокрилий (*Larus fuscus* L.) і каспійський (*Larus ichthyaetus* Pall.). Мартин звичайний є одним із найчисельніших мартинів Західної України. Літньо-осіння міграція особин виду починається наприкінці серпня - на початку вересня і триває до кінця жовтня - листопада. Їй притаманні три піки, які припадають на 48, 51-52 та 59-60 пентади (тобто на кінець серпня, другу декаду вересня і третю декаду жовтня). Мартин жовтоногий, один із звичайних видів фауни Західної України, подекуди численний. Осінній відліт особин виду починається в останніх числах серпня - на початку вересня і характеризується подібними тенденціями, що й притаманні міграції мартина звичайного (три піки, у 48, 54 та 61 пентадах). Мартин малий виступає нечисленним мігрантом. Пролітні зграї та поодинокі особини відмічені, на досліджуваній території з початку серпня до кінця жовтня, а їх чисельність сильно коливається з року в рік. У роки з інтенсивнішим прольотом відзначали два піки - у першій та другій декадах серпня. Серед морських видів цього роду найчисельнішим був мартин сивий. Міграції особин цього виду мають періодичний характер з двома піками - наприкінці серпня та наприкінці жовтня. Чорнокрилого та каспійського мартинів в досліджуваному регіоні спостерігали спорадично і в малій кількості (переважно поодинокими особинами).

Обліки зимуючих мартинів проводилися головним чином на Добротвірському водосховищі протягом 2009-2010 рр., де було обліковано 397 мартинів звичайних. Упродовж усієї зими на водоймі одночасно трималося в середньому 35 (31-40) особин цих птахів. Для зимівлі мартинів, на півночі Львівщини, сприятливим місцем є тепла водойма-охладжувач Добротвірської ТЕС. Це єдина незамерзаюча водойма регіону, де є можливість добувати корм упродовж всієї зими.

**Сачок О.****РОЛЬ ПТАХІВ У ПОШИРЕННІ НАСІННЯ ЯГІДНИКІВ У ВЕРХНІЙ ЧАСТИНІ ЛІСОВОГО ПОЯСУ ПІВНІЧНОГО МАКРОСХИЛУ ЧОРНОГОРИ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: oksachok@rambler.ru*

Одним із чинників поширення ягідників є профічний аспект життєдіяльності птахів. Встановлено, що ягідники мають особливо важливе значення у живленні птахів. У періоди дозрівання ягід ба-

гато видів птахів відвідують ягідники і живляться плодами цих рослин. Кормова база птахів особливо істотно впливає на кількісний просторовий перерозподіл птахів у літньо-осінній період, а відтак на поширення насіння і відтворення популяцій рослин. За особливостями живлення протягом весни-літа птахів високогір'я Карпат можна поділити на 5 груп: першу групу формують птахи, які живляться переважно безхребетними тваринами (48,8% від усього різноманіття орнітофауни Карпат); до другої групи належать птахи, раціон яких становить безхребетні та насіння і плоди рослин (36,6%); до третьої групи належать птахи, які живляться лише насінням і плодами рослин (4,9%); до четвертої - птахи, які живляться хребетними і безхребетними тваринами (7,3%); п'яту групу становлять птахи, які живляться хребетними тваринами (2,4%) (Сеник, 2004).

Дослідження впливу птахів на поширення насіння ягідників нами були розпочаті у високогір'ї Українських Карпат (північний макросхил Чорногори). Досліджувані ділянки були розташовані в діапазоні висот 1300-1700 м.н.р.м.

Об'єктами досліджень були обрані: чорниця, брусниця, малина, суниця, адже вони є найбільш поширеними у лісах Карпат. Також перелічені види рослин є важливими у кормовому раціоні багатьох видів птахів, зокрема куриних.

Значну частину врожаю ягідних рослин Карпат збирають птахи. Так, птахи поїдають до 20% ягід від загального врожаю (Коновальчук, 2006). Влітку в основному птахи споживають ягоди чорниці і малини, а восени – брусниці і ін.. В міру їх дозрівання птахи перелітають на ці ділянки і живляться ними, при цьому поширюючи насіння рослин на далекі відстані – до 250 м. Існує пряма залежність між величиною кормової бази птахів, зокрема величиною врожаю ягідників та кількістю, видовим різноманіттям і станом популяцій птахів. Чим більша кормова база ягідників, тим більша кількість птахів населятиме даний біотоп.

Основну увагу в поширенні ягідників ми зосередили на куриних птахах, адже у їхньому раціоні найбільше переважають ягідники. Тваринні корми споживають лише пташенята. У наборі кормів куриних є 80 видів рослин. Особливо різноманітний він у весняно-літній період. У цей час у найбільшій кількості поїдається листя, квіти, насіння багатьох трав'янистих і чагарникових рослин. (Флинт, Беме, Костин, 1968). Наприклад, у харчуванні орябка (*Tetrastes bonasia* L.) переважають рослинні корми. На початку літа – це листя малини, суниці і молоде листя чорниці. Існують дані, що курині птахи інтенсивно живляться ще не дозрілими плодами чорниці вже у червні. У раціоні глухаря (*Tetrao urogallus* L.) перше місце посідає чорниця, потім птахи живляться брусницею. Важливим фактом є те, що чорницею живляться навіть молоді пташенята глухаря (63%), а також брусницею і ін.. (по 12%). А.А.Назаров і О.Н.Шубникова вказують на безпосередню залежність чисельності куриних птахів від співвідношення двох величин: площі гніздування і площі, зайнятої ягідниками (Назаров, Лысенко, Молочаев, 1988). Кількісні і якісні показники щодо птахів високогір'я залежать від висоти розташування їх кормової бази над рівнем моря, експозиції і крутості схилу, площ ягідників, гідрологічних умов, рослинного покриву, режиму використання ягідників, які лімітують поширення тих чи інших видів птахів. Зараз ягідники високогір'я Карпат сильно експлуатуються, що негативно впливає на чисельність та видове різноманіття куриних птахів. Крім цього, на сьогодні ще недостатньо повно вивчено кормовий раціон птахів, зокрема таких, які живляться насінням рослин.

### **Яворський І. П., Федияк М. Л.**

#### **ПРІСНОВОДНІ МОЛЮСКИ – ПРОМІЖНІ ЖИВИТЕЛІ ЛИЧИНОК ТРЕМАТОД РІЧОК ДНІСТРА ТА ВИШЕНЬКИ САМБІРСЬКОГО РАЙОНУ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Кафедра зоології, Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

Важливою групою тварин у водоймах є прісноводні молюски, які займають одне з чільних місць у складних біоценотичних зв'язках у континентальних водоймах. Вивчення фауни та

особливостей екології прісноводних молюсків проводили у весняно-літньо-осінні періоди 2008-2010 рр. на околицях таких населених пунктів, як Колбаєвичі і Чайковичі Самбірського району Львівської області. Перед нами були поставлені такі завдання: дослідити видовий склад прісноводних молюсків річок Дністер і Вишеньки в околицях села Колбаєвичі та Чайковичі; вивчити наявні екологічні чинники, які впливають на поширення прісноводних молюсків; встановити видове різноманіття трематод у домінуючих видів молюсків досліджених територій; дослідити характер динаміки інвазії молюсків личинками трематод.

Збір прісноводних молюсків проводили згідно з методикою В.І. Здуна (1957). Всього обстежено близько 670 екземплярів прісноводних молюсків. Виявлено 6 видів прісноводних молюсків: п'ять – з класу червононогих (Gastropoda) – Ставковик звичайний (*Lymnaea stagnalis*), Ставковик вушко видний (*L. auricularia*), Ставковик малий (*L. truncatula*), Витушка звичайна (*Planorbis planorbis*), Рогова живородка (*Viviparus contectus*); один – із двостулкових (Bivalvia) – Беззубка звичайна (*Anodonta cygnea*). Домінуючими видами молюсків виявилися: Савковик звичайний, Витушка звичайна та Беззубка звичайна.

В результаті паразитологічного дослідження прісноводних молюсків нами було зареєстровано 7 видів личинок трематоди, які належать до чотирьох систематичних груп (Monostomata – одно присоскові, Echinostomata – ехіностомні, Xiphidocercaria – стилетні, Furcocercaria – вилко хвості).

Слід відмітити, що в проточних водоймах з повільною течією (р. Вишенька) екстенсивність інвазії молюсків личинками трематод, переважно є вища, ніж в водоймах зі значною швидкістю течії (р. Дністер). Швидка течія зменшує імовірність виникнення інвазій.

Особливо показними в цьому відношенні є прибережні зони Дністра та Вишеньки та їх заплави в річках с. Колбаєвичі та с. Чайковичі. Там багато диких і водоплавних птахів, на їх берегах майже повсюдно випасалася велика рогата худоба. Тому концентрація інвазії, особливо в прибережній смузі досягала високого рівня. Досить значною вона була і в низці малих водойм на пасовищах.

Фауна прісноводних молюсків у видовому та кількісному відношенні на обстежуваних територіях розподілена нерівномірно. Найбільше видове різноманіття зареєстроване на р. Дністер в с. Чайковичі - 6 видів. Збіднення малакофауни спостерігається в прибережних частинах р. Вишенько (4 види).

У сезонній динаміці прісноводних молюсків можна виділити два основні максимуми чисельності (весняний і літній), що насамперед пов'язано із сприятливими погодними умовами. Сезонна динаміка інвазії молюсків личинками трематод виражається двома піками інвазії: перший - влітку (липень-серпень), другий - восени (вересень).

### **Яворський І. П., Павлишин О. С.**

#### **МАЛИЙ СТАВКОВИК – ПРОМІЖНИЙ ЖИВИТЕЛЬ ЛИЧИНКОМ ТРЕМАТОД ФАСЦІОЛИ ЗВИЧАЙНОЇ ПАСОВИЩ ГОРОДОЦЬКОГО РАЙОНУ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Кафедра зоології, Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

Малий ставковик є специфічним проміжним живителем фасціоли звичайної, яка спричиняє захворювання овець, великої рогатої худоби, а також людини. Поширення, біологію та екологію малого ставковика вивчали Wąkowski (1882), А.П.Стадниченко (1967), а роль його як проміжного живителя фасціоли – В.І. Здун (1960), Л.Г. Кузьмович (1964), Й.В. Царик, І.П. Яворський (1997) та інші. Метою роботи було дослідити астатичні біотопи малого ставковика, а також фасціольозну ситуацію на пасовищах Городоцького району Львівської області в весняно-літньо-осінні періоди 2008-2010 рр. Досліджували пасовища сіл - Нове Село, Лівчиці, Підзвіринець, Грабіно. Збір матеріалу проводили на постійних і астатичних водоймах басейну річки Верещиця.

Дослідженнями встановили, що за останні роки знизилась частка колективних пасовищ, зменшилось поголів'я худоби та характер їх утримання, сектор господарств змінився від групового (кол-



госпні стада) до індивідуального (фермерські господарства). Зміна погодних умов призвела до того, що астатичні водойми на пасовищах влітку та на початку осені висихають, що негативно впливає на заселення, поширення, ріст і розвиток малого ставковика.

На обстежуваних пасовищах Городоцького району біотопами малого ставковика є астатичні (пересихаючі) водойми, невеликі калюжі та ямки від копит великої рогатої худоби, заплави неподалік водопою. Щільність поселення малого ставковика в заплавах річки Верещиця становить весною 5-7 екз/м<sup>2</sup>, влітку – 13-42 екз/м<sup>2</sup>, восени – 9-14 екз/м<sup>2</sup>. Щільність поселення моллюсків змінюється залежно від типу пасовищ та сезону. В останньому році спостерігали зменшення чисельності малого ставковика. У багатьох біотопах не було відмічено моллюсків, крім порожніх черепашок. Фасціольозну ситуацію на пасовищах Городоцького району характеризували на основі паразитологічних досліджень малого ставковика. У лабораторії зібраних моллюсків обстежували на наявність личинок трематод використовуючи компресорний метод. В результаті паразитологічного обстеження нами зареєстровано два види личинок трематод: *Fasciola hepatica cercaria* Th; *Cercaria limnaeae truncatule* Linst, які належать до двох родин: неозбросні і стилетні.

На основі формули:  $Ext=NyN_3$ , де  $Ny$  - кількість уражених моллюсків,  $N_3$  - загальна кількість зібраних моллюсків, була встановлена інтенсивність інвазії, яка показує, що найбільш небезпечними щодо ураження тварин личинками трематод є період з липня до вересня. На основі наведених результатів можна константувати, що пасовища Городоцького району є сприятливими для заселення малого ставковика. В цілому, в роки з надмірними опадами пасовища у фасціольозному відношенні є небезпечними з липня до вересня, а в посушливі – з кінця липня до жовтня. Фасціольозна ситуація на пасовищах є непостійною, вона досягає небезпечного рівня в дощове літо і в літо наступного року.

### **Савицька А., Тупицька О.**

#### **БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ ГІДРОБІОНТІВ**

*Кафедра біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: olgatup@mail.ru*

Утворення і розвиток статевих клітин в організмі риб і водних тварин відбувається в результаті генеративного обміну. Відносна маса статевих залоз залежить від виду риби і від стадії дозрівання гонад: у преднерестовий період гонади мають максимальну відносну масу.

Співвідношення між масою сполучної тканини та ікринками в яєчнику залежить від стадії їх дозрівання. Наприклад, у горбуші на III стадії розвитку маса гонад на 29,8-48,3% представлена сполучною тканиною і на 51,7-70,2% - ікринками, а на V стадії на частку ікринок припадає вже 77,8-84,9% і на частку сполучної тканини - 15,1-22,2% маси яєчника. Звільнена від ікринок сполучна тканина яєчників містить багато ліпідів.

Вміст ліпідів у сполучній тканині (плівці) яєчників залежить від стадії розвитку гонад: у тихоокеанських лососів по мірі дозрівання ікринок вміст ліпідів у плівках безперервно зменшується, тому що створений в яєчниках під час нагулу запас ліпідів використовується для формування жовткової маси ікринок. Наприклад, у кети сполучна тканина гонад на стадії II-III містить 20-25% ліпідів, а на V стадії - 3,5-8,5%.

Якщо ліпіди плівок тканини за своїми властивостями близькі до ліпідів жовткової маси, то білки плівок нерозчинні у воді і майже цілком складаються з колагену.

У морських савців в яєчниках продукуються кілька статевих гормонів, серед яких найважливішими є фолікулін і прогестерон. У сім'яниках виробляється також кілька чоловічих статевих гормонів і, зокрема, тестостерон і андростерон.

Оболонка ікринок складається з білкових речовин: у вищих риб в основному з колагенів, а у деяких видів і з білків типу кератинів, у пластинчатозябрових з колагену і кератину, у крабів - з хітину і колагену. Так, у камчатського краба в оболонці незаплідненої ікри міститься 3,6-4,2% хітину, а заплідненої - 4,7-8,2%.

Колір ікри обумовлений присутністю ліпохромів і пігментів білкового характеру. Наприклад, червоне і жовте забарвлення ікринок пов'язані з присутністю жиророзчинних пігментів, і зокрема атаксантину (червоний), який розчиняється в ліпідах жовткової маси. Сіре, коричневе і чорне забарвлення обумовлені білковими пігментами меланопротеїдами. Інтенсивність і відтінки забарвлення ікринок специфічні для кожного виду риби і залежать також від зрілості ікри.

Усередині оболонки розташована в'язка жовткова маса, властивості і склад якої специфічні для окремих видів риб. Наприклад, в ікринці тихоокеанських лососів у жовтковій масі поблизу оболонки розташовані досить великі краплі ліпідів, що містять розчинний атаксантин. У осетрових краплі ліпідів в основному розміщені в центрі ікринки, а поблизу оболонки - лише дуже дрібні краплі. У коропових і морських риб жовткова маса в більшості випадків не має ліпідної емульсії.

Жовткова маса є колоїдною системою, компоненти якої: вода - білки - ліпіди - солі знаходяться або у стані золив, або у формі ліпідно-водно-білкових емульсій. У складі жовткової маси присутні також вільні жирні кислоти (0,2-0,4 в еквівалентах молочної кислоти) і глікоген (0,6-1,8%). Вона містить всі необхідні для живлення зародка речовини.

### **Дебелий Я., Серебряков В.**

#### **ОСОБЛИВОСТІ ГНІЗДОВОЇ БІОЛОГІЇ ЛИСКИ *FULICA ATRA* L. НА ТЕРИТОРІЇ ЦЕНТРАЛЬНОЇ УКРАЇНИ**

*Навчально-науковий центр «Інститут біології»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, корп. 12, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: debelyi@gmail.com*

Матеріал, який став основою для написання даної роботи, був зібраний протягом експедиційних виїздів, проведених у Новосанжарському (ботанічний заказник загальнодержавного значення «Малоперещепинський», загальнозоологічні заказники місцевого значення: «Середній», «Мазанка», «Сьомківщина») та Кобеляцькому районах (РЛП «Нижньоворсклянський») Полтавської області у 1998–2010 роках. Для порівняння були також використані дані, зібрані під час експедиційних виїздів на озеро Енгуре (Національний природний парк «Озеро Енгуре», Латвія) в 2005–2007 роках.

Головним об'єктом досліджень став номінативний підвид лиски *Fulica atra atra* Linnaeus, 1758 в умовах центральної частини України. При проведенні досліджень нами були використані загальноприйняті прижиттєві методи вивчення гніздування водоплавних птахів. Всього під нашим постійним контролем, на пробних ділянках було 70 гнізд лиски, які знайдених протягом 1998 – 2010 років.

Приліт лиски на територію Новосанжарського району Полтавської області відбувається в середині–наприкінці березня. За весь час спостережень найбільш рання поява птахів відмічалась нами 18 березня, найпізніша - 28 березня (19.03 – 30.03; m=23.03, n=9). Початок гніздування припадав у 1998 – 2010 рр. на середину квітня – початок травня (19.04 – 6.05; m=25.04, n=41).

Аналізуючи терміни початку відкладання яєць лискою на території Новосанжарського району, можна відзначити, що вони мають дисперсію. Найбільш ранні початкові кладки даного виду відмічались нами на території району спостережень 14 квітня 2009 року. Найбільш пізні – 22 травня 2010 року. Для характеристики гніздування лиски брали до уваги тільки ранні кладки. Найбільша кількість розпочатих кладок фіксувалась нами в третій декаді квітня – 16 розпочатих кладок (39% у 2008-2010 роках; 49% за весь час спостережень 1998-2010 рр.). Температура повітря в цей час, імовірно, здійснює свій вплив,

стимулюючи процес яйцекладки під час потепління, та пригнічуючи при похолоданні. Подібна картина спостерігалась нами на озері Енгуре, де погодні умови навесні є більш нестабільними, ніж в Україні.

Очевидним є той факт, що лиска, прилітаючи на місця гніздування, розпочинає до гніздобудування та яйцекладки не відразу після прильоту, як ми це відмічали на озері Енгуре в Латвії, а через деякий час. Кількість яєць у повних кладках лиски на території району спостережень варіює в межах від 6 до 13, становлячи в середньому  $9,94 \pm 0,63$ ,  $n=65$ .

Період гніздування лиски на території Новосанжарського району з року в рік варіює в межах від 51 до 59 днів, становлячи в середньому 56 днів ( $n=3$ ), в той час як сезон початку гніздування за весь час спостережень становив 61 день (найбільш рання дата початку яйцекладки відзначена в 2001 році – 10 квітня, найпізніша – 9 червня у 2006 році).

Аналізуючи втрату яєць на гнізді в Новосанжарському районі Полтавської області, можна констатувати, що він становив в середньому за весь час спостережень 15,7%. Значну частку втрати кладок становили показники розорення гнізд лунем очеретяним *Circus aeruginosus* та наслідки коливання рівня води, а для озера Енгуре ці показники формувались в основному за рахунок розорення гнізд лунем очеретяним та вороновими птахами (переважно вороною сірою та круком).

### **Фролова Н., Яковенко В.**

#### **ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ТЕМПЕРАТУРИ ТА ЗООПЛАНКТОНУ ВЛІТКУ НА ПРИКЛАДІ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА**

*Кафедра іхтіології та гідробіології*

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара*

*пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010, Україна*

*e-mail: tasmitt@gmail.com*

Найважливіше завдання водної екології – це оцінка стану та прогнозування можливих змін водних екосистем під впливом зовнішніх факторів. Зоопланктон – важлива ланка гідроекосистем, яка відіграє значну роль у трансформації речовин та енергії у трофічних ланцюгах, тому вивчення факторів, що впливають на розвиток та якісний склад планктонних тварин, необхідне для пізнання закономірностей процесів, які відбуваються у гідробіоценозах.

Температура взагалі є першорядним фактором впливу на зоопланктон, який обумовлює сезонну динаміку його кількісних показників на основі позитивної кореляції. Але дискусійним залишається питання щодо характеру дії літньої температури на зоопланктон у водоймах помірних широт. Так, Галінський В. Л. (Галінський, 1988) вважає, що найбільший розвиток зоопланктону припадає на засушливі роки з підвищеною температурою, інші (Рів'єр І.К., 1979) свідчать про те, що у середині літа, у період максимального прогріву водойми, спостерігається деяке зниження кількості зоопланктону, що пов'язане зі зниженням вмісту у воді кисню. Літня депресія розвитку зоопланктону відбувається у період штилевої погоди, максимальної температури, деякого спаду чисельності бактерій та цвітіння синьо-зелених водоростей.

Для розв'язання означеної проблеми були використані ретроспективні дані 70-80х років за період максимального прогріву води (липень та серпень). Крім того, у 2010 р. були відібрані проби зоопланктону з пелагіалі Запорізького водосховища з одночасним заміром температури води. Отримані дані дали змогу висунути припущення про негативний вплив максимальної температури води на зоопланктон. Для перевірки гіпотези ми використали кореляційно-регресійний аналіз, побудувавши матрицю коефіцієнтів парної кореляції (за Пірсоном) з урахуванням видів-домінантів зоопланктону, загальних для минулих років та сучасного періоду.

При порівнянні ретроспективних даних із результатами обробки наших проб виявилось, що в минулому домінуючими видами зоопланктону в літній період були *Euchlanis dilatata*, *Asplanchna priodonta*, *Daphnia cucullata*, *Diaphanosoma brachyurum*, *Chydorus sphaericus*, *Bosmina longirostris*, *Acanthocyclops vernalis*, *Eurytemora velox*, *E. affinis*. Саме ці види визначали розвиток зоопланктону в середині літа, і завдяки

великим розмірам та репродуктивним можливостям цих видів діапазон коливань біомас був дуже великим (від 63 до 7200 мг/л). При обробці наших проб зоопланктону домінуючими видами виявились *Euchlanis dilatata*, *Polyarthra vulgaris*, *Keratella cochlearis*, *Bipalpus hudsoni*, *Thermocyclops oithonoides*, *Chydorus sphaericus*, *Bosmina longirostris*, при цьому значно зросла частка наупліїв веслоногих ракоподібних у загальній чисельності зоопланктону. Домінування малих за розміром видів та присутність лише двох представників гіллястовусих ракоподібних, які розмножуються партеногенетично, пояснюють невеликі коливання біомаси зоопланктону у відібраних пробах (від 42 до 260 мг/л).

Результатом досліджень було встановлення негативної кореляції з температурою як чисельності ( $r = -0,47$ ), так і біомаси зоопланктону ( $r = -0,63$ ). Найнижчі значення розвитку планктофауни були зафіксовані саме в дати з максимальною температурою води (зі значеннями вище 27°C). У таких умовах у пробах було зафіксоване зникнення коловороток та помітне зниження інтенсивності розмноження гіллястовусих ракоподібних. З окремих видів-домінантів вірогідний кореляційний зв'язок був встановлений між температурою та чисельністю *Nauplii Copepoda* ( $r = -0,444$ ), а також чисельністю *Bosmina longirostris* ( $r = -0,4$ ).

Таким чином, залежність чисельності та біомаси зоопланктону від температури води в період максимального прогріву водної товщі водойм помірних широт є обернено пропорційною, що може пояснюватися пригніченням розвитку зоопланктону в умовах високої температури води.

**Bidziński K., Iwińska K., Jankowska-Jarek M., Koziura A., Zapart A.**  
THE BAT FAUNA OF LANDSCAPE PARKS IN GDAŃSK REGION (NORTHERN POLAND)

*Academic Chiropterological Circle of Polish Society for Nature Protection „Salamandra”*

*University of Gdańsk, Department of Vertebrate Ecology and Zoology,*

*al. Legionów 9, 80-441 Gdańsk*

*e-mail: iwinska.karolina@gmail.com*

During the period between 1992 and 2010 the members of Academic Chiropterological Circle in Gdańsk were studying the bat fauna of Pomorze Gdańskie. The scientific research covered the area of Nadmorski, Kaszubski, Wdzydzki, Trójmiejski (Three Cities), Dylewo Hills, Hława Lakeland, “Mierzeja Wiślana” (Vistula Spit) and “Dolina Słupi” (Słupia Valley) landscape parks. Using mist netting, ultrasound detection (Pettersson D-100, D-230, D-980 and D-1000x detectors) as well as surveys of potential summer (bird and bat boxes, buildings) and winter roosts, we identified 14 different bat species living in this territory: *Myotis myotis*, *Myotis dasycneme*, *Myotis daubentonii*, *Myotis nattereri*, *Vespertilio murinus*, *Eptesicus nilssonii*, *Eptesicus serotinus*, *Pipistrellus nathusii*, *Pipistrellus pipistrellus*, *Pipistrellus pygmaeus*, *Nyctalus noctula*, *Nyctalus leisleri*, *Plecotus auritus* and *Barbastella barbastellus*. Astonishingly, the richest bat fauna (11 species) was recorded in Trójmiejski Landscape Park, i.e. the area closest to the large agglomeration of Gdańsk, Sopot and Gdynia cities and under its direct, anthropogenic pressure; however it was composed mostly of old, predominantly beech woodland. The lowest number of species (7) was found in Kaszubski Landscape Park, located far from large cities, covering mostly postglacial lakeland with large water bodies but with much lower proportion of forests. The six commonest species (*Myotis daubentonii*, *Eptesicus serotinus*, *Pipistrellus nathusii*, *Pipistrellus pipistrellus*, *Nyctalus noctula*, *Plecotus auritus*) were recorded in all 8 parks studied. The rarest taxa were: *Eptesicus nilssonii* (only Nadmorski LP), *Myotis myotis* and *Barbastella barbastellus* (two parks), as well as *Myotis dasycneme*, *Vespertilio murinus* and *Nyctalus leisleri* (three parks).

**Jamska K., Jakubiec Z.**

REHABILITATION SUCCESS OF YOUNG BIRDS IN VOGELOPVANCENTRUM IN OOSTENDE

*University of Zielona Góra*

*ul. Prof. Z. Szafrana 1, 65-516, Zielona Góra, Poland*

*e-mail: karolcia-szkola@wp.pl*

Wildlife rehabilitation has quite young history. First official information about it comes from 1920s. The main efforts were put into rehabilitation of oiled birds after oil spills more and more common during last

century. First few decades weren't successful for wildlife rehabilitation. There was not sufficient knowledge about anatomy, physiology, pathology and requirements of dozens of species admitted every year by centers all around the world. Full bloom of rehabilitation research came in 1970s and 1980s. In that time a lot wildlife rehabilitation centers came into existence and they have improved their skills every year. After all these years knowledge is still not sufficient. We still don't have right food and medicine for every species. We still have to test new supplements to make wildlife rehabilitation more and more successful.

Vogelopvangcentrum in Oostende is one of European wildlife rescue centers with typical history. They started in 1984 helping oiled birds on Belgian coast. First effects were not enough successful but during next years they improved being more and more professional. Consequently, now they release more than 40% of admitted animals. The main groups of rehabilitated animals are birds and in these, significant group are young ones. Process of rehabilitation of young birds is different than adults mainly because of different cause of admission. The aim of our studies was to check how successful is rehabilitation of this group of animals and how big influence it has on general statistics of the Vogelopvangcentrum.

**Ковальчук Ю., Тупицька О., Курбатова І.**  
**ВИЖИВАНІСТЬ ДАФНІЙ ПІД ДІЄЮ АМОНІЮ**

*Кафедра біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: olgatur@mail.ru*

Забруднення водних об'єктів відходами тваринництва відбувається за рахунок недостатнього очищення стічних вод, аварійних викидів, поверхневого стоку атмосферних опадів з території тваринницьких господарств і потребує оцінки існуючої і потенційної небезпеки змін, що відбуваються у водних екосистемах під впливом токсичних чинників.

Для моніторингу якості водного середовища та оцінки токсичності забруднювальних речовин дедалі більшого значення набуває метод біотестування, який у поєднанні з методами визначення гідрохімічного складу води дозволяє дати оцінку змінам, що відбуваються у водній екосистемі за умов антропогенного впливу (Юровицкий Ю.Г., 1993).

Метою роботи було визначення токсичності забруднень стічних вод свинарських підприємств і вивчення впливу деяких чинників на культивування тест-об'єктів - використовували планктонних ракоподібних *Daphnia magna*.

Лабораторну культуру *Daphnia magna* вирощували у відстояній воді при регулярній підгодівлі кінським гноєм (1,5 г/л кожні 7 діб). Вивчення впливу забруднень стічних вод на лабораторну культуру *Daphnia magna* проводили в умовах гострих експериментів протягом 3 діб. За показник токсичності стічних вод слугувала концентрація амонійного азоту ( $\text{NH}_4^+$ ) визначення якого проводили за [ISO 10523:1994]. Розрахунок концентрації робочих розчинів проводили на початку досліду. Для встановлення меж концентрацій токсиканту було досліджено 3 рівні амонійного азоту ( $\text{NH}_4^+$ ): 4,0 мг/л (1), 8,0 мг/л (2), 40,0 мг/л (3). В якості контролю використовували розчин  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Досліди проводили у трьох повторностях для кожної із досліджуваних концентрацій токсиканту при температурі 21-25 °C та при освітленні лампами ДС-30. Загальний об'єм розчину становив 300 мл.

Встановлено, що за час тридобової експозиції втрати води становили:  $6 \pm 0,5\%$  (при об'ємі 500 мл),  $11 \pm 1,2\%$  (300 мл),  $20 \pm 1,4\%$  (200 мл). Такі втрати можуть істотно впливати на характеристику робочих розчинів, змінюючи концентрацію окремих речовин, тому склянку в процесі культивування накривали скляною пластиною.

Порівнюючи результати досліджень слід відзначити, що у пробах зі стічною водою через 48 годин експозиції виживаність дафній становила 90-94% при тенденції зниження на третю добу до 80-

83%, при цьому в контрольному варіанті виживаність дафній на другу добу становила 97% і практично не змінилася на третю добу. У дослідному варіанті спостерігається незначний вплив концентрації забруднень на виживаність дафній: 1 доба – 94%, 2 доба – 83%, 3 доба – 80%, тоді як у контрольній групі цього впливу не відзначено.

Аналізуючи отримані результати можна зробити висновок, що на виживаність дафній впливає не стільки амонійний азот, скільки його комплексна дія з органічною складовою стічних вод.

**Федоненко О., Кушнір А., Маренков О.**  
ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛІТКИ ЗВИЧАЙНОЇ (*RUTILUS RUTILUS* L.)  
ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

*Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара*  
*пр. Гагарина, 72, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна*  
*e-mail: gidrobs@mail.ru*

Плітка звичайна (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)) – протягом останніх двадцяти років виступає у якості провідного промислового виду в Запорізькому водосховищі. З 2000 по 2009 роки промислове навантаження на популяцію плітки зросло з 50 до 170 т/рік, що може призвести до підриву її запасів. Також це важливий об'єкт аматорського та спортивного рибальства - це дає підстави вважати, що обсяги вилову плітки з водосховища значно більші.

Вид має високу чисельність в усіх біотопах водоймища, у тому числі і високотрансформованих (Самарська затока, р. Мокра Сура). Висока екологічна пластичність як у репродуктивному, так і в трофічному плані з урахуванням високого рівня відтворення, ефективне освоєння штучного нерестового субстрату поки що дає змогу підтримувати чисельність популяції.

Промисловий лов на водосховищі ведеться зябровими сітками з вічком від 30 до 70 мм. Найбільший відсоток вилову – 40,0 – 53,0% припадає на сітки з вічком 30-34 мм.

За даними контрольних та промислових ловів останнього десятиріччя віковий склад популяції плітки налічує 11 груп (3–13-річок). Ядро сучасної популяції плітки складають 3–5-річні особини (76–80%). Частка риб 6–7-ми років складає 7–22%, а старше 10-ти років – не перевищує 0,5%. Біологічні показники виду свідчать про базування промислу на 4-річних особинах (3+), в окремі роки – на 6-річних (5+).

Плітка нереститься навесні, наприкінці квітня – початку травня. Нерест плітки в умовах Запорізького водосховища проходить одномоментно, при температурі води 11-13°C і триває близько 10-14 діб. Закінчується нерестовий період у першій декаді травня. Це типовий фітолімнофіл – відкладає ікру на затопленій водній і наземній рослинності на мілководних ділянках у прибережній зоні водосховища та його затоках. Під час досліджень було відмічено, що в період нересту добре використовує штучні гнізда, тому для покращення умов відтворення промислового стада рекомендовано збільшити кількість штучних гнізд.

Самки плітки нерестують у віці 3-4 років, масова зрілість настає при довжині тіла 17-18 см. Самці плітки виявляють підготовку до нересту в 3 роки. Поповнення популяції плітки представлено самками віком 3 роки, самцями - в 2-3 роки. Спостерігається тенденція до зниження кількості вікових груп, що можливо свідчить, про ранню смертність й омоложення популяцій. Для плітки характерний статевий і розмірний диморфізм - самці менше одновікових самок і мають шлюбне вбрання в нерестовий період у вигляді поздовжніх рядів рогових горбків на лусковому покриві, а також на поверхні анального й черевного плавців. У дослідженнях відзначалася наявність шлюбного вбрання не тільки в самців, але й в 33% самок у віці 3-6 років.

У Запорізькому водосховищі спектр живлення плітки досить різноманітний: водорості, паростки водних рослин, дрібні безхребетні тварини. З віком в її харчовому раціоні замість ракоподібних

(р. *Daphnia* та род. *Cyclopididae*) значне місце починають займати дрібні молюски (р. *Dreissena*), а у дорослому віці плітка – типовий молюскоїд.

Загалом стан популяції плітки Запорізького водосховища поки що можна охарактеризувати як задовільний та стабільний, але поповнення промислового стада досить низьке. Для покращення умов відтворення плітки рекомендується щорічно виставляти нерестові гнізда. Оскільки плітка молюскофаг, то вона сприяє біологічній меліорації водойм, котрі потерпають від обростань дрейсеною. З метою більш доцільного використання природної кормової бази водойм рекомендується розробити методи штучного відтворення аборигенних видів риб для подальшого зариблення водосховищ.

### **Маренков О., Федоненко О.**

#### **ІХТІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОДІ РИБ ЗАПОРІЗЬКОГО (ДНІПРОВСЬКОГО) ВОДОСХОВИЩА**

*Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара  
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна  
e-mail: gidrobs@mail.ru*

Запорізьке (Дніпровське) водосховище – перше водосховище на Дніпровському каскаді, характеризується як штучно створена екосистема з лабільними параметрами біотичних і абіотичних компонентів. В умовах його зарегулювання спостерігаються кількісні та якісні зміни в іхтіофауні. Найактуальнішим є питання щодо видового складу водних живих ресурсів водойми, особливо при проведенні робіт з відтворення аборигенної іхтіофауни водосховища та збереження його біорізноманіття.

Моніторинг чисельності молоді риб характеризує ефективність нересту риб, визначає величину поповнення промислового стада риб, дає можливість прогнозувати рибопродуктивність водосховища. Комплексні іхтіологічні дослідження дають змогу виявити місця концентрування цьогорічок і дослідити умови їх нагулу.

Об'єктом досліджень була молодь риб. Матеріалом для роботи послуговували личинки та мальки, зібрані на контрольно-спостережних пунктах, а також в точках моніторингових досліджень акваторії водосховища за стандартною мережею станцій протягом вегетаційного періоду 2010 р. Лов молоді проводили десятиметровою мальковою волокушею з капронової делі з розміром вічка 4 мм. Аналіз матеріалу проводили згідно із загальноприйнятими іхтіологічними методиками (Коблицкая, 1966). Весь улов молоді риб розподілявся за видами, підраховувалась їхня кількість і проводилися виміри довжини з точністю до 1 мм, маси особин з точністю до 0,01 г. При цьому промислових видів вимірювалось не менше 50 екземплярів, а не промислових – 25 екз. (Алексієнко, 2010), (Столбунов, 2010). В результаті досліджень спостерігали відмінності в показниках росту молоді риб, виловленої в різних ділянках водосховища, а також сезонні зміни в темпах їх росту та вгодованості.

Видовий склад молоді риб прибережних ділянок Запорізького (Дніпровського) водосховища налічував 22 види риб, що належать до 7 родин, у тому числі: коропових – 11, бичкових – 5, окуневих – 2, колчючкових – 2, голкових – 1, в'юнових – 1.

При аналізі уловів було визначено, що в прибережних біотопах Запорізького (Дніпровського) водосховища, в умовах зарегулювання стоку спостерігається домінування малоцінних непромислових видів: чебачок амурський, гірчак, верховодка та ін. (Маренков, 2010). Найбільша чисельність від загального улову – 55,89% припадає на короткоцикловий вид – гірчак звичайний. Подібні показники пояснюються багатою кормовою базою мілководь та недостатнім пресом (впливом) хижаків.

Узагальнюючи матеріали щодо розподілу мальків риб, їх розмірно-вагових характеристик, була підрахована середня кількість мальків на площі 100 м<sup>2</sup> мілководних частин Запорізького (Дніпровського) водосховища, а також біомаса, котра створюється молоддю риб за рахунок використання природної кормової бази. Найбільшими показниками біомаси характеризувалися такі види: плітка звичайна

- 940,5 г/100 м<sup>2</sup>, гірчак звичайний – 659,8 г/100 м<sup>2</sup>, карась сріблястий – 343,8 г/100 м<sup>2</sup>, окунь звичайний – 106,8 г/100 м<sup>2</sup>, верховодка – 95,5 г/100 м<sup>2</sup>, чебачок амурський – 55,8 г/100 м<sup>2</sup>, лящ звичайний – 46,8 г/100 м<sup>2</sup>, головень звичайний – 45,2 г/100 м<sup>2</sup>.

Таким чином, загальні умови відтворення рибних ресурсів у 2010 році характеризуються як недостатньо задовільні – мала чисельність хижаків сприяє розмноженню та швидкому росту короткоцикло-вих непромислових видів риб, які виступають харчовими конкурентами для молоді цінних видів риб.

### **Mayorova T., Kosevich I.**

#### NEURO-ACTIVE SUBSTANCES IN THE EARLY ONTOGENESIS IN CNIDARIANS AURELIA AURITA AND GONOTHYRAEA LOVENI: DISTRIBUTION AND IMPACT

*Moscow State University*

*Biological Faculty, Leninskie Gory, 1/12, Moscow, 119991, Russia*

*e-mail: planyla@gmail.com*

*Aurelia aurita* (Scyphozoa) and *Gonothyrea loveni* (Hydrozoa) belong to Cnidaria, the most primitive group of animals possessing a nervous system (Falugi et al., 1994). These species are characterized by a complex life cycle with a larva stage. In brief, the life cycle includes embryogenesis, larva planula formation and planula metamorphosis into polyp. *A. aurita* polyps reproduce asexually and bud of medusae that form gonads at certain moment. The life cycle of *G. loveni* lacks medusa stage. Therefore, *G. loveni* polyps form a colony, which is able to develop gametes and reproduces sexually. The early stages of ontogenesis namely embryos, planulae, metamorphing planulae and polyps were checked for the presence of some neuro-active substances. These substances used as neural markers were serotonin, RF-amide, FMRF-amide and tyrosinated tubulin. The distribution of the substances was detected with the help of immunocytochemistry and confocal microscopy. The most interesting result was the identification of the planulae nerve systems in both species. According to our investigations, planula nerve system consists of an apical organ, laterally located neuron-like cells and their processes. This data is consistent with the previous studies carried out on the planulae of *A. aurita* and other cnidarians (Chia and Koss, 1979; Weis et al., 1985; Gröndahl, 1989; Marlow et al., 2008; Nakanishi et al., 2008; Yuan et al., 2008). The apical organ is a group of elongated ectoderm cells located at the anterior region of planula. We showed that the cells of the apical organ contain serotonin and FMRF-amide. RF-amide-positive cells are located near the apical organ in the lateral ectoderm, their neurites extend towards the apical organ and also contain RF-amide (data was received only on *A. aurita* planulae). The longitudinal and cross nerve fibers are easily visualized by the application of anti-tyrosinated-tubulin antibodies. These fibers lie at the base of ectoderm close to mesoglea.

Also we used pharmacological approach to determine the role of determined neurotransmitters in the organism development. Three reagents were used in this study; they are serotonin receptor blocker, cyproheptadine, serotonin transporter blocker, imipramine, and serotonin. These substances were added to the medium with embryos and planulae in low concentration ( $10^{-3}$ - $10^{-6}$ M). Specific inhibiting affect of imipramine was shown upon the development of *G. loveni* embryos. We studied the affect of the reagents on the metamorphosis of *G. loveni* planulae as well. Imipramine and cyproheptadine accelerated metamorphosis while serotonin retarded it. These data are contrary to the already published results (Walther et al., 1996; McCauley, 1997; Zega et al., 2007). Authors of these works supposed that exogenous serotonin is to induce metamorphosis in several hydrozoans species. It is difficult to explain revealed difference without any additional experiments. Probably, the planulae reaction may be species-specific. It is known that planulae of different species may initiate metamorphosis in response to different natural stimuli.

Research was supported by Russian Ministry of Education and Science, Grant Council of the President of Russia and done within the limits of FTP realization “Scientific and scientific and pedagogical staff of innovative Russia” on 2009-2013.



**Микитин Т.**

**ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ РУДИХ ЛІСОВИХ МУРАШОК У БОРОТЬБІ З  
ЛИСТОГРИЗУЧИМИ ШКІДНИКАМИ**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна  
e-mail: mukutuntanja@rambler.ru*

Одним з перспективних методів боротьби з хвоє- та листогризучими шкідниками є біологічний, зокрема використання хижих комах. Найкориснішими з них вважають рудих лісових мурашок. Щільність поселення мурах в розвинених комплексах гнізд може досягати близько  $1,5 \cdot 10^7$  особин або понад 100 кг біомаси на 1 га. Згідно з наявними даними про енергетику мурашок, при такій чисельності вони повинні щодня отримувати з гектара угідь не менше 1 кг білкового корму. Основну її частину вони добувають, полюючи на комах – шкідників лісу, закидаючи тим самим крони дерев від пошкодження.

В лісових екосистемах Карпат виявлено 19 видів мурашок з роду *Formica*. Найбільш розповсюдженими і корисними для лісового господарства є *Formica rufa* і *F. polyctena*. Вони є активними поліфагами, знищують різні види комах і переходять з одного виду на інший залежно від сезону і масовості поширення певного виду шкідників.

Встановлено, що відразу після пробудження мурашки живляться березовим соком. В середині квітня вони переходять на живлення дрібними двокрилими і павукоподібними і відвідують на березах колонії попелиць *Symydobius oblongus*. На початку травня в кормових зборах домінують кровосисні комарі. З середини травня мурашки закінчують збір падалі попелиць і починають житися різними комахами, тобто відіграють роль консументів другого порядку. З другої половини червня вони знову починають збирати падалю попелиць (на березах це колонії *S. oblongus*, а на сосні – *Cinara pisceicola*). З початку жовтня і до першої декади листопада падалю попелиць – єдиний корм для мурах.

Вивчення поведінки мурашок показало, що з ряду твердокрилих спільними для всіх площадок об'єктами живлення є вусачі, сонечка, туруни, стафілініди, довгоносики, листоїди (від 0,9 до 5,6% харчових зборів). З ряду *Hemiptera* звичайною здобиччю є щитники (1,7–5%). Із перетинчатокрылих найпоширеніші представники роду *Formica* (від 3 до 25,3%), рідко трапляються мурашки роду *Serviformica* (1,0%) і роду *Mutomicra* (3,0 – 10,8%). З інших перетинчатокрылих постійно трапляються справжні пильщики (5%). Звичайні в живленні мурашок гусені родин *Geometridae* (до 16,8%) і *Noctuidae* (до 8,4%).

Руді лісові мурашки, крім захисту лісу від шкідливих комах, виконують цілий ряд інших корисних функцій: розпушують ґрунт, поліпшують аерацію і збільшують вміст вологи, кількість гумусу, що позитивно впливає на ріст дерев та їх стійкість проти шкідників, розповсюджують насіння деревних, чагарникових та трав'яних рослин. Наявність у лісі одного мурашника з діаметром купола 1,3 метра (в такому гнізді мешкає близько одного мільйона мурашок) рівноцінне щорічному збільшенню вмісту в ґрунті вуглецю на 10 кг, азоту й фосфору – на 1-1,2 кг, калію – на 0,6-0,7 кг.

Найкращим захистом мурашників від антропогенного впливу і руйнування тваринами є їх обгородження металевими та капроновими сітками, гілками верби, штахетниками, жердинами. Найдоцільніше огороджувати металеву сіткою на металевому або дерев'яному каркасі. Для охорони мурашників від руйнування взимку дятлами їх слід прикрити в серпні-вересні гілками колючих чагарників, шипшини, глоду, білої акації, гледичії тощо. До зими мурашки встигнуть закрити ці гілки своїм будівельним матеріалом, і дятли не зможуть проникнути всередину мурашника. Огороджуючи мурашині гнізда, слід враховувати, що їх підземна частина у півтора-два рази ширша від надземної. Тому стовпи треба закопувати в землю на віддалі від периферії надземної частини мурашника не ближче половини його діаметра.

Безперечна перевага рудих лісових мурашок як об'єкта біометоду - простота способів використання їх в лісозахисті та його дешевизна. Розроблені і випробовані на практиці методи штучного

переселення рудих лісових мурашок дозволяють використовувати їх як ефективний засіб біологічного захисту лісових насаджень.

### **Narauskaite G., Petelis K.**

#### SEACOAST ROE DEER CAPREOLUS CAPREOLUS POPULATION QUALITY

*Lithuanian University of Agriculture Forestry and Ecology Faculty  
Studentu Street 9, LT-53361, Akademija, Kaunas distr., Lithuania  
e-mail: gintare\_narauskaite@hotmail.com*

Population quality of seacoast roe deers were determined by using the data, collected in Lithuanian university of Agriculture Forestry and ecology Faculty science and education game area „Tulkiaragė“, during the last four hunting seasons. Were measured the main morphometric data of roe deer body, cranium and antlers, also were evaluated the selective group and antlers trophy value. After performing of comparative analysis we have determined, that general body weight of roe deer, living in seacoast, is marginally lower than the average in all Lithuania Republic, described in 1988 and field-brushes ecotype roe deer. After accomplishing roe deer cranium morphometric data analysis, the conclusion was made: together with age all cranium morphometric data are increased, and teeth attrition (2 molar) is developing and also antler stumps are getting thicker. After evaluating hunted roe deer antlers selective group and trophy value it was identified that roe deer population in seacoast is good.

### **Пампура М., Янович Л.**

#### СПІВІСНУВАННЯ ДРЕЙСЕН (MOLLUSCA: BIVALVIA: DREISSENIDAE) ТА ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA: BIVALVIA: UNIONIDAE) У ВОДНИХ ОБ'ЄКТАХ УКРАЇНИ

*Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна  
e-mail: yanovichzt@ukr.net; pampura\_maria@ukr.net*

Типовими представниками малакофауни прісних водойм України є *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771 і *D. bugensis* Andrusov, 1897. Поширення дрейсенід пов'язують з судноплаванням, переносом водоплавними птахами, гідробудівництвом, зарегулюванням водотоків тощо. Дослідження, проведені в різних частинах екосистеми Великих озер у Північній Америці, показали, що після вселення представників родини Dreissenidae, ендемічні двостулкові майже повністю зникли з тих місць, де вони були звичайними раніше (Nalera, 2000). У Європі, як показує аналіз літературних джерел, дрейсени часто співіснують з молюсками родини Unionidae (Lewandowski, 1976; Домбровский, 2009). Так, за даними багаторічного моніторингу макрозообентосу глибоководної зони Рибінського та Горьківського водосховищ (Перова, 2005), негативного впливу життєдіяльності дрейсенід на поширення інших двостулкових молюсків у водосховищах не виявлено.

В Україні в останні десятиліття відзначене якісне та кількісне спрощення малакоценозів м'якунів. Тому все частіше виникає питання про те, що ж стало причиною: вплив дрейсен, як в американських водоймах та водотоках, чи забруднення, зарегулювання стоку і, як наслідок, скорочення місць, де могли б існувати перлівниці?

З цією метою у 2008–2010 рр. нами було досліджено більше 270 пунктів у межах усіх річкових басейнів України. Дрейсеніди зібрані у випадку використання ними як субстрату для поселення черепашок живих перлівниці.

За нашими даними, трапляння *D. polymorpha* і *D. bugensis* у водоймах та водотоках України становить 21,66 та 7,22% відповідно. У 64,52% випадків дрейсени зареєстровані у водосховищах та зарегульованих водотоках, у 29,03 – тихоплинних ділянках річок та у 6,45 – в озерах. Сумісно з перлівниці дрейсена річкова виявлена у 48 випадках (32,43% від загальної кількості пунктів дослідження,

де виявлені уніоніди), дрейсена бузька – у 12 (8,11%). Чисельність уніонід на глибині до 2 м із моллюсками-епібіонтами *D. polymorpha* і *D. bugensis* коливається від 2,5 до 85% (у водосховищах сягає 100%) від загальної кількості м’якунів. Нами встановлено, що після вселення дрейсен у водоймах та водотоках можуть існувати будь-які види перлівницевих, характерні для фауни України: *Unio tumidus* Philipsson, 1788, *U. pictorum* Linnaeus, 1758, *U. crassus* Philipsson, 1788, *Anodonta anatina* (=piscinalis) Nilsson, 1822, *A. cygnea* Linnaeus, 1758, *Pseudanodonta complanata* Rossmassler, 1835, *Sinanodonta woodiana* Lea, 1834. Найчастіше *D. polymorpha* мешкає разом з *A. anatina*, *U. pictorum*, *U. tumidus*, які, згідно наших спостережень (Пампура, Янович, 2010), мають найбільшу екологічну пластичність і, відповідно, найбільшу частку трапляння у водоймах та водотоках України. Невисока частота трапляння дрейсен з *U. crassus*, *A. cygnea*, *P. complanata* обумовлена загальною деградацією водних екосистем України і скороченням кількості місць придатних для існування Unionidae, а не витісненням цих видів вселенцями.

У 72,9% місць збору кількість дрейсен-епібіонтів на черепашках перлівницевих-носіїв не перевищувала 10 екз./черепашку, в решті – сягала 80 екз./черепашку. На відміну від північноамериканських озер, де кількість дрейсенід на уніонідах сягала 10732 екз./черепашку, а їх маса коливалась від 46 до 379% маси уніонід (Schloesser&Kovalak, 1991), у жодному з пунктів збору маса дрейсен не перевищувала масу перлівницевих і становила в середньому 1,5–54,2% маси носіїв, Таким чином, навряд чи така маса обростань може стати причиною масової загибелі перлівницевих України.

Отримані результати дають змогу зробити висновок про можливість співіснування перлівницевих і дрейсен у водних об’єктах України і про відсутність витіснення аборигенних видів вселенцями.

**Patimar R., Shamekhi Ranjbar Kh., Hosseini S. H.**

**INTRA-BASIN VARIATION IN ALLOMETRY COEFFICIENT OF CAPOETA CAPOETA GRACILIS  
IN THE GRGANROUD BASIN, SOUTHEAST CASPIAN SEA, IRAN**

*Department of Natural Resources, Gonbad Kaavous University,  
Shahid Fallahy St., Gonbad, Iran, Postal Code: 49717-99151  
e-mail: rpatimar@yahoo.com*

It is believed that streams of a basin may contribute to stream-specific variation in allometry coefficients related to between habitat differences. To test intra-basin variation of the allometry coefficients of *Lenkorn Capoeta capoeta gracilis* (Keyserling, 1861), individuals of the species were sampled in 5 streams of the Gorganroud basin (southeast Caspian Sea) between March and April 2010. There were variations in the allometry coefficient among the considered groups, which can be interpreted as species response to different habitats. To the best knowledge of the authors, this study documents the comparative reference on variation of allometry coefficient of *Capoeta capoeta gracilis* in southeast Caspian streams.

**Pilichowski S., Zawada Z.**

**FACIAL ARTERY (*ARTERIA FACIALIS*) IN REEVES’ S MUNTJAC (*MUNTIACUS REEVESI*)**

*University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences  
The Scientific Circle of Biologists, Zielona Gora, Poland  
e-mail: fuiniheru@interia.pl*

Reeves’s muntjac (*Muntiacus reevesi*) is a representative of even-toed ungulates mammal (Artiodactyla), one of the smallest representatives of Cervidae. Representatives of this species are agile and tolerant within feeding habits. Muntjac grows to 0.95m in length and weights between 10 and 18kg. The male has short weakly branched antlers, usually 0.20m in length and two strong upper canine teeth. During the breeding season males compete in nuptial fights and make barking sounds. Due to those distinctive sounds they are called the barking deers. This territorial species leads a solitary life except the breeding season. The species originated on Taiwan, introduced in China, Netherlands and England where there is a population of muntjacs living in

wild. Nowadays it is often met in zoological gardens and private breeding in Europe therefore veterinarians and breeders become more and more interested in the species. Due to lack of knowledge in anatomy and organ topography of muntjac there have been a series of projects introduced in the area. There has been a 3-year research opened in museum study of University of Zielona Góra. First there were blood vessels of five dead animals examined. The bodies came from zoological gardens in Poznan and Wroclaw. The specimens were prepared using corrosion casting technique. The vessels were injected with DURAKRYL substance. After it hardened the remaining tissue was removed with 35% potassium hydroxide (KOH). The revealed castings showed main and derivatory blood vessels. This study presents the anatomy of a. facialis and its derivatory vessels. It has been concluded that a. facialis is vaguely developed, branched in the cheek area and in the upper and lower lip.

### Романюк Г.

#### ОСОБЛИВОСТІ ЖУВАЛЬНОГО АПАРАТУ КУНИЦЕВИХ (MUSTELIDAE)

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, корп. 12, Київ, 03022  
e-mail: romanyka@ukr.net*

Хижі представники ряду Carnivora стикаються з рядом проблем, пов'язаних зі схопленням, вбивством та подрібненням здобичі, що спричинюють навантаження на жувальний апарат. Різні трофічні стратегії впливають на черепно-лицьовий скелет ссавців і форму окремих кісток у ньому. Родина куніцевих представлена видами з різноманітними типами харчування: є фактично винятково м'ясоїдні тварини (представники роду *Mustela*), більш всеїдні, які споживають істотну кількість безхребетної здобичі і рослинної їжі (рід *Martes*, борсук), рибоїдний вид (видра) та види, які живляться твердими харчовими об'єктами (калан, росомаха). Досліджувалися черепа та нижні щелепи дорослих самців і самок 11 видів куніцевих (*Mustelidae*).

Використовуючи сухі черепа були, обчислювали максимальну силу укусу, сила укусу іклами та сила укусу хижацькими зубами за модифікованим методом Томасона (Thomason, 1991). Для обчислення сил укусу були виміряні площі поперечного перерізу та довжини плеча сили м'язів-адукторів (скроневого м'яза та жувального з криловидним) на серіях цифрових фотографій сухих черепів, використовуючи програму ImageTool.

У куніцевих скроневи м'яз відносно жувального дуже розвинений у справжніх хижаків (тих, які живляться здобиччю, більшою за себе). Величина, а отже, і сила жувального м'яза збільшується у видів куніцевих, які роздавлюють тверду їжу або розгризають великі кістки (калан, росомаха) та з переходом до всеїдного способу життя. Максимальна сила укусу найбільша у дуорофигів (калан, росомаха) та у великих куніцевих (видра, борсук). Серед дрібних – у світлого (степового) тхора, який живиться великою здобиччю. Максимальна сила укусу має сильний кореляційний зв'язок з такими параметрами, як довжина нижньої щелепи, ширина та довжина черепа та вилічна ширина і помірний зв'язок з шириною нижньої щелепи. Вінцевий відросток – місце прикріплення скроневого м'яза, його форма та довжина визначає можливу максимальну силу укусу. На суглобову голівку, особливо під час одностороннього укусу, діє сила реакції, яка відтискає його від суглобової ямки. Збільшена довжина голівки та додаткові вирости навколо ямки забезпечують укріплення суглобу та свідчать про великі навантаження на суглоб під час укусів.

Нижня щелепа моделюється як консольна балка із твердого гомогенного матеріалу з поперечним перерізом еліптичної форми (Biknevicius, Ruff, 1992). Це дозволяє аналізувати зуби та конструкцію щелепи, використовуючи стандартні технічні принципи опору балки. Згин та кручення – головні наслідки навантажень на тіло нижньої щелепи під час здобування та обробки їжі. Для того, щоб протистояти цим деформаціям (збільшити опір при згині) кількість кісткової тканини повинна збільшувати-

ся в площині дії навантаження (збільшується висота та ширина тіла нижньої щелепи в тих міжзубних проміжках, які витримують великі навантаження). Були визначені моменти опору поперечного перетину ( $Z$ ) для вибраних міжзубних проміжків вздовж тіла нижньої щелепи. Обчислені значення моментів опору поперечного перетину відносно медіолатеральної осі ( $Z_x$ ) та дорзовентральної ( $Z_y$ ) перевищують фактичні значення міцності тіла нижньої щелепи, обчислені з використанням визначених сил укусу представників родини куницевих. Тобто, нижня щелепа має певний запас міцності і теоретично може витримати навантаження, більші, за навантаження, спричинені укусом такої максимальної сили.

### **Шевчук Т., Янович Л.**

#### **ВОДЯНІ КЛІЩІ (ACARI, HIDRACARINA, UNIONICOLA) ЯК ПАРАЗИТИ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA, BIVALVIA, UNIONIDAE)**

*Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна  
e-mail: yanovichzt@ukr.net; tetyana\_shevchuk5@ukr.net*

Одними з найпоширеніших прісноводних молюсків України є перлівниці, які відіграють важливу роль в існуванні гідробіоценозів. Представники родини Unionidae складають значну біомасу бентосу і, функціонуючи як фільтратори, істотно впливають на якість води та очищують її від хімічного та радіонуклідного забруднення. В останні роки в Україні відбувається прогресуюче зменшення кількості популяцій перлівничевих, зниження чисельності і щільності їх поселень внаслідок загальної деградації водних екосистем. Однак не виключено, що збідненню фауни молюсків сприяють не лише негативні зміни у гідроекозосах, а й такі біотичні чинники як паразити, наприклад, водяні кліщі (Acari, Hydracarina).

Саме тому вивчення питання щодо видового складу, поширення, життєвого циклу, впливу водяних кліщів на організм перлівничевих є досить актуальним, оскільки дана проблема в Україні практично не досліджена. В літературі зустрічаються лише окремі відомості про представників роду Unionicola як паразитів перлівничевих (Иванчик, 1967, 1976; Стадниченко, 1984; Иванцив, 1987; Черномаз, 2003).

Метою нашої роботи було встановити видовий склад кліщів роду Unionicola перлівничевих Тетерівського водосховища (м. Житомир), а також екстенсивність та інтенсивність зараження уніонід даними паразитами.

Збори матеріалу проводили у лютому–листопаді 2010 р. Молюсків добували вручну. Проводили видову ідентифікацію перлівничевих (Glöer, Meier-Brook, 1998; Корнюшин, 2002) і кліщів (Соколов, 1940; Тузовський, 1990). Виготовлення постійних препаратів із тіла кліщів для перевірки правильності їх визначення здійснювали за стандартною методикою (Тузовський, 1987). Визначали екстенсивність та інтенсивність інвазії перлівничевих. Всього оброблено 243 екз. молюсків, 138 з яких були заражені водяними кліщами роду Unionicola.

Таким чином, у двостулкових молюсках *Unio tumidus* Philipsson, 1788, *U. pictorum* Linnaeus, 1758, *Anodonta anatina* (=piscinalis) Nilsson, 1822, *A. cygnea* Linnaeus, 1758 були виявлені наступні види кліщів роду Unionicola: *U. intermedia* Koenike, 1882, *U. aculeata* Koenike, 1890, *U. ypsilophora* Bonz, 1783, *U. bonsi* Claparede, 1869. Слід відмітити, що *U. ypsilophora* траплявся в *A. cygnea* (90% випадків) та *A. anatina* (10%), *U. bonsi* – в *U. tumidus* (61%), *U. pictorum* (31%) та *A. anatina* (8%), а *U. intermedia* та *U. aculeata* у всіх випадках були зареєстровані лише в *A. anatina*.

У перлівничевих Тетерівського водосховища виявлено кліщів на різних стадіях свого розвитку. Так, наприклад, в *A. anatina* у квітні–травні було зареєстровано яйця Unionicola в різних ділянках тіла беззубки: у мантиї, зовнішніх та внутрішніх півз'ябрах, інколи в нозі. В цей же період у з'ябрах молюсків даного виду виявлено личинки кліщів. Дорослі особини паразитів відзначали з травня по листопад на різних ділянках тіла *A. anatina*.

Дослідження сезонної динаміки інвазії уніонід водяними кліщами роду *Unionicola* показало, що найбільша екстенсивність зараження молюсків спостерігається у квітні (100%) та вересні-жовтні (95–100%), а найменша – у лютому–березні (0–3%) та листопаді (18%). Слід відзначити, що протягом досліджуваного періоду екстенсивність інвазії беззубок була у 1,5 рази вищою, ніж перлівниць. Інтенсивність зараження уніонід водяними кліщами *Unionicola* коливалася від 1 до 43 екз/особину. Найбільша інтенсивність зараження спостерігалася у серпні–вересні (15–43 екз/особину).

Таким чином, у досліджуваному гідробіоценозі виявлені такі види водяних кліщів роду *Unionicola*: *U. intermedia*, *U. aculeata*, *U. ypsilon*, *U. bonisi*. Протягом досліджуваного періоду екстенсивність інвазії в *Anodonta* була вищою, ніж в *Unio*, а інтенсивність зараження уніонід паразитами варіювала у межах від 1 до 43 екз/особину.

### Скок Т.

#### ВПЛИВ СТАНУ ВОДНОЇ ЕКОСИСТЕМИ НА РОЗМІРНО-ВІКОВИЙ СКЛАД ПОПУЛЯЦІЇ *LYMNAEA STAGNALIS* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA) ГИРЛОВОЇ ДІЛЯНКИ ІНГУЛЬЦЯ

*Житомирський державний університет імені Івана Франка*  
*вул. Велика Бердичівська, 40, м. Житомир, 10008, Україна*  
*e-mail: super\_skok@mail.ru*

Інгулець – найнижча з великих правих приток Дніпра. Інтенсивне зрошувальне землеробство, гірничорудна промисловість, металургійна та хімічна галузі у його басейні призвели до погіршення екологічного стану водойми. Вода Інгульця є  $\alpha$ -мезогалінною, хлоридно-натрієвого складу з загальною мінералізацією 2,632–2,856 г/л і рівнем рН 7,5–8,4. Влітку та восени, коли працюють насосні станції зрошувальних систем (поблизу Снігурівки Миколаївської обл.), стік Інгульця у Дніпро припиняється, а пониззя річки перетворюється на «антирчку», в якій у зворотному від природного напрямку повільно течуть дніпровські води гідрокарбонатно-кальцієвого класу, загальна мінералізація яких становить 0,2856–0,456 г/л, рН 7,6–8,8 (Нікіщенко, Сафонова, 2007).

Мета нашого дослідження: з'ясування впливу гідрологічного та гідохімічного режимів Інгульця на ділянці Снігурівка–Сбдово на динаміку розмірно-вікової структури популяції ставковика озерного (*Lymnaea stagnalis* Linn, 1758) – прісноводного стагнофіла. Збір матеріалу здійснювався щомісячно в гирловій частині Інгульця (Садове, Херсонської обл.). Загальна кількість особин за період дослідження (з квітня по грудень 2010 р.) – 575 екз. Вікова структура популяції встановлювалась шляхом вимірювання висоти черепашок молюсків у відібраних пробах та побудови частотних гістограм розподілу їх на 13 розмірно-вікових груп.

З'ясовано, що життєвий цикл ставковиків цієї популяції є дворічним з дициклічністю утворення статевих продуктів. Перше яйцекладіння у дворічних особин розпочинається з початку квітня, оскільки температура води у прибережній зоні у цей час вже становить не менше 8°C. Пік народжуваності (33,8% новонароджених від загальної кількості особин у популяції) припадає на червень. Це пов'язане, по-перше, з достатнім прогріванням води (17–20°C), по-друге, з різким покращенням умов існування (починають працювати насосні станції). Саме тому сповільнюється течія, знижується рівень мінералізації води. Для порівняння вкажемо, що максимальна частка дрібних особин (висотою до 5 мм) в інших досліджуваних нами популяціях не перевищувала 25,49% в липні-серпні. Це означає, що репродуктивний потенціал популяції *L. stagnalis* в Інгульці проявляється спочатку повільно, а в період оптимізації умов зовнішнього середовища – дуже активно. У жовтні та листопаді дещо зростає смертність особин цього річного покоління. Можливо, це спричинене низькими адаптивними можливостями молоді до різкого підвищення мінералізації води після припинення роботи насосних станцій поблизу Снігурівки. Тому у ці місяці відсоток тварин минулорічного покоління зростає, а цього річного – зменшується. Ці-

каво, що в середині листопада кількість тварин у наймолодшій розмірно-віковій групі (до 5 мм) збільшується (на 4,4% порівняно з жовтнем), оскільки температура повітря зростає до 22°C, а температура води – до 11°C, що не характерно для цього періоду.

Отже, ступінь вікової гетерогенності популяції відображає реакцію її на прес відбору, різна спрямованість та інтенсивність якого визначаються чинниками середовища існування. Значне вікове розмаїття сприяє стабільності популяції, оскільки різні стадії життєвого циклу мають різну стійкість до дії екологічних факторів. У нестабільних умовах розмірно-вікова структура значно збіднюється, плодючість організмів та тривалість їх життя зменшуються (Романенко, 2001). Для тваринних угруповань, яким характерна сезонність розмноження, показник вікової гетерогенності (Шебанін та ін., 2008) є найнижчим у період найвищої народжуваності. У час, коли молодь переважає за чисельністю, популяція є найбільш чутливою до негативного впливу чинників середовища існування. Ближче до зими цей показник збільшується, популяція стабілізується, її пристосувальні можливості зростають.

### Стельмашук Н.

#### ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ ТА ЕКОЛОГІЇ *FAGOTIA ESPERI* І *FAGOTIA ACICULARIS* (MOLLUSCA: PECTINIBRANCHIA: MELANOPSIDAE) НА ТЕРЕНАХ УКРАЇНИ

Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. Велика Бердичівська, 40, м. Житомир, 10008, Україна  
e-mail: natalya\_stelmashchuk@mail.ru

Родина Melanopsidae (чорнушкові) – прісноводні гребінчастозяброві молюски, які населяють переважно річки, рідше – інші проточні водойми Південної Європи, Передньої і Південно-Східної Азії, а також Нової Каледонії і Нової Зеландії. В Україні вона представлена єдиним родом *Fagotia* з двома видами – чорнушкою загостреною *Fagotia acicularis* (Férussac, 1823) і чорнушкою крапчастою *F. esperi* (Férussac, 1823), які є ендеміками Дунайсько-Донської зоогеографічної провінції. У нас поширені вони лише у басейнах крупних річок Правобережної України (Дунай, Дністер, Південний Буг, Дніпро). Деталі поширення цих молюсків по її теренах і особливостей їх екології хоча і з'ясовувалися раніше (Здун, 1962; Стадниченко, 1982; Градовський, 2000; Першко, 2006), але явно недостатньо. Отже, на сьогодні наявні у літературі про них відомості є дуже уривчастими.

Матеріалом нашого дослідження слугували натурні спостереження і збори *F. acicularis* та *F. esperi*, здійснені у басейнах Прип'яті і нижнього Дніпра.

З'ясовано, що ці реофільні тварини мешкають виключно у чистих водоймах із швидкістю течії від 0,01 до 2 м/с, хоча найчастіше трапляються в тих їх ділянках, де швидкість течії становить близько 1–1,5 м/с. Так в р. Случ (поблизу Новоград-Волинського, Городниці, Курчиці Житомирської обл.), де швидкість течії становить 0,7–1 м/с, щільність населення популяції *F. acicularis* сягає 89 екз./м<sup>2</sup>. Відомо, що фактор швидкості течії води згладжує кисневу стратифікацію та зумовлює відсутність температурних коливань. Чорнушки – оксифільні тварини. У Случі вони віддають перевагу тим біотопам, де оксигенізація води не менша за 12 мгО<sub>2</sub>/л. Вони трапляються переважно у слабкокислому, слабколужному та нейтральному середовищах (рН 4,9–8,1). У притоках Случі, джерелом живлення яких є болотяний стік і реакція води кисла, чорнушкові жодного разу відмічені не були. За нашими спостереженнями і за літературними відомостями (Градовський, 2000), оптимальними для їх оселення є глибини 0,8 м. Причому ці молюски здійснюють сезонні вертикальні міграції. В теплі сезони року вони зустрічаються на глибинах порядку від урізу води до 0,3–0,4 м. З настанням осінніх холодів ці молюски мігрують на глибини до 2 м, де коливання температури менш відчутні, ніж на мілководді. Наприклад, південні популяції чорнушок (Дніпро, Херсон і його околиці) в 2010 р. порівняно з минулими роками рано перейшли до гібернації. Важливу роль у цьому відіграли несприятливі погодні умови. Популяції цих молюсків було знайдено на глибині 0,7 м під шаром піску товщиною 1–1,5 см.

Оселяються чорнушкові зазвичай на кам'янистих та піщано-галькових субстратах. Багаточисленні популяції цих тварин знаходили у ділянках річок, де є численними виходи крейдианих і мергелистих порід (р. Горинь, Тучин Рівненської обл.). Часом *F. acicularis* і *F. esperi* трапляються і на зануреній водній рослинності (рогіз широколистий, латаття біле та ін.). Таке ми спостерігали на Случі під Курчицею. Ці молюски – хороші індикатори ступеня забруднення водою органічними речовинами, оскільки вони оселяються тільки в β-мезосапробній зоні водотоків. Наразі такими є Случ в околицях Новоград-Волинського і ділянка нижнього Дніпра поблизу Херсона. Ці водойми є сприятливими для життя чорнушок, оскільки характеризуються незначним ступенем окислюваності води, відсутністю продуктів розщеплення білків, аміаку та продуктів його окислення – азотної та азотистої кислот і сірководню. Щільність населення популяцій *F. acicularis* і *F. esperi* дуже різниться між собою, а саме: щодо *F. acicularis* цей показник, як правило, завжди значно більший. Ретроспективний аналіз фауни чорнушкових України свідчить про те, що з моменту першого знаходження цих молюсків в Україні (Eichwald, 1830) і до наших днів відбулося зменшення загальної кількості їх популяцій, абсолютної чисельності і щільності населення.

### Світін Р.

#### НЕМАТОДИ РОДУ RHABDIAS STILES ET HASSAL, 1905 ПАРАЗИТИ АМФІБІЙ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ННЦ «Інститут Біології» вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: stationery@univ.kiev.ua

Нематоди роду *Rhabdias* трапляються на всіх континентах, крім Антарктиди, паразитують у легенях амфібій та рептилій характеризуються малою кількістю діагностичних морфологічних ознак, тому для диференціації видів використовують переважно мірні ознаки, що часто створює проблеми і помилки при визначенні.

Метою наших досліджень було вивчення нематод роду *Rhabdias* що паразитують у безхвостих амфібій (*Anura*) на території України, доповнення відомостей з їх морфології та анатомії, біології, специфічності та поширення видів для більш обґрунтованої їх діагностики та надійної диференціації.

На основі вивчення нематод за допомогою світлової мікроскопії нами було зроблене переопиання, досліджено морфологію та проведений морфометричний аналіз дорослих паразитичних стадій видів *Rhabdias bufonis* (Schränk, 1788) Stiles et Hassal, 1905, *R. rubrovenosa* (Schneider, 1866) Semenov, 1929 та *R. sphaerocephala* Goodey, 1924, що трапляються на території України, а також форми, визначеної як *Rhabdias* sp. від червоночеревої кумки *Bombina bombina* Linnaeus, 1761.

Уточнені діагностичні ознаки видів *R. bufonis*, *R. rubrovenosa*, *R. sphaerocephala* за матеріалом з території України. Відзначена мінливість за розмірами тіла, відносною довжиною стравоходу та відносною довжиною хвоста окремих вибірок *R. bufonis* від 7 різних видів амфібій та з різних частин ареалу (Карпати, Лісостепова і Степова зони України, Крим, Центральна Росія та Грузія).

При експериментальному зараженні інвазійними личинками *R. bufonis* та *Rhabdias* sp. (по 50 екз.) вільних від легневих гельмінтів червоночеревих кумок виявилось, що *R. bufonis* здатний заражати цих хазяїв, але інтенсивність інвазії у 8 разів нижча ніж у *Rhabdias* sp., який, таким чином, є більш специфічним паразитом червоночеревої кумки.

При паралельному зараженні гостромордої жаби - *Rana arvalis* Nilsson, 1842 та часничниці звичайної - *Pelobates fuscus* Laurenti, 1768 інвазійними личинками *R. bufonis* по 200 екз. одразу та через 7, 14, 28 днів, було виявлено у легенях часничниці одну статевозрілу особину і жодної личинки у порожнині тіла, а у легенях жаби жодної статевозрілої особини, натомість 582 ювенільні особини в порожнині тіла, що свідчить про більш високу специфічність *R. bufonis* до бурих жаб. Не зважаючи на різні



строки зараження, 581 нематода перебувала на субадультній і 1 - на третій личинковій стадії розвитку. Ймовірно, причиною цього була досить низька температура експерименту (+16-18°C).

Уперше складено кадастр знахідок представників роду *Rhabdias* на території України та сусідніх держав по 98 точках збору.

### **Тішина А.**

#### **ЗАРАЖЕНІСТЬ РИБ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА ПАРАЗИТАМИ КЛАСУ TREMATODA**

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара*  
*пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010, Україна*  
*e-mail: tishka90@i.ua*

Трематоди є одними з найбільш розповсюджених паразитів прісноводних та морських риб. У штучних водоймах основними причинами масового розвитку цих паразитів є недостатня якість або відсутність проведення належних ветеринарно-санітарних та меліоративних заходів (Єсіпова Н.Б., Шарамок Т. С., Федоненко О. В., 2008). Враховуючи актуальність масового розповсюдження паразитичних трематод у риб, метою нашої роботи було дослідження зараженості різних видів риб Запорізького водосховища паразитами класу Trematoda.

Дослідження проводили у Самарській затоці Запорізького водосховища, у екосистемі якого, за токи відіграють значну роль у формуванні якості води, біо- та рибопродуктивних процесах. Саме тут розташовані місця нересту фітофільних видів риб і відбувається нагул молоді. Об'єктами дослідження були основні промислові види риб, це – плітка (*Rutilus rutilus*), карась (*Carassius carassius*), плоскирка (*Blicca bjoerkna*) та окунь (*Perca fluviatilis*). Паразитологічні дослідження проводили по класичній методиці повного паразитологічного розтину риб (Биховська-Павловська, 1985).

Запорізьке водосховище має мілководдя площею близько 20%. Переважна більшість цієї площі припадає на Самарську затоку (понад 5 тис. га), яка була створена після зведення греблі ДніпроГЕС (1929 р.) у заплаві р. Самара. Незначна глибина Самарської затоки (менше 2 м) та надмірне накопичення органіки зумовили високий ступінь заростання її повітряно-водними рослинами.

Наші дослідження показали, що найбільший процент зараженості трематодами мали плітка та плоскирка. У плітки були знайдені паразити роду *Diplostomum*, які були локалізовані в очах риб з екстенсивністю інвазії (ЕІ) 100% та інтенсивністю інвазії (ІІ) від 1 до 4 паразитів на рибу. У плоскирки ЕІ диплостомами становила 90% з ІІ 4 – 180 екз./рибу. У окуня були виявлені личинки р. *Tetracotyle*, які знаходились на внутрішніх органах риб. Зараженість окуня трематодами становила 20%, ІІ – від 1 до 8 екз./рибу. При паразитологічному дослідженні карася трематоди не були виявлені.

Таким чином, проведені дослідження показали, що найбільшу зараженість трематодами мали плітка та плоскирка, що пов'язано з особливостями мешкання та біології даних видів риб. Слід також зауважити, що наявність значної кількості органічної речовини та великі площі заростей макрофітів дають підставу для продуктивного розвитку молюсків, які є проміжними хазяїнами паразитів із класу Trematoda.

### **Рибка К.**

#### **ФЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦІЙ *CEPEA HORTENSIS*, *BRADYBAENA FRUTICUM* В МІСТІ ЧЕРВОНОГРАД**

*Інститут екології Карпат НАН України*  
*вул. Козельницька 4, м. Львів, 79026, Україна*  
*e-mail: katja-rybka0@rambler.ru*

Для вивчення фенетичної структури наземних молюсків *Bradybaena fruticum*, *Cepea hortensis* були досліджені ценопопуляції із різних типів біотопів протягом 2009-2010 рр.

При дослідженні фенетичної структури було враховано фонове забарвлення черепашки, наявність на ній спіральних смуг, їх кількість і колір, їхнє можливе злиття (Животовский, 1982; Уильямсон 1975). Для кількісної оцінки фенетичного різноманіття використовувалися індекс Л.А. Животовського: показник внутрішньопопуляційного різноманіття ( $m \pm S_m$ ) і долю рідкісних морф ( $h \pm S_h$ ) (Животовский, 1982).

Для виявлення можливого впливу урбанізації на фенетичну структуру популяцій *Bradybaena fruticum* були досліджені ценопопуляції із умовно-природного біотопу ( $n_1=100$ ) - сукцесійні зарості деревних і чагарникових рослин у межах міста Червоноград і міського біотопу ( $n_2=100$ ) - насадження лісосмуги вздовж залізниці. Моллюски без смуг переважали у двох типах біотопів, їхня частка становила від 64 до 100%. Значна кількість моллюсків мала черепашки червонувано-рогового забарвлення, частка їх в лісосмузі становила до 100%. Для умовно-природного біотопу є характерна наявність 4 типів морф, частка яких становила: темні з смугами – 29%, темні без смуг – 58%, світлі без смуг – 6%, світлі зі смугами -7%.

Для вивчення антропогенного впливу на фенетичну структуру інтродукованого, адвентивного виду - *Cepea hortensis* в цьому регіоні були досліджені ценопопуляції із міського біотопу ( $n_1=100$ ) - піщані насипи із залишками лучної рослинності та сукцесійні зарості деревних і чагарникових рослин у межах міста Червонограда ( $n_2=100$ ). Моллюски без смуг із жовтим забарвленням (фенотип Ж 00000) переважали у всіх місцях поширення ( від 56 до 100%). Для міського біотопу характерна наявність 4 морф, частка яких становить: жовті черепашки (Ж 00000) – 56%, черепашки з смугами (12345) – 32%, черепашки із злитими смугами ((12)345) – 6%, черепашки із відсутньою однією із смуг (12045) – 7% .

Таким чином для ценопопуляцій *Bradybaena fruticum* в міських і приміських біотопах, при достатньому рівні зволоження (струмки, які протікають вздовж ярів) і частковою затіненістю переважаючим фенотипом є темна черепашка без смуг, що відзначали й інші автори (Шиков, 1977).

Частота окремих фенотипів *Cepea hortensis* є результатом як інтродукції відносно невеликої кількості особин з їхньою подальшою ізоляцією від основного ареалу виду, так і результатом впливу клімату, дія якого посилюється за межами природного ареалу (Sverlova, 2004).

## Заїченко Н.

### ПАРАЗИТИ БІЛОГО АМУРА *STENOPHARYNGODON IDELLA* В УМОВАХ РИБОГОСПОДАРСЬКИХ СТАВКІВ

Інститут гідробіології НАН України  
пр. Героїв Сталінграду, 12, м.Київ, 04210, Україна  
e-mail: stalinka2112@yandex.ru

Зростаючий рівень ставкового рибництва, інтродукція нових господарсько-цінних видів риб (білий амур *Stenopharyngodon idella*, товстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* та ін.) потребують регулярного контролю іхтіопаразитарного стану водойм з метою уникнення епізоотій. В рибних господарствах можуть створюватися оптимальні умови для розвитку та передачі небезпечних паразитів риб. Цьому сприяють велика щільність поселення хазяїв, низька швидкість течії (або її повна відсутність), присутність у водоймі проміжних хазяїв, наявність вищої водяної рослинності та ін. Виникненню епізоотій також сприяє явище сумісного проживання риб, які підлягають розведенню та супутніх випадково занесених „смітєвих” видів (Давидов, Куровська, 2009). У зв’язку з цим актуальними є дослідження особливостей формування симбіофауни інтродукованих видів риб, які мають господарське значення.

Особливістю білого амура є кардинальна зміна спектра живлення на стадії личинки та малька (планктонні безхребетні) та нестатевозрілих і дорослих особин (вища водяна рослинність). У зв’язку з цим змінюються умови для поширення симбіотичних та паразитичних організмів у різних складових однієї популяції білого амура (Стрелков, Чернишова, 1981).

Наші попередні дослідження виявили у складі симбіофауни цьогорічок білого амуру небезпечних кишкових паразитів – цестод *Bothriocephalus* sp., якими риби заражаються при поїданні планктонних ракоподібних.

Дослідження особин дворічного віку показало, що кількість видів у симбіоценозі білого амуру із віком значно зростає. Було виявлено 9 видів симбіонтів різних систематичних груп. На покривах знайдено інфузорій *Chillodonella* sp., *Ichthyophthirius* sp., паразитичних копепод *Lernaea elegans*, *Argulus foliaceus*; на зябрах – моногеней *Dactylogyrus extensus*, паразитичних копепод *Ergasilus briani*; у кишечнику – інфузорій *Balantidium ctenopharyngodoni*, цестод *Bothriocephalus* sp., нематод. Найбільша інтенсивність (І І) та екстенсивність інвазії (Е І) спостерігалась для цестод *Bothriocephalus* sp.: І І – 1–63 особин/екземпляр, цестоди були різного розміру та із різним ступенем розвитку стробіли, з максимальною довжиною 65 мм, Е І досягала 70%. Другим за чисельністю паразитом був *D. extensus*: І І становила 1–26 особин/екземпляр, Е І – 17,2%. Екстенсивність інвазії інших паразитів була незначною і коливалась в межах 3–5%.

Лише інфузорія *Balantidium ctenopharyngodoni* є вузькоспецифічним симбіонтом білого амуру, цестоди *Bothriocephalus* sp. хоча і походять із далекосхідного регіону, та здатні вражати також інших корошових, викликаючи масову загибель молоді риб. Всі інші виявлені види симбіонтів були також знайдені нами у коропа *Cyprinus carpio* та сріблястого карася *Carassius auratus gibelio*, які мешкають у ставках сумісно з білим амуром.

Результати досліджень свідчать, що інтродуковані види риб можуть успішно використовуватися аборигенними паразитами як остаточний хазяїн. При акліматизації білий амур втратив частину власних вузько специфічних паразитів і набув ряд видів з широкою гостальною специфічністю.

### **Zapart A., Ciechanowski M.**

#### **DYNAMICS OF EMERGENCE FROM ROOST AND DIET OF POND BAT MYOTIS DASYNEME FROM NURSERY COLONY IN LUBNIA, NORTHERN POLAND**

*Department of Vertebrate Ecology and Zoology, University of Gdansk  
9 Legiony, Gdansk, 80-441, Poland  
e-mail: anetazapart13@gmail.com*

Despite the fact, that in some regions of Europe, numerous and easily available populations of pond bat *Myotis dasycneme* still occur, research on ecology of that threatened species is relatively scarce. Moreover, most of that studies have been conducted in anthropogenically transformed, agricultural landscapes of western Europe, while analogous studies from eastern part of *M. dasycneme* geographical range are generally lacking. The aim of this study was to examine factors affecting dynamics of evening emergence of pond bats from one of the two known nursery roosts of that species in Poland, composition of their diet and its seasonal variation. In 2006, emerging animals were counted with help of heterodyne bat detector, ambient temperature, relative humidity, wind speed and light intensity were measured, bats' faeces from the entrance of roost were collected (n=1725) and their content analyzed. The colony, consisting of about 370 individuals, was inhabited from April to September (the highest numbers recorded in the first ten days of June) and we did not record any significant increase in the size of colony after obtaining of flight ability by juvenile bats. Emergence started 24 minutes after sunset, on the average (range 1–44min.), and lasted about 53 minutes. Increase in colony size resulted in longer emergence and its earlier start. Pond bats emerged significantly earlier in period before obtaining flight ability by their young. The main factor affecting dynamics of emergence from the colony was light intensity but not weather conditions. Diet of pond bat from Lubnia was dominated by non-biting midges Chironomidae (both pupae and imagines) and caddisflies Trichoptera. However, in total, 21 prey taxa were found in analyzed faeces, including 17 recorded for the first time in diet of *M. dasycneme*. Frequency of occurrence of particular taxa and their developmental stages varied in the course of the season. Frequencies of the two most numerous taxa, i.e. caddisflies and chironomids in diet of pond bat were negatively correlated with each other ( $r_s = -0,75$ ;  $p < 0,05$ ).

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

**Андрієнко В., Сембрак Н., Перетятко Т., Гудзь С.**

ПРО ВІДНОВЛЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОЇ СІРКИ БАКТЕРІЯМИ *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS*

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: Vika\_Andrienko@mail.ru*

Багаторічна промислова розробка Язівського сіркового родовища порушила природні процеси мікробної трансформації сірки, що підтримували рівновагу її сполук у цьому регіоні. Сірка стала доступною не тільки для окиснення сіркоокиснювальними бактеріями, але і для сірковідновлювальних, продуктом життєдіяльності яких є гідроген сульфід. Умови і шляхи відновлення сірки досліджені недостатньо.

Наявність елементної сірки та відносно високої концентрації органічних речовин створює оптимальні умови для діяльності сірковідновлювальних бактерій – хемоорганотрофних мікроорганізмів, які використовують ацетат та інші органічні сполуки як джерела вуглецю і донори електронів. Органічні речовини при цьому окиснюються повністю до вуглекислого газу і води, відновлюючи при цьому елементну сірку до гідроген сульфід. Метою роботи було дослідити здатність сірковідновлювальних бактерій використовувати різні органічні сполуки як джерело вуглецю та донори електронів при дисиміляційній сіркоредакції.

З водойм Язівського сіркового родовища виділені сірковідновлювальні бактерії, які на основі морфологічних характеристик віднесені до виду *Desulfuromonas acetoxidans*. Бактерії культивували у пробірках за анаеробних умов в атмосфері аргону при 28°C протягом чотирнадцяти діб у модифікованому середовищі Постгейта С з додаванням елементної сірки та різних органічних речовин.

Встановлено, що лактат, фумарат, ацетат, етанол використовуються бактеріями *D. acetoxidans* як джерела вуглецю і донори електронів при дисиміляційній сіркоредакції. Найвища питома швидкість росту бактерій спостерігалась при культивуванні на етанолі (нагромадження біомаси до 3,2 г/л), ацетаті (2,6 г/л) та фумараті (2,6 г/л). У середовищах з цими речовинами бактерії нагромаджували 5,2–6,3 мМ гідроген сульфід. При додаванні у середовище культивування гліцерину, пальмітинової та стеаринової кислот росту бактерій не було.

Таким чином, виділені сірковідновлювальні бактерії *D. acetoxidans* активно здійснюють дисиміляційну сіркоредакцію за наявності у середовищі етанолу, лактату, ацетату або фумарату. Гліцерин, пальмітинова та стеаринова кислоти не використовуються бактеріями як донори електронів.

**<sup>1</sup>Буньо Л., <sup>2</sup>Худик О.**

МІКРОМІЦЕТИ РИЗОСФЕРНОЇ ЗОНИ ДЕРЕВ, ЯКІ РОСТУТЬ  
НА НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ГРУНТАХ М. БОРИСЛАВ

*<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
<sup>2</sup>Національний лісотехнічний університет України  
вул. Ген. Чупринки, 103, м. Львів, 79057, Україна  
e-mail: bioza@ukr.net*

Вуглеводні нафти, потрапляючи у ґрунт, змінюють його фізико-хімічний стан і, відповідно, умови життя живих організмів (Rozanski і Wadkowicz, 2002). Одним із основних компонентів ґрунтового біоценозу є мікроскопічні гриби (мікроміцети) (Киреева і др., 2005; Марфенина, 2005). Видовий склад мікроміцетів, що живуть в ризосфері (ґрунтовій зоні, що оточує корінь рослини не далі ніж 2 мм від

поверхні (Davey, 2000) чутливий до змін властивостей ґрунту за дії різних поллютантів і може слугувати індикатором його стану (Марфенина, 1982; Лебедева, 2000; Yang, 2000).

Зразки молодого коріння ялиці білої (*Abies alba* Mill.), дуба звичайного (*Quercus robur* L.) та осоки шорстковолосої (*Carex hirta* L.) відбирали у вересні 2010 р. Мікроскопічні гриби виділяли, застосовуючи метод водних змивів (Билай, 1982). Розведену ґрунтову суспензію висівали в чашки Петрі на живильне середовище сусло-агар з антибіотиками. Повторність досліду трикратна. Для ідентифікації мікроскопічних грибів користувалися визначниками вітчизняних і зарубіжних авторів (Кириленко, 1978; Милько, 1974; Дьякова, Сергеева, 2003; Егорова, 1986; Domsh, 1980; De Hoog et al., 2000; Samson, Pitt, 2000 і ін.). Для оцінки різноманітності і чисельності мікроміцетів використовували метод опису комплексів ґрунтових грибів (Марфенина, 2005).

Аналіз видового складу грибів-мікроміцетів з ризосфери різних видів рослин, вирощених на нафтозабруднених ґрунтах показав зниження їх видового різноманіття. Варто зазначити, що у ґрунтах, які зазнали істотного антропогенного навантаження внаслідок розливів нафти, формуються угруповання мікроміцетів, які здатні вижити у порушених екотопах. Дані види є індикаторами негативних змін ґрунтових умов.

Порівняльний аналіз видового складу грибної флори ризосфери дослідних рослин *Quercus robur*, *Abies alba* та *Carex hirta*, вирощених на чистих ділянках та на ділянках забруднених нафтою, дав змогу виявити значну різноманітність і велику кількість видів мікроміцетів у контрольних екотопах. У формуванні мікофлори ризосфери забруднених територій бере участь значно менша кількість видів мікроскопічних грибів, також з'являються такі види, які не характерні для дубових та ялинових дерев і здатні формувати угруповання, що витісняють автохтонні види.

Найбільшу чисельність мікроміцетів нафтозабрудненого ґрунту було виявлено в ризосфері осоки, найменшу в ризосфері дуба. Проте, спільним для даних рослин було те, що домінуючими виявилися гриби з родини Moniliaceae, а рід *Penicillium* відзначався найбільшим видовим різноманіттям.

В результаті порівняння списку видів мікроскопічних грибів за допомогою коефіцієнта Соренса-Чекановського показано, що видовий склад мікроміцетів, виділених із досліджених рослин, помітно відрізняється ( $S = 0,25 - 0,44$ ).

Таким чином, нафта як негативний чинник викликає зміни мікроміцетів у ризосферній зоні багаторічних рослин, приводить до зростання видів з роду *Penicillium* у всіх дослідних рослин.

### **Чайка О., Перетятко Т., Гудзь С.**

#### **СУЛЬФУРРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS***

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

e-mail: lolena@i.ua

Органічна сірка і сульфурвмісні оксополуки використовуються багатьма мікроорганізмами в ролі акцепторів та донорів електронів. Здатність відновлювати елементну сірку до гідроген сульфід у різних не споріднених між собою видів мікроорганізмів, що заселяють безкисневі осади прісноводних та морських водойм, багатий на сірку ґрунт та гідротермальні джерела. Проте, шляхи відновлення сірки до гідроген сульфід устатковані не з'ясовані. Відомо, що у клітинах багатьох мікроорганізмів у відновленні сірки беруть участь сульфурредуктаза і гідрогеназа. Найкраще вивчений механізм відновлення сірки в мезофільних бактерій *Wolinella succinogenes*, які використовують молекулярний гідроген або форміат як донор електронів. У відновленні полісульфідної сірки беруть участь два ферменти: полісульфідредуктаза і гідрогеназа, що інтегровані в цитоплазматичну мембрану, і їх каталітичні субодиниці орієнтовані в сторону периплазми. При окисненні гідрогену чи форміату, електрони транспортуються через цитохром b і хінон до полісульфідредуктази, утворюючи електрохімічний градієнт. Однак механізм

транспорту протонів і синтезу АТФ остаточно не з'ясований. Подібна сірковідновлювальна респіраторна система була виявлена також у автотрофних гіпертермофільних бактерії *Aquifex aeolicus* та гіпертермофільних архей *Acidianus amivalens*, *Pyrodictium abyssi* і *Pyrodictium brocii*. Сірковідновлювальна система *A. aeolicus* відрізняється лише тим, що сульфурредуктаза орієнтована в бік цитоплазми, тому відновлення сірки відбувається у цитоплазмі.

У роботі використовували сірковідновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans*, виділені з водойм Яворівського сіркового родовища. Бактерії вирощували у модифікованому середовищі Постгейта С, у якому єдиним акцептором електронів була елементна сірка. Для визначення активності сульфурредуктази клітини відділяли від середовища центрифугуванням при 8 тис. об/хв протягом 20 хв. Активність ферменту визначали за кількістю продукованого гідроген сульфїду, що утворився в ході реакції. Реакційна суміш мала такий склад: калій фосфатний буфер (рН 7,5) – 440 мкл; S<sup>0</sup> – 0,04 г; 10 мМ NADH – 120 мкл; 10 мМ EDTA – 120 мкл; гліцерин – 120 мкл; культуральної рідини – 400 мкл. Реакційну суміш переносили в пробірки, що були наповнені аргоном. Час інкубації – 10 хв. Гідроген сульфїд визначали за інтенсивністю утворення метиленової сині.

Для з'ясування локалізації сульфурредуктази вивчали активність ферменту в культуральній рідині і безклітинних екстрактах *D. acetoxidans*. Результати цих дослідів виявили відносно високу сульфурредуктазну активність у культуральній рідині, яка становила 36,1 мкМ H<sub>2</sub>S/хв·мг білка. Визначення сульфурредуктазної активності в безклітинних екстрактах і мембранних фракціях показало, що в безклітинних екстрактах активність ферменту приблизно у сім разів нижча, ніж у культуральній рідині, а в мембранних фракціях – у 1,5 рази. На основі цього можна припустити, що ензим асоційований з плазматичною мембраною або екскретується бактеріями у позаклітинний простір. Аерація середовища інгібувала синтез ферменту.

У середовищах з ацетатом і фумаратом або лише з фумаратом, без елементної сірки, сульфурредуктазна активність відсутня. Одержані результати свідчать про те, що сульфурредуктаза є індукцибельним ферментом, який виділяється бактеріями *D. acetoxidans* у середовище.

### **Фещук А., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.**

#### **МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕЦЕВИХ СПОЛУК СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ ОЗЕРА ЯВОРІВСЬКЕ**

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

Сірковідновлювальні бактерії є активними продуцентами сірководню у техногенних водоймах сірковидобувних регіонів, збагачених органічними речовинами, сіркою та її сполуками. Ці бактерії - хемоорганотрофи, вони використовують ацетат, інші прості органічні сполуки як джерела вуглецю і донори електронів, які повністю окиснюють до СО<sub>2</sub>. З водойми Яворівського сіркового родовища виділено та ідентифіковано чисті культури сірковідновлювальних бактерій *Desulfuromonas* sp. Вивчали їх здатність утилізувати різні органічні сполуки як джерела вуглецю та донори електронів для дисимільційної сіркоредукції: лактат, етанол, бутанол, піруват та L-малат. Проведені дослідження важливі для прогнозування екологічної ситуації у водоймах за умов антропогенного впливу, а також для створення ефективних біотехнологій очищення водного доквілля від агресивних сполук сірки.

Бактерії вирощували за анаеробних умов при 30°C впродовж десяти діб у середовищі Постгейта С, у яке замість сульфатів додавали елементну сірку, а замість лактату натрію органічні сполуки у еквімолярній до нього концентрації (51 мМ). Для з'ясування можливості використання бактеріями L-малату як акцептора електронів, у середовище сірки не додавали. Густина засіву становила 0,05 г/л. Біомасу визначали фотоелектроколориметричним, а вміст сірководню – спектрофотометричним методом.

Вивчали вплив лактату натрію, етанолу, бутанолу, пірувату натрію, L-малату на ріст сірководнювальних бактерій у середовищі без сульфатів. За 10 діб найкращий ріст бактерій спостерігався при утилізації ними лактату (до 1,5 г/л), пірувату (до 1,3 г/л) та етанолу (до 1,4 г/л). Дещо нижчий вихід біомаси виявився при утилізації клітинами бутанолу (до 0,6 г/л) та L-малату (до 0,6 г/л). Відомо, що L-малат або фумарат з/або без ацетату для видів роду *Desulfuromonas* можуть слугувати акцепторами електронів замість сірки. Бактерії *Desulfuromonas* sp. Yavor-1-10 використовували L-малат у середовищі без сірки, біомаса сягала 1,2 г/л, у *Desulfuromonas acetoxidans* - 0,9 г/л. Таким чином, можна вважати, що лактат, етанол, бутанол, піруват, L-малат у присутності сірки засвоюються виділеними культурами сірководнювальних бактерій як джерела вуглецю і донори електронів, крім цього, вони можуть зброджувати L-малат.

Досліджували вплив пірувату на утворення сірководню культурами *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 і *Desulfuromonas* sp. Yavor-7. При рості на піруваті біомаса бактерій сягала 2,4 г/л. При рості на піруваті клітини утворювали до 0,6 мМ сірководню. Ні біомаса, ні вміст сірководню, утвореного клітинами у середовищі з піруватом, не перевищували біомасу (до 2,6 г/л) та концентрацію сірководню (до 0,9 мМ), продукovanого клітинами під час росту у середовищі з лактатом. З отриманих результатів можна зробити висновок, що клітини культур сірководнювальних бактерій *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 і *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, як і штам *D. acetoxidans*, здатні активно здійснювати процес дисиміляційної сіркоредукції не лише при використанні лактату як донора електронів, але і пірувату.

### Кулик М. А.

#### ЧУТЛИВІСТЬ ДО Cr(III) ТА Cr(VI) ШТАМІВ ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMATA* З РІЗНОЮ ФЛАВІНОГЕННОЮ АКТИВНІСТЮ

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

Хром належить до елементів, вплив яких на організми з'ясований не повністю. Хром бере участь у стабілізації структури білків, метаболізмі ліпідів і глюкози, однак має мутагенну і канцерогенну дію. Дріжджі є зручною моделлю для вивчення токсичного впливу хрому, а також механізмів його детоксикації. Показано, що додавання хрому (Cr (VI) ) у ростове середовище в концентраціях, які пригнічують ріст, призводить до різкого зростання темпів флавіногенезу і нагромадження рибофлавіну у культуральній рідині. Цей ефект спостерігається тільки у дріжджів, здатних до надсинтезу рибофлавіну за умов недостатнього забезпечення залізом. Екзогенний рибофлавін знижує токсичність сполук хрому, однак механізм цього явища не з'ясовано.

Метою нашої роботи було визначити чутливість штамів дріжджів *Candida famata* з різною флавіногенною активністю до Cr(III) та Cr(VI) при вирощуванні у середовищах різного складу, а також дослідити вплив сполук хрому на продуктивність флавіногенезу.

В роботі використовувалися дріжджі *Candida famata* –штами дикого типу VKM Y9 та CBS 767 та надсинтетики рибофлавіну der8 і AF4, а також штам дикого типу ATCC 9058 і уридинозалежний штам 66 *Pichia guilliermondii*. Cr(III) додавали у вигляді  $Cr_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ , а Cr(VI) у вигляді  $K_2Cr_2O_7$ . Перевірено чутливість різних штамів дріжджів до Cr(III) та Cr(VI) на середовищах різного складу: середовище Беркгольдера (СБ), середовище Беркгольдера + 0,2% дріжджового екстракту, середовище Беркгольдера + 2% дріжджового екстракту.

При вирощуванні у СБ *C. famata* VKM Y9 є резистентнішим до Cr(III), ніж CBS 767, а також ніж надсинтетики рибофлавіну, але менш резистентний, ніж штам *P. guilliermondii*. У концентрації 1 мМ Cr(III) приводить до повного припинення росту штамів *C. famata*. Продуктивність флавіногенезу максимальна при 0,5 мМ Cr(III) у штамів дикого типу *C. famata*, у надсинтетиків зростання флавіногенної активності спостерігалось при концентрації хрому 0,25 мМ. У середовищі з додаванням +

0,2% дріжджового екстракту 1,5 мМ Cr(III) призводить до повного припинення росту всіх штамів *S. famata*, в той час як досліджувані штами *P. guilliermondii* ростуть і при концентрації Cr(III) 3 мМ, проте продуктивність флавіногенезу за таких умов не змінюється. Підвищення концентрації дріжджового екстракту у середовищі до 2% знижує токсичність Cr(III) для всіх штамів, не викликаючи суттєвого зростання продуктивності флавіногенезу.

Незалежно від здатності до надсинтезу рибофлавіну всі досліджувані штами є значно чутливішими до Cr(VI), ніж до Cr(III) при вирощуванні у середовищах різного складу. Виявлено, що ріст дріжджів *S. famata* значно сильніше пригнічується хроматом, ніж ріст *P. guilliermondii*. Для всіх штамів пригнічення росту було найсильнішим при використанні середовища Беркгольдера. За наявності дріжджового екстракту у середовищі резистентність до хромату є вищою. При внесенні 2% дріжджового екстракту у середовище всі досліджувані штами ростуть при концентрації Cr(VI) 1 мМ. В присутності хромату зростає продуктивність біосинтезу рибофлавіну у штамів дикого типу і в надсинтетиків цього вітаміну.

Таким чином, дріжджі *S. famata* є чутливішими до дії сполук хрому, ніж *P. guilliermondii*. Резистентність всіх досліджених штамів дріжджів до Cr(III) і Cr(VI) залежить від складу середовища. Наявність дріжджового екстракту в середовищі знижує чутливість до трьох- і шестивалентного хрому. Cr(VI) призводить до зростання флавіногенної активності штамів дикого типу і надсинтетиків рибофлавіну.

### **Лавренюк Л., Мороз О., Борсукевич Б., Звір Г.**

#### **ДИСИМІЛЯЦІЙНА СУЛЬФАТРЕДУКЦІЯ У БАКТЕРІЙ *DESULFOVIBRIO* SP. ОЗЕРА ЯВОРІВСЬКЕ ПРИ ЗМІНІ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ**

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

У водоймах з високим вмістом сульфатів активно розвиваються сульфатвідновлювальні бактерії, які мають унікальну метаболічну властивість - здатністю переносити водень від органічного субстрату на сульфат як кінцевий акцептор електронів і відновлювати останній до сірководню, що негативно впливає на гідробіонти. Оскільки хімічні методи очищення сульфат- і сульфідвмісних стоків дорогі і малоефективні, мікробні процеси є більш перспективними. Сульфатвідновлювальні бактерії привертають увагу дослідників як потенційні агенти очистки стічних і дренажних вод, забруднених сульфатами, сірководнем і важкими металами. Метою роботи було дослідити умови утворення максимальної кількості сірководню сульфатвідновлювальними бактеріями, виділеними з озера Яворівське, і проаналізувати можливість їх застосування для очищення водного довкілля від небезпечних забруднювачів.

Досліджували вплив зростання концентрацій донора електронів дисиміляційної сульфатредукції (лактату натрію) та акцептора електронів процесу (іону сульфату) на інтенсивність росту, утворення сірководню та нагромадження ацетату культурами *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8 та *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11. Бактерії культивували впродовж 7-10 діб при 28°C за анаеробних умов у середовищі Постгейта С. Для вивчення впливу різних концентрацій лактату натрію на утворення сірководню клітини бактерій висівали в середовище, у якому вміст лактату натрію було збільшено вдвічі і втричі, порівняно із його стандартним вмістом (6 г/л). Встановлено, що зростання концентрації лактату натрію вдвічі у середовищі культивування бактерій сприяло активізації процесу дисиміляційної сульфатредукції. Найбільш ефективним продуцентом сірководню серед досліджуваних культур виявилася культура *Desulfovibrio* sp. Yav-8. Якщо при концентрації лактату натрію 6 г/л культура *Desulfovibrio* sp. Yav-8 нагромаджувала 7,9 мМ сірководню, то при 12 г/л – 8,2 мМ (*D. desulfuricans* Ya-11 - 7,4 мМ). Зростання вмісту лактату натрію у середовищі сприяло збільшенню біомаси та нагромадженню ацетату.

Для дослідження впливу різних концентрацій іона сульфату на біогенез сірководню бактерії вирощували в середовищі, у якому вміст сульфат-іону було збільшено у 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 рази, порівняно



із його стандартним вмістом (3,1 г/л). Встановлено, що збільшення концентрації сульфат-іону у 2,5 рази у середовищі росту бактерій підвищувало інтенсивність дисиміляційної сульфатредукції. Якщо при стандартній концентрації сульфат-іона у середовищі культура *Desulfovibrio* sp. Yav-8 нагромаджувала 7,5 мМ сірководню, то при збільшенні концентрації сульфат-іону у 2,5 рази – 8,5 мМ (*D. desulfuricans* Ya-11 - 7,2 мМ). Таким чином, встановлено, що зростання концентрацій акцептора електронів (сульфату) у 2,5 рази та донора електронів дисиміляційної сульфатредукції (лактату натрію) вдвічі у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій сприяло активізації процесу. Зростання кількості утвореного клітинами сірководню не відбувалося пропорційно до зростання кількості лактату та сульфату у середовищі, можливо, у зв'язку з його токсичністю для бактерій.

Вивчали чутливість *D. desulfuricans* Ya-11 до гідроген сульфіду, який додавали у середовище у вигляді розчину  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (0,5-30 мМ). Бактерії виявилися високочутливими до сірководню. Значне пригнічення їх росту виявлено вже за концентрації 3 мМ гідроген сульфіду у середовищі. Таким чином, встановлено, що гідроген сульфід негативно впливає на розвиток сульфатвідновлювальних бактерій, їх застосування для очищення водного доквілля від небезпечних забруднювачів буде ефективним за умов постійного усунення сірководню з середовища, наприклад, внаслідок взаємодії з іонами важких металів.

### **Levytska O., Gudz' S.**

#### FACTORS STIMULATING THE GLYCOGEN ACCUMULATION IN *CHLOROBIVM LIMICOLA*

*Ivan Franko Lviv National University*  
4, Hrushevsky St., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: o\_levytska@yahoo.com

Synthesis and accumulation of storage materials in phototrophic sulfur bacteria occurs under conditions of nutrient limitation, thus suggesting the strategy of long term survival in a fluctuating environment (Mas, Gernerden, 1995). It has been suggested that nitrogen starvation (Phillippis, 1992) and phosphorus-limited growth conditions favoured glycogen accumulation in bacteria (Dicks J.W., Tempest D.W., 1966). Our previous investigations revealed the same effect of nitrogen and phosphorus deficiency on the content of this storage carbohydrate in the cells of photosynthetic green sulfur bacteria *Chlorobium limicola* Ya-2002 (two-fold increase of the glycogen level was observed). Similar changes of the rate of glycogen were shown during the incubation of *C. limicola* Ya-2002 under the conditions of elevated potassium and magnesium content in the medium. Nitrate was also found to stimulate the glycogen storage in these bacteria. We suppose that this effect of nitrate is connected with the disruption of the Arnon's cycle at the step of fumarase reaction (the activity of fumarase was significantly decreased by nitrate). We also investigated the influence of the additive carbon sources (the salts of organic acids) on the glycogen accumulation in *C. limicola* Ya-2002 and revealed the stimulating effect of them. Combination of all of these factors showed that the glycogen level in *C. limicola* Ya-2002 under such conditions was more than three-time increased as compare to the control (incubation in non-modified medium). Obtained results could be useful for further investigation of the glycogen accumulation in green sulfur bacteria and for application of *C. limicola* Ya-2002 as a bacterial polysaccharide source.

### **<sup>1</sup>Литвин В. В., <sup>1</sup>Колісник Я. І., <sup>2</sup>Гураль С. В.**

#### ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД КАРОТИНОЇДІВ МУТАНТНИХ ШТАМІВ *RHAFFIA RHODOZYMA*

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: microbiol@franko.lviv.ua

<sup>2</sup>Інститут біології тварин УААН, Вул. В.Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

Каротиноїди є представниками великої групи природних сполук, відомих під загальною назвою ізопреноїди. Поряд з безбарвними аліфатичними полієнами (фітоїн, фітофлюїн), до каротиноїдів нале-

жить велика група забарвлених сполук, які мають інтенсивне жовте, оранжеве, червоне або фіолетове забарвлення.

Природні пігменти поглинають світло у видимому діапазоні (380-750 нм) спектра, зокрема, каротиноїди – за рахунок наявності в їхній структурі хромофору, який являє собою систему спряжених подвійних зв'язків. Тому у їхньому спектрі поглинання є принаймні один максимум, характерний для хромофора молекули пігменту. Ця властивість, а також загальна картина спектру дають повну інформацію про молекулярну структуру і переважно використовуються при перших спробах ідентифікувати пігмент.

В результаті селекції штаму дикого типу *P. rhodozyma* NRRL Y-17268 нами було отримано серію мутантів, які візуально відрізнялися за кольором колоній. Загалом у процесі мутагенезу каротиносинтезувальних дріжджів утворюються три типи мутантів: 1) штами, здатні акумулювати в-каротин (мутація порушує етап перетворення в-каротину в астаксантин); 2) безколірні штами, які нагромаджують фітоен (в даному випадку мутація – на рівні генів, які кодують дегідрогеназу фітоену); 3) штами з посиленим синтезом астаксантину.

Каротиноїди, виділені із різних мутантних штамів дріжджів *P. rhodozyma*, отриманих в результаті опромінення ультрафіолетом, мають зміщені максимуми поглинання світла у короткохвильову ділянку щодо каротиноїдів дикого штаму, тобто максимальна оптична густина екстрактів спостерігається при 485, 484 та 482,5 нм, відповідно. Можливо, що домінуючим каротиноїдом у цих штамів може бути в-криптоксантин, неполярний каротиноїд, ідентифікований у кількох стабільних кольорових мутантів. Зміщення максимумів поглинання екстрактів суміші каротиноїдів може бути наслідком різного співвідношення пігментів. Мутантні штами UV B та UV D з жовтою пігментацією колоній продукують в-каротин як домінуючий каротиноїд. Крім того, в результаті опромінення УФ було отримано штам з посиленим синтезом астаксантину, причому максимум поглинання спостерігався при 494 нм.

У нітרוзогуанідин-індукованих мутантних штамів досліджуваних дріжджів M#1NG, M#2NG, M#3NG домінуючим каротиноїдом є астаксантин, оскільки максимуми поглинання для екстрактів цих штамів становлять 493, 492,2 та 492 нм, відповідно, тоді як у дикого штаму NRRL Y-17268 максимум поглинання екстракту становить 492,5 нм. Штам M#4NG належить до каротинпродукуючих дріжджів, тому що максимальна оптична густина екстракту спостерігається при 454,5 нм, а максимум поглинання екстракту в – каротину (Sigma, США) в суміші розчинників гексан:етилацетат (1:1) є при 452,6 нм. Мутантний штам M#5NG з оранжевою пігментацією колоній продукує каротиноїди, які, ймовірно, є проміжними сполуками у шляху біосинтезу від каротину до астаксантину (максимум поглинання екстракту каротиноїдів – 484,8 нм).

Отже, в результаті селекції отримано групу мутантів дріжджів *P. rhodozyma*, які синтезують цис-астаксантин, транс-астаксантин, кантаксантин, в-каротин, фітофлуїн та зеаксантин. Основну частину каротиноїдів мутантів дріжджів *P. rhodozyma* становить астаксантин.

### **Мащак І., Левицька Л., Перетятко Т., Гудзь С.**

#### **ЗАКОНОМІРНОСТІ ВІДНОВЛЕННЯ СУЛЬФАТІВ ПСИХРОФІЛЬНИМИ ШТАМАМИ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна  
e-mail: Maxbox89@ua.fm*

Внаслідок забруднення водойм сульфатами та елементною сіркою створюється «селективне» середовище для розвитку бактерій циклу сірки. Найпоширенішими в анаеробній зоні серед них є сульфатвідновлювальні бактерії. Важливим і перспективним напрямом може бути використання психрофільних штамів сульфатвідновлювальних бактерій, які здатні здійснювати сульфатредукцію при понижених температурах, оскільки ферменти, які продукуються цими мікроорганізмами, характери-

зуються більш високою каталітичною активністю за цих умов і специфічністю порівняно з мезофільними бактеріями.

З анаеробної зони водойм Язівського сіркового родовища виділені психрофільні штами сульфатвідновлювальних бактерій. Максимальне нагромадження біомаси виділеними бактеріями спостерігається на 7–10 доби культивування при 12–14°C. Для з'ясування здатності цих бактерій використовувати різні джерела вуглецю, їх висівали у середовища, в яких натрій лактат заміняли на фумаролу кислоти, етанол, аланін, гліцерин, гліцин, натрій ацетат. Дослідження ростових потреб дає підстави віднести виділені культури сульфатвідновлювальних бактерій до роду *Desulfobacter*.

Досліджено закономірності відновлення сульфату і нагромадження гідроген сульфід у психрофільними штамми сульфатвідновлювальних бактерій. З цією метою досліджувані бактерії культивували у середовищі Постгейта В з різною вихідною концентрацією сульфату: 4,35 мМ; 8,7 мМ; 17,4 мМ; 34,8 мМ.

У середовищі з 4,35 мМ сульфатів бактерії психрофільних штамів сульфатвідновлювальних бактерій повністю його відновлювали, нагромаджуючи у середовищі культивування до 4,2 мМ гідроген сульфід. У вихідному середовищі, що містило 8,7 мМ сульфату ріст бактерій досягав максимуму на четверту добу культивування, після чого його рівень не змінювався, що могло свідчити про зниження метаболічних процесів в клітинах через недостачу акцептора електронів. Збільшення вихідної концентрації сульфату в 2 і 4 рази (до 17,4 і 34,8 мМ, відповідно) не супроводжувалося збільшенням концентрації гідроген сульфід.

Здатність виділених психрофільних сульфатвідновлювальних бактерій здійснювати процес дисиміляційної сульфатредукції за низьких значень температури навколишнього середовища може бути використана для його очищення від сульфатів в умовах бореального клімату.

### **Мирончук В., Мороз О., Кушкевич І.**

#### **ВПЛИВ ІОНІВ НІКЕЛЮ, МАНГАНУ ТА ФЕРУМУ НА УТИЛІЗАЦІЮ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ БАКТЕРІЯМИ *CHLOROBIVM LIMICOLA* YA-2002 ЗА РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

Фототрофні сіркобактерії використовують відновлені сполуки сірки як донори електронів при аноксигенному фотосинтезі, продуктами окиснення яких є молекулярна сірка і сульфат. Зелені фотосинтезувальні сіркобактерії здійснюють детоксикацію освітлених глибинних шарів водойм від сірководню, який завдяки цим бактеріям не поширюється у верхні шари води, що забезпечує можливість розвитку там багатьох рослинних і тваринних організмів. Також вони беруть участь у нагромадженні органічних речовин у водоймах, збагачують середовище сполуками азоту, здійснюючи азотфіксацію, і можуть засвоюватись іншими живими організмами. У озері Яворівське поряд із високим вмістом сірководню також виявлено великі кількості іонів важких металів. Нікель, Манган та Ферум є одними з найбільш небезпечних забруднювачів довкілля. Метою роботи було вивчити вплив іонів Нікелю, Мангану та Феруму на ріст і окиснення сірководню зеленими сіркобактеріями *Chlorobium limicola* Ya-2002, виділеними з водойми Яворівського родовища сірки.

Фотосинтезувальні зелені сіркобактерії вирощували при освітленні 40 лк (довжина хвиль становила 700–800 нм) за анаеробних умов у середовищі GSB впродовж 10 діб при 30°C. Для вивчення впливу іонів важких металів на ріст та утилізацію сірководню клітини *C. limicola* Ya-2002 інкубували протягом 1 год зі солями металів:  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  (0–4 мМ). Біомасу визначали фотоелектроколориметричним, вміст сірководню титриметричним методами. Для дослідження здатності *C. limicola* Ya-2002 засвоювати різні форми азоту за впливу 2 мМ іонів Нікелю до середовища у екви-

молярній концентрації (2 мМ) до  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (контроль) додавали  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$ , діаміномонокарбонову амінокислоту лізин ( $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{CHNH}_2\text{COOH}$ ) або джерела азоту не додавали.

Виявлено значний негативний вплив солей важких металів:  $\text{NiCl}_2$  за концентрації 2,5 мМ,  $\text{MnSO}_4$  за концентрацій понад 4 мМ і  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  за концентрацій понад 4 мМ, на ріст *C. limicola* Ya-2002. Показано, що утилізація сірководню *C. limicola* Ya-2002 значно знижується під впливом 1 мМ іонів Нікелю, 1,5 мМ іонів Мангану та 2 мМ іонів Феруму. Отже, іони Нікелю, Мангану та Феруму більше пригнічують ріст, ніж фотоасиміляцію сірководню фотосинтезувальними зеленими сіркобактеріями.

Встановлено, що клітини *C. limicola* Ya-2002 здатні як джерело азоту використовувати не лише амонійний азот ( $\text{NH}_4^+$ ), але й амінний ( $-\text{NH}_2$ ) та молекулярний (азотфіксація), про що свідчить ріст та здатність до окислення  $\text{H}_2\text{S}$  у середовищі з  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , лізином та без джерела азоту. Виявлено, що *C. limicola* Ya-2002 не здатні використовувати азот у формі нітрату і нітриту, про що свідчить відсутність росту та значна кількість неокисненого сірководню у середовищі. Визначено, що за впливу іонів Нікелю у концентрації 2 мМ відбувається незначне інгібування росту та фотоасиміляції гідроген сільфіді бактеріями за умов культивування у середовищі з  $\text{NH}_4\text{Cl}$  та  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{CHNH}_2\text{COOH}$ . Негативний вплив іонів Нікелю на метаболічну активність клітин виявився значно нижчим, ніж наявність  $[\text{NO}_3^-]$  та  $[\text{NO}_2^-]$  у середовищі.

Можна вважати, що штам *C. limicola* Ya-2002 є стійким до високих концентрацій іонів важких металів, адаптованим до несприятливих факторів середовища і придатним для використання у біотехнологіях очищення водних ресурсів від небезпечних забруднювачів.

**<sup>1</sup>Остапчук Ю., <sup>2</sup>Рябцева А., <sup>3</sup>Бойко Н., <sup>1</sup>Звір Г.**  
ДЛЯ АНТИБІОТИКІВ, ІММОБІЛІЗОВАНИХ НА НОВИХ НАНОРОЗМІРНИХ  
ОЛІГОМЕРНИХ НОСІЯХ, НА КЛІНІЧНІ ШТАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

<sup>2</sup>Національний університет «Львівська Політехніка»

<sup>3</sup>Інститут біології клітини НАН України

e-mail: [microb4uk@gmail.com](mailto:microb4uk@gmail.com)

Виникнення стійких до антибіотиків штамів патогенних бактерій належить до найгостріших проблем у сучасній медицині. Негативними аспектами, пов'язаними із застосуванням багатьох антибіотиків, є їх токсичність, втрата активності при тривалому зберіганні та неспецифічне поширення в організмі, внаслідок якого вони знищують не лише патогенні мікроорганізми, а й нормальну мікрофлору. Крім того, велика кількість нових антимікробних засобів є погано розчинними у воді, що суттєво знижує ефективність їх дії. Зважаючи на вищесказане, розвиток досліджень щодо розробки нових систем доставки ліків є дуже актуальним. У роботі використовували олігомерні наноносії контрольованої структури, синтез яких був здійснений під керівництвом к.х.н. Заїченка О.С. на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська Політехніка». Проведені нами дослідження показали, що ці носії можуть не лише іммобілізувати антимікробні препарати, але й підвищувати розчинність водонерозчинних сполук і забезпечувати здатність долати резистентність мікроорганізмів до ліків.

Основні завдання роботи: 1) забезпечити зниження діючих концентрацій антимікробних препаратів шляхом їх доставки в клітини розробленими наноносіями; 2) дослідити здатність антимікробних препаратів, включених у нанорозмірні системи доставки, долати стійкість мікроорганізмів до дії антибактерійних ліків при їх застосуванні у вільній формі.

Досліджено вплив на ріст досліджуваних культур мікроорганізмів антибіотиків левоміцетину і ампіциліну, іммобілізованих на носії ВЕП-ГМА-ПЕГ (5-(трет-бутилперокси)-5-метил-1-гексен-3-інгліцидилметакрилат, який був модифікований поліетиленгліколем). Левоміцетин, асоційований із цим носієм, виявив бактерицидну дію щодо клінічного штаму *Proteus mirabilis*, резистентного до цього

антибіотика. Доставка левоміцетину за допомогою цього носія посилила його антибактерійну дію на культури *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus*. У той же час ампіцилін, іммобілізований на носії ВЕП-ГМА-ПЕГ, не проявив вищої антибактерійної дії на досліджувані культури, порівняно з такою дією цього антибіотику в чистому вигляді.

Олігомер ВЕП-ГМА-ПЕГ є перспективним як носій для доставки антибактерійних препаратів. Його використання дає можливість застосовувати препарати у дозах, значно менших від терапевтичних, із збереженням антибактерійного ефекту. Результатом використання даного носія для доставки ліків може бути зниження проявів негативних побічних ефектів під час лікування інфекційних захворювань.

Роботу виконано за підтримки гранту УНТЦ №4953.

### **Рубель Х., Мороз О., Звір Г.**

#### **ВПЛИВ СОЛЕЙ МІДІ, ЦИНКУ ТА КОБАЛЬТУ НА ОКИСНЕННЯ СІРКОВОДНЮ *CHLOROBIVM LIMICOLA* ЗА РІЗНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

У техногенній водоймі, яка виникла на місці кар'єру Яворівського сіркового родовища, за останні роки виявлено не лише високі концентрації токсичних для живих організмів сполук сірки, але і важких металів. Кобальт, мідь, цинк є одними з найбільш небезпечних забруднювачів довкілля. Найбільш чутливими до дії важких металів є процеси бродиння, дихання, клітинний поділ, транспорт цукрів і катіонів металів, синтез рибофлавіну, азотфіксація, фотосинтез. Зелені фототрофні сіркові бактерії, які розвиваються у освітлених глибинних шарах водойм, здійснюють аноксигенний фотосинтез, використовуючи такі відновлені сполуки сірки, як сірководень, як донори електронів. Продуктами окиснення відновлених сполук сірки є сульфат і молекулярна сірка. Метою досліджень було визначити вплив солей міді, цинку та кобальту на утилізацію сірководню *Chlorobium limicola* Ya-2002, виділених з озера Яворівське, при зміні умов культивування.

Фотосинтезувальні зелені сіркобактерії культивували за анаеробних умов при освітленні (інтенсивність 40 лк, довжина хвиль 700-800 нм) у середовищі GSB впродовж 7-10 діб при 30°C. Для вивчення впливу іонів важких металів на ріст та утилізацію сірководню *C. limicola* Ya-2002 клітини інкубували (1 год) з солями металів:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2$  (0-4 мМ). Біомасу визначали фотоелектроколориметричним, вміст сірководню йодометричним методами. Для дослідження здатності *C. limicola* Ya-2002 засвоювати різні форми азоту за впливу іонів кобальту (1,5 мМ) до середовища у еквімолярній концентрації (2 мМ) до  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (контроль) додавали  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$ , діаміномонокарбонату амінокислоту лізин ( $(\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{CHNH}_2\text{COOH})$ ) і не додавали джерела азоту.

Виявлено значне пригнічення росту *C. limicola* Ya-2002 за впливу солей міді (4 мМ), цинку (> 4 мМ) та кобальту (4 мМ). Встановлено, що утилізація сірководню *C. limicola* Ya-2002 пригнічується під впливом 1,5-4 мМ іонів міді, 2-4 мМ іонів цинку, 1,5-4 мМ іонів кобальту. Зроблено висновок про те, що іони міді, цинку та кобальту пригнічують як ріст, так і фотоасиміляцію сірководню фотосинтезувальними зеленими сіркобактеріями, причому у більшій мірі процес аноксигенного фотосинтезу, ніж ріст.

Встановлено відсутність росту та нездатність окиснювати сірководень клітинами, які культивували у середовищі з нітратом та нітритом натрію як за впливу іонів кобальту, так і без. Показано, що нітрати і нітрити не засвоюються *C. limicola* Ya-2002. За наявності у середовищі амонійного азоту негативний вплив кобальту на метаболічну активність бактерій менший, ніж заміна амонійної форми азоту на нітрат і нітрит. Встановлено, що зелені сіркові фотосинтезувальні бактерії *C. limicola* Ya-2002 використовують амонійний, амінний та молекулярний азот, оскільки після 10 діб росту виявлено високу біомасу та незначний вміст сірководню (концентрація якого на початку культивування становила 2,5 мМ) у середовищі з  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , лізином і без джерела азоту.

Отримані у роботі результати не лише важливі для екологічної оцінки стану водного довкілля, забрудненого сполуками сірки, азоту та важких металів, але і можуть бути використані для отримання стійких до іонів важких металів штамів сіркобактерій, перспективних для застосування у очисних біотехнологіях.

### Скочилиас Н., Тераз С., Колісник Я., Марків О.

#### ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ТА ПРОТИГРИБКОВОЇ АКТИВНОСТІ НІПАГІНУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: nskochelyas@mail.ru

Антимікробні консерванти широко застосовуються як допоміжні компоненти у різних лікарських засобах. Насамперед це пов'язано з тим, що основною причиною зниження якості лікарських препаратів може бути контамінація їх мікроорганізмами під час виробництва або застосування. Щоб запобігти потраплянню та розвитку мікроорганізмів виготовлення та зберігання препарату здійснюють з дотриманням належних санітарно-гігієнічних норм, а до складу фармацевтичних препаратів додають антимікробні консерванти. Проблема вибору ефективних та нешкідливих консервантів для лікарських засобів є особливо актуальною для сучасної фармації та медицини.

В дослідженнях використовували антимікробний консервант ніпагін у концентрації 0,9 мг/мл. Визначення його активності щодо широкого спектру мікроорганізмів проводили мікробіологічним методом, описаним у ДФУ (5.1.3). Тест-штами мікроорганізмів *Candida albicans* ATCC 885-653, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* Lia-01, *Candida tropicalis* NCYC 1393, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Zygosaccharomyces rouxii* NCYC 381, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Bacillus pumilus* ATCC 14884, *Clostridium sporogenes* ATCC 19404, *Salmonella enterica* Serovar Abony CIP-8039, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Proteus vulgaris* 152, *Proteus mirabilis* 150, *Klebsiella pneumoniae* 43, *Enterobacter aerogenes* 15, *Serratia marcescens* 1, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* 191, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 вносили у розчин консерванту у концентрації  $10^5$ - $10^6$  КУО/мл. Критерієм оцінки ефективності консерванту є зниження числа життєздатних клітин тест-мікроорганізмів за певний період часу після його контамінації.

Експериментально показано, що життєздатні клітини мікроорганізмів *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* не виявлялися на другий день після внесення клітин у модельну систему. На цьому добу не було виявлено життєздатних клітин бактерій видів *S. aureus*, *E. coli*, *S. abony*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *S. epidermidis*, *S. marcescens*. На чотирнадцятий день дослідження спостерігали фунгіцидну дію ніпагіну на досліджувані штами дріжджоподібних грибів та бактерицидну дію на клітини *E. faecalis*. Найменш виражена активність ніпагіну спостерігалася щодо *A. niger* та бактерій *B. pumilus*, *B. cereus*, *C. sporogenes*. Логарифм зниження числа життєздатних клітин *A. niger* через 2 доби становив 0,52, через 7 діб – 0,98, через 14 діб – 1,03, через 28 діб – 1,28. Логарифми зниження числа життєздатних клітин *B. pumilus* становили 0,53; 2,3; 2,6; 3,1 через 2, 7, 14 та 28 діб, відповідно. Подібні ряди для *B. cereus* і *C. sporogenes* виглядали таким чином: 1,78; 2,57; 2,78; 3,52 та 1,15; 1,54; 1,94; 3,24, відповідно.

Встановлено, що найчутливішими до ніпагіну мікроорганізмами виявилися *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*. Найменш виражена активність ніпагіну спостерігалася по відношенню до *A. niger* та бактерій *B. pumilus*, *B. cereus*, *C. sporogenes*, що проявлялося у мінімальній здатності консерванту зменшувати число життєздатних клітин даних мікроорганізмів.

**Скочиляс Н., Марків О., Колісник Я., Тераз С.**

**ВПЛИВ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТУ НІПАЗОЛУ НА МІКРООРГАНІЗМИ**

*Кафедра мікробіології, Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: nskochelyas@mail.ru*

В останні роки широкого застосування набули ефіри п-оксibenзойної кислоти, які на відміну від саліцилової і бензойної кислот ефективні у слабоекислому та нейтральному середовищі. Пропілпарагідроксibenзоат (ніпазол) використовують як консервант у фармацевтичній та косметичній промисловості з метою запобігання або інгібування росту мікроорганізмів, які можуть становити небезпеку для стабільності лікарських і косметичних засобів. За механізмом дії парабени схожі з фенолом, вони руйнують структуру клітинної мембрани мікроорганізмів, денатурують внутрішньоклітинні білки та вступають у реакції з деякими коферментами. Затримують засвоєння таких важливих поживних речовин, як глюкоза і пролін.

Метою нашої роботи було визначення антибактеріальної та протигрибкової активності консерванту ніпазолу у концентрації 0,35 мг/мл. Дослідження проводили мікробіологічним методом згідно з рекомендаціями, описаними у ДФУ 5.1.3, з використанням наступних тест-штамів мікроорганізмів: *Candida albicans* ATCC 885-653, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* Lia-01, *Candida tropicalis* NCYC 1393, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Zygosaccharomyces rouxii* NCYC 381, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Bacillus pumilus* ATCC 14884, *Salmonella enterica* Serovar Abony CIP-8039, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Clostridium sporogenes* ATCC 19404, *Proteus vulgaris* 152, *Proteus mirabilis* 150, *Klebsiella pneumoniae* 43, *Enterobacter aerogenes* 15, *Serratia marcescens* 1, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* 191, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. Ефективність дії консерванту оцінювали через 0, 2, 7, 14, 28 діб з моменту внесення мікроорганізмів у модельну систему. Критерієм оцінки було зменшення числа життєздатних клітин мікроорганізмів у розчині за певний період часу після його контамінації.

Ніпазол у вказаній концентрації в умовах високого мікробного навантаження  $10^5$ - $10^6$  КУО/мл проявляв згубну дію на такі мікроорганізми як: *E. coli*, *S. abony*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *S. epidermidis*, *S. marcescens*, *Z. rouxii* життєздатні клітини яких не виявлялися уже через дві доби при послідовних висівах. На сьому добу не виявлено життєздатних клітин мікроорганізмів видів *S. aureus*, *P. aeruginosa* та *E. faecalis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. cerevisiae*, *C. utilis* – на чотирнадцятий день дослідження.

Логарифм числа життєздатних клітин *A. niger* через 2 доби становив 2,19, через 7 діб – 2,14, через 14 діб – 2,0, через 28 діб – 1,98 (lg числа КУО/мл вихідної концентрації 5,23). Подібна залежність спостерігається і для бактерій видів *B. pumilus*, *B. cereus*, *C. sporogenes*, тобто, на 28 день дослідження кількість життєздатних клітин цих мікроорганізмів суттєво не зменшувалась, однак, ефективність антифунгальної та антибактеріальної дії щодо цих тест-мікроорганізмів відповідає вимогам, наведеним у діючій ДФУ.

**Шоляк К., Перетятко Т., Гудзь С.**

**РЕЗИСТЕНТНІ ДО ХРОМУ МІКРОБНІ УГРУПОВАННЯ, ВИДІЛЕНІ ЗІ СТІЧНИХ ВОД**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: Sholjak@gmail.com*

Важливою проблемою сучасності є антропогенне забруднення навколишнього середовища іонами важких металів, зокрема хромом (VI), які токсичні для всіх живих організмів. У природі найчасті-

ше трапляються високотоксичні сполуки шестивалентного хрому і малорозчинні нетоксичні форми Cr (III). Токсичність іонів металів для мікроорганізмів - одна із головних перешкод для їх застосування в біоремедіаційних технологіях.

Описані резистентні до хрому мікроорганізми, виділені зі стічних вод. Резистентність мікроорганізмів до хрому (VI) пов'язана з його ензиматичним відновленням до Cr (III), або його відновленням позаклітинними редуруючими речовинами, що виділяються мікроорганізмами, наприклад, гідроген сульфід, що активно продукується сульфатвідновлювальними бактеріями. Він може взаємодіяти з іонами важких металів, утворюючи нерозчинні сульфідні метали. Підвищеною стійкістю до важких металів характеризуються сульфатвідновлювальні бактерії, однак, кінетика росту чистих культур, а також інгібування їх росту іонами Cr (VI) залишаються маловивченими. Саме тому ці бактерії привертають увагу дослідників як потенційні агенти очищення стічних вод, забруднених важкими металами, зокрема Cr (VI).

Метою нашої роботи було визначення складу фізіологічних груп мікроорганізмів стічних вод промислових підприємств, забруднених хромом, а також виділення хромрезистентних сульфатвідновлювальних бактерій.

Для виділення сапрофітних бактерій використовували середовище МПА, мікроскопічних грибів і дріжджів - сусло-агар, целюлозоруйнуючих мікроорганізмів – середовище Гетченсона, сульфатвідновлювальних бактерій – середовище Постгейта В, олігонітрофілів – середовище Ешбі, нітрифікаторів – середовище Виноградського, сіркобактерій – середовище Ван-Ніля, актиноміцетів – середовище Чапека, коліформних бактерій – глюкозопептонний агар, грибів, що засвоюють легкодоступні вуглеводи – середовище Ваксмана, для мікроорганізмів, що використовують мінеральні форми азоту, в тому числі актиноміцетів – крохмалоаміачне середовище. До цих середовищ вносили 1 мМ Cr (VI) у формі  $K_2Cr_2O_7$ .

Показано, що мікробні угруповання відрізнялися за кількісним складом у різних зонах відбору. Виявлено різні фізіологічні групи мікроорганізмів серед яких сапрофіти, плісеневі гриби, целюлозоруйнуючі мікроорганізми, сульфатвідновлювальні бактерії, дріжджі та ін. Крім того показано, що при внесенні у середовище культивування 1мМ Cr(VI) кількість мікроорганізмів зменшувалась у 10-100 разів, порівняно із середовищем без внесення хрому.

Виділено чисті культури сульфатвідновлювальних бактерій, які стійкі до підвищених концентрацій хрому. Досліджено їх морфологічні та фізіологічні властивості, а також здатність до детоксикації шестивалентного хрому.

### **Скотаренко М., Кушкевич І.**

#### **ВПЛИВ НАТРІЙ СУЛЬФІДУ НА РІСТ ПУРПУРОВИХ СІРКОБАКТЕРІЙ *THIOCAPSA ROSEOPERSICINA* YA-2003**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. М. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: Ivan\_Kushkevych@ukr.net*

Бактерії роду *Thiocapsa* за анаеробних умов здійснюють фотоавтотрофний ріст з використанням сульфідів або сірки як донора електронів. Ріст і розповсюдження цих мікроорганізмів у водоймах залежить від різних факторів середовища, одним із яких є концентрація гідроген сульфідів. Нагромадження його у середовищі спричиняє негативні наслідки, оскільки він має токсичний та мутагенний вплив на живі організми.

Актуальною є проблема утилізації гідроген сульфідів сіркоокиснювальними бактеріями, дослідження його впливу на метаболізм клітин мікроорганізмів з метою створення універсальних комплексних біотехнологій очищених водойм від цієї екологічно небезпечної сполуки.

Метою нашої роботи було дослідження впливу різних концентрацій натрій сульфідів на ріст пурпурових сіркобактерій *Thiocapsa roseopersicina* Ya-2003, виділених з водойм Яворівського сіркового



родовища та ідентифікованих на кафедрі мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка.

Бактерії культивували протягом 10 діб за різних концентрацій (4; 5; 6; 8 та 10 мМ)  $\text{Na}_2\text{S}$  при температурі  $28^\circ\text{C}$  за анаеробних умов у середовищі Ван Ніля. Відомо, що натрій сульфід у середовищі дисоціює і утворюється гідроген сульфід, який використовують досліджувані сіркобактерії. Біомасу культури визначали фотометруванням на КФК-3 на першу, другу, третю, п'яту, сьому та десятю доби.

Як показали результати наших досліджень, найбільший ріст бактерій *T. roseopersicina* Ya-2003 спостерігали у контрольному середовищі за внесення 4 мМ  $\text{Na}_2\text{S}$  на десятю добу. Близькими до контрольного були значення біомаси 2,5 та 2,4 г/л, відповідно, за впливу 5 і 6 мМ солі на десятю добу. При внесенні 8 мМ  $\text{Na}_2\text{S}$  ріст бактерій інгібувався на 29% порівняно з контролем. За найвищої досліджуваної концентрації 10 мМ натрій сульфиду спостерігали найбільше інгібування росту культури, при цьому біомаса інгібувалась на 50% на п'яту добу, порівняно з контролем.

Отже, зі збільшенням концентрації гідроген сульфиду у середовищі, ріст бактерій *T. roseopersicina* Ya-2003 значно інгібується, відповідно його використання клітинами знижується. Очевидно таке інгібування росту бактерій обумовлене токсичною дією цієї сполуки на мембрани клітин та їхні компоненти, зокрема структурні білки. Відомо, що гідроген сульфід має здатність зв'язувати метали, які можуть бути компонентами активних центрів ферментів, задіяних не лише у мембранному чи внутрішньоклітинному транспорті, але і в метаболічних процесах.

### **Скиба І., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.**

#### **ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА БІОГЕНЕЗ СІРКОВОДНЮ КУЛЬТУРАМИ *DESULFUROMONAS* SP. ОЗЕРА ЯВОРІВСЬКЕ**

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

За участю сірковідновлювальних бактерій у водоймах, які виникли на місці недіючих сірковидобувних підприємств, активно відбуваються процеси відновлення сірки з утворенням токсичного для живих організмів сірководню. Ці бактерії отримують енергію для росту за допомогою анаеробного сірчаного дихання (дисиміляційна сіркоредакція). Хемоорганотрофи. Крім елементарної сірки, сполуки, що містять полі- або дисульфідні зв'язки, такі як полісульфід, цистин або окиснений глутатіон можуть слугувати акцепторами електронів. Органічні сульфідвмісні сполуки, малат чи фумарат є єдиними відмінними від сірки акцепторами електронів, які вони можуть використовувати. Метою роботи було вивчити вплив умов культивування на біогенез сірководню культурами *Desulfuromonas* sp. озера Яворівське.

Вивчали здатність культур сірковідновлювальних бактерій *Desulfuromonas* sp. використовувати  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та сірковмісну амінокислоту метіонін ( $\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ ) як акцептори електронів для дисиміляційної сіркоредакції. Клітини вирощували у середовищі Постгейта С, яке містило лактат натрію як донор електронів і джерело вуглецю, а як акцептори електронів сірку (контроль) та вищеперелічені сполуки. Встановлено, що сірка є єдиним акцептором електронів, який вони використовували.

Перевіряли здатність культур *Desulfuromonas* sp. Yavor-1-10 і штаму *Desulfuromonas acetoxidans* утворювати сірководень під час росту у середовищі Постгейта С, яке замість сульфатів містило сірку. На 10 добу росту біомаса бактерій становила 1,7-2,7 г/л (*D. acetoxidans* 2,4 г/л); клітини продукували 0,6-1,0 мМ (*D. acetoxidans* 0,8 мМ) сірководню. Таким чином, досліджувані культури сірковідновлювальних бактерій виявилися активними продуцентами сірководню.

Вивчали вплив збільшення концентрації донора електронів дисиміляційної сіркоредакції – лактату натрію, на рівень продукування сірководню культурами *Desulfuromonas* sp. Yavor-1, 5 і 7 та *D. acetoxidans*.

Клітини вирощували у середовищі, у якому вміст лактату натрію (6,0 г/л) збільшували у 1,5; 2; 2,5; 3 і 3,5 рази. Найбільша кількість гідроген сульфід (до 1,4 мМ) утворювалася у середовищі культивування бактерій, яке містило лактат натрію у концентрації, вдвічі більшій, ніж у стандартному середовищі Постгейта С.

Чутливість до гідроген сульфід є обмеженням у застосуванні сірководновловальних бактерій у біотехнологіях, спрямованих на очищення водного середовища від сірководню та важких металів. Актуальним є пошук штамів, стійких до підвищених концентрацій  $H_2S$ . До середовища Постгейта С з сіркою вносили 1-30 мМ  $Na_2S \times 9 H_2O$ . За концентрацій сірководню понад 6 мМ ріст бактерій виявився значно пригніченим. Якщо у середовищі без додавання сірководню біомаса *D. acetoxidans* становила 1,5 г/л, то за концентрації 6 мМ – 0,6 г/л. За концентрацій сірководню понад 19 мМ ріст бактерій виявився практично відсутнім. Таким чином, встановлено, що бактерії роду *Desulfuromonas* виявилися стійкими до високих концентрацій сірководню, тому вони придатні для використання у біотехнологічних процесах, що застосовуються для ремедіації довкілля від забруднювачів.

### Sosnovska O.

#### DEVELOPMENT OF APPROACHES FOR CLONING OF GENES, ENCODING RIBOFLAVIN PERMEASE AND RIBOFLAVIN EXCRETASE IN *PICHTIA GUILLIERMONDII* YEAST

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine*

*Institute of Cell Biology NAS of Ukraine*

*14/16, Drahomanov St., 79005, Lviv, Ukraine*

Riboflavin (RF) is capable of easy penetration into cells of animals and lactic acid bacteria which are RF auxotrophs as their growth depends on uptake of exogenous RF. Ability to take up exogenous RF by RF prototrophic cells is not obligatory and not so obvious. RF transport was studied in details in baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*, flavinogenic yeast *P. guilliermondii* and to lesser extent, in flavinogenic fungus *Asbya gossypii*. Characteristics of RF uptake and inverse process of RF excretion were studied. No data for cloning of genes, encoding RF permease and RF excretase in *P. guilliermondii* yeast are available in literature.

The aim of this work was to develop approaches for cloning *P. guilliermondii* genes, encoding RF permease and RF excretase. Selected *P. guilliermondii* MS1-3 strain possess the most active RF accumulation. The optimal conditions for RF accumulation by eight uridine auxotrophs derived from this strain were checked using Burkholder's medium supplemented with 200 mg RF/ml, 0,5% kazamino acids and different concentration of sucrose (0.5%, 1%, 2%). The most intensive accumulation of RF was observed in the medium with 1% of sucrose. It was shown that *P. guilliermondii* MS1-3 strain capable to inverse process – excretion of accumulated RF.

To check presence of *ura3* mutation in the strains which described above the plasmid pAGU34, which contains the modified gene *S. cerevisiae* URA3 was used. After the Li-acetate transformation no prototroph strains were obtained. We supposed that uridine requirements were caused by another mutation namely *ura5*. To prove that DNA fragment bearing *S. cerevisiae* URA5 gene was introduced into cells of uridine auxotrophs. 10 uridine prototrophs derivative of the strain №27 were selected. The presence of heterologous gene in transformants genome was shown using PCR. So, *ura5* derivative of the MS1-3 strain was selected to be used as a recipient strain for transformation experiments.

Unfortunately insertion cassettes for *P. guilliermondii* designed in Department of Molecular Genetics and Biotechnology early contain gene URA3 of *S. cerevisiae*. To introduce *ura3* mutation into *P. guilliermondii* MS1-3 strain we crossed this strain with strains which contain *ura3* mutation. After segregation analysis 110 uridine auxotrophs possessing the active RF accumulation were selected. Presence of *ura3* mutation was shown using plasmid bearing the gene URA3 *S. cerevisiae*. As a result two *ura3* mutants characterized by high activity of RF accumulation were identified.

Constructed *ura3* derivatives of MS1-3 strain are a necessary prerequisite for studying RF accumulation and excretion by *P. guilliermondii*.

**Варениця О., Вербова І., Звір Г., Мороз О.**  
ВПЛИВ ЦИНКУ ТА КУПРУМУ НА РІСТ І АКТИВНІСТЬ  
КАТАЛАЗИ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* YA-11

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: olha\_1@i.ua*

Однією з важливих проблем сучасності є підвищення рівня антропогенного забруднення навколишнього середовища важкими металами. Основним джерелом забруднення є підприємства з виробництва дорожніх будівельних матеріалів, котельні теплового господарства, промислові підприємства машинобудування й автомобільний транспорт. Вони викидають в атмосферу значну кількість солей важких металів, оксидів вуглецю, сполук сірки, азоту й інші шкідливі хімічні сполуки, які потрапляють у ґрунти і водойми та забруднюють їх.

Дослідження характеру дії важких металів на мікроорганізми є важливим етапом під час виконання багатьох екологічних завдань, серед яких оцінка стану довкілля, пошук біологічних індикаторів техногенного забруднення. Масштабні забруднення біосфери іонами важких металів потребують негайної розробки методів прогнозування взаємодії мікроорганізмів із цими іонами для створення універсальних комплексних біотехнологій очищення водойм, ґрунтів і атмосфери від іонів металів.

На даний час вплив цинку та купруму на ріст та метаболічну активність сульфатвідновлювальних бактерій вивчено недостатньо. Суперечливими є дані про регуляцію каталазної активності у мікроорганізмів роду *Desulfovibrio*. Метою даної роботи було дослідження впливу різних концентрацій іонів  $Zn^{2+}$  при сталій концентрації  $Cu^{2+}$  на ріст та активність каталази культури бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11, виділених з водойми Яворівського сіркового родовища.

Попередніми дослідженнями показано, що іони цинку у концентрації 0,5–2,5 мМ суттєво не пригнічували росту досліджуваних бактерій. Ми вирішили перевіряти, як впливатиме на *D. desulfuricans* Ya-11 цей метал у вищих концентраціях (від 2,0 до 10,0 мМ) при одночасній дії на бактерії іонів купруму за концентрацій 1 мМ. Клітини культивували впродовж 10 діб у середовищі Кравцова-Сорокіна за анаеробних умов при 30 С.

Внесення у середовище культивування *D. desulfuricans* Ya-11 іонів цинку в концентраціях 6,0–10,0 мМ спричиняло пригнічення росту бактерій порівняно з контролем у 1,4–2,8 разів, що, можливо є наслідком негативного впливу цього металу на енергетичні процеси бактерійних клітин. Встановлено, що активність каталази зростає при концентрації іонів цинку 6,0–8,0 мМ. Внесення у середовище іонів цинку у концентрації 10 мМ пригнічувало активність каталази. Отримані нами результати показали, що активність ферменту знижувалася пропорційно до зростання концентрації важкого металу в 1,1–4 рази порівняно з контролем.

Таким чином, встановлено, що цинк у зростаючих концентраціях при сталій концентрації купруму пригнічує ріст і активність каталази у сульфатвідновлювальних бактерій.

**Vasylyv O., Hnatush S.**

THE INFLUENCE OF 3D<sup>3</sup> TYPE TRANSITION METALS ON GROWTH ABILITY  
OF SULFURREDUCING BACTERIA *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS*

*Ivan Franko National University of Lviv, Department of Microbiology*  
*4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine*  
*e-mail: oresta.vasylyv@gmail.com*

*Desulfuromonas acetoxidans* are strictly anaerobic gram-negative bacteria that inhabit sulfur containing aquatic environments. These bacteria contain specific metalreductase that is a threehem cytochrome c(7) type which main function is reducing Fe(III) and Mn(IV) with forming of magnetite ( $Fe_3O_4$ ), siderite ( $FeCO_3$ ) and rhodochrosite ( $MnCO_3$ ) as the end products of dissimilative Fe (III)- and Mn (IV)-reduction. These bacte-

ria are considered to be used as microbial-anode fuel cells with high electron recovery (>80%) from oxidized acetate to electric current. Oxidation of acetate and other organic compounds by these bacteria is binded with Fe(III) - and Mn(IV) - reduction. Nickel and Cobalt are very similar to Iron by their electrochemical properties what allow to assume that these elements can substitute Ferrum when there is low concentration of it in the environment. Fe (III) and Mn (IV) can non-enzymatic oxidize hydrogen sulfide to molecular sulfur which cause it to be detoxicated.

So the aim of our work was investigation of influence of 3d<sup>3</sup> type transition metals, such as Fe(III), Mn(IV), Ni(II) and Co(II) on the growth ability of sulfurreducing bacteria *Desulfuromonas acetoxidans*.

Bacteria were grown during 10 days with different concentrations of ferrum chloride, manganese oxide, nickel chloride and cobalt chloride (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mM). The control samples didn't contain any metal ions. After the appropriate time of growth cells were washed, disintegrated on the ultrasonic homogenizer at 22 kHz at 0°C during five minutes. Fragments of cells were sedimented by centrifugation at 4000 rotations per minute at 4°C during 15 minutes. The biomass in the received supernatant was measured by the protein determination by Lauri method.

Results showed that growth ability of investigated bacteria was maximal under the influence of 2.5 mM Fe<sup>3+</sup> in the growth medium. Increase of Ferrum ions from 0.5 to 2.0 mM caused enhance of growth, comparable with control samples. Addition of different concentrations of MnO<sub>2</sub> into the growth medium caused the highest increase of biomass under the influence of 0.5 mM of Mn<sup>4+</sup>. Increase of Manganese ions concentration from 1.5 to 2.5 mM caused the inhibition of bacterial growth ability. It was shown that under the influence of 0.5 - 1.5 mM Nickel ions the biomass of investigated bacteria increased while the highest concentrations of Ni<sup>2+</sup> caused the inhibition of growth of *D. acetoxidans*. Biomass increased on 20% under the influence of 0.5 mM of Nickel ions and decreased on 17% under the influence of 2.5 mM of investigated metal ions in comparison with control samples on the fourth day of growth. Addition of different concentrations of Co<sup>2+</sup> caused the enhance of growth ability of investigated bacteria in direct proportion to increase of metal concentration in the growth medium from 0.5 to 2.5 mM. The highest cellular biomass was observed under the influence of 2.5 mM of Co<sup>2+</sup>. Under these conditions growth of investigated bacteria increased on 45% on the third day in comparison with control samples.

On the base of obtained data we have come to the conclusion that Manganese and Nickel ions in low concentrations, such as 0.5-1.0 mM and 0.5-1.5 mM respectively, stimulated the growth ability of investigated bacteria, while Ferrum and Cobalt ions caused the most effective increase of biomass in concentration 2.5 mM. These results can be explained by the fact that Ferrum and Cobalt are more essential elements for supporting biochemical and physiological processes of investigated bacteria than Manganese and Nickel, that's why high concentrations of them haven't an inhibition effect on growth ability of sulfurreducing bacteria *D. acetoxidans*.

### **Якимчук Г., Перетятко Т., Гудзь С.**

#### **ОЧИЩЕННЯ СЕРЕДОВИЩ, ЗАБРУДНЕНИХ ІОНАМИ Cu<sup>2+</sup>, СІРКО- ТА СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського 4, м. Львів? 79005, Україна*

*e-mail: jakim200909@gmail.com*

У багатьох країнах світу значні території ґрунтів та водойм, забруднених важкими металами, стали непридатними для сільськогосподарського використання. Потрапляючи у живий організм, важкі метали спричиняють низку структурних та функціональних змін у ньому.

Нами зроблена спроба використати сірко- та сульфатвідновлювальні бактерії для очищення середовища від іонів двовалентної міді. Досліджено здатність сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій продукувати гідроген сульфід та його взаємодію з двовалентною міддю. Максимальну кількість

гідроген сульфід у відмиті клітини сірководнювальних бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* утворювали у середовищі Постгейта з елементною сіркою, як єдиним акцептором електронів, що містило 0,1 мМ  $\text{Cu}^{2+}$ . Більш високі концентрації  $\text{Cu}^{2+}$  інгібували ріст культури. Відмиті клітини *D. acetoxidans* у концентрації 2 г/л повністю осаджували  $\text{Cu}^{2+}$  із 0,5 мМ розчину протягом 6 годин.

Сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* активно продукують гідроген сульфід в процесі дисиміляційної сульфатредукції. Його кількість залежить від концентрації сульфатів і органічних сполук у середовищі. У середовищах з 0,5–1,0 мМ іонів двовалентної міді її вміст наближався до нуля через 10 год інкубації.

Таким чином, використання сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій, як нам видається, є перспективним методом очищення навколишнього середовища від забруднення іонами  $\text{Cu}^{2+}$ .

### **Юринець Х., Мороз О., Клим І., Кулачковський О., Борсукевич Б.**

#### **УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛІТИН І ДЕЯКІ ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТУР *DESULFUROMONAS* SP. ЯВОРІВСЬКОГО ОЗЕРА**

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

Сірководнювальні бактерії роду *Desulfuromonas* поширені у анаеробних зонах сульфідвмісних осадів морів, солоних озер, прісних водойм, а також у місцях розробки сіркових родовищ. Відомо, що вони мають форму більш чи менш вигнутих або видовжених овальних паличок, 0,4–0,9 x 1,0–4,0 мкм у довжину. Особливих спочиваючих форм, таких як спори, не виявлено. Грамнегативні. Рухливі в основному за рахунок одинарного джгутика, локалізованого в латеральному або субполярному положенні. Облігатні анаероби. Хемоорганотрофи. Отримують енергію для росту за допомогою анаеробного сірчаного дихання. Елементна сірка слугує як кінцевий акцептор електронів для дисиміляційної сіркоредукції і відновлюється до сірководню. Метою роботи було вивчити морфофізіологічні особливості виділених з озера Яворівське культур *Desulfuromonas* sp. для оцінки ефективності їх потенційного використання у біоремедіаційних схемах очищення вод, збагачених органічними сполуками, від іонів важких металів та сірководню, оскільки поряд із сульфатвідновлювальними бактеріями їм належить особлива роль в утворенні сірководню, який нагромаджується у техногенних водоймах сірковидобувних регіонів.

Із проб води з глибини 30–40 м водойми Яворівського сіркового родовища та з мулу прибережної смуги з глибини 5–10 см на середовищі Постгейта С без сульфатів з сіркою отримано нагромаджувальні культури та виділено 10 чистих культур сірководнювальних бактерій *Desulfuromonas* sp., колонії яких при рості на агаризованому середовищі Постгейта С без сульфатів з сіркою, яке не містило солі заліза II, були рожевими внаслідок високого вмісту пігментів. Для перевірки на чистоту вивчали ріст виділених культур за анаеробних умов у середовищах: Постгейта С без сульфатів зі сіркою, Постгейта С, Баалсруда, Гільтая, Ван-Ніля, крохмале-аміачному, м'ясо-пептонному бульйоні, суслі. На середовищі Постгейта С без сульфатів з сіркою біомаса культур *Desulfuromonas* sp. Yavor-1-10 становила 1,6–2,7 г/л, контроль: *Desulfuromonas acetoxidans* – 1,7 г/л. Ріст бактерій на інших середовищах виявився відсутнім. Жодна з культур здатністю до спороутворення не мала, реакція виділених бактерій на фарбування за Грамом виявилася негативною.

Відомо, що для сірководнювальних бактерій рівень рН для росту становить 6,5–8,5 з оптимумом 7,2–7,5, оптимальна температура для росту близько 30°C. Вивчали ріст культур *Desulfuromonas* sp. Yavor-1-10 у середовищі Постгейта С без сульфатів з сіркою при різних значеннях рН (4, 5, 6, 7 і 9) та при різних температурах (4, 14, 20, 30, 45°C) впродовж 10 діб. Встановлено, що оптимальним значенням кислотності середовища для росту всіх культур, як і для *D. acetoxidans*, є рН 7 (біомаса становила

до 2,4 г/л). Виявлено, що оптимальною температурою для росту є 30°C (спостерігали нагромадження біомаси до 2,3 г/л).

Результати вивчення морфології всіх культур при використанні світлового мікроскопа (x1440) показали, що клітини поодинокі, овальні, паличкоподібні або віброїдні, інколи зігнуті, 0,4-0,8 x 1,5-3,5 мкм. Згідно з електронномікроскопічними дослідженнями (електронний мікроскоп, x15000) встановлено, що клітини мають паличкоподібну або віброїдну форму, оточені клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною. У цитоплазмі можна спостерігати наявність нуклеоїда, рибосом, запасних речовин.

Результати вивчення морфології та фізіології культур *Desulfuromonas* sp. є важливими для ідентифікації бактерій і можуть бути основою розробок, спрямованих на очищення водного доквілля від небезпечних забруднювачів.

### **Загородна І., Мороз О., Клим І., Борсукевич Б.**

#### **ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК НА БІОГЕНЕЗ СІРКОВОДНЮ КУЛЬТУРАМИ**

#### ***DESULFUROMONAS* SP. ОЗЕРА ЯВОРІВСЬКЕ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

Сірководновлявальні бактерії роду *Desulfuromonas* постійно виявляються у безкисневих сульфід-вмісних осадах морів, солонуватих і солоних озер, а також прісних водойм. Облігатні анаероби. Отримують енергію для росту за допомогою анаеробного сірчаного дихання. Елементна сірка слугує як кінцевий акцептор електронів і відновлюється до H<sub>2</sub>S (дисиміляційна сіркоредакція). Органічні сульфідвмісні сполуки, малат чи фумарат є єдиними відмінними від сірки акцепторами електронів, які вони можуть використовувати. L-малат або фумарат у середовищі без сірки бактерії можуть зброджувати, утворюючи сукцинат як основний продукт у присутності або відсутності ацетату. Ферментувати інші органічні субстрати ці бактерії не здатні. Хемоорганотрофи. Ацетат, піруват, етанол, бутанол, пропанол, лактат, пропіонат, вищі жирні кислоти і глутамат можуть слугувати джерелом вуглецю (звичайно разом з CO<sub>2</sub>) та енергії для росту; окиснення їх до CO<sub>2</sub> стехіометрично пов'язане з відновленням елементної сірки до сульфідів. Вивчення біогенезу сірководню у техногенних водоймах на територіях сірквидобувних регіонів важливе для розробки рентабельних біологічних шляхів регулювання його рівня. Метою роботи було встановити природу донорів та акцепторів електронів дисиміляційної сіркоредакції, здійснюваної виділеними з озера Яворівське сірквидновлявальними бактеріями, дослідити вплив органічних сполук на нагромадження ними сірководню.

Бактерії вирощували за анаеробних умов при 30°C впродовж 10 діб у середовищі Постгейта С, у яке замість сульфатів додавали елементну сірку, а замість лактату натрію органічні сполуки у еквімолярній до нього концентрації (51 мМ). Для з'ясування можливості використання бактеріями фумарату як акцептора електронів, у середовище сірки не додавали. Біомасу визначали фотоелектроколориметричним, а вміст сірководню – спектрофотометричним методом. Визначали вплив лактату натрію, ацетату натрію, фумарату, сукцинату з елементною сіркою та фумарату без сірки на ріст бактерій у середовищі без сульфатів. Після 10 діб культивування найкращий ріст бактерій спостерігався при утилізації ними лактату (до 1,5 г/л) та ацетату (до 1,2 г/л). Дещо нижчий вихід біомаси виявився при утилізації клітинами фумарату (до 0,9 г/л) і сукцинату (до 0,5 г/л). Відомо, що L-малат або фумарат з/або без ацетату для видів роду *Desulfuromonas* можуть слугувати акцепторами електронів замість сірки. Бактерії *Desulfuromonas* sp. Yavog-1-10 використовували фумарат у середовищі без сірки, біомаса сягала 0,7 г/л як і у *Desulfuromonas acetoxidans* (0,8 г/л). Таким чином, можна вважати, що лактат, ацетат, фумарат та сукцинат у присутності сірки засвоюються виділеними культурами як джерела вуглецю і донори електронів, крім цього, вони можуть зброджувати фумарат.

Досліджували вплив ацетату на утворення сірководню культурами *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 і Yavor-7. При рості на ацетаті біомаса бактерій не перевищувала 2,1 г/л, клітини утворювали до 0,3 мМ сірководню. Ні біомаса, ні вміст сірководню не перевищували біомасу (до 2,6 г/л) та концентрацію сірководню (до 0,9 мМ), продукованого клітинами під час росту на лактаті. З отриманих результатів можна зробити висновок, що клітини культур *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 і Yavor-7, як і штамп *D. acetoxidans*, здатні активно здійснювати процес дисиміляційної сіркоредукції не лише при використанні лактату як донора електронів, але і ацетату. Отже, встановлено, що сірковідновлювальні бактерії, поряд із сульфатвідновлювальними бактеріями, беруть активну участь у нагромадженні сірководню у техногенних водоймах, збагачених як сульфатами, так і органічними сполуками. Вони є перспективними для використання у біотехнологічних схемах очищення водойм від небезпечних забруднювачів, таких як сірководень і важкі метали.

**Цап О., Василів О., Кушкевич І., Гнатуш С.**

**РІСТ БАКТЕРІЙ *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS* ЗА ВПЛИВУ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ СОЛЕЙ МАНГАНУ (II) ТА ФЕРУМУ (II)**

*Кафедра мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка*

*бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: proforh\_b@ukr.net*

Бактерії роду *Desulfuromonas* – грамнегативні еубактерії, здатні до відновлення молекулярної сірки до сульфїду. *Desulfuromonas acetoxidans* здатні одержувати енергію за анаеробних умов при окисненні ацетату до діоксиду карбону в циклі трикарбонних кислот шляхом взаємодії процесів окиснення ацетату й відновлення сірки. Окиснення ацетату та інших органічних речовин, зокрема пірувату, етанолу, пропанолу, бутанолу тощо, за участю бактерій *D. acetoxidans* пов'язане із відновленням  $Fe^{3+}$  і  $Mn^{4+}$  до  $Fe^{2+}$  і  $Mn^{2+}$  відповідно. Ці процеси забезпечують підтримання життєздатності бактерій і є важливим етапом окиснення органічних речовин.  $Fe$  (III) і  $Mn$  (IV) також здатні неензиматично окиснювати сульфїд, утворюючи молекулярну сірку. Тому, за наявності  $S^0$  та  $Fe^{3+}$  чи  $Mn^{4+}$  за анаеробних умов, сульфїд, що дифундує із зони відновлення сульфату, зв'язується з іонами Феруму чи Мангану, у результаті чого відбувається його детоксикація. Проблема захисту навколишнього середовища від антропогенного забруднення важкими металами, зокрема надмірними концентраціями солей Феруму та Мангану надзвичайно актуальна. Одним із основних напрямів її розв'язання є застосування нових біотехнологій, що полягають у виявленні ефективних біологічних механізмів детоксикації небезпечних речовин за участі мікроорганізмів.

Ще однією особливістю сірковідновлювальних бактерій *D. acetoxidans*, яка має практичне значення, є їхня здатність утворювати електричний струм потужністю 14 мВт/м<sup>2</sup> у двокамерних повітряних катодах. Бактерії *D. acetoxidans* як мікробно-анодні паливні елементи можуть використовуватись як альтернативний матеріал для зарядних пристроїв у побутових та промислових масштабах.

Тому метою нашої роботи було дослідити вплив різних концентрацій  $Fe^{2+}$  і  $Mn^{2+}$  як кінцевих продуктів дисиміляційної  $Fe$  (III)- і  $Mn$  (IV)-редукції на ріст бактерій *D. acetoxidans*.

Для дослідження здатності бактерій *D. acetoxidans*, виділених з Яворівського сіркового родовища, до росту за додаткового внесення  $Fe^{2+}$  і  $Mn^{2+}$ , культуру вирощували протягом 10 діб при температурі 28°C за анаеробних умов у пробірках об'ємом 20 мл у середовищі Постгейта С при різних концентраціях  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  та  $FeSO_4$ : 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мМ (у перерахунку на концентрацію іонів металу). У контроль солей металів не вносили. У процесі культивування через певні проміжки часу визначали біомасу.

Встановлено, що за внесення 0,5 мМ  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  з третьої по десяту доби вирощування біомаса бактерій збільшується на 6-18% відповідно, порівняно з контролем. За концентрації 2,5 мМ манган

хлорид тетрагідрату нагромадження біомаси *D. acetoxidans* зменшується на 2-8%, порівняно з контролем, протягом досліджуваного часу вирощування. Збільшення концентрації  $\text{FeSO}_4$  в середовищі зумовило зростання нагромадження біомаси *D. acetoxidans*. За концентрації 2,5 мМ  $\text{FeSO}_4$  біомаса бактерій збільшилась у 2 рази порівняно з контролем на третю добу вирощування. За внесення 0,5 мМ ферум сульфату в середовищі біомаса *D. acetoxidans* зростає на 20-30% з третьої по восьму доби культивування відповідно, порівняно з контролем.

Отже, за мінімальної досліджуваної концентрації  $\text{Mn}^{2+}$  та  $\text{Fe}^{2+}$  нагромадження біомаси *D. acetoxidans* підвищується. Зростання вмісту Мангану (II) у середовищі до 2,5 мМ зумовлює незначне пригнічення росту бактерій, а за впливу максимальної досліджуваної концентрації Феруму (II) біомаса *D. acetoxidans* збільшується у 2 рази.

### **Abushova A., Yisifova M., Gasanova S.**

#### ANTIMICROBIAL ACTIVITIES ACTINOMYCETES ISOLATED FROM SOILS OF AZERBAIJAN

*Baku State University, Z.Khalilov, 3, Baku, Az1148, Azerbaijan  
e-mail:sevda-gasanova66@mail.ru*

Actinomycetes comprise an extensive and diverse group of Gram-positive, aerobic, mycelial bacteria that play an important ecological role in soil cycles. Many are well known for their economic importance as producers of biologically active substances, such as antibiotics, vitamins and enzymes (McCarthy and Williams 1992). In addition, they are one of the major communities of the microbial population present in soil, and their occurrence is greatly influenced by the environmental conditions of humidity, temperature, pH and vegetation.

Soil patterns were taken from some type soils of Azerbaijan. Isolation of actinomycetes from soil samples were plated following the dilution plating method on starch casein agar (STC) (Okazaki et al. 1983). Actinomycetes were identified to the genus level based on microscopic morphology of the vegetative and the aerial mycelium grown on yeast-malt extract agar (YME) for 21 days at 28°C.

In vitro antimicrobial sensitivity tests were performed using test-culture from laboratory control strains. There are gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*), gramnegative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*), mycobacterium (*Mycobacterium smegmatis*), yeasts (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*).

A total of 310 strains were isolated from the 6 soil samples and was established that the number of isolates depended from type of soil. The highest number of strains was obtained in chernozem soils.

Among these strains, representatives of the genus *Streptomyces* were the most frequently isolated group. Members of the families *Micromonosporaceae*, *Actinomadurae*, *Streptosporangium* and *Streptoverticillium* were also identified.

Extracts from 69% of the isolates showed antimicrobial activity. Soils of all geographical regions yielded actinomycetes-producing activity.

In the case of *Streptomyces* species 57 strains of the tested strains produced antibacterial activity whereas 20 strains showed antifungal activity. In contrast, the yield of the other actinomycete taxa (non-*Streptomyces*) was lower and the production of antimicrobial activity was only detected in 9 strains.

### **Андрющенко О., Кузьменко О., Бухтіяров А., Лісютін Г.**

#### СТІЙКІСТЬ ДО ВАЖКИХ МЕТАЛІВ БАКТЕРІЙ ПРИБЕРЕЖНИХ ВОД ОСТРОВА ЗМІНІЙ

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова  
e-mail: andriuschenko@mail.ru*

На даний момент моніторинговий контроль за вмістом важких металів у навколишньому середовищі відіграє досить важливу роль. Вивчення вмісту різних металів у водному середовищі дасть змогу судити про вплив, який вони створюють на живі організми, зокрема на мікроценоз прибережної зони



о. Зміїний. Рівень бактеріальної стійкості до них може використовуватися при проведенні екологічного контролю як біоіндикаторного показника для розроблення рекомендацій щодо збереження рекреаційного потенціалу о. Зміїний. Як хімічні маркери антропогенного забруднення прибережної екосистеми можуть бути використані важкі метали, такі як: Cu, Ni, Co, Cr, Pb, Cd, Hg, завдяки широкому спектру їхньої дії та широкому використанню людиною.

Метою роботи було дослідження різних концентрацій металів та виявлення впливу токсикантів на рівні стійкості до них морських бактерій.

Відбір проб для хімічного й мікробіологічного аналізу здійснювали на 7 прибережних станціях з поверхневого шару в періоді з 2008 по 2010 рр. Для обліку рівнів резистентності чисельність морських бактерій визначали методом прямого посіву на живильне середовище МПА.

У весь період спостережень Ni, Co та Hg містились у воді у концентраціях нижче порога виявлення, що, ймовірно, відповідає природному фоновому рівню. Відзначалася тенденція зростання концентрації Cu в період весняного танення снігу або осінніх дощів, максимальні значення металу перевищували ГДК у 8,4 разу навесні 2009 р. Встановлено, що рівень бактеріальної стійкості набагато перевищував вміст важких металів в досліджуваній акваторії. Влітку 2009 р. найбільші значення МІК Cu, Ni, Co, Cr, Hg для морських бактерій частіше виявлялись в пробах морської води. Максимальні значення МІК Cu, Ni, Co, Cd для морських бактерій відзначали влітку, Hg, Pb – восени 2009 р. Навесні 2010 р. спостерігалось збільшення концентрації міді, порівняно з літом і осінню. Вміст інших металів перебував приблизно на одному рівні і не змінювався протягом року.

При порівнянні металрезистентності мікробних угруповань о. Зміїний з контрольною точкою (m), яка віддалена від нього на декілька кілометрів і розміщена в гирлі Дунаю, виявлено, що для мікробіоти острова характерні більш високі значення МІК кобальту, кадмію, міді і нікелю.

Вперше отримано дані про вміст важких металів та рівні стійкості морських бактерій прибережних вод навколо о. Зміїний до токсикантів. Показано, що ці показники є динамічними і залежать від сезону. Встановлено, що деякі токсиканти безпосередньо впливають на зміну резистентності до важких металів у морських бактерій. Робота виконана в рамках тем ЗМ/323-2008, Д/Б 422, що фінансувались МОН України.

### **Боровик О., Гриценко Н., Конон А., Пирог Т.**

#### **ВИКОРИСТАННЯ ПОВЕРХНЕВО–АКТИВНИХ РЕЧОВИН І ЖИВИХ КЛІТИН *NOCARDIA VACCINII* K-8 ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ ЕКОСИСТЕМ ВІД НАФТОВИХ ЗАБРУДНЕНЬ**

*Національний університет харчових технологій  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: tau.sccs@gmail.com*

Поверхнево–активні речовини (ПАР), синтезовані мікроорганізмами, використовуються у багатьох галузях промисловості, зокрема і у природоохоронних технологіях. Вони добре піддаються біодеструкції, нетоксичні, їм притаманна вища стійкість до дії несприятливих факторів.

Метою роботи було вивчення впливу клітин нафтоокиснювальних бактерій *N. vaccinii* K–8 та синтезованих ними ПАР на процеси мікробної деструкції нафти у воді, а також перевірка рівня деструкції ПАР представниками різних фізіологічних груп мікроорганізмів і підбір ефективних біоцидів.

Експерименти показали, що після внесення суспензії клітин *N. vaccinii* K–8 у забруднену нафтою воду (2,6 г/л нафти) відбувається активація нативної мікрофлори води і нафти та спостерігається швидке її розкладання. Найвищий ступінь деструкції нафти (98%) спостерігався на 20 добу спостереження за одноразового внесення 20 мл суспензії клітин з  $9,8 \cdot 10^8$  КУО/мл у 2 л забрудненої нафтою води.

На наступному етапі досліджували вплив препаратів ПАР *N. vaccinii* K–8 на процес мікробної деструкції нафти у воді. Як препарати ПАР використовували стерильний супернатант культуральної

рідини *N. vaccinii* К–8, нативну та стерильну культуральну рідину. Найвищий показник деструкції нафти (67%) зафіксовано на 20 добу спостереження за використання 5% (об'ємна частка) супернатанту з повторним розпиленням такої ж кількості препарату.

Виявлено, що мікроорганізми *Bacillus subtilis* БТ–2, *Escherichia coli* ІЕМ–1, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ–3, *Pichia fabiani* ПБТ–5, *Candida scottii* М–8, *Aspergillus niger* Р–3, *Penicillium chrysogenum* Ф–7 здатні використовувати ПАР *N. vaccinii* К–8 як єдине джерело вуглецю та енергії. Продукент не здатний до асиміляції власних ПАР.

Виявлено, що внесення формаліну у концентрації 0,5% (об'ємна частка) у препарати ПАР *N. vaccinii* К–8 запобігає деструкції поверхнево–активних речовин мікрофлорою повітря і подовжує термін їх зберігання до 30 діб.

Отримані дані є основою для розробки природоохоронних технологій очищення довкілля від нафти з використанням клітин *N. vaccinii* К–8 та синтезованих ними поверхнево–активних речовин.

### **Бурхан А., Семчук Л., Ромашев С.**

#### **ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ КОЕВОЛЮЦІЇ В МОДЕЛЬНИХ СИСТЕМАХ, ЩО ВКЛЮЧАЮТЬ ОДНУ ПОПУЛЯЦІЮ БАКТЕРІОФАГА 8573М ТА НАБІР РЕЗИСТЕНТНИХ МУТАНТІВ ХАЗЯЇНА *PSEUDOMONAS FLUORESCENS***

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна*

*e-mail: stationery@univ.kiev.ua*

Бактерії та їх фаги, є найпоширенішими біологічними об'єктами на Землі. Нині загальну кількість присутніх бактерій оцінюють значеннями, що становлять близько  $10^{29}$  мікробних клітин, а фагів  $10^{31}$  частинок.

Спільне існування антагоністів в природі забезпечується за рахунок їх одночасної коєволюції. При лізисі бактерій, під впливом фагів, серед популяції зберігаються резистентні мутанти. Одночасно в популяції фагів спонтанно утворюються мутанти, що здатні перебороти бар'єр резистентності хазяїна. Фаги, що є мутантами за діапазоном хазяїв, позначають як h-мутанти (від англ. host range). Їх важливе значення полягає в тому, що вони здатні обмежувати неконтрольоване розмноження чутливих бактерій в природі. Вивчення цього процесу для фітопатогенних бактерій, що викликають хвороби рослин та їх фагів, є актуальним науковим завданням.

У наших дослідженнях як модель використовували фітопатогенний штам *Pseudomonas fluorescens* IMV 8573, отриманий з колекції музею Інституту мікробіології та вірусології ім. акад. Д.К.Заболотного НАН України, відділу фітопатогенних бактерій та фага 8573m. Фаг 8573m був виділений в нашій лабораторії із природи. Він мав ізометричну головку діаметром 40 нм, довгий нескоротливий відросток близько 120 нм, та за морфологією належав до родини Syphoviridae, порядку Caudovirales. При інфікуванні ним бактерій на газоні чашки Петрі залишилися тільки резистентні форми хазяїна. Серед яких було відібрано десять клонів, що отримали лабораторні назви: 1-8573 Fmk1- 10. Методом електрофорезу в ПААГ проведено їх порівняння за білковим складом із батьківським штамом, *P. fluorescens*. Встановлено, що за характером розподілу поліпептидів всі бактерії є ідентичними. Це свідчило про їх спільне походження та виключало можливість контамінації сторонньою мікрофлорою. На отриманих резистентних клонах, популяція фагів 8573 m виявляла різну ефективність репродукції. Утворювані ними бляшки на кожній із субпопуляції клітин мали відміни за морфологією негативні колонії. Вони були представлені трьома типами: дрібні прозорі (1- 2мм), середні прозорі (3- 4мм) та мутні колонії. Оскільки розмір, морфологія та мутність бляшок залежить від біологічних характеристик фагів, то, очевидно, для різних хазяїв - вони були різними. Це свідчило, що популяція дикого типу фаг 8573m на різних клонах резистентних бактерій дисоціює. У мутантів відбуваються генетичні зміни. Вони, оче-

видно, можуть бути пов’язані з процесом генетичних рекомбінацій з різними профагами, що присутні в хромосомах мутантних клонів.

Таким чином, показано, що резистентні хазяї, які походять від спільного предка та мають однакові генотипи, виявляють індивідуальні фенотипові особливості. Кожен із клонів дає змогу виявити лише певні мутанти фагів на фоні спільних h-мутантів.

Отримані дані становлять інтерес для розуміння існуючих у природі факторів обмеження чисельності бактерій у рослинних екосистемах, і дають змогу виявити селекційний відбір антагоністів у процесі взаємовпливу, що є еволюційним пристосуванням, яке забезпечує їх від повного знищення.

### **Довгий Р.**

#### **ВПЛИВ ПУХЛИНОГО ПРОЦЕСУ НА ІМУННУ СИСТЕМУ ССАВЦІВ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
Навчально-науковий центр “Інститут біології”  
пр. Глушкова, 2, корп. 12, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: decanat\_bf@univ.kiev.ua*

Здатність пухлини пригнічувати функціональну активність клітин імунної системи – беззаперечно доведений науковий факт. Він обґрунтовується результатами різних, численних клінічних та експериментальних спостережень. Залежно від особливостей пухлинних клітин, стадії розвитку пухлинного процесу об’єктом супресивного впливу пухлини можуть стати практично всі імунокомпетентні клітини, які розрізняються за ступенем чутливості до інгібуючого впливу факторів онкоклітин (Бережная, 2005).

В переважній більшості досліджень спостерігається як безпосередня імуносупресивна дія цих факторів на функції ІКК, так і вплив різних факторів на ангиогенез, мікрооточення, системи формування резистентності пухлинних клітин до апоптозу і т. п. (Dohadwala, 2001). Ці результати підкреслюють багатоплановість впливу різних імуносупресуючих факторів онкоклітин і свідчать про надзвичайну складність проблеми взаємодії клітин системи імунітету і пухлини (Prehn, 1994).

Імуносупресивний вплив пухлини на ІКК потребує проведення більш ґрунтовних досліджень. В першу чергу це стосується подальшої ідентифікації факторів супресії, які виділяються пухлинами, диференційованої оцінки їх впливу на функції різних клітин системи імунітету. Крім подальшого вивчення супресорного впливу на ІКК пухлинних факторів, важливе значення надається також пошуку факторів протипухлинного захисту макроорганізму.

Метою роботи стали пошук і наукове обґрунтування особливостей взаємовідносин пухлини та імунної системи організму і розробки підходів для ефективної протидії пухлинній експансії в організмі ссавців.

У формуванні протипухлинного імунітету беруть участь різні ІКК – Т-лімфоцити, В-лімфоцити, натуральні кілери, моноцити, гранулоцити, гладкі клітини, тромбоцити. При розвитку пухлинного процесу спостерігається розвиток різноманітних порушень імунної системи: гіпоплазія тимуса, зміна кількості тимоцитів та фенотипу лімфоцитів. Пухлинні клітини виділяють цитокіни, фактори росту, експресують рецептори, одночасно аутокринно стимулюючи власний ріст, процес неоангіогенезу. Синтез цитокінів (переважно протизапальних) одночасно порушує цитокінинний баланс та інгібує функції ІКК макроорганізму. Некроз пухлинних клітин призводить до суттєвого підвищення кількості пептидів, білків та активації процесу тканинного протеолізу, внаслідок чого може відбуватися неспецифічна активація системи комплементу. При пухлинному процесі спостерігається розвиток аутоімунних реакцій, що можуть відігравати провідну роль в ініціації злякисного переродження тканин організму.

Аналіз наукової літератури дає підстави вважати, що в наш час усе ще мало досліджені механізми імуностимуляції росту і протистояння пухлини як на етапі розпізнавання, так і реалізації ефек-

торних механізмів. Це, в свою чергу, пояснює причину недостатнього вивчення та ідентифікації малої кількості специфічних речовин біологічного походження, (насамперед, рослинного генезу та отриманих із клітин тваринного походження), що можуть підсилювати дію або реалізувати протипухлинні ефекти при різних варіантах системного призначення.

**<sup>1,2</sup>Elbakidze T., <sup>1</sup>Jaiani E., <sup>1</sup>Kokashvili T., <sup>1</sup>Koberidze T.,  
<sup>1</sup>Porchkhidze K., <sup>1</sup>Tediashvili M.**

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ENVIRONMENTAL *VIBRIO CHOLERA*E  
CORESPONDING BACTERIOPHAGES BY USE OF IMMUNOLOGICAL METHOD

<sup>1</sup>G. Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi, Georgia

<sup>2</sup>Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

e-mail: t.elbakidzei@yahoo.com

*Vibrio cholerae* is a naturally occurring bacterium in marine, fresh, and brackish water environments. The warm, subtropical climate of Georgia may provide favorable conditions for occurrence and spread of *V. cholerae* and its corresponding bacteriophages. Monthly monitoring was conducted during 2006-2008 and in summer months of 2009 at four sites on the Georgian coast of the Black Sea and the three lakes around Tbilisi- Kumisi, Lisi, and Tbilisi Sea.

The goal of this study was to isolate and characterize *V.cholerae*-specific bacteriophages from the Black Sea coastal zone of Georgia and freshwater reservoirs near the capital city, Tbilisi. During more than 30 months of samplings, 68 phages lytic to *V.cholerae* and 10 to *V. mimicus* were collected from these aquatic environmental. The phage isolation rate varied from 2-22%, depending on the season. The majority (72%) of phages specific to *V.cholerae* and *V.mimicus* were collected from freshwater sources. The peak of phage isolation was observed in the late summer-autumn period. Selected twenty-nine *V.cholerae*-specific phages and seven phages specific to *V.mimicus* were categorized into five serological groups by cross-neutralization using specific anti-phage sera. Separate groups of phages specific to O1 *V.cholerae* (group I,IV) and non-O1 *V.cholerae* (groups II, III, IV) and *V. mimicus* (group V) were identified.

Transmission electron microscopy analysis of phage particles revealed considerably morphological diversity of *V.cholerae*-specific phages, with majority belonging to the family of Myoviridae family.

**Famarzi M., Jafaryan H. A., Patimar R., Kordjazi Z.**

EFFECT OF BIOENCAPSULATED *DAPHNIA MAGNA* WITH BACTERIA (*BACILLUS* SPP.)  
AS PROBIOTIC ON GROWTH PARAMETERS, SURVIVAL AND CARCASS QUALITY  
IN PERSIAN STURGEON (*ACIPENCER PERSICUS*) LARVAE

Department of Natural Resources, Gonbad Kaavous University, Gonbad, Iran

e-mail: famarzimoein@gmail.co

The effect of *bacillus* spp. (*B. licheniformis*, *B. subtilis* and *B. circulans*) as probiotic in the *Acipenser persicus* larvae was studied during 28 days. Bacillus bacteria (three species in a commercial preparation, Protexin Aquatic) were bioencapsulated within *Daphnia* at three concentrations by holding the *Daphnia* in suspensions of  $1 \times 10^7$ ,  $2 \times 10^7$  or  $3 \times 10^7$  bacteria per milliliter for 3 hours and fed to experimental larvae also control larvae fed by unbioencapsulated *daphnia*. After 28 days there was significant difference in the experimental larvae growth performance in comparison to control larvae ( $P > 0.05$ ). There was also significant difference ( $P > 0.05$ ) in the effect of the bacteria on mortality, condition factor (CF) and food conversion ratio (FCR). The specific growth ratio (SGR), body weight increase (%BWG) and protein efficiency ratio (PER) and survival rate were significantly higher in experimental treatments compared to the control ( $P < 0.05$ ). A significant increase in the lipid content of the carcass was observed with a probiotic treatment. With increase of the concentrations of probiotics the protein content and ash content of the carcass increased. The results of these

experiments showed that the use of bacillus spp. as bioencapsulation in the bioencapsulation daphnia during the early life stage of the Persian sturgeon larva is suitable and we found that  $3 \times 10^7$  bacteria per milliliter will have the best results on the growth performance and the feed efficiency ratio.

### **Горюнова І., Рибченко Ж., Мегалінська Г.**

#### **ФІЗІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛЕКТИНІВ ДЕЯКИХ СІНАНТРОПНИХ ВИДІВ**

*Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова*

*вул. Пирогова, 9, м. Київ, 01030, Україна*

*e-mail: Zhanna\_bio@ukr.net*

Лектини – це білки неіммунної природи, здатні гліколізувати білки. Основна функція вуглеводів не тільки метаболітична, пов'язана енергетичним обміном і біоінформаційна. Тому, на думку деяких авторів (Степанова Л.В., 2007), лектини є унікальними носіями інформації в екосистемах, з їх допомогою одні компоненти екосистем впливають на інші. Таким чином рослини (продуценти) за допомогою цих речовин впливають на мікроорганізми (редуценти) та інші компоненти біогеоценозів. Вплив одних рослин на інші прийнято вважати алелопатичною взаємодією. Фітотоксичний ефект взаємодії рослин в ценозах може супроводжуватися пригніченням росту одних рослин іншими. Згідно з кислотною теорією росту,  $H^+$ -АТФази плазматичних мембран виштовхують на поверхню мембрани протони, які зумовлюють закислення середовища та роблять целюлозну оболонку клітини більш еластичною, що є необхідною передумовою росту та рослинних поділу клітини. Метою даного дослідження було вивчення антибактеріальної активності лектинів деяких синантропних видів та її вплив на гідролітичну активність  $H^+$ -АТФаз плазмалеми. Глікопротеїнові комплекси лектинів при дослідженні антибактеріальної активності замикали у везикули, отримані з цитоплазматичних мембран коренів кукурудзи.

Лектиновмісні витяжки отримували за загальноприйнятою методикою (Луцик А.Д, 1986), фракцію везикул цитоплазматичної мембрани з клітин коренів проростків кукурудзи *Zea mays* L. отримували центрифугуванням у двохфазній системі (Larson, 1989), потім фракцію відмивали у фосфатному буфері (рН 7,3) і змішували з лектиновмісною витяжкою в співвідношенні 1:1. Антибактеріальну активність досліджували методом паперових дисків. Тест-об'єктами було обрано: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*. Для дослідження впливу на гідролітичну активність  $H^+$ -АТФази, лектиновмісні витяжки, об'ємом 10 та 50 мл додавали у мембранну фракцію. А саму величину активності визначали за методикою Lowry and Lopez, 1946, Скулачев, 1962.

За результатами дослідження лектиновмісна витяжка гравілату міського не має високої антибактеріальної активності щодо досліджених бактерій (зона затримки росту становила 7-8 мм), *Candida albicans* виявилася взагалі нечутливою до лектиновмісної витяжки *Geum urbanum*. При застосуванні ліпосом з лектином спостерігали підвищення антибактеріальної активності щодо *Staphylococcus aureus* – зона затримки росту становила вже 10 мм та *Pseudomonas aeruginosa* (без ліпосом зона затримки росту становила 8 мм, а замикання лектину в ліпосому збільшувало цю величину до 14 мм). Можна припустити, що ліпосома більш активно зливається з зовнішньою ліпідною мембраною грамнегативних бактерій (ці мікроорганізми мають малу кількість гетерополімеру муреїну), до яких належить *Pseudomonas aeruginosa* і це дозволяє лектинам пригнічувати певні процеси безпосередньо у цитоплазмі бактерій. Підвищення антибактеріальної активності лектину *Geum urbanum* L. при упаковці в ліпосому відносно еукаріотичних клітин дріжджподібного гриба *Candida albicans* не спостерігалось. Отже, упаковка лектинів *Geum urbanum* у ліпосоми збільшує їх антибактеріальну активність відносно грам-негативних мікроорганізмів.

Згідно з отриманими даними лектиновмісна витяжка з *Stellaria media* (L) Vill підвищувала гідролітичну активність  $H^+$ -АТФази на 10%, а з гравілату міського не впливала на активність ферменту,

що корелює з літературними даними щодо алелопатичної дії цих рослин у фітоценозах. На відміну від мокрецю *Erigeron canadensis* L зменшує гідролітичну активність  $H^+$ -АТФази кукурудзи на 8% при додаванні 1 мг та на 18% при додаванні 5 мг витяжки, тобто із збільшенням концентрації лектину негативний вплив на активність ферменту посилюється. Таким чином, фітотоксичний вплив злинки канадської індукований ефектом зменшення гідролітичної активності  $H^+$ -АТФази модельної рослини.

### **Хом'як Д., Конон А., Гриценко Н., Пирог Т.**

#### **СИНТЕЗ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ПРОЦЕСІ КУЛЬТИВУВАННЯ *NOCARDIA VACCINII* К-8 НА ГЛІЦЕРИНІ ЗА ПРИСУТНОСТІ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ**

*Національний університет харчових технологій  
Кафедра біотехнології мікробного синтезу  
вул. Володимирська, 68, м.Київ, 01601, Україна  
e-mail: KhomDan@ukr.net*

Протягом останніх років ми все більше стикаємося з такими проблемами, як необхідність переробки відходів, що постійно утворюються у великих кількостях у промисловості, та деструкцією токсичних сполук, що десятиліттями накопичувалися у навколишньому середовищі. Одним з варіантів вирішення цих питань є використання поверхнево-активних речовин (ПАР), що синтезуються мікроорганізмами. За своєю ефективністю ПАР мікробного походження не поступаються синтетичним аналогам, а до переваг можна віднести біодеградабельність, нетоксичність, стійкість в широкому діапазоні температур, рН та солоності середовища.

На сьогодні виробництво ПАР є досить дорогими через використання дорогих субстратів та складного обладнання для очищення і концентрування цільового продукту. Перспективним субстратом для біосинтезу ПАР можна вважати гліцерин, який утворюється у великих кількостях під час виробництва біодизелю (10 л гліцерину на 100 л утвореного біодизелю). Інтенсифікувати синтез цільового продукту мікроорганізмами можна за рахунок внесення екзогенних попередників у середовище культивування продуцента, сприятливий вплив яких зумовлений їх включенням у процеси конструктивного метаболізму або регуляцією синтезу цільового продукту.

У попередніх дослідженнях було виділено штам нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Nocardia vaccinii* К-8, та встановлено здатність цього штаму до синтезу ПАР при вирощуванні на гідрофільних та гідрофобних субстратах, визначено умови культивування штаму К-8 на гліцерині за допомогою математичних методів планування експерименту, що забезпечують максимальні показники синтезу ПАР.

Мета даної роботи – визначення хімічного складу ПАР, синтезованих *N. vaccinii* К-8, та дослідження можливості інтенсифікації синтезу ПАР *N. vaccinii* К-8 на гліцерині за присутності фумарату (попередника глюконеогенезу) і цитрату (регулятора синтезу ліпідів). Стимуляція ліпогенезу цитратом пояснюється його активуючим впливом на фермент ацетил-КоА-карбоксилазу, який каталізує перетворення ацетил-КоА на малоніл-КоА, що, у свою чергу, супроводжується підвищенням синтезу жирних кислот, а отже, і ПАР ліпідної природи; стимулювальний вплив цитрату зумовлений тим, що він є учасником глюконеогенезу, і забезпечує постачання вуглеводів для синтезу поверхнево-активних ліпідів.

На першому етапі нами було виявлено, що найвищі показники синтезу ПАР спостерігаються при внесенні попередників на початку стаціонарної фази росту, проте внесення одного цитрату не викликало суттєвого підвищення синтезу ПАР. У подальшому було проведено визначення хімічного складу ПАР за допомогою тонкошарової хроматографії і встановлено, що за хімічним складом ПАР *N. vaccinii* К-8 є комплексом гліколіпідів, нейтральних ліпідів та аміноліпідів. У подальших дослідженнях встановлено, що одночасне внесення фумарату (0,2%) і цитрату (0,2%) на початку стаціонарної фази росту штаму К-8 на середовищі з гліцерином (1,5%) супроводжується підвищенням кількості синтезо-

ваних ПАР на 35% у порівнянні із показниками синтезу на середовищі без органічних кислот.

Одержані результати показують можливість регуляції біосинтетичних процесів за присутності попередників, та є основою для підвищення ефективності технології поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* K-8.

### **Хоменко Є., Бородай В.**

#### **ВПЛИВ БІОПРЕПАРАТІВ НА БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА СТРУКТУРУ МІКРОФЛОРИ ҐРУНТУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ КАРТОПЛІ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 13, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: homenkorose@ukr.net*

Останнім часом актуальність вивчення ґрунтових мікроорганізмів різко зросла у зв'язку з інтенсифікацією сільського господарства, а також зі зміною та забрудненням біосфери, яке в даний час відбувається через інтенсивну діяльність людини. Мікробний ценоз ґрунту кореневої зони рослини – це складне угруповання різноманітних мікроорганізмів, що упорядковане на основі трофічних взаємодій і є важливою функціональною ланкою в системі ґрунт-мікроорганізм-рослина (Larley, 2006). Сучасним напрямом підвищення урожайності і якості сільськогосподарських культур є впровадження у виробництво високих енергозберігаючих технологій із застосуванням біологічних препаратів (Вінюков, 2009). Біопрепарати – культури клітин мікроорганізмів та продукти їх життєдіяльності, які є конкурентами патогенних грибів та інших мікроорганізмів і комах, що уражають насіння і рослини, або культури клітин мікроорганізмів, що підвищують продуктивність рослин шляхом асиміляції елементів живлення та біологічно активних речовин (Патика, 2000).

Для визначення впливу біологічних та хімічних препаратів на біорізноманіття, структуру та чисельність бактерій ґрунту, в дослідженнях використовували два способи контролю – біологічний та хімічний. При обробці бульб двох сортів картоплі – Скарбниця та Оберіг, що вирощувались на дослідних ділянках Львівської області, використовували хімічний препарат Ровраль аквафло (на основі іпродіону, в концентрації 500 г/кг) та біологічні препарати – Планриз (на основі бактерій *Pseudomonas fluorescence* штам AP-33, в.с. з титром  $2,5 \times 10^9$  кл/мл, н.в. – 1,5-2,0 л/га), Фітоцид (на основі бактерій *Bacillus subtilis* та їх активних метаболітів, з титром  $(1-9) \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>). Препаратами оброблялись спочатку бульби перед посадкою, а пізніше рослини в кінці періоду бутонізації - на початку цвітіння. Зразки ґрунту відбирали на початку бутонізації рослин картоплі. Підрахунок, виділення бактерій та актиноміцетів проводили використовуючи метод послідовних розведень ґрунтової суспензії, поверхневим посівом 0,05 мл останньої із четвертого розведення на середовище Звягінцева. Мікроорганізми вирощували в термостаті при температурі 28°C протягом 4-7 днів. Висів ґрунтових проб проводили у трикратній послідовності (Звягінцев, 1991).

В результаті проведених маніпуляцій було виділено 62 домінуючих морфотипи. Найбільшу кількість морфотипів бактеріальних колоній було виявлено у варіанті з використанням біопрепарату Планриз (сорт Оберіг), а найменшу – у варіанті з використанням хімічного препарату Ровраль аквафло (сорт Скарбниця). Аналізуючи отримані дані (сорт Скарбниця), простежуємо таку закономірність – показник чисельності виду варіює у всіх варіантах дослідження, тобто, сказати однозначно, що той чи інший препарат є інгібітором чи каталізатором не можна. Водночас аналіз показника частоти виявлення виду, навпаки, свідчить про те, що застосування хімічного препарату Ровраль аквафло дає нам дещо нижчі показники, порівняно з біологічними препаратами та контролем, що можна спостерігати з представленої діаграми. Щодо показника чисельності виду, отримані дані сорту Оберіг демонструють, що у всіх варіантах, порівняно з контролем, він підвищується. Тобто застосування як біологічних, так і хімічних препаратів позитивно впливає на чисельність виду мікроорганізмів. Щодо показника частоти

виявлення виду, також спостерігається тенденція підвищення значень у всіх варіантах досліду у порівнянні з контролем. Але у варіанті із застосуванням Фітоциду ці значення найвищі.

В результаті проведеної роботи встановлено, що застосування біологічних препаратів позитивно впливає на мікрофлору ґрунту. Негативний вплив хімічного препарату Ровраль аквафло прослідковується лише на прикладі сорту Скарбниця, тому потребує подальшого дослідження.

**<sup>12</sup>Kokashvili T., <sup>1</sup>Jaiani E., <sup>1</sup>Janelidze N., <sup>1</sup>Elbakidze T., <sup>1</sup>Tediashvili M.**  
ECOLOGY AND DIVERSITY OF *V. CHOLERAЕ* IN GEORGIA WATER ENVIRONMENT

<sup>1</sup>*G.Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi, Georgia*

<sup>2</sup>*Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

*e-mail: tkokashvili@yahoo.com*

Vibrios are natural members of marine and freshwater microbial community. At least 12 *Vibrio* spp. are known human pathogens, including *V. cholerae*- causative agent of disease Cholera, severe gastroenteritis characterized with 50-60% mortality in untreated cases. There are more than 200 known *V. cholera* serotypes, but only two O1 and O139 serotypes have epidemic and clinical importance. There has been renewed interest in the ecology and evolution of *Vibrio cholerae* relative to climate change. Monthly monitoring was conducted 2006-2008 and summer months in 2009 at four sites on the Georgian coast of the Black Sea and the three lakes around Tbilisi-Kumisi, Lisi, and Tbilisi Sea. Water and plankton samples were examined for *V. cholerae* using bacteriological, molecular, and immunological methods. *V. cholerae* was prevalent in lake waters and was isolating mostly in warm season, when water temperature exceeded 15°C. Direct detection is essential for surveillance in the environment. A total of 440 samples of DNA extracted from water were tested by multilocus PCR-electrospray ionization mass spectrometry (PCR/ESI-MS), of which 45% were positive for *V. cholerae*. A few DNA samples from the lakes were also positive for *ctxA* and *ctxB*. Of 476 water and plankton samples examined by direct fluorescent antibody assay (DFA) for presence of epidemic serotypes of *V. cholerae*, 85 were positive for *V. cholerae* O1 and, of these, five were serogroup O139. A total of 846 *V. cholerae* isolates were characterized by biochemical tests, followed by PCR identification, with 98.5% confirmed as *V. cholerae*. 59 *V. cholerae* O1 and nine O139 isolates were revealed by slide agglutination test. Three of the *V. cholerae* O1 isolates carried *ctx* genes. Occurrence of epidemic serogroups of *V. cholerae* was in correlation with increased water temperature. The data suggest that recreational and drinking water bodies of Georgia may serve as the reservoirs for toxigenic *V. cholerae*. Detection of *V. cholerae* O1 in the Tbilisi Sea, a drinking water reservoir, must be considered as a public health concern.

**Коріновська О. М.**

**ЧИСЕЛЬНІСТЬ І РІЗНОМАНІТТЯ МІКРОМІЦЕТІВ У ТЕХНОГЕННО ЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТАХ  
ПОРІВНЯНО З ЧОРНОЗЕМОМ ЗВИЧАЙНИМ**

*Криворізький ботанічний сад НАН України, Відділ фізіології рослин та біології ґрунтів,*

*вул. Маршака 50, Кривий Ріг, 50089, Україна*

*e-mail: Korinovskaya2009@yandex.ru*

Діяльність підприємств чорної та кольорової металургії, рудозбагачувальних фабрик призводить до накопичення у ґрунтах сполук важких металів і формування локальних атмогеохімічних аномалій. Враховуючи, що Кадмій, Плюмбум, Цинк належать до класу високо небезпечних, а Нікель та Хром – небезпечних для живих організмів, перевищення фонових концентрацій може призводити до негативних наслідків для живих організмів. Вважають, що мікроміцети є досить стійкими до надлишкового вмісту в середовищі важких металів і мають здатність акумулювати у своєму міцелію токсичні речовини (Марфенина, 1985, Жданова, 1988, Олишевская, 2006). Тому метою роботи було вивчення загальної кількості та видового різноманіття мікроміцетів в едафотопях металургійних та гірничозбагачувальних підприємств у порівнянні з природними ґрунтами.



Нами досліджені проби ґрунту, які відібрали з шарів 0-10, 10-20 і 20-30 см на промислових майданчиках РЗФ-1 (рудозбагачувальна фабрика) Північного гірничозбагачувального комбінату та поблизу 9-ї домни промислового майданчика АрселорМіттал Кривий Ріг. Контролем слугував чорнозем звичайний (сmt. Петрово Кіровоградської обл.). Для виділення ґрунтових мікроскопічних грибів використовували загальноприйняті у ґрунтовій мікробіології методи та агарізовані середовища Чапека і сусло-агар (Билай, 1982).

Так, у зразках ґрунту промислового майданчика РЗФ-1 загальна чисельність колоній була найменшою в шарі ґрунту 0-10 см і становила 20,8 тис. КУО /г ґрунту. Найбільше мікроміцетів виділено з шару ґрунту 20-30 см (40,4 тис КУО /г ґрунту). Тобто це можна пояснити тим, що більша кількість іонів важких металів перебуває у верхніх горизонтах ґрунту, а вниз за ґрунтовим профілем кількість токсичних речовин зменшується. Різноманіття мікроскопічних грибів було представлено лише двома класами: *Mucor* та *Penicillium*. В ґрунті санітарно-захисної зони біля 9-ї домни найбільша загальна чисельність колоній була на глибині 0-10 см і становила 133,4 тис КУО/г, а найменша на глибині 20-30 см і становила 78,6 тис КУО/г. Зазначене свідчить про незначний рівень забруднення поблизу 9-ї домни. Тому санітарно-захисну зону біля 9-ї домни можна вважати зоною слабкого забруднення. Ґрунтові гриби були представлені класами: *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Mortierella*, *Alternaria*, зокрема видами *Aspergillus ustus*, *Mortierella isabelina*, *Alternaria alternata* та ін.

Якщо порівняти вищенаведені дані з чорноземом звичайним, то найбільша загальна чисельність колоній мікроміцетів була виявлена в поверхневому шарі ґрунту (0-10 см) і становила 186,1 тис КУО/г. В шарі ґрунту 10-20 см загальна чисельність була дещо меншою і становила 109,3 тис КУО/г. Найменшою загальна чисельність була в шарі ґрунту 20-30 см і становила 79,2 тис КУО/г. У видовому різноманітті провідне місце займали представники класів: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucor*, зокрема: *Mortierella jenkini*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporium*, *Trichoderma viride* та ін.

Отже, аналіз наведених даних свідчить про суттєві зміни кількісного і якісного складу мікроміцетів за дії іонів важких металів: по-перше – зменшення чисельності; по-друге – збіднення їх видового різноманіття порівняно з зональними ґрунтами.

### **Кошкіна І., Андрос А., Ходаченко О., Приходько С.**

#### **ФУНКЦІОНУВАННЯ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ У ПРИСУТНОСТІ ПОХІДНИХ ТІАТРИАЗИН 1,1-ДІОКСИДУ ЗА УМОВ БІОКОРОЗІЇ СТАЛІ**

*Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка  
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013, Україна  
e-mail: kurmakova@mail.ru*

Надійним засобом захисту металів від біопшкоджень, у тому числі від біокорозії сталі, є використання сполук, які одночасно пригнічують функціонування корозійно небезпечних мікроорганізмів та зменшують швидкість руйнування металу. Перспективними в цьому напрямку є гетероциклічні органічні сполуки, які містять у своєму складі атоми кисню, сірки й азоту. Для ефективного попередження біокорозії сталі необхідно застосовувати інгібітори, до яких у мікроорганізмів не спостерігається адаптації. На сьогодні актуальним залишається пошук ефективних інгібіторів мікробної корозії сталі, які пригнічували б функціонування сульфатвідновлювальних бактерій, – найбільш агресивний компонент корозійного мікробного угруповання.

Метою роботи було дослідити функціонування сульфатвідновлювальних бактерій у присутності похідних тіатриазин 1,1-діоксиду за умов біокорозії сталі.

Дослідження проводили в герметичних ємностях 100 см<sup>3</sup> зі сталевими зразками (пластини, 24 см<sup>2</sup>) в середовищі Постгейта В, інокульованому накопичувальною культурою сульфатвідновлювальних бактерій (3-добова). Інокулят становив 10% від об'єму середовища, кількість бактерій в інокуляті

–  $10^8$  кл/мл. Концентрація похідних тіатріазин 1,1-діоксиду – 1,0 г/л. Експозиція 240 годин ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Вивчали речовини 3,4,7,8-тетрагідро-6Н-пирроло[2,1-с] [1,2,4,6]тіатріазин-2,2-діоксид (сполука 1) та диметил[4-(3,4,7,8-тетрагідро-6Н-пирроло[2,1-с] [1,2,4,6]тіатріазин-2,2-діоксид-4-ил)амін (сполука 2). В культуральній рідині визначали: чисельність сульфатвідновлювальних бактерій (метод граничних десятикратних розведень на середовищі Постгейта В) та концентрацію біогенного сірководню (йодометричне титрування). За втратою маси зразків розраховували швидкість корозії, коефіцієнт гальмування корозійного процесу. Статистичне опрацювання результатів експерименту проводили для рівня значущості 0,05 з врахуванням нормального t-розподілення; повторність трикратна. Відносна похибка представлених даних не перевищує 10%.

Встановлено, що похідні тіатріазин 1,1-діоксиду впливають на функціонування сульфатвідновлювальних бактерій за умов біокорозії сталі. Так, чисельність вільноплаваючих сульфатвідновлювальних бактерій за дії похідних тіатріазин 1,1-діоксиду становить  $1,3 \cdot 10^6$  кл/мл (сполука 1) та  $2,5 \cdot 10^6$  кл/мл (сполука 2), що на два порядки менше, ніж у контролі. Показником метаболічної активності сульфатвідновлювальних бактерій є продукування біогенного сірководню – основного метаболіту бактерій зазначеної фізіологічної групи. Визначено, що за умов біокорозії сталі похідні тіатріазин 1,1-діоксиду зменшують концентрацію сірководню в 4,5–6,4 разу порівняно з контролем, де його вміст становить 125,5 мг/л. Суттєвий вплив на сульфатвідновлювальну активність бактерій має похідне 2, молекула якого містить N,N-диметиланіліновий замісник. Відмічено, що за присутності похідних тіатріазин 1,1-діоксиду зменшується корозійна активність сульфатвідновлювальних бактерій: швидкість біокорозії сталі гальмується в 1,5–1,6 рази.

Таким чином, введення в корозійне середовище похідних тіатріазин 1,1-діоксиду призводить до пригнічення функціонування сульфатвідновлювальних бактерій за умов мікробної корозії сталі, зокрема зменшується чисельність бактерій, їх метаболічна та корозійна активність, що є необхідним для інгібіторів мікробної корозії сталі. Тому похідні тіатріазин 1,1-діоксиду можна вважати перспективними для захисту сталевих конструкцій від біокорозії, яка індукується сульфатвідновлювальними бактеріями.

### **Козюк Л., Мегалінська Г., Волинська С.**

#### **ЦИТОСТАТИЧНА Й АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ *ALOE ARBORESCENS***

*Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова  
вул. Пирогова, 9, м. Київ, 01030, Україна  
e-mail: Zhanna\_bio@ukr.net*

Вивченню лікарських властивостей алое присвячено багато наукових досліджень. Рослини алое містять антраглікозиди (алоїн, гомонаталоїн, рабар-берон), антрахінони (елодин, хризофанол), смоли, ферменти, вітаміни, ефірні олії. Галенові препарати цієї рослини мають проносну, протизапальну, антимікробну, ранозаговальну, імуностимулюючу, жовчогінну дію. Проте в літературі відсутні дані про цитостатичну та антибактеріальну активність лектинів цієї рослини.

Лектини – це білки, які не належать до імунних білків і здатні зворотно зв'язуватися з глікопротеїдами глікокон'югатів без порушення ковалентної структури останніх. Лектини виконують захисну функцію, оскільки можуть викликати лізис спор грибів та пригнічувати їх ріст, проявляють інсектицидні властивості, тобто здатні знищувати комах, механізм дії можна пов'язати із зв'язуванням хітину, аглютинацією з епітеліальними клітинами кишкового тракту, дезактивацією травних ферментів; беруть участь у регуляції функціональної активності мітохондрій; завдяки лектиновій експресії генів відбувається диференціація рослинних тканин, зокрема елементів провідної тканини; стимулюють ріст та поділ лімфоцитів; зв'язують цитокініни – фітогормони, які виступають регуляторами клітинного циклу в рослинах; здійснюють запасну функцію у насінні квасолі; мають гормоноподібну дію – це

інформативні молекули, які передають сигнали всередину клітин і викликають зміни їх метаболізму забезпечують впізнавання та проростання пилку на прийомчій маточки. Таким чином, лектини, з одного боку, входять до структури тканин рослин, тварин, мікроорганізмів та беруть участь в регулюванні їх метаболізму. З другого боку, лектини, виділені з живих об'єктів можуть стати лікарськими препаратами та лабораторними діагностиками. За даними П. Д'Адамо (П. Д'Адамо, 2001) 95% лектинів, що потрапили до організму виводяться, в той час як 5% потрапляють у кров і можуть впливати на процеси в організмі.

Лектиновмісні витяжки отримували за загальноприйнятою методикою (Луцик А.Д., 1986). Тому метою даного дослідження було вивчення антибактеріальної, гемаглютинуючої та цитостатичної активності *Aloe arborescens*. Цитостатичну активність досліджували за методикою Іванова В.Б., Быстрова Е.Н., Дубровского В.Г., де тест-об'єктом було обрано проростки насіння огірка посівного. Гемаглютинуючу активність досліджували за методикою Луцика А.Д. Антибактеріальну активність досліджували методом паперових дисків. Тест-об'єктами було обрано: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*.

Як свідчать результати експерименту, лектини *Aloe arborescens* характеризуються високою бактерицидною дією на грамнегативні мікроорганізми (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*). Дія лектинів алое на *Staphylococcus aureus* виявилися незначною (зона гальмування – 6 мм).

Результати по вивченню цитостатичної активності сировини *Aloe arborescens* свідчать, що в межах концентрації 100-200 мг/мл та 300-600 мг/мл водна витяжка цієї сировини характеризується активністю стимулятора проліферації, а при концентрації 900 мг/мл спостерігається цитостатичний ефект.

При вивченні гемаглютинуючої активності лектини з сировини *A. Arborescens* встановлено, що найбільшу гемаглютинуючу активність мають лектини цієї рослини щодо еритроцитів II та III груп крові, - титр гемаглютинації 1/16, а бали 3 та 2 відповідно. Слабка гемаглютинуюча активність характерна для взаємодії лектини алое-еритроцити першої групи крові. Проведені дослідження дають змогу персоналізувати застосування лікарської сировини *Aloe arborescens* залежно від груп крові людини.

### **Кундєєв М., Софілканіч А., Пирог Т.**

#### **ВПЛИВ ДОДАТКОВОГО ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ НА СИНТЕЗ**

#### **ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЗА УМОВ РОСТУ**

#### ***RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1 НА ОЛІЄВМІСНИХ СУБСТРАТАХ**

*Національний університет харчових технологій, Кафедра біотехнології мікробного синтезу*

*вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна*

*e-mail: azmadan@bigmir.net*

Поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження мають ряд переваг порівняно з синтетичними аналогами: нижча токсичність, біодеградабельність, краща екологічна сумісність, вище піноутворення, висока специфічність, стабільність фізико-хімічних властивостей у широкому діапазоні рН і температур, а також можливість їх синтезу з поновлюваних ресурсів та відходів промисловості. Незважаючи на суттєві переваги мікробних ПАР, їх виробництво у промислових масштабах є не вигідним через низький вихід цільового продукту та високі витрати на його виділення та очищення. Збільшити вихід цільового продукту та зменшити витрати на сировину можна за рахунок використання як субстрату промислових відходів, зокрема, відходів нафтопереробної та різних галузей харчової промисловості. Даний підхід для здешевлення процесу біосинтезу ПАР виявився ефективним, що й було доведено в ряді наукових робіт та наших попередніх дослідженнях, проведених зі штамом *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1.

Метою даної роботи було вивчення впливу додаткового джерела вуглецю на біосинтез ПАР у процесі культивування *R. erythropolis* ЕК-1 на олієвмісних субстратах (відходи оліє-жирового виробництва, олія після використання у закладах громадського харчування, соняшникова олія).

На першому етапі досліджень як додаткове джерело вуглецю використовували глюкозу у концентрації 1–3 г/л, яку вносили на початку процесу культивування, у експоненційній та стаціонарній фазі росту бактерій. Концентрація основного джерела вуглецю становила 2% (об'ємна частка). Встановлено, що за внесення глюкози на початку процесу культивування та в експоненційній фазі росту штаму ЕК-1 у концентрації 1 і 2 г/л синтез ПАР підвищувався у 3–4 рази порівняно з вирощуванням бактерій на середовищі без глюкози. Наступні експерименти показали можливість заміни глюкози на дешевше вторинне джерело вуглецю – мелясу. Мелясу вносили у середовище культивування з олієвмісними субстратами на початку процесу культивування та в експоненційній фазі росту у концентрації 4 і 8 г/л. Такі концентрації меляси були еквімолярними за вуглецем концентраціям глюкози 1 і 2 г/л відповідно. Встановлено, що за внесення меляси у середовище культивування штаму ЕК-1 з олієвмісними субстратами синтез ПАР збільшувався у 2,5 рази порівняно з культивуванням штаму на середовищі без внесення меляси.

Отже, використання додаткового джерела вуглецю (меляси та глюкози) у процесі культивування *R. erythropolis* ЕК-1 на олієвмісних субстратах дає змогу суттєво інтенсифікувати синтез поверхнево-активних речовин.

### **Курова А., Білявська Л., Головань А.**

#### **МІМЕТИКИ АНАЛОГІВ N-НУКЛЕОЗИДІВ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ІНГІБІТОРИ ІНФЕКЦІЙ, СПРИЧИНЕНИХ ВІРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ ТА ВІРУСОМ ЕПШТЕЙНА-БАРР**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д 03680, Україна  
e-mail: anuta.kurova@gmail.com*

Резистентність вірусів порядку *Herpesvirales* до відомих препаратів (ацикловір) та спектр численних захворювань, викликаних даними збудниками, стимулює пошук нових субстанцій, активних проти них. Віруси простого герпесу (ВПГ 1 і 2) належать до порядку *Herpesvirales*, родина *Herpesviridae*, підродина *Alphaherpesvirinae* роду *Simplexvirus*, викликають захворювання, які характеризуються ураженням шкіри, слизової оболонки ротової порожнини, очей, уrogenітальних шляхів. Вірус Епштейна-Барр, герпесвірус 4 типу, порядку *Herpesvirales*, родина *Herpesviridae* є збудником численних захворювань, пов'язаних з ушкодженням лімфатичної системи, системи крові. ВПГ-1 та ВЕБ характеризуються тим, що призводять до ураження центральної та периферичної нервової системи.

У зв'язку з цим метою даного дослідження було вивчити вплив міметиків аналогів N-нуклеозидів на репродукцію вірусів порядку *Herpesvirales*, ВЕБ, ВПГ-1 та 2 на чутливих до них культурах клітин. Субстанції препаратів синтезовано в Інституті органічної хімії НАН України. Завдяки синтетичній доступності та високій хімічній і біологічній стабільності досліджувані похідні 1,2,3-тріазолів є популярними білдинг-блоками з точки зору медичної хімії. За своєю структурою вони подібні до тимідину і є дигетероциклічними сполуками з різними замісниками в ароматичних кільцях (хлор, ацильний замісник, тіосульфат тощо).

Цитотоксичну дію і антивірусну активність оцінювали на класичній для дослідження ВЕБ-інфекції моделі – культурі клітин Raji, - культура клітин В-фенотипу із лімфоми Беркитта, лімфоцити людини, трансформовані вірусом Епштейна-Барр, які мають у своєму геномі 63 копії вірусного геному. Цитотоксичність та антивірусну дію проти ВПГ-1 і 2 досліджуваних сполук оцінювали на культурі клітин ВНК-21с13, що походить з нирки новонародженого сирійського хом'ячка.

Визначення цитотоксичної дії проводили колориметричним методом МТТ, який базується на функціонуванні дегідрогеназної системи мітохондрій інтактних клітин. Визначенню цитотоксичності (концентрація препарату, що викликає загибель 50% клітин в популяції) міметиків аналогів нуклеозидів на культурі клітин Raji. Показано, що найменш токсичними на цій культурі були сполуки №1,

№2, №3,  $CC_{50}$  їх становить 830 мкг/мл, 1010 мкг/мл, 557 мкг/мл, а більш токсичними були сполуки №4 та №5, цитотоксична концентрація - 236 мкг/мл та 327 мкг/мл. Специфічну антивірусну дію на цій же культурі проти ВЕБу, вивчену методом ПЛР з використанням тест-системи “Amplify-Sens 100R” (Росія), проявили усі сполуки, окрім №2, яка інгібувала репродукцію вірусу на 20% у спектрі досліджуваних концентрацій. 50% ефективна концентрація сполуки №1 становила 10 мкг/мл, №3 - 3,6 мкг/мл, №4 - 3,2 мкг/мл та №5 - 4 мкг/мл. Відповідно, за результатами оцінено індекс селективності сполук, що для №1 становить 83, №3 - 80, №4 - 70, №5 - 80.

Для вірусів простого герпесу 1 та 2 на культурі клітин ВНК проведені аналогічні дослідження цитотоксичності та антивірусної активності. Специфічну дію проти ВПГ-1 у цій культурі клітин проявили сполуки №2 та №4, 50% інгібування репродукції вірусу спостерігали при внесенні 80 мкг/мл та 0,8 мкг/мл, відповідно, а значення токсичності цих сполук становило для №2 - 125 мкг/мл та для №4 - 430 мкг/мл. Відповідно, за результатами оцінено індекс селективності сполук, що для №2 становить 156, для №4 - 5. Досліджувані сполуки не проявили антивірусної активності проти ВПГ-2.

Таким чином, високі значення ІС (більше 16) досліджуваних міметиків аналогів N-нуклеозидів проти вірусів порядку Herpesvirales робить їх перспективними субстанціями для подальшого вивчення і на моделі *in vivo*.

**Кузьменко О., Андрущенко О., Бухтіяров А., Лісютін Г.**  
**РОЗПОВСЮДЖЕННЯ БАКТЕРІЙ, ЗДАТНИХ ВИКОРИСТОВУВАТИ НАФТУ,**  
**В АКВАТОРІЇ ОСТРОВА ЗМІЊНИЙ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова*

*e-mail: kuzmenko808@ukr.net*

Проблема забруднення акваторії о. Зміїний нафтовими продуктами має важливе значення. Характер розподілу й рівень кількісного розвитку гетеротрофних мікроорганізмів, здатних утилізувати нафту, служить важливими показниками при біологічній індикації змін стану морських екосистем, що виникають під впливом природних і антропогенних факторів. Метою роботи було виявлення бактерій, що утилізують нафту, в прибережних районах о. Зміїний.

Об'єктом дослідження були представники бактеріопланктону, ізольовані з акваторії навколо острова Зміїний. Матеріалом для дослідження була морська вода, відібрана на 8 станціях з поверхневого горизонту (0-50 см глибиною) прибережної частини острова в період з 2009 по 2010 рр. Для визначення чисельності мікроорганізмів, що утилізують нафту, використовували рідке синтетичне середовище морське калієво-дріжджове середовище. Вміст нафтових вуглеводнів в пробах води визначали методом екстракції хлороформом і хроматографічного розділення.

Результати визначення розподілу нафтопродуктів у прибережних водах на досліджених станціях були різними. Відповідно до критеріїв, що пред'являються до водних об'єктів, використовуваних для рибогосподарських цілей, вміст нафти не повинен перевищувати значень ГДК (0,05 мг/л). Навесні 2009 р. сумарний вміст рідких фракцій нафтових вуглеводнів у пробах в районі дослідження коливався від 4,8 мг/л до 12,60 мг/л у прибережній частині і становив 7,1 мг/л у віддаленій зоні на півночі акваторії острова. Цікаво відзначити, що найбільш забруднена нафтовими вуглеводнями була вода зі станції (m), яка віддалена у напрямку до гирла р. Дунай - 44,4 мг/л (888 ГДК).

Вивчення поширення мікроорганізмів, що використовують нафту показало, що їхній розподіл у досліджуваній частині акваторії є плямистим. Кількість гетеротрофів, що утилізують нафту, на станції «Стара пристань» майже за весь період спостережень характеризувалась найбільшими значеннями. Навесні 2009 р. в пробах морської води, відібраних навколо о.Зміїний, кількість бактерій, що утилізують нафту, характеризувалась найменшими показниками. Максимальні значення чисельності бактерій визначались на всіх станціях у зоні прибою, за винятком станції (h), розташованої на північному сході

острова, влітку 2010 р., що можна пояснити як забрудненням нафтопродуктами, так і великою кількістю розчинної органіки в морській воді. Проведені дослідження дозволили визначити рівень забруднення морської води нафтовими вуглеводнями. Виявлена неоднорідність у розподілі та чисельності гетеротрофних бактерій, що окиснюють нафту. Робота виконана в рамках тем ЗМ/323-2008, Д/Б 422 що фінансувались МОН України.

**Квятківська І., Софілканич А., Пирог Т.**

**РОЛЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1  
У ЗАХИСТІ КЛІТИН ВІД ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

*Національний університет харчових технологій  
Кафедра біотехнології мікробного синтезу  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: irinakvyatkovskaya@mail.ru*

Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є відносно новим продуктом біотехнології. Завдяки унікальним фізико-хімічним властивостям (біодеградабельність, стійкість до екстремальних температур, рН та солоності середовища, нетоксичність) мікробні ПАР привертають увагу науковців при вирішенні певних практичних завдань. Відомо, що синтез ПАР є пристосувальним механізмом для захисту мікроорганізмів від несприятливих факторів, у тому числі й важких металів. Припускається, що механізм дії ПАР полягає у тому, що вони здатні утворювати комплекси із важкими металами, нейтралізуючи їх негативний вплив на клітини.

Метою даної роботи було вивчення захисних функцій ПАР *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 щодо  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  та  $\text{Pb}^{2+}$ . Метали вносили у середовище культивування бактерій у вигляді 1% розчинів солей  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  та  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_4$ . Концентрація металів становила 0,01 і 0,05 мМ. Аналізували вплив токсичних металів на ріст *R. erythropolis* ЕК-1 і синтез поверхнево-активних речовин, а також досліджували роль метаболітів з поверхнево-активними властивостями у захисті клітин від дії  $\text{Cu}^{2+}$ .

Встановлено, що *R. erythropolis* ЕК-1 здатний рости та синтезувати поверхнево-активні речовини за впливу іонів міді. Експериментально доведено, що внесення у середовище культивування  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрації 0,01 мМ у експоненційній фазі росту супроводжувалося підвищенням синтезу ПАР на 25-35%. За наявності у середовищі культивування іонів  $\text{Cd}^{2+}$  спостерігали пригнічення росту і синтезу ПАР *R. erythropolis* ЕК-1. Внесення іонів  $\text{Pb}^{2+}$  у середовище культивування штаму ЕК-1 призводило до припинення росту та синтезу ПАР, проте після пересіву на середовище без металу активізувався синтез метаболітів з емульгуювальними властивостями. Так, індекс емульгування у цьому разі підвищувався від 43% до 57% і 65% для концентрацій металу 0,01 та 0,05 мМ відповідно.

Внесення  $\text{Cu}^{2+}$  у клітинну суспензію після видалення поверхнево-активних речовин супроводжувалося повною загибеллю клітин, у той час як за присутності ПАР виживання клітин після обробки  $\text{Cu}^{2+}$  становило 65%.

Одержані результати є основою для розробки природоохоронних технологій з використанням поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ЕК-1.

**Лободюк Ю., Усатенко В., Карабан Г., Сергєєва Ж., Ліманська Н.**  
**ПЛАЗМІДНИЙ ПРОФІЛЬ ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНОГО РАКУ ВІНОГРАДУ,  
ВИДІЛЕНИХ В ОДЕСЬКІЙ ОБЛАСТІ**

*Кафедра мікробіології і вірусології, Одеський національний університет імені І.І. Мечникова  
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна  
e-mail: grotesk05@list.ru*

Збудники бактеріального раку винограду – *Rhizobium vitis* і *R. radiobacter* (за минулою номенклатурою – *Agrobacterium vitis* і *A. tumefaciens*) характеризуються значною генетичною різноманітністю

(Ride M., 2000; Young J.M., 2001). У зв'язку з цим актуальним поставало вивчення плазмідного профілю даних фітопатогенів, виділених на виноградниках Одеської області. Ті-плазміда контрольного *R. radiobacter* штаму С58 за літературними даними має розмір 214 кб (Goodner V.W., 1999). Порівняння з нею дало змогу встановити на електрофореграмі розміри інших плазмід. Результати показали, що усі десять досліджених штамів містили плазмиди великих розмірів. Так, у всіх 10 штамів збудників бактеріального раку виявлялася плазміда однакового розміру (224 кб).

Штами *R. vitis* можуть нести Ті-плазмиди різних типів, які за розмірами відрізняються від Ті-плазмід бактерій *R. radiobacter*. Так, відомі Ті-плазмиди розмірами 256 кб, 258 кб, 248 кб, 224 кб, 234 кб, які виявляються у клітинах штамів октопін-кукумопінного типів. Ті-плазміда вітопінного типу має розмір 262 кб. Ті-плазмиди нопалінового типу характеризуються меншими розмірами (157 кб) і є висококонсервативними (Burt T.J., 1999).

На винограді найширше представлені штами, що продукують опін (60–75% ізолятів) (Ride M., 2000). Отож наявність у досліджених штамів ризобій Ті-плазмиди, яка за розмірами може бути віднесена до октопінної, узгоджується з даними літератури.

Дослідниками було показано, що залежно від географічного поширення і навіть від певного розсадника, де були відібрані штами, властивості культур, такі як тип бактеріоцину або опіну, можуть відрізнятися і бути характеристикою саме даної групи штамів. Так, за кордоном застосовується своєрідне відстежування шляху рослинного матеріалу, зараженого патогенними агробактеріями, за плазмідними характеристиками і типами опінів, що дає змогу ліквідувати основне джерело зараження і компенсувати збитки розсадницьких господарств (Pionnat S., 1999). У випадку наших досліджень також можна відмітити, що на одному винограднику виділяються штами зі схожими плазмідними характеристиками.

Отримані дані свідчать про циркуляцію в межах певного агроценозу штамів зі схожими характеристиками, занесених, імовірно, з одного джерела інфікування.

Автори висловлюють щирю подяку доктору біологічних наук Товкачу Ф.І. за консультативну допомогу.

**Metla Z., Halimona J., Seskena R., Jankevica L.**  
ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MIDGUT MICROFLORA  
OF FORESTS PESTS (LEPIDOPTERA) IN LATVIA

*Institute of Biology of University of Latvia*  
*Miera iela, 3, Salaspils, LV 2169, Latvia*  
*e-mail: zmetla@inbox.lv*

Entomopathogens have long been known to play a major role in the population dynamics of many important forests species (Elkinton and Burand, 2007). Applied insect pathology has focused on efforts to develop pathogens as biopesticides. Major species of bacteria used as biopesticides to control insect pests belongs to the families Bacillaceae, Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Streptococcaceae and Micrococcaceae (Tanada and Kaya, 1993). The first step that has important role in investigation of new entomopathogens is midgut microflora investigation. The indigenous gut bacteria play role in withstanding the colonization of the gut by non-indigenous species including pathogens.

The aim of the study was to extend the knowledge of (natural) gut microflora of significant forest pests and to clarify changes in qualitative composition of gut bacterioflora depending on abiotic stress factors. As model organisms pine looper (*Bupalus piniarius* L.) and gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) were used.

Field studies of insect pathogens depend upon adequate techniques to detect the pathogens. First step of analysis is collection and rearing of insects. Insects were collected from natural habitats in different regions of Latvia. After collecting living insects were placed in sterile isolators for observations. Pest natural gut microflora was isolated and present pathogens were identified. Abiotic stress factors (extreme temperature

changes, food treatment with 1, 0.5% CuSO<sub>4</sub> and 1% boric acid) were used for observation of qualitative changes of larval midgut microflora composition.

Contents of living insects intestine were homogenized and spread on artificial mediums. Morphologically different bacteria were isolated and classified by microscopy and physiological, biochemical reactions. Based on morphological, physiological, biochemical methods different bacteria isolates were determined. In the first year we identified natural gut microflora without stress factors influence. Midgut microbial community structure and diversity varied between both insect species but there were specific bacterial types that existed in both populations – *Enterobacter* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Bacillus* sp. More diverse microbial community was observed in *B. piniarius* midgut – natural bacteriflora consisted from 16 different bacteria species. Stress-factors caused detectable changes in diversity of bacterioflora of insects and also caused changes in abundance of certain bacteria species and developing of entomopathogenic bacteria species in insect.

This research has been financially supported by the Latvian Council of Sciences, European Social Fund (ESF) and COST action 862.

### **Мудрак Т., Компанець Т.**

#### **ПОШИРЕННЯ ВІРУСУ КАКТУСІВ 2 У КОЛЕКЦІЯХ БОТАНІЧНИХ САДІВ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*  
*Навчально-науковий центр «Інститут біології», Кафедра вірусології*  
*вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна*  
*e-mail: mudrak\_t@ukr.net*

Вірусні хвороби становлять значну загрозу колекціям кактусових рослин, оскільки тривалий час перебуваючи в латентному стані, можуть непомітно поширюватися і в кінцевому рахунку призводити до повного і незворотного виродження рослин та їх загибелі. У роботі використовувалися відібрані при візуальному обстеженні рослини *Opuntia* sp., *Opuntia microdasys* v. *rufida*, *Consolea rubescens*, *Pereskia aculeata* v. *godseffiana*, *Echinocereus* sp., *Carolluma* sp., з колекції ботанічного саду ім. О.В. Фоміна Київського національного університету (м. Київ), *Mammillaria centricirrho*, *Trichocereus bridgesii*, *Ritterocereus prinosus* з колекції ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна (м. Харків) та *Gymnocalycium* sp., *Ferocactus echidne* і *Opuntia* sp., з колекції ботанічного саду Львівського національного університету ім. І.Я.Франка (м. Львів). Інфекційну природу захворювання доводили на рослинах-індикаторах *Gomphrena globosa* L., *Datura stramonium* L., *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, *N. alata*. На рослинах *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, інокульованих соком *Opuntia microdasys* і *N. alata*, інокульованих соком *Opuntia* sp. реєструвалися мозаїчні симптоми, а на рослинах *Gomphrena globosa* L. і *Datura stramonium* L. спостерігали некрози при інокуляції соком *Opuntia brasiliensis*, *Trichocereus bridgesii* та *Ritterocereus prinosus*. Визначення морфології збудника здійснювали трансмісивною електронною мікроскопією. У соці усіх відібраних рослин нами реєструвалися вірусоподібні частки розміром близько  $650 \times 12 \pm 2$  нм. Для визначення патогену було застосовано непрямий твердофазний імуноферментний аналіз. Сік рослин *Opuntia* sp., *Opuntia microdasys* з колекції ботанічного саду ім. О.В. Фоміна, а також *Trichocereus bridgesii* та *Ritterocereus prinosus* з колекції ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна та *Opuntia* sp. з колекції ботанічного саду Львівського національного університету ім. І.Я. Франка реагував зі сироватками до S- та M- вірусів картоплі, серологічно спорідненими із вірусом кактусів 2. Препаративне виділення і очищення вірусу проводили диференціальним центрифугуванням за власною методикою, як вірусемісний матеріал використовували пагони рослини *Opuntia* sp. з чітко вираженими симптомами мозаїки та хлорозу. Білковий склад виділених препаратів визначали аналітичним електрофорезом білків у поліакриламідному гелі за Лемлі. У препаратах, виділених з рослин *Opuntia* sp. реєструвалося два білки з молекулярними масами: 24,7 та 15,5 кДа. Віруси, виділені з *Opuntia* sp. колекцій кактусових ботанічного саду



ім. О.В. Фоміна Київського національного університету та Львівського національного університету ім. І.Я. Франка, виявилися повністю ідентичними. Підсумовуючи отримані результати, можна зробити висновок про те, що вірус, виділений з *Opuntia* sp., є вірусом кактусів 2, поширення якого відбулося з нетестованими на вірусоносійство рослинами.

**<sup>1</sup>Нацевич В., <sup>2</sup>Руднєва Т., <sup>1</sup>Шевченко Т.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИФІТОВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ «ДЕКОНЕКС-50»**

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна*

*<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАНУ, м. Київ, Україна  
e-mail: vika-natceвич@ukr.net*

Останнім часом проблема фітовірусів набуває все більшої актуальності, оскільки попри велике різноманіття рослинних вірусів постійно виникають нові штами, що призводить до різноманітних хвороб рослин та їхньої загибелі. Для багатьох вірусів, особливо з широким спектром сприйнятливих до них рослин, проблема пошуку хімічних сполук з антивірусними властивостями залишається актуальною. Особливо небезпечними є віруси, що передаються насінням, оскільки це не тільки зашкоджує якості врожаю, а й призводить до розповсюдження вірусів через посадковий матеріал. Одним із типових агротехнічних прийомів отримання здорового врожаю є використання здорового насіннєвого матеріалу. Існує низка хіміо- і термотерапевтичних методів знезараження насіння від вірусів, ефективність яких, однак, значно залежить як від насіння (виду рослини), так і від виду вірусу.

Метою наших досліджень було вивчення антифітовірусної активності препарату “Деконекс” в системі вірус-рослина. Для встановлення інфекційності вірусу перевагу надають рослинам-індикаторам, які дають некротичну реакцію на ураження вірусним препаратом. Модельна система була представлена вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ) та рослинами-індикаторами: *Nicotiana glauca* та *Nicotiana glutinosa*, які дають некротичну реакцію на ураження даним вірусним препаратом. Для перевірки віруліцидності деконексу було проведено обробку вірусів *in vitro* препаратом у різних концентраціях з подальшим інфікуванням індикаторних рослин. Також при перевірці ефективності застосування препарату для знезараження насіння від вірусу була обрана система «вірус огіркової мозаїки»

У результаті виконання досліджень встановлено, що суттєве зниження інфекційності вірусу тютюнової мозаїки відбувається під впливом «ДЕКОНЕКС 50 ФФ» в концентрації 0,5% при обробці протягом 60 хв та 90 хв та в концентрації 1% при обробці протягом 60 хв та 90 хв. Зниження інфекційності при цьому відбувається на 80%, тобто «ДЕКОНЕКС 50 ФФ» проявляє віруліцидну активність. Обробка вірусу тютюнової мозаїки протягом 30 хв «ДЕКОНЕКС 50 ФФ» у концентраціях 0,5% та 1% є неефективною. При обробці препаратом «Деконекс-50» інфікованого насіння було встановлено пропорційне дозозалежне зниження вірусного навантаження. Обробка інфікованого насіння препаратом у концентрації 0,5% призводила до зниження вмісту вірусних антигенів на 26%, а у концентрації 1% - на 51%. Таким чином, нами підтверджена антифітовірусна активність препарату «Деконекс-50» щодо деяких вірусів.

**Nidialkova N., Matselyukh O.**

**THE FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* 27-88ELS<sup>+</sup>**

*D.K.Zabolotny Institute of Microbiology and Virology  
154, Acad. Zabolotnyi St., 03680, Kyiv, Ukraine  
e-mail: Nidialkova@gmail.com*

The accumulation of the fibrin in the blood vessels occurs as a result formation of the clots. A failure of hemostasis and consequent formation of blood clots in the circularity system can produce severe outcomes such

as stroke and myocardial infraction. Development of this pathology requires the application of the fibrinolytic agents, the most popular of which are urokinase, tissue plasminogen and streptokinase. The production expenditures and technology have become the main barrier of the wide application of them. So there're the intensive investigations of the new thrombolytic agents and creation their medicinal forms for oral application and injections for a long time. The microorganisms (bacteria, yeasts and micromycetes) are ones of perspective sources of the thrombolytic enzymes. A main tendency in this field is a search of the new producers and improvement of the fibrinolytic enzymes synthesis by the existing strains-producers including selection of an ideal nutrient mediums, the optimization of environmental conditions, and overexpression by genetically engeneered strains.

The research object was the strain *Bacillus thuringiensis* 27-88Els<sup>+</sup>. Besides elastolytic activity it has shown enough high fibrinolytic activity (FA) – 1,3 U/ml. We investigated the influence of various nitrogen and carbon sources on FA of strain. As carbon sources it was used mono-, di-, trisaccharides, polyatomic alcohol, soya and corn flour in concentration 0,55% in recalculation on the carbon maintenance. The FA was detected at use of arabinose, galactose, mannose, xylose, maltose and dulcitol. It was shown that other used carbon components completely inhibited production of the proteases with FA. The maximal synthesis was observed on galactose. It consisted 2,5 U/ml and it was about to 2 times more of the control variants results. The unit activity was about 12 U/mg of the protein which was 58 times more of the control.

Amino acids, mineral salts and high molecular nitrogen-containing substances were applied as a main nitrogen sources which were added to the cultural medium in 0,2% concentration nitrogen terms. The FA increased 1,5-2 times by growing at the sodium nitrate, ammonium sulphate, asparagines and gelatin. At the same time as accumulation of the protein in experimental variants was less than in control. Concentration variance of the nitrogen sources from 0,01 to 1,5% shown that concentration decrease has positive influence on FA of *B. thuringiensis* 27-88Els<sup>+</sup>. Sodium nitrate concentration of 0,01% gave maximal value and amounted 9,74 U/ml which was 7,5 times more than control. The concentration variance didn't almost change the synthesis fibrinolytic enzyme but it decreased maintenance of the protein. At gelatin concentration of 0,01% the unit FA of the cultural fluid composes 44 U/ml. While that value consists 168 U/ml on the medium with sodium nitrate. It specifies on availability of sodium nitrate employment for enzyme accumulation. The change of amino acids concentration didn't influence on the activity.

Research that had been made indicated that synthesis of proteases with the FA depended on carbon and nitrogen sources in the nutrient medium. The only galactose (from the others ones which were researched) is the best carbon source to enzymatic production with the FA of *B. thuringiensis* 27-88Els<sup>+</sup>. The sodium nitrate is the optimal nitrogen source for synthesis and accumulation proteases with the FA. Thereby it can be got the production of proteolytic enzymes with different specificity by itself strain varying ingredients and its concentrations.

### **Німилович М.**

#### **ВІРУСНІ ЗАХВОРЮВАННЯ РОСЛИН**

*Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка  
вул. В. Івасюка, 11, м. Трускавець, Львівська обл., Україна, 82200  
e-mail: biodpau@ukr.net*

Відкриття неклітинних форм життя – вірусів – заклало фундамент нової науки вірусології. На сьогодні відомі віруси рослин, тварин, мікроорганізмів. Віруси рослин заражають як вищі, так і нижчі рослини. Проте відомостей про вірусні хвороби нижчих рослин ще дуже мало. На даний час переважну більшість вірусних хвороб досліджують на вищих рослинах, в основному на зернових, зернобобових, технічних культурах. Це пояснюється великими втратами, які спричинюють вірусні хвороби цим економічно важливим культурам. Вивчення вірусних захворювань рослин, а також їхніх збудників може знайти ефективні засоби для проведення боротьби з ними.

Мета роботи: розглянути вірусні захворювання рослин і віруси, які їх спричиняють. Серед вірусів, які уражають зернові культури, виділяють (Московець С.Н., 1975): вірус жовтої карликовості (ячменю, пшениці вівса, кукурудзи) (належить до родини *Luteoviridae*, РНК лінійна, віріони ізометричні, діаметром 25-35 нм, ліпіди і вуглеводи відсутні, оптимальні умови розвитку –  $t=12^{\circ}\text{C}$ , інтенсивність освітлення 32400-43200 люкс, стійкий до хлороформу і бутанолу. Вірус передається попелицями персистентно. Симптоми: золотисто-жовтий колір листя, уповільнення росту).

Вірус штрихуватої мозаїки (ячменю, пшениці, кукурудзи) (належить до роду *Hordeivirus*, за морфологією – жорсткі палички довжиною 112-150 нм і 18-24 в діаметрі, передається насінням, пилком, віріони містять лінійну РНК, ізоелектрична точка в межах  $\text{pH}=4,5$ ; на природних господарях: ячмінь звичайний, пшениця м'яка вірус спричиняє слабку штрихувату мозаїку, що приводить до некрозу, в кукурудзи – поява на листі світло-жовтих і білих суцільних смуг).

Серед вірусів, які уражають цукрові буряки, виділяють (Поліщук В.П., 2001): вірус слабого пожовтіння буряку (належить до родини *Luteoviridae*, віріони ізометричної форми, 26 нм в діаметрі, суперкапсидної оболонки немає, містять одноланцюгову РНК, молекулярна маса білка оболонки 26000 Д, вірус міститься в листках, коренях, флоемі, передається попелицями персистентно. Симптоми: виникає золотисте пожовтіння старих листків, які стають тонкими і ламкими).

Вірус мозаїки буряку (належить до родини *Potyviriidae*, за морфологією – звивисті нитковидні частки довжиною 733 нм, містять одну молекулу лінійної РНК, ліпіди і вуглеводи відсутні. Передається попелицями. Симптоми хвороби листка: мармуровість, мозаїчний малюнок, що виникає при появі своєрідних світлозабарвлених плям живої тканини, плями різної форми та розмірів).

Серед вірусів, які уражають картоплю, виділяють (Московець С.Н., 1975): Y-вірус картоплі (належить до родини *Potyviriidae*, ниткоподібної форми довжиною 680-750 нм, діаметр – 11 нм, містить одноланцюгову РНК, молекулярна маса білка оболонки 34000 Д, ліпіди відсутні, передається вірус механічно, щепленням. Симптоми: виникає посвітління жилок, крапчастість і зморшкватість жилок листків, з нижнього боку вздовж жилок розвивається смугаста некротизація, яка згодом поширюється на черешки і головне стебло, листя засихає).

X-вірус картоплі (належить до роду *Potexvirus*, за морфологією – гнучкі палички довжиною 515 нм і діаметром 13 нм, містить одну молекулу лінійної одноланцюгової РНК, має один поліпептид оболонки, ліпіди і вуглеводи відсутні. Передається механічно та при обробці посівів, не передається насінням і пилком. Симптоми: викликає некрози верхівки, крапчасту мозаїку).

До вірусів, які уражають широке коло хазяїв, належать: вірус тютюнової мозаїки, вірус огіркової мозаїки (Московець С.Н., 1975).

**Павликівський І., Глодан С., Шишка Р., Байляк М.**  
ВПЛИВ ВОДНИХ ПРЕПАРТІВ РОДІОЛИ РОЖЕВОЇ НА СТІЙКІСТЬ  
ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ДО ДІЇ РІЗНИХ СТРЕСОРИВ

*Кафедра біохімії та біотехнології*

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника*

*вул. Шевченка 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна*

*e-mail: bayliak@ukr.net*

Родіола рожева (*Rhodiola rosea* L.) – багаторічна лікарська рослина, яка зростає у гірських районах Азії та Європи, зокрема у високогір'ї Карпат. Препарати, отримані з кореневища *R. rosea*, мають адаптогенні властивості, тобто підвищують стійкість до дії багатьох несприятливих факторів і допомагають організмові адаптуватись. Більшість експериментів з вивчення адаптогенних властивостей *R. rosea* зроблено на модельних тваринах, включаючи мишей, круглих черв'яків і комах. У даній роботі нами за мету було поставлено оцінити антистресову дію препаратів родіоли рожевої щодо до пекарських

дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, які широко використовуються як модельний об'єкт для вивчення захисних систем еукаріотів.

У дослідженнях використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (дикий тип). Клітини культивували при 28°C на шейкері (175 об/хв) в живильному середовищі з глюкозою. Після досягнення середини експоненційної фази клітини осаджували, переводили у свіже живильне середовище з додаванням різних кількостей водного препарату родіоли рожевої (0,1-2,0% від об'єму середовища) та інкубували протягом 2 год при 28°C. Водний препарат *R. rosea* отримували шляхом півгодинної екстракції на водяній бані у співвідношенні подрібнений рослинний матеріал: дистильована вода – 1:20. Після інкубації клітини осаджували, ресуспендували у 50 мМ калій-фосфатному буфері (pH 7,0) і піддавали дії різних стресорів протягом 1 год при 28°C. Життєздатність клітин після інкубації зі стресорами оцінювали за здатністю утворювати колонії на живильному агаризованому середовищі.

Був досліджений вплив преінкубації з водними препаратами *R. rosea* на стійкість клітин дріжджів до дії таких чинників: 10 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2 мМ CuSO<sub>4</sub>, 4 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+2 мМ CuSO<sub>4</sub>, 20% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 200 мМ CH<sub>3</sub>COOH і тепловий стрес (40°C). Виживання клітин *S. cerevisiae* у контрольній культурі (без препаратів *R. rosea*) суттєво знижувалося при дії вказаних стресорів (окрім теплового стресу) і становило 56±4, 27±6, 10±4, 14±4, 65±7 та 93±5% відповідно. Препарати родіоли рожевої за всіх використаних концентрацій не впливали на стійкість клітин до дії 20% етанолу і теплового стресу. У випадку клітин, оброблених пероксидом водню, вплив препаратів *R. rosea* залежав від доданої концентрації. Попередня інкубація з 0,1% препаратом *R. rosea* підвищувала виживання клітин за дії 10 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> приблизно на 25%, а препарати, додані у концентраціях 0,5 і 2,0%, навпаки, посилювали чутливість клітин до пероксиду водню і зменшували їх життєздатність на 9 і 17% відповідно. Препарат *R. rosea* у концентрації 0,1% проявляв позитивний ефект також на збільшення стійкості клітин до дії 2 мМ CuSO<sub>4</sub> та системи Cu<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; за попередньої інкубації з іншими дозами препарату виживання клітин при наступній дії цих стресорів залишалось таким же, як у контрольній культурі. Щодо виживання за впливу 200 мМ оцтової кислоти, то позитивний вплив препаратів родіоли рожевої спостерігався при найбільшій використаній концентрації – 2,0%, а менші концентрації препарату не впливали на стійкість клітин дріжджів до оцтової кислоти.

Таким чином, можна дійти висновку, що попередня інкубація з водними препаратами родіоли рожевої виявляє адаптогенну дію щодо *S. cerevisiae*, підвищуючи стійкість клітин дріжджів до наступної дії низки стресорів, причому ефект залежить від концентрації препарату *R. rosea*. Найефективніше підвищують стійкість дріжджів до стресорів низькі дози рослинного препарату, а за високих може спостерігатися навіть посилення токсичної дії стресора.

**Передерій Ю. І., Грегірчак Н. М.**  
ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ БІОЦИДНИХ ПРЕПАРАТІВ  
ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГUANІДИНОВОЇ ПРИРОДИ

*Національний університет харчових технологій  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: nat@usuft.kiev.ua*

Нинішня складна епідеміологічна ситуація потребує підвищеної уваги до профілактики інфекційних захворювань. Тому у системі засобів боротьби з інфекціями чільне місце посідає дезінфекція (Кузьмінська О.В., 2009). В літературі описано безліч хімічних сполук, що володіють біоцидними властивостями, але на практиці використовуються лише сотні з них внаслідок їх низької антимікробної активності або високої токсичності (Ефимов К.М., 2000). Одними із найперспективніших препаратів останнього покоління є високомолекулярні сполуки – поліалкіленгуанідини (ПАГи). В дослідженні використовувалися вітчизняні препарати Полідез, Біодез, Гембар концентрацією 0,5% та 1%, які міс-

тять солі полігексаметиленгуанідину (ПГМГ) – хлорид та фосфат – та тест-культури *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* та *Candida albicans*.

Встановлено, що препарати, які містять ПАГи, проявляють високу бактерицидну та фунгіцидну дію. Оцінка ефективності дії біоцидів стосовно тест-культур на різних носіях показала, що повна інактивація мікроорганізмів спостерігається на бавовняній тканині. Встановлено, що найбільша знезаражувальна дія поліалкіленгуанідинових препаратів спостерігається на гладкій, щільній поверхні. Виявлено здатність біоцидів зберігати активність при збільшенні мікробного навантаження за винятком спор грибів. Встановлено, що з підвищенням температури до 37°C дезінфікуючі властивості препаратів посилюються. У результаті проведених досліджень встановлено, що дезінфікуючий засіб Полідез проявляє найменшу інгібуючу дію щодо тест-культур *B. subtilis*, *C. albicans*, *A. niger*, *E. coli* та *S. aureus* за концентрації відповідно: 0,0075%; 0,075%; 0,37%; 0,0075%; 0,0175%, порівняно із засобами Біодез та Гембар. З'ясовано, що при використанні препаратів на основі солей ПГМГ у якості антисептиків вони проявляють високу знезаражувальну дію.

### **Перегудова О., Коротєєва Г.**

#### **ВІРУСИ РОСЛИН РОДИНИ ORCHIDACEAE JUSS. ПРИРОДНОЇ ФЛОРИ УКРАЇНИ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*  
*Навчально-науковий центр «Інститут біології», Кафедра вірусології*  
*вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна*  
*e-mail: xandra\_pereg@ua.fm*

Вірусні захворювання культури тропічних орхідей вивчаються в багатьох країнах світу, це обумовлено їх комерційною привабливістю. Проте дослідження вірусних інфекцій рослин родини Orchidaceae Juss. в природних біогеоценозах в повному обсязі не проводились. Усі орхідні природної флори нашої країни занесені до Червоної книги України. Вони характеризуються складною біологією розвитку – потребою у специфічних грибах-симбіонтах і чіткою ентомофілією. Тому для цих рослин властиві низький ступінь відновлення, висока чутливість до природних змін і антропогенних факторів. Віруси як біотичний чинник можуть здійснювати безпосередній вплив на загальний стан генофонду популяцій рослин. Об'єктами дослідження були орхідні родів *Anacamptis*, *Surgipedium*, *Dactylorhiza*, *Eripractis*, *Gymnodenia*, *Limodorum*, *Neottia*, *Orchis* та *Plantathera*, відібрані на півострові Крим, у Херсонській області, а також у колекції відкритого ґрунту Національного ботанічного саду НАНУ ім. М.М. Гришка. Віруси ідентифікували методами непрямого твердофазного імуоферментного аналізу в модифікаціях indirect ELISA та DAS-ELISA. Для діагностики використовували сироватки до вірусу мозаїки турнепсу (TuMV), вірусу тютюнової мозаїки (TMV), вірусу погремковості тютюну (TRV), вірусу жовтої мозаїки квасолі (BYMV), вірусу пожовтіння жилок конюшини (CIYVV), вірусу аспермії томатів (TAV), вірусу мозаїки гусимця (ArMV) та вірусу некротичної плямистості бальзамину (INSV). Як показало тестування рослин родини Orchidaceae Juss. природної флори України відібраних в колекції НБС ім. М.М. Гришка, у цих рослинах детектувалися антигени до ArMV та TMV. Наявність вірусних антигенів до TMV була доведена для рослин родів *Anacamptis*, *Surgipedium*, *Dactylorhiza* та *Eripractis*, що становить 70% обстежених видів. Вірусне ураження, викликане ArMV, було ідентифіковано для рослин родів *Surgipedium*, *Eripractis* та *Orchis*. Рослини роду *Surgipedium* характеризувалися найбільшою частотою ураження вірусними патогенами. При дослідженні рослин на вірусну інфекцію, відібраних у природних біогеоценозах Криму та Херсону, були виявлені вірусні антигени до TRV, TAV, BYMV, ArMV, TuMV та TMV. Найчастіше детектувалися вірусні антигени до TAV та TRV, наявність яких була доведена для рослин родів *Anacamptis*, *Eripractis*, *Limodorum*, *Neottia* та *Orchis*. Рослини родів *Neottia* та *Orchis* характеризувалися найвищою частотою вірусного ураження. Для представників роду *Orchis* була доведена наявність вірусних антигенів до TAV, TRV, ArMV та TuMV, а для представників роду *Neottia* – до TAV, TRV, ArMV та TMV.

Підсумовуючи отримані результати, слід відзначити, що для орхідних природних біогеоценозів Криму доведена наявність значно більшої групи вірусних патогенів порівняно з рослинами ботанічного саду. При культивуванні орхідних у колекції ботанічного саду відзначено поширення TMV серед видів, для яких дана інфекція у природних умовах не реєструвалась. Значне підвищення відсотка ураження рослин TMV може бути обумовлене створенням сприятливих умов для його передачі, а також зниженням природної стійкості орхідей.

### Петров І. В.

#### ПІДБІР АСОЦІАЦІЙ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ, СТІЙКИХ ЩОДО ЗБУДНИКІВ КОЛІБАКТЕРІОЗУ Й САЛЬМОНЕЛЬОЗУ

НДІ Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна  
e-mail: i.petrov@etcu.com.ua

Одним із основних критеріїв вибору пробіотичних мікроорганізмів є висока антагоністична активність щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (Руденко 2008, Klomp 2008, Martin 2008). Однак у більшості пробіотиків недостатньо широкий антимикробний спектр дії (Гаврилова 2005). У зв'язку з цим перспективним є створення ефективних мікробних препаратів, які мають високу антагоністичну активність для профілактики і лікування кишкових інфекцій у тварин. У якості об'єктів дослідження були обрані штами молочнокислих бактерій *L. lactis* subsp. *lactis* B-2681T, *L. plantarum* B-2629, *L. acidophilus* B-2637 і їх композиції. Згідно з даними, отриманими рядом дослідників, окремі штами виду *L. acidophilus* мають високу антагоністичну активність щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (Тюрин 1989, Королева 1980, Костюк 1997, Куваєва 1993, Ленцнер 1987, Козлова 1992). Особливостями виду лактобацил *L. plantarum* є висока резистентність щодо жовчі та хлористого натрію, висока ферментативна активність, синтез деякими видами антибіотикоподібних субстанцій і перекису водню, активних щодо багатьох потенційно патогенних мікробів (Янковский 2006).

Для культивування молочнокислих бактерій родів *Lactobacillus* і *Lactococcus* використовували середовище MRS. Для оцінки рівня взаємного антагонізму молочнокислих бактерій використовували метод перпендикулярних штрихів у модифікації (Бородич, 2008).

Антагоністичні властивості досліджуваних мікробних інокулятів визначали методом перпендикулярних штрихів із тест-штамами (Егоров, 1994). Як тест-штами були відібрані збудники сальмонельозу й колібактеріозу *Salmonella typhimurium* і *Escherichia coli* 078 відповідно. Серед досліджуваних монокультур найбільшу антагоністичну активність щодо *S. typhimurium* проявив *L. acidophilus* B-2637 (зона затримки росту  $12 \pm 0,6$  мм), а відносно *E. coli* 078 – *L. plantarum* B-2629 (зона затримки росту  $11 \pm 0,7$  мм). Найбільш вдалимими комбінаціями виявилися *L. lactis* subsp. *lactis* B-2681T і *L. plantarum* B-2629, *L. lactis* subsp. *lactis* B-2681T і *L. acidophilus* B-2637, а також *L. plantarum* B-2629 і *L. acidophilus* B-2637.

Із монокультур молочнокислих бактерій були підібрані асоціації, що мали такий склад (% об): №1: *L. lactis* subsp. *lactis* B -2681T - 0,5, *L. plantarum* B-2629 - 0,5; №2: *L. lactis* subsp. *lactis* B -2681T - 0,5, *L. acidophilus* B-2637 - 0,5; №3: *L. plantarum* B-2629 - 0,5, *L. acidophilus* B-2637 - 0,5; №4: *L. lactis* subsp. *lactis* B -2681T - 0,33, *L. plantarum* B-2629 - 0,33, *L. acidophilus* B-2637 - 0,33

Усі досліджувані асоціації виявилися ефективними щодо збудників колібактеріозу і сальмонельозу. Показники антагоністичної активності щодо *E. coli* 078 в асоціаціях №2, 3 і 4 виявилися достовірно вищими від показників для монокультур, однак між собою статистично не відрізнялися. Високу антагоністичну активність щодо *S. typhimurium* проявляли асоціації №3 і №4 (зона затримки росту  $23 \pm 1,7$  мм).

Таким чином, потенціал змішаної культури не є результатом простого додавання властивостей окремих штамів, що входять в асоціацію. Тому в даному випадку використання асоціації бактерій у певній їх комбінації має більші переваги порівняно із застосуванням монокультур.

**Притула І., Таширєв О., Матвєєва Н.**

**МІКРОБНИЙ СИНТЕЗ ВОДНЮ ПРИ ЗБРОДЖУВАННІ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України*

*вул. Академіка Заболотного, 154, м. Київ МСП, Д 03680, Україна*

*e-mail: ivanprytula@ukr.net*

Молекулярний водень ( $H_2$ ) є перспективним і високоефективним енергоносієм та сировиною для різних галузей промисловості. Проблемою більшості сучасних промислових фізико-хімічних і хімічних методів його отримання є низька рентабельність і багатостадійність технологій. Альтернативними методами є мікробіологічні: прямий біофотоліз води (за допомогою мікроводоростей), непрямий біофотоліз води (ціанобактерії), фотоферментація і СО-шифт реакція (пурпурові несіркові бактерії), темнова ферментація (анаеробні хемогетеротрофні бактерії). Їхнє ґрунтове дослідження та впровадження у промисловість дасть змогу отримувати великі кількості дешевого  $H_2$  екологічно безпечним способом. Порівняно із біофотолізом чи фотоферментацією, темнова ферментація (збродження органічних субстратів) є простішою у застосуванні та водночас дає найвищий вихід молекулярного водню. Оскільки субстратом для мікробного синтезу  $H_2$  можуть бути природні полімерні відходи (наприклад, з виробництва цукру і соків, харчові та інші органічні залишки), цей метод також є перспективним для знешкодження таких відходів. З осаду метантенку та ґрунту ми виділили аеробно-анаеробну асоціацію спороутворювальних бактерій, які за 7 діб повністю зброджували (руйнували) картоплю (модельний субстрат) з утворенням  $H_2$ . Проте після кількох періодичних циклів збродження відбувалося зменшення кількості синтезованого водню ( $VcH_2$ ) та уповільнення деструкції картоплі.

Метою даної роботи була оптимізація процесу утворення водню за допомогою регуляторів мікробного метаболізму (РММ). Завданнями були: використати РММ для підвищення  $VcH_2$  та скорочення часу повної деструкції (Т) картоплі і порівняти вихід водню з теоретичним (2-4 моля  $H_2$ /моль глюкози) під час збродження крохмалю при використанні РММ. Головне призначення РММ полягає в компенсації негативних наслідків накопичення в культуральній рідині токсичних екзометаболітів, а також у корегуванні рН та редокс-потенціалу.

Зі зменшенням  $VcH_2$  (від 113 до 100 л  $H_2$ /кг абсолютно сухої маси (АСМ) картоплі), об'єм синтезованого газу за весь період бродіння дещо зріс – від 212 до 218 л/кг АСМ, а вміст  $H_2$  зменшився від 60% до 48%. Час деструкції збільшився від 7 до 15 і більше діб, хоча коефіцієнт деструкції  $K_d$  (відношення початкової маси субстрату до кінцевої) зріс ненабагато – від 17,4 до 20,4. Кількаразове внесення РММ (раз на добу 0,5-1,0 М р-н) сприяло зменшенню Т з 15 до 8 діб; зростанню вмісту  $H_2$  з 48% до 51%,  $K_d$  з 20,4 до 28 та  $VcH_2$  з 100 до 111 л  $H_2$ /кг АСМ. Підвищення параметрів збродження картоплі свідчить про ефективність застосування РММ для покращення синтезу молекулярного водню.

Для порівняння  $VcH_2$  від збродження різноманітних субстратів різними бактеріями часто використовують розмірність «моль  $H_2$ /моль спожитої глюкози». Тому для оцінки  $VcH_2$  отриманою асоціацією бактерій ми використали харчовий картопляний крохмаль, і як модельний субстрат відомого складу і як широко розповсюджений полімер органічних відходів. Необхідність внесення РММ визначали за зміною кольору індикатора бромтимолового синього на різних етапах збродження. Середній вміст водню становив 48%, Т – 13 діб,  $K_d$  – 25. Порівняно з теоретичним – 2-4 моля  $H_2$ /моль глюкози (249-498 л/кг), вихід водню був менший і становив 1,25 моль  $H_2$ /моль глюкози ( $VcH_2 = 117$  л/кг крохмалю).

Наша подальша робота з оптимізації умов культивування за допомогою РММ спрямована на пришвидшення деструкції субстрату і збільшення питомого виходу водню. Отримані теоретичні основи мікробного синтезу  $H_2$  на модельних субстратах слугуватимуть для подальшого розроблення дослідно-промислових і промислових мікробних технологій отримання молекулярного водню.

**Цугач О. В., Андрійчук О. М.****ТЕРМІНИ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ІЗОЛЯТІВ ФАГІВ  
ФІТОПАГЕННИХ БАКТЕРІЙ АРХІПЕЛАГУ АРГЕНТИНСЬКІ ОСТРОВИ***Київський національний університет імені Тараса Шевченка**вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна**e-mail: oliapugach@yandex.ua*

Віруси бактерій можуть бути знайдені практично всюди, де існують бактерії, але тільки невелика їх частка вивчена детально (Weinbauer M.G., 2004). Існування життєздатних бактерій показано навіть для льодовиків Антарктиди. Не зважаючи на географічну ізоляцію островів Антарктиди та специфічні кліматичні умови, більшість ізольованих мікроорганізмів представлено тими самими групами мікроорганізмів, що й на інших континентах, широко розповсюдженими в різних регіонах Землі з помірним кліматом (Таширєв А.Б. та ін., 2009). Вважається, що вони були занесені повітряними потоками задовго до появи в Антарктиді людини (Абызов С.С., 1992). Дослідженням бактеріофагів в Антарктиді до нинішнього часу не приділялося достатньої уваги. Тому виділення фагів із екосистем, що функціонують в умовах низьких температур, становить значний науковий інтерес.

Метою роботи було дослідження термінів збереження біологічної активності ізолятів фагів до фітопатогенних бактерій, дослідити властивості даних фагів, пов'язані з існуванням у певних кліматичних умовах, порівняти їх властивості з властивостями аналогічних українських ізолятів.

Як об'єкти дослідження були використані зразки моху та ґрунту, відібраних в районі Антарктичної станції "Академік Вернадський" на архіпелазі Аргентинські острови. Ізоляти фагів були виділені до *Erwinia carotovora* 216, *X. axonopodis* pv. *beticola* 7325, *Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens* 1025.

Для оцінки перспектив практичного застосування фагів були проведені дослідження стабільності вірусів при тривалому зберіганні. Встановлено, що навіть багаторічне збереження фагів при 4°C забезпечує збереження їх інфекційності, але при довготривалому збереженні відбувається з повною інактивацією. Швидкість втрати фагами літичної активності варіювала залежно від терміну зберігання. Температура зберігання ізолятів при 4°C сприяла більш тривалому термінові збереження літичної активності фагів певний проміжок часу. Визначення біологічної активності фагів проводилося на зразках, відібраних у 2004, 2005 та 2008 роках. У зразках, відібраних у 2004 р., біологічна активність не спостерігалась. У зразках, відібраних в 2005 р., була виявлена активність у 5 ізолятах фагів *Ps. syng.* pv. *atofaciens* 1025, фаги мали титр від  $10^{-4}$  до  $10^{-6}$ ; чотирьох зразках *X. ax.* pv. *beticola* 7325, титри склали від  $10^{-3}$  до  $10^{-4}$ ; та одному зразку фага *Erwinia carotovora* 216, титр фага –  $10^{-5}$ . Фаги утворювали негативні колонії розміром 0,5-2 мм. Дослідження спектра літичної активності на 16 штаммах фітопатогенних бактерій показало, що три ізоляти фагів є полівалентними. Інші фаги – моновалентні. Дослідження біологічної активності антарктичних фагів показало їх суттєві відмінності від аналогічних штамів, виділених з українських ізолятів.

У результаті проведеної роботи встановлено перспективність досліджень спрямованих на розробку біологічних засобів захисту рослин на основі використання фагів для їх практичного застосування.

**Рибицька А., Харіна А.****УПОВІЛЬНЕННЯ РОЗВИТКУ ФІТОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ  
ПІД ВПЛИВОМ ЕНДОФІТНИХ БАКТЕРІЙ***Кафедра вірусології, Навчально-науковий центр «Інститут біології»**Київський національний університет імені Тараса Шевченка**пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна**e-mail: decanat\_bf@univ.kiev.ua*

Дослідження біологічних об'єктів як можливих індукторів активації захисних механізмів рослин від фітопатогенів проводяться давно. До списку таких організмів слід віднести, зокрема, ендofітні



бактерії, які перебувають у симбіотичних взаємовідносинах з рослинним організмом і здатні індукувати розвиток захисної відповіді проти вірусної інфекції.

Метою даної роботи є дослідження впливу ендоефітних бактерій на ріст рослин і розвиток вірусної інфекції в модельній системі ВТМ – *Nicotiana tabacum*.

Об'єктами дослідження були вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) штаму U1, рослини тютюну (*Nicotiana tabacum*) сорту Trapesund та ендоефітні бактерії *Methilobacterium radiotolerans* ІМБГ 290, препарат ЕМ, 65 *Pseudomonas* sp. ІМБГ 294, *Lactobacterium plantarum*, *Pantoea agglomerans*, надані відділом мікробної екології Інституту молекулярної біології та генетики НАНУ. Під час постановки експерименту на першому етапі проводилася стерилізація насіння та його обробка досліджуваними бактеріями. За 3 дні до інокуляції рослин здійснювалася повторна обробка ендоефітами. Моніторинг росту рослин, симптомів нестачі мінерального живлення та симптомів вірусної інфекції проводився протягом 50 днів після посадки насіння. Візуальна діагностика показала, що ендоефітні бактерії *Methilobacterium radiotolerans* ІМБГ 290, препарат ЕМ, 65 *Pseudomonas* sp. ІМБГ 294, *Lactobacterium plantarum* не впливали на ріст рослин і розвиток вірусної інфекції. У той же час рослини, оброблені *Pantoea agglomerans*, мали кращі показники росту і проявляли менш суворі симптоми вірусної інфекції.

За допомогою непрямого імуноферментного аналізу (ІФА) було показано зменшення кількості вірусних антигенів у рослинах, оброблених *Pantoea agglomerans* на  $41 \pm 7,3\%$  порівняно з вірусним контролем. Таким чином, дані ІФА підтверджують результати візуальної діагностики.

Отже, ендоефітна бактерія *Pantoea agglomerans* проявила захисний ефект проти фітовірусної інфекції в модельній системі вірус тютюнової мозаїки – тютюн і може розглядатися як потенційна складова для створення антифітовірусних препаратів.

### **Савчук О. М., Пирог Т. П.**

#### **ОТРИМАННЯ МІКРОБНОГО ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ *ACINETOBACTER* SP. B-7005 НА СУМІШІ ФУМАРАТУ І МЕЛЯСИ**

*Кафедра біотехнології мікробного синтезу, Національний університет харчових технологій  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: SavchukOM@meta.ua*

Упродовж останніх років мікробні екзополісахариди (ЕПС) набули широкого інтересу серед дослідників. Нові підходи до їх вивчення базуються на заміні традиційних рослинних продуцентів на їхні бактеріальні аналоги. Різноманітні екзополісахариди, синтезовані мікроорганізмами, характеризуються новими та унікальними фізичними властивостями - на відміну від хімічних полімерів (поліакриламід), вони стійкі до температурної, окисної, механічної деструкції, але піддаються біологічній деградації і є нетоксичними, що робить їх застосування екологічно безпечним. Мікробні ЕПС мають ряд переваг перед полісахаридами рослинного походження. Так, ці біополімери можна одержувати в потрібних об'ємах незалежно від пори року і кліматичних умов. Економічна доцільність використання мікробних ЕПС обумовлена їх позаклітинною природою й високою продуктивністю синтезу на дешевих субстратах, наприклад, мелясі.

Розчини мікробного екзополісахариду етаполану, синтезованого *Acinetobacter* sp. B-7005, характеризуються емульгуючими властивостями, здатністю до підвищення в'язкості за низьких швидкостей зсуву, утворення гелеподібних систем за взаємодії з іонами металів, адсорбування та виведення з організму іонів важких металів. Завдяки таким унікальним властивостям етаполан може використовуватись у нафтовидобуванні, побутовій хімії та косметології, харчовій промисловості, сільському господарстві.

Раніше вже було продемонстровано технологію одержання етаполану при вирощуванні *Acinetobacter* sp. B-7005 на суміші енергетично нерівноцінних субстратів – фумарату і глюкози. Для здешевлення технології було вирішено замінити досить дорогий субстрат глюкозу на відхід цукрового виробництва – мелясу, що містить близько 25% вуглеводів, у тому числі і глюкозу.

У ході експериментів було показано, що використання меляси як допоміжного субстрату забезпечує отримання такої ж кількості ЕПС, як і при використанні глюкози, – близько 9 г/л. Це свідчить про те, що технологічний прийом із застосування менш вартісного субстрату виправдав себе і дозволив значно знизити витрати на виробництво продукту. Було визначено, що виключення джерела мінерального азоту зі середовища культивування приводить до зменшення рівня біомаси вдвічі, що підвищує кількість отриманого етаполану на 5-18%, а ЕПС-синтезувальну здатність – на 39-184%. Упродовж експериментів було перевірено вплив різних субстратів як джерел вуглецю та енергії у середовищі для отримання посівного матеріалу на синтез етаполану. Найвищі показники було отримано при використанні глюкози, не було підтверджено можливості її заміни на більш дешевий субстрат – при використанні фумарату, меляси та їхньої суміші було відмічено зниження кількості етаполану на 34, 36 і 34% відповідно. Тільки при використанні інокуляту, вирощеного на середовищі з мінеральним азотом та мелясою у ролі джерела вуглецю, було зафіксовано найменше зниження показника синтезу – на 14%. Це може бути пов'язано з тим, що мінеральний азот прискорює синтез біомаси, тому використання меляси як не зовсім вдалого субстрату для швидкого росту клітин було компенсовано даним ефектом. Загалом такий варіант підготовки посівного матеріалу також може бути використаний у технології виробництва, оскільки забезпечує досить високу кількість ЕПС – близько 8 г/л.

Отже, для вдосконалення технології одержання етаполану можна у суміші ростових субстратів для виробничого середовища замінити глюкозу на мелясу, яка є досить дешевою, а для підготовки посівного матеріалу застосувати глюкозу як єдине джерело вуглецю та енергії у середовищі.

### Щетиніна Г. С.

#### МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ВІРУСУ ШАРКИ СЛИВИ

*Кафедра вірусології, ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
пр. Глушкова, 2, м. Київ, Україна  
e-mail: ns\_mike@ukr.net*

Збудник «шарки» – вірус віспи сливи (ВШС), є небезпечним захворюванням кісточкових культур і входить у перелік карантинних об'єктів у всьому світі. За щорічними підрахунками, втрати врожаю становлять від 70 до 90 відсотків. Плоди уражених дерев непридатні для переробки. Вірус передається попелицями, механічним шляхом, а також через посадковий та прищеплювальний матеріал. Карантинні заходи потребують викорчовування насаджень, в яких діагностовано вірус шарки сливи. Основними методами ідентифікації є метод рослин-індикаторів, імуноферментний аналіз (ELISA) та ЗТ-ПЛР.

Метод рослин-індикаторів базується на виявленні вірусу за рахунок прояву чіткої реакції чутливих рослин. Рослини-індикатори (*Nicotiana bentamiana*, *Poa annum*) уражають вірусемісним матеріалом, згодом спостерігаються прояви симптомів на листових пластинках (скручування листових пластинок у *Nicotiana bentamiana*, мозаїка у *Poa annum*). Це є підтвердженням реплікації вірусу в клітинах рослини індикатора. Цей метод займає багато часу і не завжди є достовірним за рахунок низької стабільності вірусу в соці. Більш достовірним є метод імуноферментного аналізу (ELISA). Суть методу ІФА в модифікації сандвіч полягає у поетапному нанесенні на плашку специфічних антитіл, антигену, потім знову специфічних антитіл, кон'югованих із ферментом та субстратної суміші для проявки реакції. Обчислюють результати за допомогою спектрофотометра. Найчутливішим методом є полімеразна ланцюгова реакція (ЗТ-ПЛР). Однак він є найдорожчим і потребує попереднього виділення тотальної РНК з рослин. Застосування модифікації полімеразної ланцюгової реакції з імунним захватом (IC RT-PCR) дасть змогу зменшити собівартість аналізу за рахунок відсутності етапу виділення тотальної РНК. Суть методу полягає у використанні антитіл для фіксації антигену з подальшим застосуванням вірусу для постановки ПЛР. Метою данної роботи була модифікація методу полімеразної ланцюгової реакції з імунним захватом для діагностики ВШС.

У роботі використовували зразки листя слив з типовими симптомами вірусної інфекції (некротична плямистість, пожовтіння). Зразки попередньо перевірялися на наявність вірусу методом імуноферментного аналізу в модифікації сендвіч з використанням тест-систем фірми Loewe, Germany. При постановці IC RT-PCR використовували поліклональні антитіла до ВІСС фірми Biogeba, USA та загальноприйняту пару праймерів (Wetzel, 1990), які ампліфікують продукт молекулярною масою 243 по. На першому етапі проводили адсорбцію антитіл на поверхню пробірок фірми «Еппендорф». У подальшому нашаровували вірусемісний матеріал. Після відмивання додавали стерильну очищену воду. Після прогрівання зразки використовували для постановки ЗТ-ПЛР. У результаті методом електрофорезу в 1,5% агарозному гелі виявлено продукт ампліфіції відповідної молекулярної маси.

Висловлюємо подяку науковим керівникам роботи – проф., д.б.н. В.П. Поліщуку, к.б.н., доц. І. Г. Будзанівській.

### **Скочко А. Б., Конон А. Д., Пирог Т. П.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИАДГЕЗИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* K-4**

*Кафедра біотехнології мікробного синтезу, Національний університет харчових технологій  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: Nastionush@mail.ru*

Адгезія підвищує виживання виду за рахунок збереження енергії мікробної клітини. Крім того, прикріплені мікроорганізми є значно стійкішими до відмирання, виїдання, вимивання та дії токсичних речовин. Як правило, бактерії змінюють спосіб існування на прикріпленій за недостатнього рівня поживних речовин у середовищі. Характеристики процесу адгезії залежать від гідрофільно-гідрофобних властивостей клітинної поверхні і матеріалу-мішені; відповідно до правила «подібне розчиняється в подібному» бактерії з гідрофобними властивостями чудово прикріплюються до гідрофобних поверхонь, а види з гідрофільними характеристиками – до гідрофільних матеріалів. Інтерес дослідників викликають мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР), яким притаманна властивість інгібувати бактеріальну і фунгальну колонізацію різних матеріалів, наприклад, медичних інструментів і обладнання харчової галузі, а також руйнувати уже наявну біоплівку.

Мета даної роботи – дослідження антиадгезивних властивостей препаратів ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* K-4. Як препарати ПАР використовували стерильний супернатант культуральної рідини з концентрацією ПАР 0,28 мг/мл.

Першим етапом було дослідження антиадгезивних властивостей ПАР *A. calcoaceticus* K-4 щодо добових культур *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Escherichia coli* ІЕМ-1. Препарати ПАР спричиняли зниження кількості прикріплених клітин *B. subtilis* БТ-2 на лінолеумі та кафелі на 82,4% і 41,3% відповідно. Водночас спостерігалось збільшення кількості прикріплених клітин *B. subtilis* БТ-2 на пластикову поверхню і не відбувалося адгезії на нержавіючу сталь. Для штаму *E. coli* ІЕМ-1 характерним було зниження адгезії на сталеві пластинки на 41%, на пластик – на 15% і на кафель – на 14% за присутності препаратів ПАР, проте спостерігалось збільшення кількості прикріплених клітин *E. coli* ІЕМ-1 на лінолеум.

Раніше нами було встановлено, що прояв антимікробної дії ПАР *A. calcoaceticus* K-4 залежав від фізіологічного стану тест-штаму *B. subtilis* БТ-2. Тому ми провели дослідження антиадгезивної активності ПАР *A. calcoaceticus* K-4 щодо вегетативних клітин і спор *B. subtilis* БТ-2. Обробка препаратом ПАР досліджуваних матеріалів призводила до зниження кількості прикріплених клітин *B. subtilis* БТ-2 різного фізіологічного стану, на лінолеумі та кафелі, причому показники прикріплення знижувалися зі збільшенням віку клітин, тобто 72-годинна культура адгезується гірше – 14,2% на лінолеумі, 54,2% на кафелі. Так само, як і для добової культури, для спор характерним було збільшення адгезії клітин на пластикову поверхню і не відбувалося прикріплення на пластинки сталі. Таке явище для клітин різного

«віку» може пояснюватися реакціями клітин на стресові дії, а також особливостями взаємодії матеріалів із поверхневими структурами клітин.

Ми припускаємо також, що адгезія культури залежить від природи її поверхневих структур і властивостей матеріалу-мішені, фізико-хімічних властивостей ПАР, які входять до складу препаратів. Вирішенню цих питань будуть присвячені наші подальші дослідження.

### **Горбач О. І., Сидор Р. І., Скачкова О. В., Храновська Н. М.**

#### **ВПЛИВ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН, НАВАНТАЖЕНИХ РІЗНИМИ ПУХЛИННИМИ АНТИГЕНАМИ НА ФЕНОТИПОВІ ВЛАСТИВОСТІ СПЛЕНОЦИТІВ МИШЕЙ ЛІНІЇ C57BL/6.**

*Національний інститут раку, вул. Ломоносова, 33/43, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: creatogen@gmail.com*

Застосування вакцин на основі дендритних клітин (ДК) є одним з найбільш перспективних напрямів сучасної імунотерапії онкологічних хворих (Барышников А. Ю., 2003, Ярилин А.А., 2004). Відомо, що дендритні клітини належать до основних антигенпрезентуючих клітин організму. Ефективне навантаження дендритних клітин пухлинним антигеном є головним фактором, що забезпечує активну генерацію антигенспецифічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, і тим самим індукуючи формування максимальної протипухлинної імунної відповіді після проведеної ДК-вакцинотерапії (F. Schuetz, 2008, T. Schwaab, 2009). Метою дослідження було визначити найбільш імуногенні типи пухлинних антигенів, що використовуються для навантаження ДК, з метою підвищення протипухлинної ефективності ДК-вакцин в експерименті.

Для експериментальних досліджень як джерело ДК нами були використані спленоцити сингенних інтактних мишей лінії C57Bl/6. Такі ДК є мієлоїдними за походженням і майже не відрізняються за своїми фенотиповими та функціональними властивостями від ДК, генерованих з моноцитів периферичної крові людини. ДК отримували зі селезінки інтактних мишей з дотриманням правил асептики за такою методикою (Vremes D. et al., 1992) з деякими модифікаціями. Як матеріал для антигенів використовували модельні клітинні лінії карциноми Льюїс, що чутливі (LLC) та резистентні (LLC/R9) до дії препаратів платини. Для навантаження ДК використовували такі пухлинні антигени: лізат клітин LLC, лізат клітин LLC/R9, ліофілізовані пухлинні клітини (ЛФПК) LLC, ЛФПК LLC/R9, механомодифіковані (м/м) ЛФПК LLC, м/м ЛФПК LLC/R9. Реакцію ЗКЛ проводили в аллогенній системі та визначали фенотипові властивості лімфоцитів за такими характеристиками: рівень експресії молекул CD3, CD4, CD8, CD19, CD11b, CD44, CD69, CD25. Оцінку рівня експресії молекул проводили за допомогою методу проточної цитофлюориметрії.

Отримані дані свідчать, що ДК, навантажені будь-яким типом пухлинних антигенів, отриманих з пухлинних клітин лінії LLC, викликають значну активацію лімфоцитів. При використанні даних пухлинних антигенів значно збільшується кількість CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, лімфоцитів.

При навантаженні ДК м/м ЛФПК LLC спостерігалось значне збільшення кількості CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів до 44% проти 28% в контролі, що може свідчити про активацію клітинної ланки імунітету, а саме ЦТЛ. Також відзначено зростання кількості CD16<sup>+</sup>-лімфоцитів до 16% проти 9% в контролі. При використанні даного пухлинного антигену спостерігалось збільшення кількості активованих лімфоцитів (CD11b<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>-клітин), що свідчить про формування активної відповіді на даний пухлинний антиген.

При дослідженні впливу ДК, навантажених пухлинним антигеном, виготовлених з ПК лінії LLC/R9, встановлено, що лізат ПК та ЛФПК LLC/R9 викликають незначне підвищення рівня експресії молекул адгезії, а саме активацію CD44<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD138-молекул та збільшення кількості CD16<sup>+</sup>-лімфоцитів. Значна активація лімфоцитів спостерігалась при використанні ДК, навантажених м/м

ЛФПК LLC/R9, при цьому відзначено збільшення кількості CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів в 1,6 разу порівняно з контролем та збільшення рівня експресії молекул CD25 до 28% проти 18% у контролі.

Отримані дані свідчать, що в ЗКЛ ДК, навантажені м/м ЛФПК LLC або м/м LLC/R9, сприяють значній активації лімфоцитів, порівняно з ДК, навантаженими лізатом ПК.

### **Ситнік Ю. А., Стародуб М. Ф.**

#### **МЕТОДИ ЕКСПРЕСНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: antulic@rambler.ru*

Для забезпечення населення високоякісними продуктами і зниження економічного збитку, пов'язаного із захворюваністю й обмеженнями реалізації племінного молодняка, молока і м'яса, потрібна профілактика і ліквідація лейкозу великої рогатої худоби. Лейкоз – хронічне інфекційне захворювання пухлинної природи, що викликається ретровірусом. Джерелом захворювання є інфіковані тварини на всіх стадіях захворювання. Тварини заражаються при проникненні в організм лімфоцитів, що містять вірус, який передається через кров, молоко та інші біологічні речовини.

Нині існує ряд способів серологічного аналізу для визначення антигенів і антитіл, зокрема з метою діагностики інфекційних хвороб. Один з них базується на методі РІД (реакція імунодифузії), чутливість якого коливається в межах 5-50 мкг/мл. Час проведення аналізу не менше 72 год. Найпоширенішою нині є діагностика цього захворювання за допомогою твердофазного методу (ELISA) імунохімії, чутливість якого 1-10 нг/мл. Але його здійснення потребує дорогих реактивів, висококваліфікованого персоналу, а також, принаймні, 6 годин для виконання аналізу в умовах стаціонарної лабораторії, що різко обмежує можливість його широкого використання. Проте така перспектива відкривається зі створенням спеціальних інструментальних методів на основі біосенсорної технології. Останніми роками в галузі біосенсорики все більша увага приділяється наноструктурованому кремнію як широко доступному і дешевому матеріалу. Використання наноструктурованого кремнію для створення біосенсорів дає можливість розробляти прості пристрої для виконання експресних аналізів без додаткового використання будь-яких мічених сполук.

У цій роботі запропонована методика діагностики лейкозу у великої рогатої худоби шляхом визначення в реальному часі утворення імунних комплексів (білок ретровірусу-антитіло) за допомогою імунного біосенсора на основі наноструктурованого кремнію, досліджуючи зміни його фоточутливості.

При утворенні імунного комплексу спостерігається слабка зміна струму в темновому режимі, а при освітленні фотострум зростає в 2-5 разів залежно від типу антитіл. Фактично основні процеси в запропонованому сенсорі пов'язані з процесом фотозбудження і генерації електронів з подальшою електронною взаємодією на активній поверхні наноструктурованого кремнію. Використовуючи спектрофотометр, у роботі також проведено дослідження оптичних характеристик імунних комплексів. При цьому визначалася спектральна залежність коефіцієнта оптичного пропускання. При утворенні імунного комплексу АГ+АТ порівняно з АГ і АТ окремо, коефіцієнт оптичного пропускання майже не змінюється. Останнє не дає можливості використання цього методу для аналізу утворення імунного комплексу. Проте при зменшенні концентрації АТ коефіцієнт оптичного пропускання різко зменшується в діапазоні довжин хвиль 450-850 нм, що особливо помітно в діапазоні 550-650 нм.

Оптоелектронний сенсор складається зі світловипромінювача, оптичного середовища і фотоприймача, узгоджених за спектральною чутливістю, наприклад, у ділянці 550–650 нм, для якої характерна найбільша зміна оптичної прозорості імунного комплексу. Між елементами оптоелектронного сенсора розміщується оптичне середовище з освіченим імунним комплексом, що допомагає встановити пряму залежність вихідного електричного сигналу фотоприймача з концентрацією молекул лейкозу. Пропоновані способи забезпечують можливість швидкого контролю, як для безпосереднього виробника молока, так і для підприємств переробної промисловості, а також дають змогу проводити діагностику в польових умовах з використанням мінімальної кількості витратних матеріалів.

**Тавровська І. А., Кузьменко О. П., Діденко Г. В., Шпак Є. Г., Потєбня Г. П.**  
ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ ВАКЦИН  
НА ОСНОВІ ПУХЛИННИХ КЛІТИН, ЗБАГАЧЕНИХ БІЛКАМИ ТЕПЛООВОГО ШОКУ,  
ТА МЕТАБОЛІТІВ *BACILLUS SUBTILIS* В 7025

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького о НАН України,  
Київ, Україна*

*e-mail: oncom@onconet.kiev.ua*

У даний час існує велика кількість протипухлинних вакцин, розроблених з використанням різних підходів. Проте вони володіють рядом недоліків (вузька специфічність, слабка імуногенність, токсичність). Тому конструювання нових протипухлинних вакцин, позбавлених даних недоліків, є досить актуальним напрямом біотерапії пухлин. На сьогоднішній день певний інтерес становлять вакцини, сконструйовані з використанням білків теплового шоку, оскільки дані білки здатні зв'язуватися з пептидами пухлинної клітини, певним чином модифікувати їх, за рахунок чого підвищується їх імуногенність. Дослідити протипухлинну активність вакцин, які сконструйовані на основі пухлинних клітин, збагачених білками теплового шоку, та метаболітів *Bacillus subtilis* В 7025. Вакцини виготовлені з клітин карциноми Ерліха, збагачених білками теплового шоку та цитотоксичних метаболітів *Bacillus subtilis* В 7025 (з молекулярною масою 18 кДа, 70 кДа і лектину).

Пухлини розміром до 1 см в діаметрі нагрівали до температури 43°C з експозицією 1 год. на експериментальному генераторі гіпертермічної установки. Протипухлинні вакцини виготовляли з пухлинних клітин карциноми Ерліха (без термічної обробки та після гіпертермії) і цитотоксичних метаболітів *Bacillus subtilis* В 7025 (з молекулярною масою 18, 70 кДа і лектину), за стандартною методикою, розробленою в ІЕПОР ім. Р.Є.Кавецького (Потєбня Г.П. Та ін. патент №73671 UA). На другу добу після перещеплення пухлинних клітин дослідним тваринам (Balb/C) вводили різні варіанти вакцин. Вакцини вводили чотирикратно з інтервалом у три доби в терапевтичному режимі підшкірно по 0,2 мл з концентрацією по білку 0,3 мг/мл. Протипухлинний ефект вакцин оцінювали за динамікою росту пухлини та показниками виживаності.

В експерименті *in vivo*, встановлено, що найкращі показники гальмування пухлинного росту на термінальних етапах розвитку пухлин (24 доба після перещеплення) спостерігали при використанні вакцин, виготовленої на основі пухлинних клітин, підданих гіпертермії, та компонента 18 кДа ( $9,35 \pm 0,86 \text{ cm}^3$  проти  $12,36 \pm 1,82 \text{ cm}^3$  у контролі). У всіх інших варіантах використаних вакцин розміри пухлин мало відрізнялися від показників контролю. При дослідженні показників виживаності було встановлено, що на 24 добу у групі тварин, які отримували вакцину на основі пухлинних клітин підданих гіпертермії та компоненту 70 кДа, вижило 89% тварин проти 56% – у контролі. При всіх інших варіантах використаних вакцин показники виживаності мало відрізнялися від показників контролю.

Ефективність вакцин, виготовлених на основі пухлинних клітин, підданих гіпертермії, перевищує аналогічні при використанні традиційної технології, що може слугувати експериментальним обґрунтуванням для клінічного застосування.

**<sup>1,2</sup>Tskhvediani A., <sup>1</sup>Kokashvili T., <sup>1</sup>Janelidze N., <sup>1</sup>Lashkhi N., <sup>1</sup>Eliashvili T.,  
<sup>1</sup>Tsertsvadze G., <sup>1</sup>Tediashvili M.**

V. PARAHAEMOLYTICUS BACTERIOPHAGES – CHARACTERISATION AND BIODIVERSITY

<sup>1</sup>G. Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi, Georgia

<sup>2</sup>Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

*e-mail: anatskhvediani@yahoo.com*

The prevalence of infections caused by *V.parahaemolyticus*, appears to have increased in recent years. These infections are associated with consumption of raw or undercooked seafood or contaminated water. *V. parahaemolyticus* may be also pathogenic for marine organisms and affect the aquaculture productivity.

This study aimed to isolate and characterize *V. parahaemolyticus* – specific phages for studying the mechanisms of pathogenicity and also as alternative approach for prevention and treatment of infections caused by these pathogens.

Up to 70 primary phage isolates, specific to *V. parahaemolyticus*, were collected from four marine and three freshwater sites in Georgia with the average isolation rate of 6,5%. *V. parahaemolyticus*-specific phages were most prevalent in the Black Sea sites although a number of phages were isolated also in fresh- and brackish water lakes. The peak of *V. parahameolyticus* phage isolation from marine sites was observed in the autumn months and was following the peak of the isolation of the host bacteria.

Thirty seven *V. parahaemolyticus*- specific phage isolates were selected for further investigations based on antibacterial activity and host specificity. Phages were divided into five groups by serological relatedness that in was in alignment with grouping by the host strain and by phage DNA restriction profiles. The one step growth experiments also showed certain differences between phages of different groups. TEM investigations revealed prevalence of phages with virion morphology consistent with Myoviridae and Siphoviridae families.

### **Успенський І. Г.**

#### **АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ДЕЯКИХ ШТАМІВ БІФІДОБАКТЕРІЙ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*  
*Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України*  
*вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01601, Україна*  
*e-mail: igus@online.ua*

Біфідобактерії – одна з найпоширеніших груп мікроорганізмів, що живуть у товстому кишечнику протягом усього життя людини. Вони є найбільш важливим компонентом нормофлори шлунково-кишкового тракту людини і становлять близько 40-50% усієї мікрофлори кишечника. Біфідобактерії відіграють важливу роль у засвоєнні нутрієнтів, виробляють широкий спектр біологічно активних речовин, позитивно впливають на процеси травлення, пригнічують ріст умовно-патогенних мікроорганізмів і розвиток пухлин (Янковський Д.С., 2008). Біфідобактерії успішно використовуються у складі пробіотиків та продуктів спеціального призначення. Оскільки останнім часом їх застосування в харчовій та фармацевтичній промисловості зростає, то поглиблене вивчення їх біологічної активності, морфологічних і біохімічних особливостей має велике значення для подальшого використання цієї групи мікроорганізмів. Таким чином, вивчення біфідобактерій має важливе значення не тільки з точки зору фундаментальної науки, а й для практичного застосування (Полтавська О.А., 2008).

Корисна дія цих бактерій відома досить давно. У 1905 р. І. І. Мечниковим і Н. Tissier для лікування диспепсичних розладів у дітей був успішно застосований препарат з живих біфідобактерій разом з лактобацилами. В подальші роки різними авторами було проведено багато досліджень, в результаті яких з'ясувалося, що біфідобактерії регулюють багато функцій макроорганізму. Зокрема, на рівні з іншими представниками нормальної мікрофлори кишечника біфідобактерії беруть активну участь у процесах травлення та всмоктування. Антагоністичні властивості біфідобактерій проявляються у їхній здатності конкурувати за сайти адгезії з умовно-патогенними мікроорганізмами, а також продукувати органічні кислоти й біологічно активні речовини, такі як бактеріоцини і бактеріоциноподібні речовини (Yildirim Z., Johnson M., 1998).

З метою здійснення аналізу деяких штамів біфідобактерій, отриманих від різних вікових груп людей, на антагоністичні властивості до умовно-патогенних мікроорганізмів, були досліджені 36 штамів біфідобактерій, ізольованих з шлунково-кишкового тракту людини, а саме: від здорових дітей (віком 2-3 роки) - 19 штамів, від дітей (віком 2-3 роки), хворих на пневмонію - 4 штами, від літніх людей (віком 63-83 роки) - 13 штамів.

В результаті антибактеріальну активність проявили усі штами, хоча найнижчою вона була у штамів, ізольованих від хворих дітей. Досить низьку інгібуючу дію на умовно-патогенні мікроорганіз-

ми можна пояснити тим, що штами біфідобактерій тривалий час перебували в ліофілізованому стані без контакту з патогенними мікроорганізмами і не встигли відновити свій антибактеріальний потенціал. Проти умовно-патогенних мікроорганізмів, таких як *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* і *Bacillus cereus*, досліджувані штами біфідобактерій взагалі не проявили антагоністичної дії. Нейтралізовані супернатанти біфідобактерій не проявили антагоністичної дії, з чого можна припустити, що у досліджуваних штамів відсутні бактеріоцини і бактеріоциноподібні речовини.

Отже, біфідобактерії, виділені з організмів дітей і літніх людей, є антагоністами умовно патогенної мікрофлори; антагоністичні властивості досліджуваних штамів біфідобактерій зумовлені продукуванням органічних кислот; антагоністична активність біфідобактерій залежить від штаму і джерела їх виділення.

### **Vashutina K., Naumenko O.**

#### CONNECTION BETWEEN PHAGE RESISTANCE AND CAPSULE PRODUCTION IN *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* STRAINS

*Technological Institute of Milk and Meat,  
National Academy of Agrarian Science of Ukraine Department of Biotechnology  
4°, Mariny Raskovoi St., Kyiv, 02660, Ukraine  
e-mail: KVashutina@gmail.com*

Phage attack has always been a major problem in the industrial fermentation, especially in the dairy industry. Contamination by virulent phages may result in the lysis of the starter in fermented milk products, causing slow fermentation or even complete starter failure, and thus the damage of the product. *Streptococcus thermophilus* is mainly used as a starter in the yogurt and cheese industry, but also in some milk beverages. There are some reports about several phage resistance strains of *S. thermophilus* which produced capsular polysaccharides (CPS), that are tightly associated with the cell surface (Broadbent et al., 2003). However, mechanism of phage absorption and lytic influence on thermophilic lactic streptococcus is still unknown. The aim of our study was to define connection between phage resistance and capsule production in *S. thermophilus* strains.

In order to understand importance of this connection we investigated microbiological and biochemical properties of different *S. thermophilus* strains from the industry culture collection of the Technological Institute of Milk and Meat. We have also tested sensitivity of strains to virulent bacteriophages which were got from the fermentation failures in the Ukrainian dairy factories. It was shown that 77.8% of the total number of the researched strains had phage resistance. Based on our morphological analyses of the phage resistant strains of *S. thermophilus*, they have homogeneous cells population, such as single diplococci and chain diplococci, which produced capsule exopolysaccharides.

Using microphotography, we not only showed the view of the capsules producing these strains but also calculated the size of the capsules. We think that the capsule size has an important role in phage resistance. In our research work we defined that the capsules with the size from 1.15 to 1.70  $\mu\text{m}$  do not protect bacteria against phage affection. In contrast, *S. thermophilus* strains with the capsule size from 2.66 to 11.12  $\mu\text{m}$  may effectively resist to phage infection. To our knowledge, relationship between CPS-producing and phage resistance was possible.

Our results are in agreement with other researches. Also, the ability of lactic acid bacteria to produce capsule exopolysaccharides has great influence on dairy industry because of increasing viscosity, elasticity of the bunch, resistance to syneresis during mechanic influence. Furthermore, this process is a natural protective mechanism against phage infection (Deveau H., 2002, Hassan A.N. et al., 2003).

The practical significance of our observations is the selection of phage resistant *S. thermophilus* strains that produced capsular polysaccharides, which are very perspective for commercial application in dairy foods. After all, we patented *S. thermophilus* IMB B -7247 strain (Кигель Н.Ф., Науменко О.В., 2010).



**Восійков А. І., Діденко Г. В., Шпак Е. Г., Тавровська І. А., Кузьменко О. П.**  
ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ ВАКЦИНИ НА ОСНОВІ ЕМБРІОНАЛЬНИХ  
КУРЯЧИХ АНТИГЕНІВ І ФУЛЕРЕНУ C60

*Відділ конструювання засобів біотерапії раку  
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна  
e-mail: scribo@ukr.net*

Метою роботи було дослідити протипухлинну активність ембріональних антигенів курки при комплексному застосуванні з наноконструкцією «фулерен C60–аеросил» на тваринах з модельною пухлинною карцинома легені Льюїс. Досліди проводили на мишах-самцях лінії C57Bl, віком 2 міс, масою 18–20 г. Тваринам підшкірно на спині перещеплювали клітини карциноми легені Льюїс (3LL) у дозі 106 кл/тварину. На 29 добу після перещеплення частині тварин проводили хірургічне видалення первинної пухлини. На 1, 3 і 7-му добу після видалення пухлини тваринам вводили досліджувані речовини. В дослідженнях використовували курячі ембріони раннього періоду гестації (eAg) (7-ма доба ембріонального розвитку). Ембріональні антигени вводили в концентрації 0,3 мг/мл по 0,3 мл на мишу, C60 вводили в концентрації 0,2 мг/курс.

Сформовано такі групи: 1 гр. – контроль пухлинного росту (КПР); 2 гр. – тварини, яким видалено пухлину хірургічним шляхом (X); 3 гр. – тварини з хірургічно видаленою пухлиною, яких імунізували тільки ембріональними антигенами курки (X+eAg) або в комбінації з C60-аеросилом (X+eAg+C60) – 4 гр.; 5 гр. – тварини, яких імунізували ембріональними антигенами в комбінації з C60-аеросилом (eAg+C60) без операції, 6 групу – тварини, які отримували C60; 7 гр. – миші, які отримували тільки (eAg). При комплексному введенні попередньо проводили сорбцію ембріональних антигенів на наноконструкції аеросил-фулерен C60. Сорбцію проводили протягом 60 хв при активному перемішуванні. Співвідношення eAg/C60 становили 0,3 мг білка/0,2 мг комплексу. Імунологічне дослідження проводили на 38-му добу після перещеплення пухлинних клітин карциноми легені Льюїс.

Цитотоксичну активність клітин-ефекторів визначали по відношенню до пухлинних клітин, виділених з первинного пухлинного вузла, та/або з метастазу в легені в МТТ-тесті. На 38 добу після перещеплення вага первинної пухлини в групі 1 (КПР) становила 1,39±0,33 гр., в групі 5 (eAg+C60) – 1,44±0,24 гр., в групі 6 (C60) – 1,01±0,23 гр. Кількість метастазів в групі 1 КПР становила 37,5±7,4, в групі 2 (X) 22,5±7,5, в групі 4 (X+eAg+C60) – 42,7±11,7, в групі 5 (eAg+C60) 39,0±8,01, в групі 6 (C60) 23,6±5,4. Медіана об'єму метастазів в групі 1 (КПР) становить 219,5 мм<sup>3</sup>, в групі 2 (X) – 44,9 мм<sup>3</sup>, в групі 4 (X+eAg+C60) – 184 мм<sup>3</sup>, в групі 5 (eAg+C60) – 160,2 мм<sup>3</sup>, в групі 6 – (C60) 6,3 мм<sup>3</sup>. У реакціях цитотоксичної й антитілозалежної активності лімфоцитів, кооперативного лізису і кооперативного лізису з додаванням аутологічної сироватки доведено, що у мишей дослідних груп 4 (X+eAg+C60), 5 (eAg+C60) і 6 (C60) цитотоксичний індекс вірогідно вищий за такий у групі 1 (КПР).

Введення тваринам з пухлиною eAg або C60 в монорежимі призводило до найбільш вираженого гальмування метастазування. У групах (X+eAg+C60), (eAg+C60), (C60) і (eAg) відзначено вірогідне підвищення цитотоксичної активності лімфоцитів в антитілозалежних реакціях до клітин первинного пухлинного вузла і вірогідне зниження цитотоксичного індексу по відношенню до клітин, виділених з метастатичного вузла.

**<sup>1</sup>Виджак О., <sup>1</sup>Яковенко Л., <sup>1</sup>Капустян Л., <sup>2</sup>Макаренко М., <sup>2</sup>Говсєєв Д., <sup>1</sup>Сидорик Л.**  
ВІЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ДО GROEL *E. COLI* (ГОМОЛОГ HSP60 ЛЮДИНИ)  
У СІРОВАТЦІ ПОРОДІЛЬ

*<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, м.Київ, 03680, Україна  
e-mail: olgavydzhak@mail.ru*

*<sup>2</sup>Пологовий будинок №5, просп. Червонозоряний, 2, м.Київ, Україна*

Складність і неоднозначність відповіді щодо прогнозу виникнення репродуктивних проблем унаслідок хронічних запальних захворювань органів малого тазу потребує розробки та залучення до-

поміжних діагностичних підходів для скринінгу та своєчасної ідентифікації жінок із високим ступенем ризику розвитку порушень репродуктивної функції. Нами було виявлено взаємозв'язок між підвищеними рівнями антитіл до GroEL *E.coli* (гомолог Hsp60 людини та Hsp60 *Chlamydia trachomatis*) і розвитком у жінок порушень репродуктивної функції (трубне безпліддя, невиношування вагітності) внаслідок хронічного запального процесу (Яковенко і співавт., 2011). Метою даної роботи було дослідження особливостей анти-GroEL реактивності у клінічно здорових породіль.

Проведено клінічно-лабораторне обстеження 118 породіль віком від 20 до 38 років. Контрольну групу становили 12 клінічно здорових жінок, співставних за віком. Рівень антитіл до рекомбінантного GroEL *E.coli* визначили методом ELISA. Отримання та очищення рекомбінантного білка GroEL *E.coli* проводили як описано (Капустян и соавт., 2006). Антитілопозитивною вважали сироватку, оптична густина якої перевищувала середнє значення оптичної густини сироваток контрольної групи на 3 стандартних відхилення ( $m+3sd$ ).

Встановлено, що у клінічно здорових породіль рівень анти-GroEL антитіл перебував у межах показників контрольної групи у 91,53% випадків. У решті обстежених даний показник був підвищеним, у цих жінок виявлено зміни клінічних показників (лейкоцитоз і значне підвищення швидкості осідання еритроцитів).

Отже, за результатами проведеного дослідження у породіль (при відсутності запального процесу) рівень анти-GroEL антитіл не відрізнявся від показників контролю (клінічно здорові жінки). Механізми залучення анти-GroEL антитіл (гомолога Hsp60 людини) у патогенез хронічних запальних захворювань органів малого тазу вивчаються.

**<sup>1</sup>Bowie A., <sup>1</sup>Stack J., <sup>2</sup>Wyszynski R.**

VIRAL EVASION OF THE INNATE IMMUNE SYSTEM:  
A LESSON FROM THE VACCINIA VIRUS STUDY.

<sup>1</sup>*School of Biochemistry and Immunology, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland*

<sup>2</sup>*Laboratory of Molecular Genetics and Virology, Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Gronostajowa, 7, 31-271 Krakow, Poland*  
*e-mail: rafal.wyszynski@uj.edu.pl*

Despite of sophisticated defense mechanisms of our immune system, viral infections are spread in every human population in the world. This situation is caused by continuous co-evolution of viruses with their respective hosts, which favors developing of more advanced mechanisms of immunity and on the other hand, rapid emergence of viruses that are resistant to these mechanisms. Since viruses represent very short life cycle and high changeability, these pathogens evolve very quickly and adapt easily to the new environmental conditions.

One of the possible areas in which viruses may interact to avoid and subvert the host immune response is the innate immunity. During the recent years some new examples of viral mechanisms that interfere with innate immune system were discovered which also helped us in better understanding of the interactions within the innate immune system. Viral infection triggers various defense mechanisms, for example activates the Toll-like receptor 3 that detects double-stranded RNA; genes which transcription is initiated upon stimulation of this receptor include type I interferons and other pro-inflammatory proteins regulated by nuclear factor kappa B and interferon regulatory factor 3 (Bowie, 2008).

The poxviruses like vaccinia virus encode multiple proteins modulating the immune response of their hosts. Approximately 30-50% of a poxviral genome might be devoted to making immunomodulatory molecules that bind to and inactivate cytokines and inflammatory molecules. Examples of such proteins are virokines and viroreceptors enabling viromimicry. Virokines mainly mimic host cytokines and complement regulators while the viroreceptors assembly host receptors and play a role of scavenging ligands [Johnston, 2003].

In this study, two VACV proteins, A46 and A52 were examined to check their ability of interfering with the Toll-like receptor 3 (TLR3) signalling pathway. The results show that the protein A52 significantly diminishes the immune response through the TLR3 by preventing the binding of interleukin-1 receptor-associated kinase 2 (IRAK2) protein to the TLR3 receptor.

**Ямборко Н., Жукова Д., Подурець А.**

**ГЕНЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ КУЛЬТУРАЛЬНИХ РІДИН КУЛЬТУР  
ДЕСТРУКТОРІВ ГХЦГ У ТЕСТІ ЕЙМСА**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України  
вул. Ак. Заболотного, 154, м.Київ, 03143, Україна  
e-mail: kremenina@ukr.net*

Однією з найважливіших проблем сьогодення є погіршення екологічного стану довкілля в цілому і ґрунтів зокрема. Внесення хімічних засобів захисту рослин є основним джерелом забруднення ґрунту. Більшість з них – пестициди, – речовини із швидким або віддаленим токсичним ефектом. Крім того, більшість їх виявляє мутагенну, канцерогенну, тератогенну і алергенну активність, тому питання їх трансформації і біодеградації в агроєкосистемах є надзвичайно актуальним. Тому метою нашого дослідження було вивчити генетичну активність продуктів мікробної деструкції ізомерів ГХЦГ із культуральних рідин ефективних штамів деструкторів *Pseudomonas putida* і *Stenotrophomonas maltophilia* 6 у тесті Еймса для штамів *Salmonella typhimurium* TA100 і TA98. Часто продукти мікробної деструкції пестицидів перевищують генетичну активність вихідних сполук. Тому важливо оцінювати генетичну активність як самих пестицидів, так і проміжних продуктів їх мікробної деградації.

За допомогою тесту Еймса було показано, що максимальною частотою мутацій штаму *S.typhimurium* TA100 була у варіантах з культуральними рідинами *P. putida* 9 – 39%, *P. putida* 3 – 34%, *B.megaterium* 7 – 5-31%, штамами *P. putida* 1 і *P. putida* 4 – 27% від контролю. Решта культуральних рідин викликали частоту мутації на рівні 7-15% від спонтанного рівня реверсій у контролі. У штаму *S. typhimurium* TA98 максимальну частоту мутації викликали культуральні рідини *P. putida* 1 – на 160% і *P. putida* 9 – 31%. Мутагенні ефекти від інших культуральних рідин були на рівні 4,3 - 12,4%.

Частота появи індукованих мутацій *S.typhimurium* TA100 для 2РД ГХЦГ становила 24%, а для *S.typhimurium* TA98 – 4%. Частота появи індукованих мутацій у *S.typhimurium* TA100 в результаті деструкції знизилася порівнянно з вихідною сполукою (пестицидом ГХЦГ) на 23% і більше, а у *S. typhimurium* TA98 зросла у варіантах *P. putida* 1 і *P. putida* 9, що свідчить про вищу генетичну активність продуктів деструкції у порівнянні із вихідними речовинами. Отже, *S. typhimurium* TA98 є більш чутливим штамом до дослідженого пестициду, ніж *S. typhimurium* TA100. Генетична активність продуктів деструкції вища за генетичну активність вихідних речовин. В печінці теплокровних тварин деякі речовини перетворюються за участю ферментів мікросомального окислення цитохрому P450 і набувають властивостей супермутагенів. У зв'язку з цим важливо перевірити продукти мікробної деструкції ГХЦГ на здатність перетворюватися в промутагени. Було показано, що у штаму *S. typhimurium* TA100 максимальну частоту мутацій викликали культуральні рідини *S. maltophilia* 6 – на 34,3% та асоціація мікроорганізмів Мікрос – на 33%. Мутагенні ефекти інших культуральних рідин були на рівні 18-30%.

У штаму *S. typhimurium* TA98 максимальну частоту мутацій викликали культуральні рідини *P. putida* 3 – на 32% та асоціації мікроорганізмів Мікрос – на 23%. Решта культуральних рідин викликали частоту мутації на рівні 4-21% від контролю.

Отже частота появи індукованих мутацій у *S. typhimurium* в тесті Еймса з використанням системи метаболічної активації суттєво не зросла порівняно з даними аналізу генетичної активності продуктів мікробної деструкції ГХЦГ в тесті Еймса без метаболічної активації. Це свідчить про те, що при

взаємодії з мікросомальними ферментами печінки інтермедіати деструкції ГХЦГ не перетворюються на супермутагени, а залишаються на рівні слабких мутагенів.

**Кузнєцов А. О., Шевченко Т. П., Зубик Ю. А.**  
БІОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ ВЛАСТИВОСТІ ІЗОЛЯТІВ  
ПРІСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ ВІДДІЛУ CHLOROPHYTA

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*  
*вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна*  
*e-mail: jurgendbio@gmail.com*

Дослідження альговірусів має як наукове, фундаментальне, так і практичне значення. Сьогодні все більшого значення набувають проблеми нестачі харчових та енергетичних ресурсів, і мікроводорості є вирішенням обох цих проблем, оскільки розглядаються як перспективні джерела поживних речовин та біопалива, а віруси таких водоростей є причиною вагомих втрат сировини, і як наслідок – втрат фінансових.

Однак слід зауважити, що успіхи останніх років, пов'язанні з широким вивченням біологічних, екологічних, морфологічних, генетичних та молекулярно-біологічних особливостей вірусів, стосуються лише представників, що інфікують морські мікроводорості. Нечисленні представники описаних та систематизованих вірусів зелених прісноводних водоростей (відділ Chlorophyta) належать до роду Chlorovirus, і їх дослідження проводяться, переважно в рамках конкретних господарських проблем, пов'язаних з втратами сировини при вирощуванні культур водоростей.

З огляду на недостатню вивченість вірусів прісноводних водоростей, метою наших досліджень була детекція вірусів, що інфікують представників прісноводних водоростей відділу Chlorophyta в різних водоймах України. У якості тестових культур використовувалися зразки мікроводоростей *Planophila* sp., *Chlorella* sp., *Carteria crucifera*, *Chlorococcum* sp., *Chlamydomonas heterogama*, *Scenedesmus* sp., *Borodinella* sp., *Oocystis* sp., надані співробітниками кафедри ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Для первинного пошуку вірусних ізолятів було проведено близько 40 заборів проб води в різних регіонах України. Водойми мали різне антропологічне навантаження. Для індикації вірусів у відібраних пробах використовувалися методи біотестування та електронної мікроскопії з попереднім диференційним центрифугуванням зразків. Окрім цього було проведено аналіз зразків автолізу культури мікроводорості *Chlorococcum* sp.

За результатами біотестування проб води в рідкому середовищі було виявлено, що зразки, відібрані з системи озер Опечень Оболонського району та системи озер парку ім. Рильського, здатні лізувати тест культури *Planophila* sp. та *Chlamydomonas heterogama*. Проведено електронне мікроскопіювання зразків автолізу культур *Chlorococcum* sp. та виявлено в них вірусні частки ізометричної форми розміром часток  $50 \pm 2$  нм. В подальшому було проведено дослідження білкового складу вірусних часток. В результаті постановки білкового електрофорезу в модифікації Леммлі було виявлено два мажорних білка з молекулярною масою  $66 \pm 0,5$  та  $55 \pm 0,5$  кДа. Планується більш детальний опис біологічних та молекулярно-біологічних властивостей, визначення типу та розміру нуклеїнової кислоти з метою подальшого встановлення таксономічного положення ізолятів.

## МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

<sup>1,2</sup>Чумак В. В., <sup>2</sup>Панчук Р. Р.

### ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НОВІТНІХ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДОНІВ НА ЗЛОЯКІСНІ КЛІТИНИ

<sup>1</sup>Кафедра біохімії, Львівський національний університет ім. І. Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup> Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова 14/16, Львів, 79005, Україна

e-mail: virachumak@gmail.com

Тіазоли і тіазолідони – новий клас гетероциклічних сполук, які мають широкий спектр дії, в т.ч. і протипухлинну. На кафедрі фармацевтичної хімії ЛНМУ ім. Д. Галицького було синтезовано більше 5000 нових похідних тіазолідону, і три з них – Les-3120, Les-3166 і Les-3372, за даними Національного інституту раку (США), виявилися найбільш ефективними у пригніченні росту карциноми та ліній лейкемічних клітин. Однак молекулярні механізми їх дії не були вивчені.

Ми показали, що ці сполуки (5 мкМ, 24 год) викликають розщеплення антиапоптичних білків PARP-1 і DFF45, що беруть участь у репарації ДНК, у клітинах Т-лейкемії людини лінії Jurkat. Цей процес опосередковується ефекторними каспазами-7 і -3, рівень яких був збільшений під дією зазначених препаратів. Однак у той час як Les-3120 та Les-3166 індукують активацію цих каспаз вже на 12 годину після інкубації з клітинами, таку дію Les-3372 було зафіксовано тільки на 24 год. Les-3120 і Les-3166 також активують каспазу-8, що бере участь у рецептор-опосередкованому апоптозі і подальшому розщепленні білка Bid на 12 годину, у той час як Les-3372 не викликав такого ефекту. В той же час Les-3372 призводить до активації ініціаторної каспази-9, яка є ключовим білком при мітохондріальному апоптозі, та індукує вихід проапоптотичного білка AIF з мітохондрій у цитозоль. Таким чином, незважаючи на схожі показники інгібіторної концентрації IC<sub>50</sub> (5 мкМ) щодо пухлинних клітин, окремі похідні тіазолідону викликають рецептор-опосередкований апоптоз, тоді як Les-3372 спричиняє загибель клітин через мітохондріальний шлях.

На основі отриманих даних *in silico* було досліджено структурно-функціональні взаємозв'язки між структурою бічних груп тіазолідонів та їх молекулярними механізмами дії. Унікальні особливості сполук Les-3120 і Les-3372 було об'єднано в одній молекулі, для чого були синтезовані дві ізомерних сполуки: Les-3661 (4-заміщений тіазолідон) і Les-3713 (2-заміщений тіазолідон). Було виявлено, що Les-3661 і Les-3713 в 5-10 разів активніше знищують лейкемічні клітини порівняно з вихідними сполуками. Розташування активних груп у тіазолідоновому ядрі відіграє важливу роль у механізмах дії «гібридних» молекул. Les-3661 є найбільш активним серед відомих тіазолідонів, і його IC<sub>50</sub> (0,5 мкМ) співмірна з доксорубіцином. Він індукує рецептор-опосередкований апоптоз через активацію ініціаторних каспаз-8 і 10 на 6 годину, а його ізомерна форма Les-3713 має у 2 рази слабший цитотоксичний ефект і активує ініціаторні й ефекторні каспази тільки на 12 годину. Таким чином, поєднання активних груп двох різних протипухлинних препаратів в одній молекулі різко збільшили свою активність щодо ракових клітин.

Автори висловлюють подяку проф. Р. Б. Лесику та к.ф.н. Д.М. Гаврилюку (ЛНМУ ім. Д. Галицького) за надані для досліджень сполуки.

**<sup>1,2</sup>Гуменюк Р. В., <sup>2</sup>Курліщук Ю. В., <sup>2</sup>Бобак Я. П., <sup>2</sup>Стасик О. В.**  
ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ АРГІНІНУ, АСПАРАГІНУ ТА ГЛУТАМІНУ НА  
ПРОЛІФЕРАЦІЮ ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН КИШКІВНИКА ЛЮДИНИ

<sup>1</sup> Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup> Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: roksolanahumenjuk@gmail.com

В Україні, як і у світі, рак кишківника посідає третє місце серед новоутворень, які діагностують як у чоловіків, так і у жінок. До традиційних методів терапії раку кишківника належать хірургічне втручання, а також, на більш пізніх стадіях, – хіміо- та радіотерапія. Водночас пошук нових менш токсичних для організму пацієнта підходів до терапії не втрачає своєї актуальності. Одним із таких альтернативних підходів є ензимотерапія з використанням ферментів, які деградують необхідні для клітини амінокислоти. Інтенсивний метаболізм і порушення регуляції клітинного циклу ракових клітин, порівняно з нормальними клітинами організму, забезпечують селективність цього типу терапії. Проте клінічними дослідженнями показано, що не всі пухлини навіть одного типу, але на різних стадіях захворювання, однаково чутливі до ензимотерапії. Саме тому метою нашої роботи було проаналізувати чутливість клітин аденокарциноми (HT-29) та карциноми (HCT-116) товстої кишки людини до голодування за аргініном, аспарагіном і глутаміном. Для цього клітини культивували в середовищі без аргініну або у повноцінному середовищі з додаванням аспарагінази, яка розщеплює аспарагін, чи 4-фенілбутирату, який зв'язує глутамін у середовищі, впродовж трьох діб. Кількість живих клітин визначали за допомогою МТТ-тесту.

Показано, що відсутність аргініну в культуральному середовищі інгібує проліферацію клітин обох ліній. Однак після заміни безаргінінового середовища на повноцінне та додаткового культивування впродовж трьох діб для клітин HCT-116 встановлено часозалежне зниження здатності відновлювати проліферацію, тоді як клітини HT-29 не відновлюють ріст уже після першої доби голодування за аргініном. За здатністю до відновлення проліферації досліджувані клітини класифікували як чутливі (HT-29) та резистентні (HCT-116) до дефіциту аргініну в середовищі. Зниження вмісту аргініну у клінічній практиці забезпечується додаванням ферментів: аргініндеїмінази чи аргінази, які розщеплюють аргінін до його попередників – цитруліну чи орнітину, відповідно. Для того, щоб встановити чи здатні досліджувані клітини використовувати ці попередники для синтезу аргініну, їх культивували в середовищі без цієї амінокислоти з додаванням еквімолярних концентрацій орнітину або цитруліну впродовж трьох діб. Встановлено, що додавання орнітину не відновлює проліферацію клітин обох ліній, тоді як присутність цитруліну забезпечує ріст клітин HCT-116 і HT-29, а отже, використовується для синтезу аргініну.

Під час культивування клітин у повноцінному середовищі з додаванням аспарагінази показано дозозалежне інгібування проліферації клітин обох ліній. Поєднання впливу аспарагінази з дефіцитом аргініну в середовищі індувало загибель клітин лінії HT-29, тоді як для лінії HCT-116 спостерігалася лише зупинка росту клітин. Натомість, клітини HCT-116 виявилися більш чутливими до дії 4-фенілбутирату, який зв'язував глутамін у середовищі, при культивуванні як на повноцінному, так і на безаргініновому середовищах, тоді як у клітин HT-29 додавання цього препарату призводило до зупинки проліферації в повноцінному середовищі та не індувало загибель клітин на середовищі без аргініну.

Отже, проаналізовані клітини раку товстого кишківника відрізняються за чутливістю до голодування за амінокислотами. Чутливість цих клітин до дефіциту аргініну в середовищі корелює з чутливістю їх до дефіциту аспарагіну. Виявлено, що резистентні до голодування за аргініном і аспарагіном клітини HCT-116 чутливі до цитотоксичного впливу 4-фенілбутирату в безаргініновому середовищі.

**<sup>1</sup>Олексинська О. О., <sup>2</sup>Линів Л. С., <sup>2</sup>Чень О. І., <sup>2</sup>Стасик О. В.,**

**<sup>1</sup>Сибірна Н. О., <sup>2</sup>Барська М. Л.**

**ВПЛИВ ОКСИДУ АЗОТУ (NO) НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН  
МЕЛАНОМИ SK-MEL-28 ЗА УМОВИ ДЕФІЦИТУ СУБСТРАТУ NO-СИНТАЗ L-АРГІНІНУ**

*<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: olday\_87@mail.ru*

*<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: marina\_barska@yahoo.com*

Протипухлинна ензимотерапія на основі голодування за аргініном є потенційно селективною, відносно малотоксичною та може слугувати основою для розробки комбінаційних терапій. Проте в організмі людини дефіцит аргініну викликає небезпеку вазоконстрикції через недостатню кількість вазодилатора та дезагреганта тромбоцитів - оксиду азоту. Разом з тим оксид азоту може одночасно виступати ініціатором проліферації клітин та проапоптичним фактором. Тому доклінічне дослідження впливу компенсації дефіциту оксиду азоту при голодуванні за аргініном на фенотип злоякісних клітин, включаючи їх здатність до адгезії, росту й апоптозу є актуальним (Wheatley D.N., 2005).

Активність синтаз оксиду азоту й аргінази II в лізатах клітин SK-MEL-28 була достовірно вищою на повному середовищі культивування, ніж на середовищі без аргініну. Встановлено достовірне пригнічення активності аргінази II в лізатах клітин SK-MEL-28 під впливом донора оксиду азоту SNP (0,1mM) на середовищі без аргініну, що може пригнічувати синтез поліамінів, необхідних для злоякісної проліферації клітин.

У присутності модуляторів активності синтаз оксиду азоту, а також при додаванні донора оксиду азоту нітропрусиду натрію не спостерігалось достовірних змін у життєздатності клітин SK-MEL-28 протягом 96 годинної інкубації на середовищі без аргініну.

Відомо, що взаємодія інтегринів з позаклітинним матриксом ініціює запуск внутрішньоклітинного сигналювання до проліферації та диференціації клітин. Зокрема, інтегрин-опосередкована активація фосфатидилінозитол-3'-кінази (PI3K) та протеїнкінази B/Akt запобігає апоптозу, а інгібування цих ферментів спричиняє індукцію останнього (Legate K.R., 2009). У клітинах SK-MEL-28 як на повному, так і на безаргініновому середовищі методом вестерн-блот-аналізу виявлено високу експресію регуляторної субодиниці PI3-кінази p85b. На 24 години інкубації за умови впливу екзо- та ендогенного NO не виявлено фрагментації ДНК та розщепленої форми PARP у лізатах клітин SK-MEL-28 як на повному, так і на безаргініновому середовищах. Проте імуноцитохімічним методом у режимі флуоресцентної мікроскопії, а також лектиноцитохімічним методом у режимі світлової та флуоресцентної мікроскопії встановлено зниження експресії бнв3 інтегрину та зменшення кількості сіаловмісних глікопротеїнів плазматичної мембрани клітин досліджуваної меланоми на середовищі без аргініну та за впливу екзо- й ендогенного оксиду азоту.

Отже, дефіцит оксиду азоту, зумовлений голодуванням за аргініном, можна компенсувати донорами оксиду азоту, оскільки на вільному від аргініну середовищі відбувається втрата адгезивності клітин, що підвищує вірогідність активації апоптозу шляхом апоптозу, індукованого відокремленням клітин від субстрату. Крім того, життєздатність клітин SK-MEL-28 як у присутності інгібіторів/активаторів синтаз оксиду азоту, так і при додаванні донора оксиду азоту за відсутності аргініну в середовищі культивування, не зазнавала позитивних змін.

<sup>1,2</sup>**Шкандіна Т. І., <sup>2</sup>Томін А. М., <sup>2</sup> Білий Р. О.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ШЛЯХІВ АКТИВАЦІЇ СІАЛІДАЗ НА ПОВЕРХНІ  
ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ТА МЕМБРАННИХ ВЕЗИКУЛАХ ЗА УМОВ АПОПТОЗУ**

<sup>1</sup>*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

<sup>2</sup>*Інститут біології клітини НАН України*

*бул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: t.shkandina@gmail.com*

Нейрамінідази – це ферменти, які належать до групи глікозилгідролаз і каталізують відщеплення термінальних б-глікозидів зв'язаних залишків сіалових кислот від глікопротеїнів та гліколіпідів, що є першим кроком до деградації таких глікокон'югантів. Сіалідази ссавців задіяні не лише у лізосомальному катаболізмі вуглеводів, але також і в регуляції таких важливих для клітини подій, як диференціація, ріст і апоптоз. Протягом апоптозу спостерігається зростання нейрамінідазної активності на поверхні плазматичної мембрани. При цьому відбувається активація сіалідаз, які і видаляють залишки сіалових кислот.

Нашою метою було дослідження зміни нейрамінідазної активності під час апоптозу та визначення наявності сіалідазної активності на апоптичних міхурцях.

У роботі ми використовували клітини лінії HeLa. Сіалідазна активність була ідентифікована при використанні ферментного субстрату 4-MUNA – (2'-(4-Methylumbelliferyl)-6-D-N-acetylneuraminic acid), який при розщепленні утворює флуоресцентний продукт. Для виявлення плазматичної мембрани використовували фарбування з розчином Vybrant DiI (Invitrogen), ендоплазматичного ретикулу – міченням із ER-Tracker™ Green (BODIPY® FL glibenclamide, (Invitrogen), що викликає індукцію апоптозу. Апоптичні клітини інкубовано у середовищі, яке містило сіалідазний субстрат 4-MUNA. При апоптозі утворювалися різні типи міхурців: одні з них були позитивними за ER та негативними за нейрамінідазною активністю, а інші везикули – негативні по ER, але позитивні за сіалідазною активністю. Протягом апоптозу сіалідазна активність присутня на плазматичній мембрані та на апоптичних міхурцях ПМ, але не на міхурцях ЕПР. Нейрамінідазна активність та ER-Tracker мічення міхурців є взаємно виключеними. Наші результати демонструють, що протягом апоптозу нейрамінідазна активність фокусується на плазматичній мембрані й апоптичних везикулах, які походять від ПМ.

Використовуючи вестерн-блот-аналіз нормальних гранулоцитів, виділених із крові людей, нормальних гранулоцитів оброблених каспазою 3 та апоптичних гранулоцитів, використовуючи поліклональні anti-Neu1 антитіла (Santa Cruz Biotechnology, sc-133813), показано зменшення молекулярної маси цього ферменту під час апоптозу. Щодо нейрамінідаз 2, 3 і 4, то ми не спостерігали змін їх електрофоретичних рухливостей.

Отже, при апоптозі відбувається зміна електрофоретичної рухливості Neu1, тобто вона розщеплюється під час апоптозу, і це призводить до зростання сіалідазної активності при апоптозі. Ця активність переважно локалізована на везикулах, які походять від ПМ.

**Artemov G. N., Stegny V. N.**

**MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF X CHROMOSOME NUCLEAR  
ENVELOPE ATTACHMENT REGION IN NURSE CELLS  
OF ANOPHELES MESSEAE FALL. MALARIA MOSQUITOES**

*Tomsk State University*

*36, Lenin Ave., Tomsk, 634050, Russia*

*e-mail: center\_cu@res.tsu.ru*

The questions about chromosome material spatial organization in the nucleus has been discussed widely (Steffensen, 1977; Stegny, 1979; Kulichkov and Zhimulev, 1976; Branco and Pombo, 2006; Cremer et al.,



2006; Gaudin et al., 2009). We have known, genetics expression depend on how it situate in the nuclear space and particular relatively nuclear envelope and nucleolus. The nurse cells of malaria chromosome of *Anopheles «maculipennis»* subgroup is one of the most perspective models for investigation of chromosome spatial organization. Species-specificity is the important feature of chromosome spatial organization in this insects and it express as chromosome ability to contact with nuclear envelope, morphology of attachment regions and it location on a chromosome (Stegniy, 1993). Investigation of molecular organization of X chromosome *Anopheles messeae* Fall. nuclear envelope attachment region is of interest because, it situated in the middle of chromosome arm and does not contain pericentric heterochromatin DNA.

DNA from attachment region *An. messeae* X chromosome was collected with using chromosome microdissection method. Library of DNA clones was created in plasmid vector and then sequenced. DNA sequences of this library were analyzed for homology with genomes of *An. gambiae* in BLASTN and TBLASTX VectorBase, with *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, with *Drosophila* species in BLASTN EnsemblMetazoa and FlyBase. In addition, we were search for tandem repeats (with use Tandem Repeat Finder soft) transposable elements (with use RepeatMasker and Censor soft). Attachment region of *An. messeae* X chromosome contain satellite DNA, transposable elements and gene fragments.

Four library clones has homology with *An. gambiae* genes. The length of alignments was very low – no more 63% of the length of clone, that can be explain by locating of alignments near the introns. Ortologues in *Drosophila* was found for all investigated genes.

Attachment region of *An. messeae* X chromosome contain microsatellites and minisatellites but no satellites. We were detect AAAAG motifs, that probably connected with interaction this region and nuclear envelope (Shabarina et al., 2006). LTR-retrotransposones, LINEs and transposones were found, but typical for *An. gambiae* SINES, MITEs и Helitrons were absent. Censor soft detect large variety of transposable elements, that has described in protozoa, vertebrata, plants and other taxons.

Thus, in this analyze of molecular-genetic organization of *An. messeae* X chromosome attachment region we confirm the data obtained on cytogenetical level and that proof heterochromatic nature of this region (Stegniy, 1993). Attachment region of *An. messeae* X chromosome correspond to topology of diffuse intercalary heterochromatin *An. gambiae*. However the question what elements provide contact chromosome with nuclear envelope is left open.

### **Barykina N. V., Zatsepina O. V.**

#### **IMPACT OF OXIDATIVE STRESS CAUSED BY H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ON RRNA STABILITY IN HELA CELLS**

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences*

*16/10, Miklukho-Maklaya St., GSP-7, Moscow, 117997, Russian Federation*

*e-mail: oleeinar006@rambler.ru*

During the past decade, RNA oxidation is in a focus of numerous studies as it has been well documented that RNA oxidation is involved in induction of many diseases, including cancer. In order to shed more light on influence of oxidative stress on metabolism of mammalian cancer cells under pathological processes imitation, we examined its impact on rRNA stability in HeLa cells.

HeLa cells were incubated with 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 10 min - 2 hours, fixed with paraformaldehyde, and processed for FISH (fluorescence in situ hybridization) with biotinilated oligonucleotide probes specific to human 18S and 28S rRNA or to the ITS1 and ITS2 (inner transcribed spacer) sequences of immature rRNA (pre-rRNA). The results obtained showed that after 10 min of the exposure rRNA became hardly detectable in the cytoplasm of singular cells and completely disappeared from the cytoplasm of all cells after two hours of injury. In contrary, and similar to the control cells, the hybridization signals remained clearly visible in nucleoli of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells. Degradation of rRNA was further confirmed by gel-electrophoresis. Opposed to control cells, where two bands corresponding to 18S and 28S rRNA were present, in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated HeLa cells

no rRNA bands were detected after two hours of the treatment. In control and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells ITS1 and ITS2 sequences of immature pre-rRNA were detected in nucleoli, but only upon oxidative stress the signals were in addition seen in the cytoplasm. Oxidative stress also caused complete arrest of rRNA synthesis as was evidenced by application of an rRNA on-going transcription assay using BrUTP as a precursor. In addition, pulse-chase labeling of cells with a vital precursor of RNA synthesis 5'-FU (5'-fluorouridine) showed that in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells rRNA export from the nucleolus to the cytoplasm was arrested. When cells were incubated with 5'-FU for 15 min, transcription was revealed only in nucleoli. If labeled cells were then incubated without 5'-FU for two hours upon normal conditions, the signals were seen in nucleoli, nucleoplasm, and the cytoplasm thereby indicating maturation and export of rRNA. Contrariwise, nascent rRNA remained only in nucleoli upon oxidative stress.

Altogether, our results showed that both – mature and unprocessed - nucleolar rRNAs are targets of oxidative stress in mammalian cells but sensitivity of the nucleolar and cytoplasmic rRNA to the injury is different. We assumed that more ready degradation of 18S and 28S rRNA in the cytoplasm may be caused by activation of specific endonucleases, which are present in the cytoplasm but are excluded from the nucleus. This conclusion is in a good agreement with the literature data which show that apoptotic cell death caused by oxidative stress results in degradation of all classes of the cytoplasmic RNA including mRNA, 18S rRNA, 28S rRNA, and mitochondrial 16S rRNA, but sensitivity of these RNAs to endonuclease attack may be different. E.g., in various apoptotic systems, 28S rRNA generally degrades faster than 18S rRNA. Another explanation admits a better protection of the nucleolar 28S and 18S rRNAs from fragmentation due to their tight association with specific nucleolar proteins.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 08-04-00854).

### **Dyukalova M., Ilichev A.**

#### ISOLATION OF MURINE LUNG ADENOCARCINOMA HOMING PEPTIDES FROM A PHAGE DISPLAY PEPTIDE LIBRARY

*State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector"  
Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation  
e-mail: dukerman@mail.ru*

Development of new methods for early detection and effective treatments of cancer disease are priority in experimental oncology. One of the rapidly developing area is isolation tumor-specific ligands that can be used as in vivo imaging agents or targeting molecules in conjugate with anticancer drug (Brown, 2010). Phage display is a powerful technique for the isolation of peptides that bind to a target with high affinity and specificity. The encoded peptides are displayed on the phage surface as a fusion product with phage coat protein III. This is achieved by the introduction of defined exogenous sequences into the gene of pIII. Phage display libraries contain up to 10<sup>10</sup> different peptides (Ueberger, 2010).

Here, we report an isolation and identification peptides homing to a murine lung adenocarcinoma using phage display selection in vivo. Specific phage clones were selected from Ph.D.<sup>TM</sup>-12 Phage Display Peptide Library (New England Biolabs Inc.) in mice bearing murine lung adenocarcinomas. Library was injected into tail vein. Phages that binded to the tumor were eluted and amplified by growing in *E. coli*. After 3 rounds of biopanning (procedure of library screening) 5 peptide motifs were identified for the tumor. Immunohistochemical analysis allowed to estimate phages binding with tumor or control organs and to become clear localization of the target.

Work has been supported by Scientific and technological program of Republic of Kazakhstan, 2009-2011.

**Gyrka A., Bonarek P., Gyrecki A., Dziedzicka-Wasylewska M.**

DETERMINATION OF STRUCTURE CHANGES INDUCED IN DNA BY  
BINDING OF YIN YANG 1 PROTEIN

*Department of Physical Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University  
Gronostajowa 7, Cracow, Poland  
e-mail: adam.gorka@uj.edu.pl*

Ying Yang 1 protein is a multifunctional transcription factor, whose mechanism of action is not yet fully understood. It is postulated that YY1 regulates transcription through the induction of bends of an 78° angle in the structure of DNA in mouse c-fos promoter (Natesan and Gilman 1993; Kim and Shapiro 1996), while the crystal structure of this protein zinc finger in complex with the 20 nucleotide sequence of DNA (the transcription initiation site AAV P5 promoter in a position +1) does not show any kink in structure DNA (Houbaviy, Usheva et al. 1996).

In the present work the effect of binding of YY1 protein to DNA on its structure was studied. The FRET method was used to measure the distance between FAM and ROX covalently linked to the DNA. For this pair of markers the value of  $R_0$  was estimated to equal  $54 \pm 7$  E. Energy transfer efficiency and value of  $R_0$  allowed to estimate the distance between the markers, which was  $70 \pm 8$  E,  $73 \pm 9$  E and  $73 \pm 13$  E, respectively for a sequence of AAV+1, AAV-60, IGH.

Change in the distance between the fluorescent markers in the tested system is around 1 E. Experiments shows for the tested sequences, that the binding of YY1 protein to the DNA does not affect the distance between the fluorescent markers in the tested system, therefore conclusion is that that it does not introduce the postulated bend in to the DNA structure.

The research was supported by Grant 3128/P01/2006/31 from the Ministry of Science and Higher Education.

**Kanarsky J., Kiselev D.**

FUNCTIONAL INTERACTION BETWEEN GLYCOGEN SYNTHASE  
KINASE-3B AND P53 AFTER DNA DAMAGE

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
15, Heroyiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine  
e-mail: johny.kanarsky@gmail.com*

Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) is a serine/threonine kinase that is thought to contribute to a variety of biological events, including embryonic development, metabolism, tumorigenesis, and cell death. GSK 3 $\beta$  is a constitutively active kinase that regulates many intracellular signaling pathways by phosphorylating substrates such as  $\beta$ -catenin.

Glycogen synthase kinase-3 $\beta$  is a main figure in WNT signaling, in which its activity is controlled by regulatory binding proteins. The Wnt signaling pathway describes a network of proteins best known for their roles in embryogenesis and cancer, but also involved in normal physiological processes. Binding proteins outside the WNT pathway also control the activity of GSK3 $\beta$ .

DNA damage induced by camptothecin, which activates protein p53, was found to activate GSK3 $\beta$ . Stress-activated protein kinases regulate multiple cellular responses to a wide variety of intracellular and extracellular conditions. This activation occurred by a phosphorylation-independent mechanism involving direct binding of GSK3 $\beta$  to p53, which was confined to the nucleus where p53 is localized, and mutated p53 (R175H) bound but did not activate GSK3 $\beta$ . Activation of GSK3 $\beta$  promoted responses to p53 including increases in p21 levels and caspase-3 activity. After DNA damage there is a direct interaction between p53 and GSK3 $\beta$ , and these proteins act in concert to regulate cellular responses to DNA damage.

p53 (also known as protein 53 or tumor protein 53), is a tumor suppressor protein that in humans is encoded by the TP53 gene. p53 is important in multicellular organisms, where it regulates the cell cycle and, thus, functions as a tumor suppressor that is involved in preventing cancer.

Cells respond to DNA damage by activating signaling cascades that cause cell-cycle arrest to allow repair or cause apoptosis to eliminate irreparably damaged cells. After DNA damage, protein p53 is a key intermediate in both cell-cycle arrest and apoptosis, and dysfunctional p53 is one of the most prevalent causes of tumor formation in humans. Glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) is a key enzyme in several signaling pathways including the WNT pathway, through which its activity is controlled by regulatory binding proteins, and is an important proapoptotic signaling enzyme. There is a functional interaction between p53 and GSK3 $\beta$  and whether p53-mediated caspase activation caused by DNA damage involves GSK3 $\beta$ .

**Kokhanenko A. A., Anan'ina T. V., Stegny V. N.**

TISSUE-SPECIFIC SPATIAL ORGANISATION OF THE NUCLEUS WITH  
POLYTHENE CHROMOSOMES IN *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA* MG.

*Tomsk State University*

*36, Lenin Ave., Tomsk, 634050, Russian Federation*

*e-mail: sandala@sibmail.com*

It has been known, that in interphase nucleus distinct chromosomes located in the more or less differentiated volumes - chromosome territories, maintained during all nucleus existent. In addition, gene poor regions of chromosome territories are located near nucleus periphery and nucleus envelope in the cells of the most tissue with spherical nuclei. Gene abundant chromosomes and regions are located near the center of the nucleus (Cremer T. et al., 2001). However, the question about principle chromosome kinetics in nucleus space has been left open.

Previously, we investigated spatial chromosome organization in *Calliphora erythrocephala* Mg. nurse cells, one of the specimen of Diptera. The chromosomes of this cells undergo morphology changes during chromatin endoreduplication process. Location of chromosome 6 in the nucleus was investigated by three-dimensional fluorescent in situ hybridization (3D-FISH). We found large-scale chromosome 6 movements that attended by chromosome territory morphology changes connected with arising of common expression activity and chromatin reticular structure formation (Kokhanenko, 2010).

In the present work we interest in the question - what are the differences in nuclei with polytene chromosomes spatial organization between tissue with different function like salivary glands cells and nurse cells.

Tissue-specificity of salivary glands cells is the lack of chromatin morphology changes during endoreduplication process. This cell show polytene chromosome that visible during polytenisation process, increasing in size only. The kinetics of *C. erythrocephala* chromosome 6 (DNA was collected with help nurse cell chromosome microdissection method) during endoreduplication was investigated with use 3D-FISH analysis.

Consequently we sorted out 3 group of nuclei by locating chromosome 6 in the nucleus space: 1) one large block near the middle of the nucleus and many small signals in the nucleus space; 2) only many small signals in the nucleus space; 3) one large block near the periphery of the nucleus and many small signals in the nucleus space. Statistic analysis was show significant correlation between morphology groups of chromosome 6 and level of chromatin polytenisation in salivary glands. Thereby in salivary glands nuclei like in nurse cells nuclei occur large-scale chromosomal movement during polytenisation. However, intranuclear kinetics of chromosome 6 in salivary glands differ from intranuclear kinetics in nurse cells.

Probable, difference in tissues function and gene expression during endoreduplication connected with distinctions in intranuclear kinetics of chromosome 6 in salivary glands and nurse cells.

**Krol S.**

CYTOTOXICITY OF SOME COMPONENTS OF PLANT ESSENTIAL OILS  
AGAINST HUMAN NORMAL AND CANCER CELLS *IN VITRO* – AN INNOVATIVE  
APPLICATION OF ESSENTIAL OILS?

*Department of Virology and Immunology, Institute of Microbiology and Biotechnology*

*The Faculty of Biology and Earth Sciences, Maria Curie-Skłodowska University*

*19, Akademicka St., 20-033, Lublin, Poland*

*e-mail: sylwia\_krol15@wp.pl*

There are some evidences that the usage of essential oils may lead to significant advances in prevention of human cancer. The objective of the present study was to evaluate and compare the cytotoxic properties of

some compounds of plant essential oils against human normal and cancer cells *in vitro*. I studied their effects on the growth of human colon cancer and human normal colon epithelial cells. The results show that analyzed substances inhibit growth and proliferation of human colon cancer cells, depending on a concentration used. What is more, the studied substances stimulate proliferation of normal cells at the relatively low concentrations (5-125 mg/ml).

Monoterpenes found in essential oils of fruits, leaves and herbs have been suggested to constitute a new class of agents for cancer chemoprevention. They are mainly responsible for the characteristic fragrance of many plants and are used as flavor additives in food, beverages and perfumes. Colorectal cancer is the second most common cancer diagnosed in men and women in Poland.

The aim of the experiments was to investigate an influence of alpha-pinene, verbenone, verbenol and linalool on viability and proliferation of human colon cancer cells and human normal colon epithelial cells.

Previous reports proved that essential oils from some plants have a high cytotoxic activity against human cancer cells. In this work, solutions of (1S)-(-) alpha-pinene, (S)- cis-verbenol, (1S)-(-) verbenone and (-) linalool were studied at concentrations between 5 and 500 mg/ml. These substances have been evidenced to express cytotoxic influence on cells in a dose-dependent manner.

The MTT assay data show that, in regards to cell line HT29, cis-verbenol and (-) linalool decrease metabolism and show cytotoxic effect at all used concentrations; (-) verbenone insignificantly stimulates proliferation at the lowest concentration (5 mg/ml); alpha-pinene inhibits metabolism only at the highest concentration (500 mg/ml) and a mix (mixture of alpha-pinene derivatives in proportion 1:1:1) increases metabolism at all used concentrations. The NRU assay data show that cis-verbenol and a mix express a cytotoxic activity at all used concentrations; alpha-pinene, (-) linalool and (-) verbenone promote proliferation at lower concentrations. In regards to human normal colon epithelial cells, results from MTT assay show that all used substances stimulate proliferation at lower concentrations; a mix shows almost no cytotoxic effect. The NRU assay data display that alpha-pinene, (-) verbenone, (-) linalool induce proliferation at lower concentrations; cis-verbenol stimulates growth of cells at all used concentration except the highest one; a mix of them stimulates a proliferation at all used concentrations - the higher concentration, the stronger effect. In conclusion, the results show a potent antiproliferative effect of alpha-pinene and its derivatives on the growth of human colon cancer cells, and future studies are necessary to investigate its potential usage in treatment of colon cancer.

### **Kud J., Paduch R.**

#### **ANTYPROLIFERATIVE AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF LIMONEN AND ITS DERIVATIVES ON NORMAL AND CANCER HUMAN COLON CELLS**

*Maria Curie-Skłodowska University, The Faculty of Biology and Earth Sciences  
Institute of Microbiology and Biotechnology, Department of Virology and Immunology  
19, Akademicka St., 20-033, Lublin, Poland  
e-mail: joanna.kud@vp.pl*

The objective of the present study was to evaluate the antyproliferative and cytotoxic properties of limonene and its derivatives on human colon cancer cells (line CCD HT29) and on the normal human colon cells (line CCD 841 CoTr) as a control. We used MTT and Neutral red uptake assays to determine metabolism inhibition and cytotoxicity, respectively. The results show that analyzed monoterpenes, depending on concentration, are high toxic for human colon cancer cells. On the other hand, cytotoxic impact on the normal colon cells is much lower. Additionally, mixture of limonene derivatives seems to be more effective anticancer agents than derivatives one by one.

Monoterpenes are naturally occurring hydrocarbons composed of the two isoprenes condensed and widely distributed in the plant kingdom as essential oils. They are the largest class of plant secondary

metabolites. Beside many applications in fragrance and flavor industry, food additive, bioremediation, biotransformation etc., various essential oils have been used medicinally at different periods in history. So far, previous reports show that two monoterpenes (limonene and perillyl alcohol) have efficacy in prevention and therapy to several cancer types. There are evidences that those monoterpenes, as components of our dietary, may be used in oral treatment to prevent and impinge on development of colon cancer. Colorectal cancer is the second most common cancer diagnosed in men and women in the Poland.

The main aim of our experiments was to analyze an influence of limonene and its derivatives (perillyl alcohol, carvone(+), carvone(-)) one by one, as well as together as mix of derivatives on viability and proliferation of human colon cancer cells (line CCD HT29) in comparison with normal human colon cells (line CCD 841 CoTr).

MTT, as well as NR uptake assays proved cytotoxic impact on the cancer cells culture. Antiproliferative properties may have a wide practical application. On the basis of those bioassays, analyzed monoretpenes are active in inducing apoptosis of tumor cells without strong affecting normal cells. All available data shows that limonene and perillyl alcohol are powerful tools in clinical tests against cancers but we conclude that other limonene metabolites can also be excellent potential candidates for therapeutic trials, even more effective in treatment of colon cancer. Moreover, mixture of limonene metabolites have been shown to be more potent pharmacological agents than each derivatives themselves.

**<sup>1</sup>Kuklin A., <sup>1</sup>Tokovenko B., <sup>2</sup>Makogon N., <sup>3</sup>Jarząb B., <sup>1</sup>Obolenskaya M.**

**DIFFERENTIALLY EXPRESSED GENES AND SIGNALING PATHWAYS  
ACTIVATED BY INTERFERON ALPHA IN PRIMARY RAT HEPATOCYTES**

*<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics NAS, Ukraine  
150, Zabolotnyi St., Kyiv, 03680, Ukraine*

*<sup>2</sup>Institute of Physiology NAS, Ukraine*

*<sup>3</sup>Marie Skłodowska-Curie Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice, Poland  
e-mail: kuklin\_a@ukr.net*

Interferon alpha (IFN- $\alpha$ ) is a cytokine of innate immune system. IFN- $\alpha$  is widely used in clinical practice as antiviral and anticancer agent. Along with its canonical function during immune response it might have other, but not less important functions, clarifying which may lead to wider implementation of IFN- $\alpha$  into clinic and/or optimization of existing protocols. Previously we identified temporal increase of IFN- $\alpha$  mRNA and protein at the early stage of rat liver regeneration (LR), but its exact function during this process remains unknown (Perepelyuk, 2009). Since there is a strong cytokines and growth factors background during LR it is difficult to determine directly which genes are regulated solely by IFN- $\alpha$  in liver cells.

In this work, we aimed to determine the pure response of hepatocytes to IFN- $\alpha$ . For this purpose we cultivated primary rat hepatocytes and treated them during 3 and 6 hours with IFN- $\alpha$  in the dose 250u/ml that is close to the IFN- $\alpha$  concentration observed in the liver during LR. The gene expression profile was assayed with Affymetrix Ret Genome 230 2.0 microarrays.

124 genes with the fold change more than 2 were defined as differentially expressed. Validation with real-time qPCR confirmed high correspondence with the results of microarray. Differentially expressed genes were attributed, substantially, to GO categories related to "immune response", but considerable enrichment was also observed in GO category "modification dependent protein degradation" pointing to IFN- $\alpha$  activated catabolic processes. We have analyzed whether the differential expression occurs in result of activation of Jak/STAT, Jak/STAT/ISGF3 and p38 signaling pathways involved in IFN- $\alpha$  response. For this purpose we conducted the search of appropriate transcription factor binding sites for STATs (1, 3, 4, 5, 6), ISGF3, IRF1, CREB1, CEBP, NFkB, Max/Myc, MEF2A/C, NFAT, SP1, ELK1 within promoter regions of differentially expressed genes.

Our results point to the activation of multiple signaling pathways and corresponding transcription factors by IFN- $\beta$ . The signaling pathways Jak/STAT, Jak/STAT/ISGF3 and p38 are represented in descending order according to the extent of their involvement in IFN- $\beta$  response. Of note, majority of differentially expressed genes contained binding sites for more than one transcription factors listed above, which may be a base for more precise regulation of gene expression, activated by IFN- $\beta$ , where each transcription factor makes certain contribution to the activation of transcription. Current work is the first step toward elucidation of IFN- $\beta$  role in the triggering of LR.

**Васильченко О. В., Моцар О. В., Бабкіна М. М., Пальчиковська Л. І.**  
ІНГІБИТОРИ СИНТЕЗУ РНК НА ОСНОВІ ТРИАЗИНОБЕНЗОТІАЗИНОВИХ КАРБОНОВИХ  
КИСЛОТ І ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХНЬОЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ

<sup>1</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна  
e-mail: L.Palchykovska@imbg.org.ua*

<sup>2</sup>*Інститут ветеринарної медицини ААН України  
вул. Донецька 30, м. Київ, 03151, Україна  
e-mail: deriabin@i.kiev.ua*

Попередні дослідження щодо впливу низки трициклічних 1,2,4-триазинвмісних основ та їхніх нуклеозидів на репродукцію вірусів родини герпесу Herpes viridae, а саме вірусу простого герпесу та вірусу Епштейн-Барр, спонукало нас до дизайну нових похідних 1,2,4-триазинобензотіазинів. З цієї метою було синтезовано нові, не описані в літературі, триазинобензотіазин-6- і триазинобензотіазин-8-карбонові кислоти та їхні ариламідні.

Для встановлення залежності структура-активність та впливу різних модифікацій на біологічні властивості синтезованих сполук, була досліджена їхня здатність пригнічувати процес синтезу РНК у модельній системі транскрипції ДНК-залежної РНК-полімерази бактеріофага Т7 (Т7 РНКП). Первинний скринінг 19 нових сполук на зазначеній модельній системі виявив 5 сполук, що ефективно пригнічували синтез РНК ( $IC_{50}$  = в межах 3-10 мкМ), та 4, що мали середню активність ( $IC_{50}$  = 20-50 мкМ). Також встановлено, що на активність сполук значно впливає будова ариламідного фрагмента молекули. Похідні 8-карбонової кислоти мали дещо кращу активність порівняно з аналогічними похідними 6-карбонової кислоти.

Оскільки для сполук класу 1,2,4-триазинобензотіазину не досліджувалася антибактеріальна активність, було проведено їхнє тестування на грампозитивних - *B. subtilis*, *E. rhusiopathiae*, *Diplococcus lanceolatus* Str. suis (serotype 1, 2), *Str. lysogenicus*, та грамнегативних - *E. coli*, *Klebsiella* spp. бактеріальних моделях. Досліджувані препарати не виявили високої здатності пригнічувати ріст вищевказаних бактерій.

З огляду на те, що амідні триазинобензотіазин-6- і триазинобензотіазин-8-карбонових кислот ефективно пригнічують синтез РНК *in vitro* в модельній системі Т7 РНКП, в подальшому буде проведено їх тестування щодо пригнічення РНК-вірусів, а саме, вірусу гепатиту С та вірусу грипу.

**Mursalimov S. R., Deineko E. V.**  
SUBCELLULAR ASPECTS OF CYTOMIXIS IN MICROSPOROGENESIS OF  
TRANSGENETIC MUTANT TOBACCO PLANTS

*The Institute of Cytology and Genetics, The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences  
10, Lavrentyeva Ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation  
e-mail: mursalimovsr@gmail.com*

Cytomixis is the migration of nuclei as well as other organelles and *cytoplasm* between cells through the *cytotoxic channels*. This phenomenon was first described more than a century ago and it is a widespread

process for higher plants. Cytomixis is most frequently met in pollen mother cells (PMCs) however, the cases of intercellular migration of nuclei have been also observed in plant vegetative tissues (Heslop-Harrison 1966; Guzicka and Wozny 2005).

Cytomixis commences from formation of *cytomictic channels* between cells; the size of these channels allows cell organelles, including nuclei, to migrate from one cell to another. The role of these channels is still questionable. The formation of *cytomictic channels* is associated with the need in exchange with certain substances between the cells for a synchronous pollen development. However, the predominant opinion is that *cytomictic channels* are the pathways for migration of nuclear material between cells.

Although cytomixis attracts attention of researchers for already over hundred years, many details, mechanisms, and consequences of this enigmatic phenomenon are still to be clarified. In part, this is connected with the absence of convenient models for studying this phenomenon, i.e., the plants with a constantly high level of cytomixis. Among the transgenic tobacco plants obtained from SR1 line, we have earlier isolated the lines with mutant phenotype (changed flower structure and decreased pollen fertility) displaying a high level of cytomixis. The level of cytomixis in the nontransgenic tobacco line SR1 was about 4% versus the transgenic plants of several lines produced involving this line, where the level of cytomixis in some lines increased to 50% and retained in the selfed progeny.

This specific feature of the isolated lines allowed them to be used as models for a comprehensive cytological analysis of cytomixis, including an ultrastructural examination.

It was shown that pachytene is the particular meiotic stage when the frequency of nuclear migration between cells is maximal. The nuclear migration is unidirectional: the nuclei of all cells cross the cell wall only in one direction, and no migration of nuclei in opposite directions towards one another is observed. Thus, a sort of chains of cells connected with migrating nuclei is formed.

During performing an ultrastructural analysis was shown that the nuclear envelope and chromatin display no visible signs of damage during migration through *cytomictic channels*. After passing nuclei can separate into micronuclei or form nuclear bridges. It is well seen that the chromatin in all PMCs is at the same stage of compaction and displays no abnormalities associated with desynchronization in PMCs or pathological changes in cell structure. The dynamics of changes in the nucleoli during cytomixis is described for the first time.

It was shown that each individual nucleus concurrently migrates from one cell to another through several closely located channels. It is evident that the nuclear envelope retains its integrity before and after migration through *cytomictic channel*. Note that the chromatin displays normal structure characteristic before approaching the *cytomictic channel*; however, when already approaching it, inside the channel, and after exiting, chromatin looks as a uniform dark-colored mass. Despite this, chromatin restores its initial structure after a certain time period, and any visible changes in its structure are undetectable. According to our observations, cytomixis, as a rule, leads to formation of micronuclei from a migrating nucleus. However, the most interesting detail in this picture of cytomixis is formation of a direct contact between nuclei. Such interaction between the nuclei in neighboring cells during cytomixis is described for the first time. Moreover, our ultrastructural studies of microsporogenesis in tobacco lines suggest that the chromatin structure after migration through *cytomictic channels* does not change. This allows cytomixis to be regarded as a normal process in the cell rather than a pathology.

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant no. 11-04-01192-a).

**Колесник О., Чеботар С., Хохлов О., Сиволап Ю.**

АНАЛІЗ РОЗПОДІЛУ ЧАСТОТ АЛЕЛІВ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ НА ВИБІРЦІ  
СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ РІЗНИХ РОКІВ

*Південний біотехнологічний центр у рослинництві НААН України*

*Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна*

*e-mail: emerald-olga@ukr.net*

Диференціація і ідентифікація сортів рослин має велике значення в селекційно-генетичних дослідженнях і при захисті прав оригінатору сорту. ПЛР-аналіз мікросателітних локусів і визначення



розподілу частот алелів цих локусів дозволяють отримати цінну інформацію про структуру сорту і алельний стан агрономічно-важливих генів.

Проаналізовано розподіл частот алелів мікросателітних локусів (МС-локусів) на загальній вибірці 150 тестованих генотипів рослин сучасних сортів озимої м'якої пшениці 2003-2009 років реєстрації, створених у Селекційно-генетичному інституті — Національному центрі насіннєзнавства та сортовивчення НААН України. Дослідження проводили методом ампліфікації ДНК за допомогою ПЛІР із праймерами, які специфічно фланкують МС-локуси; електрофорезом ампліфікованих фрагментів ДНК в денатуруючому поліакриламідному гелі; фрагмент-аналізом МС-локусів сортів пшениці на приладі ALFexpress II (Amersham Biotech, Австрія).

Визначали алельні характеристики десяти МС-локусів, а саме: Xgwm095-2A, Xgwm186-5A, Xgwm190-5D, Xgwm165/1-4D, Xgwm155-3A, Xgwm18-1B, Xgwm3-3D, Xgwm437-7D, Xgwm357-1A, Xgwm389-3B. Показник PIC варіював від 0,32 для локусу Xgwm437 до 0,85 для Xgwm155; найбільшою частотою характеризувався алель 109 п.н. локусу Xgwm437, а найменшу частоту мали алелі 210 п.н. та 212 п.н. локусу Xgwm190, алель 124 п.н. локусу Xgwm095.

За локусом Xgwm186 на представленій вибірці генотипів (n=150) детектували 9 алелів, з яких найбільшу частоту мав алель 102 п.н. — 0,48; найменшу частоту мали алелі 107 та 139 п.н. — 0,03, виявлені у сортів Скарбниця, Подяка, Дальницька, Істина одеська та Зміна. Величина індексу поліморфності за даним локусом була досить високою — 0,73. За локусом Xgwm095 найбільшою частотою характеризувався алель 122 п.н. — 0,79; до рідкісних алелів віднесено алель 124 п.н. — 0,01, який детектували у сорті Бунчук. Також чотири алелі детектовано за локусом Xgwm190. Алель 208 п.н., що характеризувався найбільшою частотою, зустрічався в 69% досліджених сортів. За локусом Xgwm165/1 визначили п'ять алелів, а саме: 185, 189, 191, 193, 195 п.н. Найбільш розповсюдженим був алель 193 п.н. — його частота складала 0,46. Алелі 185, 189, 191 та 195 п.н. зустрічались з частотою 0,1, 0,03, 0,16 і 0,25, відповідно. Алель 189 п.н., який можна віднести до рідкісних, виявлено у гетерогенних сортів Запорука та Благодарка одеська. Величина індексу поліморфності за даним локусом складала 0,69. За локусом Xgwm18 на представленій вибірці сортів детектували чотири алелі, індекс поліморфності за даним локусом становив 0,68. За локусом Xgwm437 було виявлено лише два алелі, один з яких зустрічався в 80% досліджених сортів та мав розмір 109 п.н. Чотири алелі детектовано за локусом Xgwm3. Алель 88 п.н., що характеризувався найбільшою частотою, зустрічався в 40% досліджених сортів. PIC цього локусу дорівнював 0,68. За даними аналізу локусу Xgwm357 у дослідженій вибірці сортів виявлено сім алелів, з яких найбільшу частоту мав алель 125 п.н. — 0,32, меншою частотою характеризувалися алелі 116, 119 та 121 п.н., що зустрічались в 5% досліджених сортів, відповідно. Величина індексу поліморфності за даним локусом складала 0,78.

Проведена алельна характеристика мікросателітних локусів досліджених сучасних сортів пшениці дала можливість здійснити достовірну ідентифікацію та диференціацію сортів, і оцінити рівень їх генетичної однорідності.

### **Nikitina E., Urazova L., Churuksaeva O.**

#### **DINAMICS OF HPV INFECTION AMONG WOMEN WITH CERVICAL LESIONS**

*Cancer Research Institute Siberian Branch of the RAMS*

*5-th Kooperativny St., Tomsk, 634050, Russia*

*e-mail: neg@oncology.tomsk.ru*

High prevalence of human papillomavirus (HPV) infection, its causative role in the development of cervical cancer and heterogeneity of HPV types indicate that HPV infection is not only medicobiological problem but also has a social significance. Currently, an HPV DNA test is recommended by international organizations (ASCCP, EUROGIN, IARC WHO) for applying in population screening. For virus-positive

women with cervical lesions who are at risk for cervical cancer, follow-up is of great importance, allowing the treatment efficiency to be assessed and the disease outcome to be predicted.

A total of 293 women treated at Tomsk Cancer Research Institute were examined. A median age of the patients was  $35.9 \pm 0.6$  years (range 16 to 80). All patients were divided into 3 groups: 88 patients with benign cervical lesions (30.0%), 101 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) (34.3%) and 104 patients with cervical cancer (35.6%). Cervical lesions were histologically proven.

HPV screening, differentiation of 12 high-risk HPV types and determination of their concentration were performed using real time multiplex PCR assay. HPV testing was carried out on “Rotor-Gene 6000” amplification-machine (“Corbett Research”, Australia).

Out of the 293 examined women the first test detected HPV infection in 61.3% of patients with benign cervical lesions, in 72.2% of patients with cervical intraepithelial neoplasia and in 67.3% of cervical cancer patients. HPV type 16 had the highest incidence rate (45.0%) followed by HPV 31–17,0%, HPV 56/33–15,0%, HPV 51/18/52–13,0%, HPV 58/35/39/45–7,0%, HPV 59–5,0%. When studying the virus concentration among HPV-infected women, it was shown that high viral load was observed in 70.9% of patients with benign cervical lesions, in 83.5% of patients with CIN and in 85.7% of patients with cervical cancer.

The median follow-up for 35 patients with cervical lesions was 6.4 months (range 3 to 13). First HPV testing showed that 80.0% of cases were HPV-positive. Patients with benign cervical lesions and CIN were treated in accordance with specific and antiviral program. The second test revealed elimination of HPV infection in 55.6% of primarily HPV-positive patients.

Persistent infection was detected in 35.7% of primarily HPV-positive cases (10 out of 28 patients), mainly in cervical cancer patients. Total number of primarily HPV-positive and HPV-negative patients with cervical cancer was 95.0% and 5.0%, respectively. The corresponding values after the complex treatment were 35.0% and 65.0%, respectively, pointing to the treatment efficiency.

Patients with persistent infection had a high number (83.2%) of cocktail infection cases (combination of several types of papillomavirus) where HPV16 (100.0%) or combination of HPV16 and HPV18 (33.3%) were the most common types. Disease progression was found in 8 out of 35 patients although the most of those cases were HPV-free according the second testing (62.5%) that likely to be related to ablation of the HPV-infected tissues.

**<sup>1</sup>Reder A., <sup>1</sup>Bonik M., <sup>2</sup>Meissner J., <sup>2</sup>Majkowski M., <sup>1</sup>Machnicka B.**  
SPECTRIN DISTRIBUTION IN FORMATION OF IMMUNOLOGICAL SYNAPSES

*<sup>1</sup>Department of Biological Science, University of Zielona Góra  
1, Shafrana St., 65-516, Zielona Góra, Poland*

*<sup>2</sup>Department of Cytobiochemistry, University of Wrocław  
1, Uniwersytecki Sq., 50-137, Wrocław, Poland  
e-mail: ania.reder@gmail.com*

Immunological synapse (IS) is a contact surface between a T cell and an antigen-presenting cell (APC). Interaction between these cells is the hallmark of adaptive immunity. One of the first processes leading to formation of the immunological synapse is the increased concentration of CD45 (protein tyrosine phosphatase) in the IS. CD45 by dephosphorylation lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) starts a sequence of reactions resulting in rearrangements of actin cytoskeleton, which are necessary for the creation of a mature synapse. In active cells spectrin by interacting with ankyrin makes possible the translocation of CD45 to the membrane microdomains (Cairo et al., 2010). Moreover, during IS creation, spectrin directly binds to actin and with many proteins taking part in remodeling of the actin cytoskeleton (Wernimont et al., 2008). Spectrin is also a partner of several actors involved in actin polymerization, interacting with two members of the Enabled/Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein (Ena/VASP) family: VASP (Benz et al., 2008) and EVL (Ena-Vasp-like) (Bournier

et al., 2006). Proteins of the Ena/ VASp family are essential for actin remodeling upon T cell activation, formation of lamellipodia extension surrounding APC. Recently, it was demonstrated that spectrin is involved in cell adhesion and actin cytoskeleton remodeling (Metral et al. 2009). There we show spectrin redistribution from cytoplasm to IS during T cells activation (in circulation human lymphocytes and Jurkat T cells) using cellular approaches and immunofluorescence studies. In native T cells, spectrin is present in the cytoplasm around the nucleus, and after activation spectrin strongly accumulates in IS. As control protein, was studied the presence of vimentin, which increase of concentration was not found in the IS surface after activation of lymphocytes. So, besides the involvement of spectrin in the control of CD45 surface display and activity, we hypothesise that spectrin acts at different steps during the formation of the IS and might be involved in the establishment of cell-cell contact and adhesion process by the way of the actin cytoskeleton reorganisation.

**Васильченко О. В., Рибак М. Ю., Бабкіна М. М., Костіна В. Г., Пальчиковська Л. І.**  
**ФЕРМЕНТАТИВНА Й АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ АМІДІВ**  
**9-ЗАМІЩЕНИХ ФЕНАЗИН-1-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ**

<sup>1</sup>*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,  
 вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна  
 e-mail: L.Palchykovska@imbg.org.ua*

<sup>2</sup>*Інститут ветеринарної медицини ААН України, вул. Донецька 30, м. Київ, 03151, Україна  
 e-mail: deriabin@i.kiev.ua*

Феназин-1-карбонова кислота (ФКК-1) та її похідні - природні сполуки - вторинні метаболіти, які синтезуються невеликою групою бактерій, у тому числі *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*. Інтерес до синтезу похідних ФКК-1 обумовлений їхньою антибактеріальною активністю, а також здатністю уповільнювати виникнення резистентності до лікарських препаратів. У зв'язку з цим був проведений синтез трьох серій ариламідів ФКК-1: не заміщеної, 9-метил- та 9-метокси-ФКК-1. Всього було синтезовано 29 сполук.

Система біосинтезу нуклеїнових кислот (НК) вважається однією з основних клітинних мішеней протимікробної, противірусної терапії, тому як інструмент для моніторингу синтезованих речовин було обрано модельні системи транскрипції РНК-полімерази бактеріофага T7 (T7 РНКП) та релаксації суперспіралізованої форми ДНК топоізомеразою I *E.coli*. Проведений первинний скринінг сполук на модельній системі транскрипції виявив 16 активних сполук з  $IC_{50}$  у межах 5-50 мкМ. Система релаксації ДНК (Топоізомераза I *E.coli*) виявилася не чутливою до досліджуваних речовин в межах концентрації 100 мкМ.

Дослідження антимікробних властивостей синтезованих ариламідів феназин-1-карбонових кислот на широкому спектрі бактеріальних моделей виявило ряд сполук, що проявляють вибіркочувальну інгібуючу активність щодо *Micrococcus* spp., *Erysipelothrix*, *Bacillus cereus*, *Salmonella choleraesuis*.

Проведене дослідження показало ефективне концентраційно- та структурно залежне пригнічення синтезу РНК представниками феніламідів усіх трьох серій ФКК-1. З 16 сполук, активних у модельній системі транскрипції T7 РНКП, 7 речовин виявили вибіркочувальну здатність істотно гальмувати ріст вищевказаних бактерій. Таким чином використані модифікації базової молекули феназин-1-карбонової кислоти привели до появи селективної антибактеріальної активності синтезованих сполук.

**Savitskaya M. A., Kisurina-Evgenjeva O. P., Onishchenko G. E.**  
**VITAMIN E SUCCINATE INDUCES APOPTOSIS IN HUMAN CARCINOMA**  
**CELLS ACCOMPAINED WITH VACUOLAR SYSTEM ALTERATIONS**

*Moscow State University, Biological Faculty  
 1, Lenin Hills, p. 12, Moscow, 119991, Russian Federation  
 e-mail: nakomis@mail.ru*

Many vitamins can exert beneficial effects on cells; mechanisms of such action may be different. For example, vitamins C and E are well-known as antioxidants. Vitamin derivatives are capable to cause opposite ef-

fects and induce cell death. In some cases this action may be selective to malignant cells, and these compounds can be considered as potential antitumor drugs. Vitamin E succinate (6-tocopheryl succinate, 6-TS) can inhibit proliferation of tumor cells in vitro and in vivo, induce cell death or differentiation, decrease invasive activity etc (Neuzil et al., 2001). Mechanisms of action can be different in different cell types, but they are still being poor understood. In this work we have studied the effects of 6-TS on vacuolar system of human epidermoid carcinoma cell line.

We have demonstrated that 6-TS in concentration 40  $\mu$ M induced apoptotic cell death in A431 cells, which is accompanied with vacuolar system alterations. In 6-TS-treated cells we revealed enhanced vacuolization of the cells, consisted in vesicle number and size increasing. Acridine orange staining of living cells revealed increasing of number of vesicles of acidic vesicular compartment after 6-TS treatment. It's interesting, that the largest vesicles have not been stained with acridine orange and thus they have not acidic content. These results were confirmed by transmission electron microscopy; it has been found, that some vesicles were surrounded with double membrane. It makes possible to propose activation of autophagic processes in 6-TS-treated cells. Immunocytochemistry staining with anti-p58K antibodies demonstrated, that in 6-TS-treated cells Golgi complex becomes more compact-shaped as compared with control cells. Ultrastructural research revealed significant dilation of Golgi cisterns in 6-TS-treated cells. We have not found any alterations in ER ultrastructure after 6-TS treatment.

It has been demonstrated that 6-TS induces apoptotic cell death in human epidermoid carcinoma cells, accompanied with vacuolar system alterations. Relying on our results, we can propose that apoptosis may be accompanied with autophagic processes.

**<sup>1</sup>Замотаєв О. М., <sup>2</sup>Васильченко О. В., <sup>2</sup>Платонов М. О., <sup>2</sup>Алексєєва І. В.,  
<sup>1</sup>Пивоваренко В. Г., <sup>2</sup>Пальчиковська Л. Г.**

**СИНТЕЗ НОВИХ ПОХІДНИХ 3-ГІДРОКСИ-4-(1Н)-ХІНОЛОНУ ТА  
ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХНЬОГО ВПЛИВУ НА ПРОЦЕСИ ТРАНСКРИПЦІЇ ТА ПЛР**

*<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, Київ, 01680, Україна  
e-mail: alexzamm@gmail.com*

*<sup>2</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна  
e-mail: L.Palchykovska@imbg.org.ua*

Хінолони на сьогоднішній день стали одним із найширше використовуваних класів антибактеріальних препаратів. Біологічна активність хінолонів у більшості випадків обумовлена їхнім інгібуючим впливом на топоізомерази - ферменти, що входять у систему біосинтезу нуклеїнових кислот і відіграють ключову роль у процесах підготовки суперспіралізованих молекул ДНК до реплікації та транскрипції в прокаріотичних і еукаріотичних клітинах.

Представлена робота присвячена дизайнові та синтезу нових сполук класу 3-гідрокси-4-хінолонів і їхньому первинному тестуванню на модельних системах біосинтезу нуклеїнових кислот - транскрипції та реплікації ДНК. Ці ферментні системи вважаються одними з головних мішеней для антимікробної та противірусної терапії. Було синтезовано 33 похідних 3-гідрокси-4-хінолону. Для моніторингу активності отриманих сполук обрано модельну систему транскрипції бактеріофага T7 і полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) як аналог системи реплікації ДНК.

За результатами тестування серії похідних 3-гідрокси-4-хінолонів у транскрипційній системі та в умовах ПЛР виявлено, що ряд сполук проявляє концентраційно-залежне інгібування як синтезу РНК, так і фрагментів ДНК. Показано, що біологічна активність у досліджуваному ряду значно залежить від природи та положення замісників у гетероциклічному ядрі молекули хінолону. Декілька сполук виявило інгібуючу активність щодо обох ферментативних систем - транскрипції і ПЛР. Це можна по-

яснити тим, що обидві досліджувані системи синтезу ДНК і РНК мають досить близьку архітектуру каталітичного сайту й ідентичний механізм біосинтезу.

Застосовуючи метод молекулярного докінгу в моделі каталітичної кишені транскрипційного комплексу T7 ДНК-залежної РНК полімерази бактеріофага T7 з'ясовано можливий механізм дії синтезованих сполук.

**Zazhytska M., Chocej M., Vihreva M., Afanasieva K.**

**APPLICATION OF HIGH ETBR CONCENTRATIONS FOR DISCREMINATION OF DIFFERENT DNA DAMAGES RATES IN NEUTRAL COMET ASSAY**

*National Taras Shevchenko University, 64, Volodimirska St., Kyiv, 01601, Ukraine  
e-mail: marianna.knu@gmail.com*

Genomic DNA is organized into DNA loop domains. These domains obtain negative supercoiling after nucleosomes removal. As it was shown in numerous experiments only relaxed DNA loop domains can form comet tail during electrophoresis: intact loops can hardly form comet tail during electrophoresis because they have to overcome their own torsional constrains except agarose resistance. The mechanism of relaxation is based on removal of negative supercoiles whereby DNA exit is facilitated. Ethidium bromide (EtBr) changes supercoiling of DNA by relaxing DNA loops at low concentrations. One may suppose that gradual increasing of the EtBr concentration leads to the accumulation of the supercoiling of opposite sign resulting condensation of DNA loop domains.

Our experiments were connected with investigation the effects of EtBr on topological state of DNA loops and effectiveness of DNA exit during single cell gel electrophoresis. EtBr concentration (0,05 mg/ml) that leads to DNA loops relaxation was selected experimentally in our laboratory. After gradual increasing of EtBr concentration there was found a point where (35 mg/ml EtBr) we didn't observe DNA exit at all. In our investigations we measured kinetics of comet formation in cells which were not treated with DNA damaging agents at low (0,05 mg/ml) and high (0,35 mg/ml) EtBr concentrations and in those which were treated with X-rays at low (0,5 Gy) and high (8 Gy) does and at the same EtBr concentrations. The kinetics of DNA exit was similar at 0,05 mg/ml EtBr concentration and after 0,5 Gy X-ray treatment. Such concentration of intercalating agent leads to facilitation of comet formation due to loops relaxation. In the case of X-ray treatment such kinetics can be explained also by loops relaxation. The dose of 0,5 Gy induces nearly one single-strand break per loop domain which is enough for loops relaxation. At high EtBr concentration for both variants of cells a very low rate of DNA migration was observed.

Comparison of comet tail formation kinetics in 8 Gy irradiated cells in absence of EtBr and irradiated cells at presence of 0,05 mg/ml EtBr showed not significant differences on the plots незважаючи, що доза в 16 паз. But we observed considerable differences in kinetics of comets formation in cells irradiated with 0,5 Gy and 8 Gy at 0,35 mg/ml EtBr. In irradiated with high dose cells the level of DNA damages increased and linear fragments appeared, that is why we didn't see any effect of EtBr in 0,05 mg/ml concentration. In irradiated 8 Gy cells at high EtBr concentration we observed gradually increasing comet formation. At the same time in cells irradiated with low dose at 0,35 mg/ml EtBr we didn't see DNA exit. This fact can be connected with introduction of positive supercoiling in relaxed loops due to EtBr intercalation. So we can suggest that application of high EtBr concentration gives us opportunity bring into discredit low and high rates of cell damages on the level of individual cells.

**Жалейко І. О.**

**ОЦІНКА РЕПАРАТИВНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ КРОВОТВОРНОЇ СИСТЕМИ  
ОПРОМІНЕНИХ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН У КУЛЬТУРІ КЛІТИН *IN VIVO***

*Національний університет «Кієво-Могилянська академія»  
вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна  
e-mail: iilona@ukr.net*

Останні кілька років проводяться ґрунтовні дослідження меланінових пігментів вищих базидіоміцетових грибів як потужного протипроменевого засобу. З'ясувалося, що дана речовина є не лише

нетоксичною й економічно вигідною у виробництві, але й здатна знешкоджувати велику кількість вільних радикалів, що утворюються в клітинах організму під впливом іонізуючого випромінювання. Проте й досі відсутні дані про вплив меланінів на гемопоез. Тому нашою метою було дослідити радіопротекторну дію меланіну на гемопоетичні клітини кісткового мозку мишей у разі дії сублетальної дози іонізуючого випромінювання.

Мишей лінії Balb/C, котрі виступали донорами кісткового мозку, було поділено на три групи. До першої (контрольної) належали неопромінені тварини. Мишей другої та третьої груп було опромінено у дозі 5,85 Зв. При цьому тваринам третьої групи безпосередньо перед опроміненням внутрішньочеревно була зроблена ін'єкція меланіну у дозі 0,05 мкг на 100 г маси тварин. Після цього вилучали кістковий мозок зі стегових кісток, готували суспензію клітин на основі середовища RPMI-1640 із 10% фетальної телячої сироватки та L-глутаміном, куди додавали напіврідкий агар Difco. Суспензію поміщали у гелеві дифузійні камери, котрі занурювали в черевну порожнину мишей-реципієнтів, попередньо оброблених циклофосфаном для пригнічення імунної відповіді. Культивування проводили протягом 11 діб. Потім камери вилучали та досліджували під інвертованим мікроскопом кількість сформованих клітинних агрегатів. Операцію повторювали на 1-шу, 7-му та 30-ту добу після опромінення тварин-донорів. Для визначення статистичної достовірності показників кожної групи даних використовували непараметричний дисперсійний аналіз Краксла-Волліса та критерій Ньюмена-Кейлса для порівняння груп даних.

Результати культивування *in vivo* гемопоетичних клітин-попередників мишей свідчать про те, що на 1-шу добу після опромінення колонієутворююча активність кісткового мозку тварин, які не були захищені меланіном, знизилася порівняно з контролем (24,6±6,3 та 36,8±5,2 на 10 000 культивованих клітин), тоді як у оброблених меланіном тварин вона зросла у два рази (50,4±6,8). На 7-му добу після опромінення у культурі кісткового мозку мишей спостерігалася глибоке пригнічення колонієутворюючої здатності клітин (4,1±0,5), тоді як обробка меланіном сприяла подальшому підвищенню активності гемопоезу (55,2±4,1). На 30-ту добу після опромінення колонієутворююча здатність мишей-донорів почала поступово відновлюватися (8,2±0,3). У тварин, які отримували меланін як радіопротектор, цей показник виявився у 13 разів вищим (57±7,2 на 10 000 культивованих клітин).

Отримані результати свідчать про те, що меланіни є потужними антиоксидантами, здатними підтримувати цілісність ліпідів мембран, структурних і функціональних білків, а також молекул ДНК, захищаючи клітини від згубного впливу іонізуючого випромінювання. Подальше вивчення фармакологічних властивостей грибних меланінів дозволить розглядати їх як сировинну основу для створення нових дієвих засобів протипроменевого захисту.

### **Boss L., Dorota P., Wegrzyn G., Kedzierska B.**

#### **A PUTATIVE NEW SCHEME IN TRANSCRIPTION REGULATION OF TOXIN-ANTITOXIN SYSTEMS SHOWED IN AXE-TXE CASSETTE FROM *ENTEROCOCCUS FAECIUM***

*University of Gdansk, Dept. of Molecular Biology*

*Kiadki ,24, 80-822, Gdansk, Poland*

*e-mail: lidia.boss@biotech.ug.gda.pl*

One of the main problems of a present-day medicine is a rising number of pathogenic bacterial strains resistant to most of available antibiotics. There is an evidence that plasmids are one of the main elements responsible for spread of antibiotic resistance. Toxin-antitoxin (TA) systems, encoded by plasmids, are responsible for their stable maintenance in the bacterial cell population. The key issue in practical applications of toxin-antitoxin systems is understanding the mechanisms by which expression and regulation of those systems are controlled. These processes are poorly understood in Gram-positive bacteria.

Genes coding for toxin-antitoxin systems are widespread in both plasmid and chromosomal DNA of Eubacteria and Archaea. They form negatively autoregulated operons, in most cases composed of a gene

encoding a labile antitoxin, followed by a gene coding for a stable toxin. Antitoxin protects the host from the toxin's deleterious effect, unless bacteria lose plasmid or conditional activation of toxin takes place. Three types of TA systems have been already described. Type I, in which the toxin is a protein and the antitoxin is an RNA interfering with the toxin gene transcription, type II, in which both the antitoxin and the toxin are proteins and type III, in which the toxin is a protein and the antitoxin is an RNA directly interacting with the toxin protein. Most of TA cassettes reveal similar gene organization and expression regulation, however there are several exceptions, like: toxin-antitoxin modules in which order of genes is inverted or antitoxin gene have its own promoter as well as three component systems.

One of the first, and still few, proteic TA systems described in Gram-positive organisms was the Axe-Txe system, which was identified on the plasmid pRUM, obtained from a multidrug-resistant clinical isolate of *E. faecium* (Grady & Hayes, 2003). The gene encoding antitoxin Axe is located upstream of Txe toxin gene; the 3' end of *axe* overlaps the 5' of *txe* by 7 bp. It was reported that *axe-txe* operon is transcribed in Enterococci VRE strains and enhances plasmid stability, enabling the persistence of plasmids carrying vanA-type resistance determinant (Halvorsen et al, 2010).

In this study we provide essential information about transcription regulation of *axe-txe* operon and significant differences from other TA systems. We showed that there are two functional strong promoters within *axe-txe* operon. One promoter is located upstream *axe* ( $p_{at}$ ) and the other within *axe* gene ( $p_{axe}$ ). Thus, we propose that  $p_{at}$  is the main promoter for *axe-txe* operon and  $p_{axe}$  might be toxin's own promoter. It is also possible that transcription from  $p_{axe}$  results in formation of a small regulatory peptide that affects the balance between toxin and antitoxin. The proposed scheme indicates a multiple level of transcription regulation of the Axe-Txe system. Particularly, we investigated and discussed the role of the  $p_{axe}$  promoter.

### **Krol S., Czajor K.**

#### **FLOW CYTOMETRY- ONE TECHNIQUE, MANY DIFFERENT APPLICATIONS**

*Department of Virology and Immunology, Institute of Microbiology and Biotechnology*

*The Faculty of Biology and Earth Sciences, Maria Curie-Skłodowska University*

*19, Akademicka St., 20-033, Lublin, Poland*

*e-mails: sylwia\_krol15@wp.pl, czajor.karolina@gmail.com*

The poster presents essential principles of flow cytometry (FCM) and its diverse applications. This technique has been well-known for over 40 years - the first fluorescence-based flow cytometry device was developed in 1968. FCM has been widely applied not only in scientific research but also in clinical diagnostics. It is a highly advanced technology based on measuring chemical and physical parameters such as: fluorescence and light scatter at different angles, and analyzes multiple properties of individual particles or cells. There could be measured: shape, relative size, granularity or internal complexity, relative intensity of fluorescence. A flow cytometer is made up of three major systems: fluidics, optics and electronics.

- The fluidics system transports cells in a flow to the laser beam.
- The optics system consists of lasers to illuminate the cells in the sample stream and optical filters to direct the resulting light signals to the suitable detectors.
- The electronics system converts the detected light signals into electronic signals that can be processed by the computer.

A beam of the light (usually it is a laser light) of a single wavelength is directed onto a stream of fluid. Detectors are aimed at the point where the stream passes through the light beam - one in line with the light beam (Forward Scatter Channel FSC) and several perpendicular to it (Side Scatter Channel SSC) and one or more fluorescent detectors. Each particles or cells passing through the beam scatters the ray, and fluorescent substances found in the cell or attached to it may be excited into emitting light at a longer wavelength than the light source. This combination of scattered and fluorescent light is picked up by the detectors and by analysing

of variations in brightness at each detector it is possible to gain different information about the physical and chemical structure of each single cell. FSC associates with volume of the cell and SSC depends on the internal complexity - the quantity and type of cytoplasmic granules, shape of the nucleus or membrane roughness.

Modern flow cytometers are able to analyze several thousand particles every second, in "real time". Increasing the number of lasers and detectors allows for various antibody labeling. Flow cytometer may more precisely identify a target population of cells by their intracellular and surfaces antigens using monoclonal antibodies connected with fluorochromes. It allows to sort physically cells based on their characteristic properties and this process is called Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS). Thanks to the usage of fluorescent probe, biochemical and biological properties can be measured more easily by the flow cytometer. Certain instruments can even take digital images of individual cells. Graphs which display a single or two measurement parameters on the x-axis and the number of events (cell count) on the y-axis are called histograms.

The flow cytometry is widely applied in a number of fields such as immunology, molecular biology, pathology, protein engineering, microbiology, plant and marine biology. For instance, in marine biology it is used for characterising community structure of phytoplankton.

This technique has also appliance in medicine - in hematology, genetics, transplantation, tumor immunology and chemotherapy. It is used in the diagnosis of health disorders, especially blood cancers. But it has numerous other applications in both clinical and research purposes. Therefore, the technology of flow cytometry has a significant impact on many fields.

**Gurskiy D. Y., Krasnov A. N., Kopytova D. V.**

**STUDYING THE ROLE OF SAGA DEUBIQUITINATION MODULE  
IN TRANSCRIPTION REGULATION**

*Institute of Gene Biology RAS  
34/5, Vavilov St., Moscow, 119334, Russia  
e-mail: dima-gurski@yandex.ru*

SAGA is a multiprotein transcriptional coactivator complex that is conserved across eukaryotes. It reveals multiple functions during transcriptional activation and plays important roles in the regulation of expression of a subset genes, transcribed by Pol II. SAGA is involved in chromatin remodeling through its catalytic subunit GCN5 (acetylation of histones) and the other separate subcomplex called the deubiquitination module (DUBm). Drosophila DUBm contains the Nonstop, Sgf11, ENY2, and functions as deubiquitinating machinery of histone H2B, thereby it provides a pattern of modifications that are essential for efficient regulation of gene expression. In this study we rised specific antibody against drosophila DUBm components. Using these antibody we studied its localization in cell and on different sites of polythene chromosomes. We also demonstrated a distribution of components of DUBm in distinct fractions of nuclear extract from Drosophila embryos and its association with various regulatory elements of Drosophila genome.

**Kuzmina J. L., Vorobyeva N. E., Nikolenko J. V., Nabirochkina E. N.,  
Krasnov A. N., Georgieva S. G., Shidlovskii Y. V.**

**MECHANISMS OF GENE ACTIVATION BY TRANSCRIPTION COACTIVATOR SAYP**  
*Department of Regulation of Gene Expression, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences  
Moscow, 119334, Russia  
e-mail: juliya.kuzmina@gmail.com*

We describe the role of metazoan coactivator SAYP in nuclear receptor-driven gene activation in ecdysone cascade of Drosophila. SAYP interacts with DHR3 nuclear receptor, and activates DHR3-dependent genes by recruitment of BTFly coactivator complex. DHR3 and SAYP have multiple common targets across the genome. Using the developed system for sequential activation of ecdysone cascade genes in cell culture,



we found that SAYP is important for accurate activation of the DHR3-dependent *ftz-fl* gene of ecdysone cascade. The *ftz-fl* has a specific type of Pol II stalling with accumulated Pol II phosphorylated at Ser2 on the promoter and active transcription that is aborted inside the region of about 1,5 kbp downstream promoter. SAYP together with Brahma are specifically important for stalling mediating formation of the nucleosome-dense region around 1,5 kbp downstream the promoter. This mechanism is important in establishing of highly specific temporal pattern of the *ftz-fl* gene activation.

**<sup>1</sup>Leszczycski P., <sup>2</sup>Juszczak M., <sup>1,2</sup>Rzeski W.**

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF BETULIN AND SELECTED  
CYTOSTATIC AGENTS AGAINST NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA CELLS

<sup>1</sup>*Department of Virology and Immunology, Institute of Microbiology and Biotechnology  
Maria Curie-Sklodowska University, Lublin, Poland  
19, Akademicka St., 20-033, Lublin, Poland  
e-mail: rzeskiw@hektor.umcs.lublin.pl*

<sup>2</sup>*Department of Medical Biology, Institute of Agricultural Medicine, Lublin, Poland*

Betulin is a naturally occurring triterpenoid found in about 200 plant species, but especially in a very high concentrations in the white bark of the birch. In Poland most of that substance comes from the species such as: *Betula verrucosa* and *Betula pubescens*. Betulin proved to be a substance with multiple biological activity. Potent antiviral, hepatoprotective, antineoplastic, anticonvulsant, and immunomodulatory activity have been described. It can also be used as a precursor for the other compounds synthesis (Achrem-Achremowicz J., Z. Janeczko, 2002).

Recently, a prominent in vitro anticancer activity of betulin has been found. It was shown that the most sensitive cell lines to antiproliferative action of betulin were: HPCC (human primary cervical carcinoma), SK-N-AS (human neuroblastoma), HT-29 (human lung carcinoma), HPOC (human primary ovarian carcinoma) as well as A549 (human lung carcinoma). Moreover, in antiproliferative concentrations it produced low toxicity in normal human skin fibroblasts. Although apoptotic cell death induced by betulin in cancer cells has been detected, the molecular mechanism of its antiproliferative activity was not fully elucidated so far (Rzeski W. et al., 2009).

Lung cancer is one of the main causes of death in people with cancer. In Poland, for 20 thousand people diagnosed with lung cancer, 19 thousand die. Only 10% of patients have a chance to survive longer than 5 years. Generally, in clinical trials, lung cancer is divided into: small cell lung cancer (SCLC), comprising of 20% cases and non-small cell lung cancer (NSCLC), comprising of 80% lung cancer cases (Lewandowski T. 2003).

The aim of the research was to determine the effect of betulin and betulin combined with selected cytostatic drugs on non-small cell lung carcinoma cells (A549 cell line). The study consisted of cell proliferation, morphological changes and cell cycle and apoptosis protein expression analysis.

In a series of experiments betulin and tested cytostatic agents (cis-platin, 5-fluorouracil and camptothecin) revealed a strong antiproliferative activity against A549 cells. The antiproliferative effect was significantly enhanced when betulin was applied together with tested drugs. Light microscopy analysis showed characteristic morphological changes induced in cancer cells by tested compounds. Molecular experiments showed that betulin significantly decreased levels of important to cell survival proteins such as pRb, NF- $\kappa$ B, pAct, p-SAPK/JNK and p38.

In conclusion, our findings indicate that betulin possesses anticancer potential and could be considered as an adjunctive measure in standard lung cancer chemotherapy. Of note is the fact that for the first time the possible molecular mechanisms of betulin anticancer activity have been proposed.

**Panov V., Kuzmina J., Shidlovskii Y.**  
SAYP IS A NOVEL MEMBER OF JAK/STAT PATHWAY

*Institute of Gene Biology RAS  
34/5, Vavilov St., 119334, Moscow, Russia  
e-mail: slavun@list.ru*

SAYP (Supporter of Activation of Yellow Protein) is a transcription coactivator of RNA polymerase II, which is important for transcription of many genes in *Drosophila melanogaster*. Initially it was found in *Drosophila melanogaster*, but later its homologs were found in all metazoans. Main role of SAYP in transcription is assembling a large nuclear supercomplex, which includes Brahma and TFIID transcription factors. SAYP is expressed in many tissues at all stages of development of *Drosophila* organism. SAYP is abundant in embryos and ovary cells.

JAK/STAT signal pathway is one of multiple important signaling pathways in cell. Today many processes, which are controlled by JAK/STAT, are known. Among them are migration and differentiation of cells, apoptosis, hematopoiesis, lipogenesis, lactation and proliferation of stem cells of adult organism.

In our work we show that SAYP is involved in JAK/STAT pathway. SAYP interacts with STAT (final factor of JAK/STAT). We show that presence of SAYP is necessary for activation of STAT-depending genes. SAYP is recruited onto regulatory elements of STAT-depending genes after its activation, it is also important for processing of mRNA of STAT-depending genes.

**Рогоза Л. А., Бабасва Г. Г., Богатирьова О. О., Чиж М. О.**  
ОРГАННА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ПЕПТИДНОГО СКЛАДУ ЕКСТРАКТІВ  
КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ, СЕЛЕЗІНКИ ТА ШКІРИ СВИНЕЙ

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України  
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна  
e-mail: liliyarogoz@mail.ru*

Відомо, що пептидна регуляція відіграє важливу роль як у підтриманні гомеостазу організму в нормі, так і при різноманітних патологічних станах. Встановлено також, що екстракти кріоконсервованих фрагментів органів свиней і поросят стимулюють репаративні процеси при патологіях відповідних органів. Така біологічна дія екстрактів пов'язується з наявністю в них регуляторних пептидів. Тому дослідження пептидного складу екстрактів має важливе значення для розуміння механізму їх дії та для стандартизації біологічних препаратів на основі екстрактів тканин.

Метою роботи було встановити органну специфічність пептидного складу екстрактів кріоконсервованих фрагментів органів.

Екстракти серця, селезінки та шкіри свиней отримували з кріоконсервованих у присутності 10% ПЕО-1500 зі швидкістю охолодження 1°C/хв фрагментів органів шляхом їх інкубації в фізіологічному розчині. Термолабільні білки видаляли. Екстракти вводили щурам у черевну порожнину. Екстракти серця та шкіри щурів отримували інкубуванням фрагментів органів у фізіологічному розчині протягом 60 хв. Для визначення молекулярно-масового розподілу речовин пептидної природи в екстрактах використовували високоефективну гель-проникаючу хроматографію. Спектрофлуориметричні дослідження проводили на спектрофлуориметрі Varian Cary Eclipse.

Встановлено, що молекулярно-масовий розподіл пептидів в екстрактах залежить від біологічного матеріалу, з якого одержано екстракт, та від віку тварин. Спектри флуоресценції кріоконсервованих фрагментів серця, шкіри та селезінки перебувають у ділянці 290–450 нм, але відрізняються між собою за формою та інтенсивністю, що свідчить про різний амінокислотний склад пептидів. При збудженні світлом з довжиною хвилі 280 нм максимум спектрів флуоресценції знаходиться в області 340–354 нм, що може свідчити про наявність в екстрактах доступних розчиннику залишків триптофану. Показано

також, що складові екстрактів зв'язуються з альбуміном сироватки крові, який є одним із основних транспортних білків в організмі.

Додатковим підходом до оцінки складу екстрактів є їхні синхронні спектри, чутливі до зміни стану мікрооточення триптофанових і тирозинових залишків у білках і пептидах. Встановлено, що синхронні спектри дають можливість не тільки виявити розбіжності у складі екстрактів, що досліджуються, але й отримати їх індивідуальні спектральні топограми, які є, по суті, спектральними характеристиками відповідних екстрактів. Отже, вони можуть використовуватись для ідентифікації і стандартизації екстрактів. Введення екстрактів у черевну порожнину щурів змінює молекулярно-масовий розподіл пептидів сироватки крові та їх спектри флуоресценції. Вираженість цих змін залежить від екстракту і дози введених пептидів.

Таким чином, одержані дані свідчать, що спектри молекулярних мас пептидів, які входять до складу екстрактів, залежать від органа, з фрагментів якого вони були одержані. Відмінності у спектрах флуоресценції та синхронних спектрах екстрактів свідчать про їх різний якісний і кількісний склад. Одержані результати можуть знайти використання при з'ясуванні механізмів тканиноспецифічної регуляторної дії пептидів.

**<sup>1</sup>Rojczyk E., <sup>2</sup>Bednarczyk-Cwynar B., <sup>2</sup>Zaprutko L., <sup>1</sup>Jyzkowicz A.,  
<sup>1</sup>Dulak J., <sup>1</sup>Loboda A.**

**ACTIVATION OF NRF2 BY OLEANOLIC ACID DERIVATIVES  
IN KERATINOCYTES AND FIBROBLASTS**

*<sup>1</sup>Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology  
7, Gronostajowa St., 30-387, Cracow, Poland*

*<sup>2</sup>Department of Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Medical Sciences, Poznan, Poland  
e-mail: ewa.rojczyk@uj.edu.pl, agnieszka.loboda@uj.edu.pl*

Antioxidant-responsive element (ARE) represents a common cis-acting regulatory element in the 5' flanking region of genes that are transcriptionally activated by oxidants. It functions via transcription factor called nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) that regulates expression of many detoxification and antioxidant enzymes, molecular chaperones/stress response proteins, as well as proteasome subunits. It interacts with Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1) that inhibits its ability to translocate to the nucleus by promoting ubiquitination of lysines in Nrf2 and subsequent proteasomal degradation of this protein. Phase II enzyme inducers and/or pro-oxidants can cause oxidation or covalent modification of critical cysteine residues of KEAP1, inhibiting the enzymatic activity of the ubiquitination complex. As a result, Nrf2 is released from KEAP1 and can translocate to nucleus where together with small MAF proteins binds ARE to stimulate gene expression. Several Nrf2 activators that trigger the release of Nrf2 from KEAP1 are extensively studied for the prevention of diseases associated with oxidative stress (including cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases).

Recent studies indicate that triterpenoids (a big family of natural compounds synthesized in plants by cyclization of squalene) may exert cytoprotective functions connected with activation of Nrf2. Oleanolic acid (OA), triterpenoid produced by *Phytolacca americana* (American pokeweed), *Syzygium* spp and garlic has been shown to have weak hepatoprotective and antitumour activities. However, based on structure of OA, many derivatives called synthetic oleanane triterpenoids (SO), with better anti-inflammatory and cytoprotective properties have been obtained.

The primary goal of the study was to determine the effect of 30 oleanolic acid derivatives on Nrf2 transcription factor activation. Experiments were performed on two cell types - murine fibroblast NIH3T3 and human keratinocyte HaCaT cell lines. In the first set of experiments the effect of tested compounds on viability of cells was assessed by the use of LDH leakage and MTT reduction assays. In order to check Nrf2 activation,

the cells were transfected with reporter plasmid containing luciferase gene under the control of ARE sequence, stimulated with non-toxic concentrations of OA derivatives and then subjected to chemiluminescence analysis. Prostaglandin J2 (PGJ2), known Nrf2 inducer was used as a positive control.

The obtained results indicate that some derivatives of OA cause Nrf2 activation both in HaCaT and NIH3T cells, although the effects may be cell type specific as different compounds variously act in two cell lines. The further analysis have to be perform to assess the effect of the best compounds on cell proliferation and pro-angiogenic/anti-inflammatory gene expression.

### **Sosicka P., Olczak M.**

#### OVEREXPRESSION AND PURIFICATION OF RECOMBINANT VERSION OF ENDOGLYCOSIDASE F

*University of Wroclaw, Department of Biochemistry  
1, Uniwersytecki Sq., 50-137, Wroclaw  
e-mail: paulinka604@gmail.com*

Endoglycosidase F (EC 3.5.1.52) is an enzyme also known as PNGase F. It is originally produced by *Flavobacterium meningoseptum*. PNGase F removes carbohydrate residues from proteins. This amidase cleaves between innermost N-acetylglucosamine and asparagines residues of high mannose as well as hybrid and complex oligosaccharides from N-linked glycoproteis. Because of this characteristic activity PNGase F has been used as a powerful “tool” for structural and functional studies of N-linked glycoproteins.

To assay the activity of endoglycosidase F RNase B is used. This glycoprotein has a single, N-linked glycosylation site. Molecular weight of RNase B is 17 kDa, but after deglycosylation this protein has only 13.7 kDa. One unit of this endoglycosidase is defined as the amount of enzyme required to remove more than 95% of the carbohydrate from 10 µg of denatured RNase B in 1 hour at 37 °C (in total reaction volume of 10 µl). Because of that it is very easy to assay endoglycosidase F activity using SDS-Page.

### **Янко В.**

#### ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДІВ ВИДІЛЕННЯ ТА КРІОКОНСЕРВУВАННЯ КАРДІОМІОЦИТІВ

*Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України  
вул. Переяславська 23, м. Харків, 61015, Україна  
e-mail: sunnyval@mail.ru*

У всьому світі на сьогоднішній день серцево-судинні захворювання посідають одне з перших місць серед причин смерті. За останнє десятиліття інтенсивні наукові дослідження зробили значний внесок у вирішення проблем діагностики, лікування та профілактики серцево-судинних захворювань (Nair Sreejayan, Jun Ren, 2007).

В основі усіх сучасних методів лікування патології серця лежать відновлення кровопостачання серця, хірургічне remodelювання його порожнин. У пацієнтів із критичним зниженням маси життєздатного міокарда внаслідок дифузного некрозу та/або апоптозу ні хірургічні, ні, тим більше, терапевтичні заходи неефективні, оскільки регенераційні властивості серця вельми обмежені. Кардіоміоцити не володіють значимою проліферативною активністю, при пошкодженні міокарда переважають фібропластичні реакції стромы, що є необоротними. Отже, існує потреба у розробці принципово нових підходів до лікування пацієнтів із захворюваннями серця. Низка найбільших досягнень молекулярної та клітинної біології кінця ХХ - початку ХХІ ст. відкрили широкі перспективи для створення принципово нових і ефективних біомедичних технологій.

В експериментальних дослідженнях останніх років було показано, що трансплантація клітин різного фенотипу (ембріональні кардіоміоцити, міобласти, дорослі преіференційні стромальні клітини кісткового мозку та ін.) позитивно впливають на скоротливу функцію міокарда, відзначаються репа-

ративні процеси в місці пошкодження, обмеження зростання зони інфаркту міокарда. Серед основних досліджуваних ефектів від імплантації клітин відзначаються репаративні процеси у місці пошкодження, обмеження зростання зони інфаркту міокарда, зміна механічних властивостей ремодельованого м'яза серця, поліпшення васкуляризації міокарда шляхом стимуляції неоангіогенезу (Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al., 1996). З іншого боку, створення культури життєздатних кардіоміоцитів як експериментальної тест-системи, дозволяє вивчати дію різних пошкоджуючих факторів на клітини, а також на клітинному рівні відстежувати ефективність препаратів та їх дію, що підвищує можливість удосконалення терапії серцево-судинної патології.

Проблемам збереження біологічного матеріалу присвячено багато наукових робіт, адже кріоконсервування – надійний засіб для довгострокового зберігання тканин і клітин, серцевих клапанів, кровеносних судин, та клітин кісткового мозку. (Müller-Schweinitzer E, Stulz P, Striffeler H, Haefeli WE, 1998). Кріоконсервація кардіоміоцитів представляє провокаційну область наукових досліджень, які можуть служити, щоб розкрити нові засоби відновлення серцевої функції у пацієнтів (Hiroki Yokomuro, Ren-Ke Li, Donald A. G. Mickle and others, 2001). Тому проблема виділення і кріоконсервування кардіоміоцитів залишається актуальною.

**ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН / PLANTS PHYSIOLOGY****Бакун В., Пацула О., Терек О.****СТАН ПІГМЕНТНОЇ СИСТЕМИ РОСЛИН РІПАКУ  
ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І РЕГУЛЯТОРА РОСТУ***Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Стрес і адаптивні реакції у рослин пов'язані з такими основними процесами, як ріст і фотосинтез. Фотосинтез приймає безпосередню й активну участь у цих процесах. Його роль у репараційних процесах пов'язана з біосинтезом гормонів з первинних продуктів фотосинтезу. Тому він є чутливим індикатором реакції рослин на різну дію факторів зовнішнього середовища. Вивчення фотосинтезу важливе як у практичному, так і в теоретичному сенсі, оскільки такі дослідження допомагають краще зрозуміти шляхи адаптації як самого процесу фотосинтезу, так і рослини в цілому до такого екологічного фактора, як важкі метали.

Дія важких металів у високих концентраціях на рослини призводить до пригнічення їх росту і розвитку, порушення багатьох фізіологічних і біохімічних процесів, включаючи фотосинтез, транспірацію, біосинтез білків, мінеральне живлення та ін. Наприклад, за дії ВМ порушується ультраструктура хлоропластів, знижується вміст хлорофілів і каротиноїдів, зменшується активність ключового ферменту фотосинтезу – РБФК, інгібується робота фотосистеми 2 і циклу Кальвіна (Таланова, Титов, Ботева, 2001).

У багатьох випадках зростання життєздатності рослин за несприятливих умов досягають шляхом застосування регуляторів росту (Терек та ін., 2004). Відомо, що регулятори росту рослин, створені в Інституті нафтохімії та біоорганічної хімії НАН України, позитивно впливають на ріст сільськогосподарських культур (Пономаренко, 2001). Одним із таких сучасних регуляторів є трептолем – комплекс 2,6-диметилпіридин-1-оксид з бурштиновою кислотою – 50 г/л та Емістиму С – 1,0 г/л (ІБОНХ НАНУ, МНТЦ «Агробіотех», ЗАТ «Високий урожай») (Грицаєнко та ін., 2008).

Метою нашої роботи було виявити особливості впливу іонів цинку і купруму та регулятора росту трептолему на вміст фотосинтетичних пігментів у рослин ріпаку.

Досліди проводили на проростках ріпаку (*Brassica napus*) сорту Микитинецький. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому трептолемом, у концентрації 1 мл/л, фільтрувальному папері. Після цього проростки пересаджували на розчини, які містили: цинк ( $10^{-3}$ М) і купрум ( $10^{-5}$ М) сульфати та поживне середовище Холланда-Арнона. Контролем слугували рослини, вирощені на поживному середовищі Холланда-Арнона. Через 7, 14 та 21 добу у дослідних і контрольних рослин визначали вміст фотосинтетичних пігментів. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів проводили за методом Хольм-Веттштейна (Мусієнко та ін., 2001). Антоціани екстрагували та визначали за методом Beggs і Wellmann (Jaleel et al., 2009).

Встановлено, що дія іонів цинку та купруму призводила до зниження концентрації хлорофілів. За сумісної дії регуляторів росту і важких металів вміст хлорофілів у рослин ріпаку суттєво не змінювався, порівняно з контролем. За дії іонів важких металів вміст хлорофілу b знижувався більш значною мірою, ніж хлорофілу a. Можливо, це пов'язано з інгібуванням ферментів синтезу хлорофілу.

Каротиноїди відіграють важливу роль у життєдіяльності всіх живих організмів, оскільки активно беруть участь в окислювально-відновних процесах клітини. Вміст каротиноїдів збільшувався зі зростанням концентрації вмісту іонів  $Zn^{2+}$  і  $Cu^{2+}$  у середовищі щодо контролю. Доведено, що каротиноїди беруть участь у захисті рослин від дії стресових чинників, зокрема до дії важких металів. Пошкоджувальний ефект токсичних металів є елементоспецифічним, Cu, Pb, Zn взаємодіють безпо-

середньо з мембранами тилакоїдів фотосинтетичного апарату, тоді як Cd і Ni взаємодіють з іншими метаболічними процесами рослин (Бессонова, 2006).

Отримані результати свідчать, що трептолем знімає інгібуючий вплив іонів цинку та купруму не тільки на вміст хлорофілу в листках, але й на ростові процеси коренів і пагонів ріпаку.

### **Безносюк С., Баранов В.**

#### **АСКОРБАТНА АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА СТІЙКОСТІ КУНИЧНИКА НАЗЕМНОГО (*CALAMAGROSTIS EPIGEOUS* L.) ЗА РОСТУ НА ПОРОДНИХ ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: besnosuk89@rambler.ru*

Ґрунтово-кліматичні умови породних відвалів вугільних шахт Червоноградського промислового району Львівської області є прикладом дії багатофакторного стресу на більшість рослин. До факторів стресу належать висока кислотність (рН 2,8-4,3), значне перевищення ГДК важких металів, висока температура субстратів, практично відсутність органічної маси, велика водопроникність. У цих умовах ростуть небагато видів рослин – окремі екземпляри сосни звичайної, берези, верби козячої, вільхи, а із злакових основним аборигенним видом є куничник наземний.

Вивчення аскорбатної системи проводилося з окремими видами стресових дій, тоді як умови відвалу являють собою приклад багатофакторного виду стресу.

При вивченні вмісту компонентів аскорбатної системи в органах рослин куничника вміст аскорбінової кислоти у листках і коренях був скрізь однаковим та меншим у суцвіттях з насінням. За росту на субстратах відвалу її вміст збільшувався в коренях і суцвіттях, але зменшувався в листках, порівняно з рослинами в лісі. Вміст дегідроаскорбінової кислоти (ДАК) був мінімальним у коренях і збільшувався в листках і далі в суцвіттях, а у рослин, які росли на породах, навпаки, зменшувався в суцвіттях, вміст у листках залежав від виду субстрату. Вміст дикетогулонової кислоти (ДКГК) у всіх варіантах був більший ніж вміст ДАК, крім того, спостерігалася зворотна залежність змін їх кількості у рослин на різних ґрунтових субстратах породного відвалу.

Отримані дані свідчать про активну антиоксидантну дію аскорбатної системи при дії багатофакторного стресу і необхідність детального вивчення її компонентів при дії окремих факторів, що допоможе виявити домінуючі та мінімальні фактори дії на цю захисну систему і характер їхньої взаємодії.

### **Бойко І., Кобилецька М., Терек О.**

#### **АКТИВНІСТЬ ХЛОРОФІЛАЗИ У ЛИСТКАХ РОСЛИН ЗА ДІЇ ЙОНІВ КАДМІЮ ТА САЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ**

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

Хлорофілаза (хлорофіл-хлорофілід гідролаза, КФ 3.1.1.14) бере участь у метаболізмі хлорофілу, каталізуючи відщеплення фітольної частини з утворенням вільного фітолу та хлорофіліду. Фізіологічна роль хлорофілази вивчена недостатньо. Реакція розщеплення хлорофілу хлорофілазою вважається першим кроком у катаболізмі хлорофілу. Активність хлорофілази може корелювати з вмістом хлорофілу в старіючих листках, а також із продукцією етилену. Проте хлорофілазна активність виявлена також у молодих листках, зеленіючих тканинах і в періоди активного синтезу хлорофілу (Benedetti et al., 2002). Хлорофілаза локалізована в обох фотосистемах, її активність регулюється за рахунок обернених змін міцності її зв'язку з мембранами (Фомішина та ін., 2009). Відомо, що хлорофілаза не взаємодіє з молекулами хлорофілу, які є зв'язаними з ліпопротеїдами мембран хлоропластів. Вважають, що даний

фермент є компартментально відділений від пігментів фотосистем, і його активність різко зростає при деструкції мембран хлоропластів (Ardao et al., 1960; Fang et al., 1998).

Можливою є роль хлорофілази у детоксикації вільного хлорофілу та його порфіринових похідних, які можуть індукувати фотоксидативний стрес шляхом передачі електронів на активні форми кисню у пошкоджених тканинах листків. Активацією ферменту в даному випадку стає руйнування мембран хлоропластів (Matile et al., 1996). Встановлені зміни активності ферменту в листках рослин за стресових умов (García et al., 1987). При ураженні рослин арабідопсису патогенами виявлено зниження активності гена хлорофілази, що призвело до зростання вмісту активних форм кисню й індукції формування саліцилат-залежної системної набутої стійкості (Kariola et al., 2005). Вплив іонів важких металів також призводив до підвищення гідролітичної активності хлорофілази (Mysliwa-Kurdział et al., 2004).

Завданням даного дослідження було вивчення впливу іонів кадмію та дії саліцилової кислоти (СК), яка є потенційним стреспротектором рослин (Porova et al., 1997), на активність хлорофілази. Для експериментів використовували листки 28-добових рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту «Поділька» та кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубовидна. Активність хлорофілази визначали у 60% ацетоновому екстракті після годинної інкубації та виражали у% конверсії хлорофілу в хлорофілід (Гавриленко и др., 1975). У ході досліджень спостерігали зростання активності хлорофілази за дії іонів кадмію як у рослин пшениці, так і кукурудзи. Обробка рослин пшениці СК призводила до зниження активності ферменту щодо рослин, які зазнали впливу стресора; для рослин кукурудзи позитивний ефект виявив лише вплив саліцилату в концентрації 500 мкМ. Самостійний вплив СК на активність хлорофілази досліджуваних рослин відрізнявся залежно від об'єкта досліджень, концентрації ефектора й методу обробки. Так, у варіантах з передпосівним замочуванням насіння кукурудзи у розчинах СК спостерігали певне зростання активності ферменту, на відміну від рослин, які зазнали впливу СК шляхом обприскування 7-добових проростків, у листках яких виявлено зниження активності досліджуваного ферменту. Активність хлорофілази у листках рослин пшениці змінювалася залежно від концентрації СК – за дії 100 мкМ СК відбувалося зростання активності ферменту, а обробка насіння/проростків 500 мкМ СК викликала зниження цього показника.

Дані дослідження вказують на те, що екзогенна саліцилова кислота бере участь у регуляції фотосинтетичного процесу рослин; одним із можливих шляхів її дії є модуляція активності ферментів (на прикладі досліджуваної нами хлорофілази) за участю сприяння генерування активних форм кисню у стресових та нестресових умовах.

### **Борис Й., Пацула О.**

#### **ОКСИДАНТНІ ПОШКОДЖЕННЯ РОСЛИН КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ІОНІВ СВИНЦЮ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Серед найагресивніших забруднювачів довкілля, які згубно впливають на біосферу, є іони важких металів. Системна шкідлива дія іонів важких металів з року в рік посилюється, оскільки вони можуть істотно знижувати природну стійкість біологічних об'єктів до біотичних і абіотичних чинників середовища та внаслідок розширення сфери господарської діяльності і збільшення антропогенного тиску. До найнебезпечніших забруднювачів біосфери належить свинець, оскільки він має довготривалий характер дії. Тому метою наших досліджень було встановити вміст пероксиду водню та малонового діальдегіду за дії іонів свинцю різних концентрацій.

Дослідження проводили із рослинами кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубоподібна. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому водою фільтрувальному папері у темному термостаті за температури +24°C. Після цього проростки пересаджували на водні



розчини ацетату свинцю у концентрації  $10^{-3}\text{M}$ ,  $10^{-4}\text{M}$ ,  $10^{-5}\text{M}$ . Контролем слугували рослини, вирощені на середовищі Холанда-Арнона. Через 7 і 14 діб у дослідних та контрольних рослин визначали вміст пероксиду водню і зміни вмісту малонового діальдегіду.

У результаті досліджень встановлено, що зі збільшенням концентрацій іонів свинцю вміст малонового діальдегіду зростає, це спостерігалось як у 7-добових так і у 14-добових проростках рослин кукурудзи. Таке нагромадження цього метаболіту може служити показником підвищення активності окислювальних процесів, обумовлених кисневими радикалами.

Вміст пероксиду водню у рослин, вирощених на розчинах ацетату свинцю у концентрації  $10^{-4}\text{M}$  і  $10^{-3}\text{M}$ , зростає у коренях і в пагонах, порівняно із контролем. У рослин, що росли на концентрації ацетату свинцю  $10^{-5}\text{M}$ , спостерігалось зменшення  $\text{H}_2\text{O}_2$ , щодо інших варіантів, це може бути пов'язано з адаптацією рослин до несприятливого фактора, а також із активністю пероксидази.

Таким чином встановлено, що при вирощуванні рослин на розчинах свинцю зі зростанням концентрації цього іона у середовищі помічено збільшення малонового діальдегіду та пероксиду водню в коренях і пагонах рослин.

### **Гавданович Ю., Величко О.**

#### **МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ РОСЛИН СОЇ В УМОВАХ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Поряд з такими поширеними забруднювачами як важкі метали, пестициди, отрутохімікати та ін. у ґрунті постійно потрапляють також нафта та продукти її переробки. Нафтозабруднені ґрунти характеризуються гідрофобністю, погіршеною аерацією, засоленістю, наявністю токсичних елементів та ін. Тобто рослин, перебуваючи в умовах нафтозабрудненого ґрунту, піддаються дії відразу багатьох екстремальних чинників. Природа адаптації рослин до таких умов є малодослідженою. Її ж з'ясування дозволить розробити ефективні методи тестування стійкості рослин та способи їх захисту від негативної дії нафтового забруднення, а також сприятиме цілеспрямованому підходу до створення нових форм толерантних до даних умов рослин методами селекції, мутаційної генетики, генної інженерії тощо з метою їх застосування для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів.

Вивчали природу морфо-фізіологічних змін рослин сої, висаджених у ґрунт, в який вливали сиру нафту з міста Борислав. Аналізували будову кореневої системи, діаметр кореневої шийки, довжину гіпокотилів та епікотилів рослин, а також визначали інтенсивність дихання рослин сої в умовах нафтозабрудненого ґрунту.

Встановлено, що довжина гіпокотилів 10-добових рослин сої з ґрунту, що містив 5 і 8% нафти, була меншою відносно рослин з контролю на 27 і 34% відповідно. У наступні 7 діб росту довжина підсім'ядольних колін як рослин з контролю, так і із забрудненого ґрунту, практично не змінювалася. Подальший ріст відбувався за рахунок росту епікотилів. Виявилось, що інгібуюча дія нафтового забруднення проявлялася у більшій мірі на пригніченні росту епікотилів: довжина епікотилів 17-добових рослин з забрудненого ґрунту (8 %) була меншою від епікотилів контрольних рослин на 61 %. Отримані результати дають підстави вважати, що забруднення ґрунту нафтою менше впливало на ріст рослин за рахунок поживних речовин сім'ядоль, й істотніше – на період, коли розпочинається автотрофне живлення рослин. Отримані дані, очевидно, свідчать про негативний вплив нафтового забруднення на асиміляційні процеси у рослин.

Крім цього, встановлено зростання інтенсивності дихання рослин сої у забрудненому ґрунті пропорційно до зростання кількості нафти у ґрунті (від 5 до 8%). Інтенсивність дихання 17-добових рослин сої за дії 8% нафти у ґрунті переважає контрольний рівень більше, ніж утричі.

Отож, отримані результати показали, що наявність нафти у ґрунті пригнічувала ростові процеси рослин сої, що відбувалося, в основному, за рахунок інгібування росту епікотилів рослин. Рослини із нафтозабрудненого ґрунту характеризувалися підвищеними рівнями дихання.

**<sup>1</sup>Буньо Л. В., <sup>2</sup>Войтенко Л. В.**

**ВМІСТ ІОК В РОСЛИНАХ *CAREX HIRTA* L. ЗА ДІЇ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ**

<sup>1</sup>*Кафедра фізіології та екології рослин, Львівський національний університет імені Івана Франка*

<sup>2</sup>*Відділ фітогормонології Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України*

*e-mail: bioza@ukr.net*

Функції ауксинів в розвитку стійкості до стресів почали вивчатись ще в 50-х роках минулого століття, проте, одержані дані не є однозначними і вичерпними до сьогодні і є дискусійними: в одних випадках стрес приводить до зменшення ауксинів, в інших – навпаки, до збільшення. Встановлено, що під час засухи знижується рівень ауксинів (Hartung, Witt, 1969). Деякий час вважалось, що температурні стреси викликають зменшення кількості ауксинів з наступним зниженням ростової активності (Гуревич, 1979). Однак, холодове і температурне загартування значно збільшувало кількість ауксинів, особливо на початкових етапах (Волкля и др., 1991).

Основне призначення змін рівня вільної ІОК на ранніх стадіях теплового шоку полягає в запуску механізмів захисту, а накопичення АБК є вже наслідком і проявом роботи цих захисних систем (Abel, Theologis, 1996). Крім цього, вже давно відомо про існування метаболічного зв'язку між ІОК та АБК: накопиченню АБК передує пік ІОК (Чкаников, Makeev, Микитюк, Петелина, 1978).

Тому ми поставили собі за мету визначення ІОК в рослинах *Carex hirta*, які піддавалися стресовим впливам. 30-ти добові рослини осоки шорстковолосистої (*Carex hirta* L.), які росли на нафтозабрудненому ґрунті (50 г/кг) фіксували в рідкому азоті і визначали ІОК за загально відомою методикою (Методические рекомендации, 1988; Савинський, 1991). Аналітичне визначення проводили методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 LC з діодно-матричним детектором (DAD). Дослідження вмісту фітогормонів проводили у 3 біологічних і 3 аналітичних повторностях.

Вміст ІОК у листках рослин осоки за дії нафти зменшився майже у 7 разів у порівнянні до контролю. Про зниження рівня вільної ІОК за умов впливу різних стресових чинників повідомляють численні літературні джерела (Косаківська, 1997; Пахомова, 1996). Зменшення вмісту ІОК спостерігають на початкових етапах за дії дефіциту вологи (Косаківська, 2003). Це приводить до гальмування процесу росту, і в подальшому до пристосування до несприятливих умов.

У підземних органах осоки спостерігається зростання вмісту ІОК за дії нафти: у коренях більше ніж в 6 разів до контролю і в кореневищах у 2 рази. Можна припустити, що стимуляція росту підземної частини осоки за дії нафтового забруднення ґрунту пов'язана саме із збільшенням концентрації ІОК. Про збільшення вмісту ІОК в процесі адаптаційної відповіді органа на стрес повідомляють деякі джерела літератури (Vysotskaya, Kudoyarova, 1998; Жолкевич, Пустовойтова, 1993).

Крім того відомо, що за умов водного стресу ІОК регулює метаболізм та ріст коренів (Ribault, Pilet, 1994). Значно вищий, порівняно з контролем рівень ІОК у рослин, що зазнали водного стресу, сприяє акумуляції АБК, яка, в свою чергу, регулює процес росту (Sakurai, Akiyama, Kuraiishi, 1985).

Варто підкреслити, що зростання ІОК у підземних органах *Carex hirta* відбувається за рахунок збільшення зв'язаних форм. Вважається, що у рослин більше активні вільні ауксини, що виконують регуляторну роль, однак наявні також відомості про активну роль зв'язаних форм гормону в ростових процесах (Kende, 1997).

Таким чином, нафтозабруднений ґрунт приводить до змін концентрацій ІОК в рослинах осоки шорстковолосистої: зменшення вмісту гормону у листках і збільшення у кореневищах та коренях, які безпосередньо контактують із нафтою. Це допомагає рослинам пристосуватися до складних умов середовища існування.

Робота виконана за підтримки WUBMRC (13 конкурсу).

**<sup>1</sup>Горон М., <sup>1</sup>Джура Н., <sup>2</sup>Романюк О., <sup>1</sup>Терек О.**  
РОЗРОБКА ЕКСПРЕС-МЕТОДУ ОЦІНКИ ТОКСИЧНОСТІ  
НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ГРУНТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ФІТОТЕСТІВ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Відділення фізико-хімії горючих копалин, Інститут фізико-органічної хімії  
і вуглекислоти ім. Л. М. Литвиненка НАН України  
вул. Наукова 3<sup>а</sup>, м. Львів, Україна  
e-mail: Gjurana@ukr.net

Якість ґрунту визначається як ключова у стійкості екосистем. Для її оцінки визначають різні фізико-хімічні та механічні параметри. Однак, для вивчення потенційного впливу на екосистему необхідною є оцінка токсичності через серію біотестів, в яких досліджується реакція живих організмів (Banks, 2005).

У зв'язку з цим виникає необхідність розробки методик для кількісної оцінки ступеня забруднення ґрунту та його токсичності з метою прогнозу впливу на екосистему. В цьому відношенні рослинні тест-системи мають істотні переваги: простота обліку ефектів та інтерпретації результатів, чутливість і відтворюваність результатів, економічність, швидкість аналізу робить доцільним їх застосування для оцінки екологічних ризиків забруднення екосистем.

Нафтозабруднені ґрунти характеризуються високою токсичністю та тривалим періодом природного очищення. Оперативну інформацію про фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту можна отримати, використовуючи як тест-об'єкти насіння та проростки рослин. У рослинних тест-системах для вираження токсичності досліджуваного субстрату використовують показники схожості насіння, росту кореня та пагона (Гродзинський, 2006).

Відомо, що рослинні об'єкти відрізняються за фізіологічними характеристиками і біохімічним складом, їх реакція значно залежить від умов середовища, умов проведення експерименту. У зв'язку з цим при застосуванні кожної рослинної тест-системи необхідним є етап калібрування – випробовування даної тест-системи з використанням різних концентрацій забруднювачів.

Тест-система є придатною до застосування за умови, якщо можна одержати лінійні залежності між дозою фактора та величиною відповідного параметру, що досліджується. Одержані в природних умовах результати порівнюють з кривими „доза-ефект”, отриманими в лабораторних умовах (Гродзинський, 2006). Таким чином, можна визначити приблизну концентрацію нафти у ґрунті та оцінити його токсичність.

Враховуючи вищесказане, метою даної роботи є розробка експрес-методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів за допомогою фітотестів – льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.) та соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.). Насіння пророщували у чашках Петрі, в термостаті (t 24°C), на зволоженому (75%) ґрунті, забрудненому нафтою у концентраціях 1, 2.5, 5, 10, 15 і 20 % протягом 6 діб. Фітооцінку токсичності нафтозабрудненого ґрунту проводили на основі тест-показників: індексу схожості насіння та морфометрії коренів і пагонів.

Показано, що із зростанням концентрації нафти у ґрунті, індекс схожості насіння *L. usitatissimum* прямолінійно зменшувався на проміжку 8-15 % нафти, тоді як у *H. annuus* – на проміжку 5-15 % нафти. Встановлено лінійну залежність між індексом кореня фітотестів та концентрацією нафти на проміжку від 5 до 15 % (при 15 % корінь не розвивався). Між індексом пагона *L. usitatissimum* та концентрацією нафти у ґрунті лінійну залежність спостерігали від 1 %-го забруднення, а у *H. annuus* – від 5 %-го.

Отже, на основі досліджуваних показників фітотестів *Linum usitatissimum* L. та *Helianthus annuus* L. можна оцінювати токсичність нафтозабруднених ґрунтів.

**Кавулич Я., Бойко І., Кобилецька М.****ВПЛИВ САЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ,  
РІСТ І ФОТОСИНТЕТИЧНУ СИСТЕМУ РОСЛИН ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ**

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

У сучасному довкіллі рослинний організм піддається багатьом негативним впливам, серед яких важливе місце займає промислова діяльність. Це призводить до підвищення вмісту важких металів у навколишньому середовищі. До важких металів відносять метали з атомним числом, більшим двадцяти, густина яких становить  $5 \text{ г/см}^3$  (Barcelo et al., 1990). Важкі метали чинять токсичний вплив на рослинні організми. До дуже токсичних належать такі хімічні елементи: Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Te, Rb, Ag, Cd, Au, Hg, Pb, Sb, Bi, Pt (Алексева-Попова, 1991). Дія іонів важких металів спрямована на клітинні мембрани, також вони можуть змінювати активність ферментів, інгібувати ріст коренів, впливати на водний режим і транспорт фотоасимілятів (Гуральчук, 1994). Багато металів ініціюють утворення активних форм кисню (АФК), які негативно впливають на клітинні структури. АФК викликають перекисне окиснення ліпідів, що призводить до підвищення проникності мембран. Індикатором рівня забруднення важкими металами може слугувати зниження хлорофілу в листках, адже високі концентрації іонів важких металів у середовищі призводять до хлорозу листків. З літератури відомо, що іони Cd негативно впливають на світлову фазу фотосинтезу. При дії низьких концентрацій цього металу (30-120 мкм) ФС II пошкоджується більше ніж ФС I (Padmaja et al., 1990).

У рослин у процесі еволюції розвинулися складні механізми захисту від шкідливих впливів навколишнього середовища. Рослинний організм володіє різними механізмами стійкості до дії важких металів, до яких належать: синтез низькомолекулярних білків металотіонеїнів і фітохелатинів, апопластні та симпластні бар'єри, а також неспецифічні механізми стійкості до дії стресора. До факторів, які здатні підсилювати природні механізми стійкості рослин до токсичного впливу іонів важких металів, належить також салцилова кислота (СК). Ця сполука локалізується у тканинах рослин у вигляді глікозидів або ефірів, володіє широким спектром дії на рослинний організм, проте її роль у метаболізмі рослин вивчена недостатньо (Agarwal et al., 2005).

Відомо, що СК бере участь у підвищенні стійкості рослин до стресових факторів біотичного й абіотичного походження, може впливати на генерацію АФК, антиоксидантну систему, фітогормональний баланс, брати участь у формуванні системної набутої стійкості рослин (Raskin, 1992).

Метою нашої роботи є дослідити вплив СК на схожість і енергію проростання, ростові процеси та пігментну систему 14 і 21-добових рослин пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт «Подольянка») за дії іонів кадмію. Виявлено, що СК володіє здатністю стимулювати проростання насіння, позитивно впливати на висоту рослин, площу асиміляційної поверхні та вміст фотосинтетичних пігментів за токсичної дії іонів кадмію.

**Ковальчик Марія, Величко О.****ВМІСТ АСКОРБАТУ В ОРГАНАХ РОСЛИН СОЇ ЗА ЕКСТРЕМАЛЬНИХ УМОВ  
НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ГРУНТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Невпинне зростання обсягів споживання енергії та сировини спричинює інтенсифікацію процесів їх отримання. Сучасний рівень цивілізації та технологій немислимий без високо розвинутої нафтової промисловості.

Видобуток нафти призводить до забруднення, насамперед, ґрунтів, що спричинює виникнення різнобічних за характером наслідків, а зокрема – стійку гідрофобізацію ґрунту, засоленість, зниження аерованості, призводить до нагромадження у ґрунті токсичних елементів та ін. У відповідь на екстремальні умови у клітинах рослин, серед іншого, відбувається посилене утворення активних форм кисню, унаслідок чого запускаються деструктивні вільнорадикальні окисні процеси, й зокрема – пошкодження мембран у результаті перекисного окиснення ліпідів. Для протидії окислюючої деструкції у клітинах рослин активується антиоксидантна система захисту.

Метою роботи було вивчення функціонування антиоксидантної системи захисту рослин люцерни округлої за умов забруднення ґрунту нафтою, що з'ясували, оцінюючи вміст у органах рослин одного з низькомолекулярних антиоксидантів – аскорбату.

Для проведення досліджень у горщики вносили сухий просіяний ґрунт та вливали сиру нафту у кількостях 5 і 8%. Ґрунт залишали на 30 діб для вивітрювання летких токсичних фракцій вуглеводнів. Після цього ґрунт поливали й висівали повітряно-сухе насіння сої. Аналізували особливості росту кореневої системи рослин у нафтозабрудненому ґрунті та визначали вміст аскорбату в органах сої.

Виявлено зміни структури кореневої системи рослин, які полягали у меншій вираженості головного кореня та появі тонких бічних коренів. Дана властивість є, очевидно, адаптивною реакцією, що дозволяє кореням проникати у найдрібніші пори щільного нафтозабрудненого ґрунту для забезпечення рослин вологою та елементами живлення.

Визначення вмісту аскорбату в органах рослин показало, що більші кількості (більше, ніж удвічі) аскорбінової кислоти міститься в листках рослин порівняно із коренями. За дії нафтового забруднення (5% нафти у ґрунті) відбувалося збільшення кількості аскорбінової кислоти як у листках, так і коренях рослин. Подальше підвищення кількості нафти у ґрунті не призводило до очікуваного нарощування кількості аскорбату. Це може свідчити про вичерпування пулу аскорбінової кислоти із посиленням дії стресового чинника, у ході захисту рослинного організму від гострого оксидативного стресу, спричиненого високою концентрацією нафти у ґрунті.

### **Ковальчик Марта, Величко О.**

#### **ЗАСТОСУВАННЯ БОБОВИХ РОСЛИН ДЛЯ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

У процесі видобутку, транспортування, зберігання й переробки нафти, значні її кількості втрачаються та потрапляють до природного середовища. В Україні такі втрати становлять понад 0,5 млн. т нафти щорічно. Забруднювальні речовини, що містяться у нафтовідходах (толуол, ксилол, бензол), є легкорозчинними у воді, добре випаровуються, крім того, самі є розчинниками і можуть концентрувати інші речовини. Тому, за сучасних умов практичної відсутності адекватних заходів утилізації нафти і нафтовмісних відходів відбувається системне забруднення рідкими, твердими й газоподібними вуглеводнями поверхневих і підземних вод, ґрунтово-рослинного покриву, атмосферного повітря, біоти. Якщо рівень забруднення ґрунту токсичними леткими компонентами, що є у складі нафти, через певний час знижується (шляхом вивітрювання, вимивання тощо), то набута внаслідок вивільнення важких вуглеводнів нафти (смола, асфальтени), гідрофобність ґрунту є явищем тривалим у часі (десятиріччями). А тому, нафтохімічне забруднення ґрунтів може спричинювати небезпечне екологічне порушення – деградацію ґрунтів. Проблема рекультиваци нафтозабруднених забруднених територій є актуальною в усьому світі.

Однією з дієвих та економічно вигідних технологій відновлення нафтозабруднених ґрунтів є фітореємедіація. Успішність її здійснення у значній мірі залежить від добору надійних рослин-реємедіантів.

Насамперед, такі рослини повинні легко адаптуватися до екстремальних умов нафтозабрудненого ґрунту. Видом, що володіє значним рівнем толерантності у нафтозабрудненому ґрунті, є осока шорстково-волосиста (Цайтлер, 2000; Джура та ін., 2007). Виживання й поширення рослин осоки шорстково-волосистої (*Carex hirta* L.) у нафтозабрудненому ґрунті відбувається за рахунок росту міцних підземних пагонів (кореневищ). У наших дослідженнях встановлено, що толерантністю до умов нафтозабрудненого ґрунту володіють також рослини сої щетинистої (*Glicine hispida* Maxim) та люцерни хмелевидної (*Medicago lupulina* L.), й до цього ж, їх заселення на нафтозабруднених ґрунтах можна здійснювати насінєвим способом: 23% насінин сої проростає у ґрунті, вміст нафти у якому становить 5%. Вищим цей показник за даних умов є для рослин люцерни (36%).

Після добору рослин-ремедіантів важливим кроком є пошук способів оптимізації їхнього живлення, оскільки більшість поживних елементів у нафтозабрудненому ґрунті знаходиться у недоступній формі (через його гідрофобність). Рослини сої й люцерни, поряд з коренєвим живленням азотом мають можливість отримувати азот атмосфери завдяки їхній здатності фіксувати молекулярний азот у бобово-ризобіальних симбіозах. Дана властивість свідчить про високі ремедіаційні потенції бобових – сої й люцерни – тим більше, що у наших дослідженнях встановлено формування коренєвих бульбочок на коренях люцерни й сої та їх функціонування за умов ґрунту, забрудненого нафтою.

Крім цього, з літературних даних відомо, що мікроорганізми-азотфіксатори можуть також приймати участь у деструкції нафти й нафтопродуктів. Визначенням вмісту нафти у ґрунті, в якому функціонував бобово-ризобіальний симбіоз сої з *V. jarrowicum*, встановлено зниження її кількості на майже 34%.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що рослини сої й люцерни можуть бути цінними ремедіантами забруднених нафтою ґрунтів.

**<sup>1</sup>Джура Н., <sup>1</sup>Шевчик Л., <sup>2</sup>Романюк О., <sup>1</sup>Терек О.**  
ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Відділення фізико-хімії горючих копалин Інститут фізико-органічної хімії  
і вуглекислоти ім. Л. М. Литвиненка НАН України  
вул. Наукова 3<sup>а</sup>, м. Львів, Україна  
e-mail: Gjurana@ukr.net

Видобуток нафти і розростання інфраструктури для її транспортування та переробки збільшують негативний вплив на довкілля. Самоочищення ґрунтів відбувається відносно повільно за участю абіотичних (вода, сонячне випромінювання, вивітрювання тощо) та біотичних (мікроорганізми, рослини, тварини) факторів. Рослини, тварини та їх угруповання представляють перспективну галузь біоіндикації через високу чутливість до змін довкілля, що відбуваються під впливом антропогенних чинників. За допомогою рослин оцінюють дію та наслідки порушення природних ландшафтів, забруднення повітря, водного середовища та ґрунтів; обґрунтовують заходи з організації екологічного моніторингу.

Біоіндикація (оперативний моніторинг навколишнього середовища на основі спостережень за станом і поведінкою біологічних об'єктів) має певні переваги як метод отримання безпосередньої інформації про зміни стану біоти в конкретних умовах забруднення. Методи біоіндикації доцільно поєднувати з хімічними й геофізичними дослідженнями для отримання не лише якісних, а й кількісних відомостей. Комплексне біотестування ґрунту повинно включати наступні тест-об'єкти: рослини, мікроорганізми, ґрунтові водорості, ґрунтові безхребетні, активність ґрунтових ферментів тощо. Тому метою даної роботи було проведення екотоксикологічного моніторингу нафтозабруднених ґрунтів з подальшим прогнозуванням їх відновленням.

Досліджуючи вплив абіотичних чинників на процеси деградації нафти у ґрунті, концентрацією 10% (100 г/кг), в перші дні після забруднення, коли найбільш токсичні вуглеводні легкої фракції нафти

випаровуються, виявлено, що процес деструкції нафтопродуктів відбувається досить активно: через 2 доби кількість випарованої нафти становила 39,78%, через 3 доби – 45,9%, а на 11 добу – 53,5%. Отже, провідна роль у деградації токсичних нафтопродуктів з ґрунту належить процесам випаровування.

Подальша деструкція нафтопродуктів відбувається за участю живих організмів (мікроорганізмів, рослин, безхребетних тварин), які можуть розкладати важкі фракції нафти та відновлювати фізико-хімічні властивості забруднених екоотопів. Тому наступним етапом роботи було визначення зоо- і фітотоксичності ґрунту. Тест-об'єктом для визначення зоотоксичності були дощові черв'яки. На основі досліджуваних тест-показників виявлено високу зоотоксичність ґрунтів, забруднених сировою нафтою у кількості 50 і 100 г/кг – смертність дощових черв'яків становила 100%.

Фітотестування нафтозабруднених ґрунтів проводили до і після ремедіації за допомогою фітотесту – *L. usitatissimum*. На забруднених нафтою у концентрації 10, 25, 50 г/кг ґрунтах вирощували однорічні насінні (білковісні та олійні) фіторемердіанти: *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* var. *minor*), *Linum usitatissimum* L. та *Brassica napus* L. Показано, що ґрунти, забруднені сировою нафтою у кількості 50 г/кг до ремедіації – високотоксичні – індекс схожості *L. usitatissimum* дорівнював 0. За участю фіторемердіантів спостерігали суттєве зниження фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів. Найефективнішими серед ремердіантів є рослини *Faba bona*, які знижували токсичність ґрунту удвічі, порівняно з рослинами *Linum usitatissimum* L. та *Brassica napus* L.

На основі проведених досліджень робимо висновок, що рослини *Faba bona* можна рекомендувати для фіторемердіації ґрунтів різного ступеня забруднення нафтою. В умовах низького і середнього забруднення ґрунту (10-25 г/кг), можна використовувати рослини *Linum usitatissimum* L. і *Brassica napus* L.

### **Максимович В., Пацула О.**

#### **ВПЛИВ ІОНІВ ЦИНКУ НА ВМІСТ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ ТА МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГІДУ У РОСЛИН СОНЯШНИКУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*буль. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Протягом останнього століття антропогенний вплив на природу досягнув велетенських масштабів. У загальному балансі речовин, які забруднюють атмосферу, сполуки важких металів займають значний об'єм і розглядаються як глобальні забруднювачі. Вивчення ролі металів у життєдіяльності рослин має велике значення, хоча і сьогодні залишаються не розкритими багато питань щодо дії важких металів (Черных, Ладанин, 1995). Метою роботи було дослідження стійкості рослин соняшнику на основі вивчення вмісту пероксиду водню як основного показника оксидантного стресу та визначення активності процесів перекисного окиснення ліпідів за утворенням малонового альдегіду.

Дослідження проводили із рослинами соняшнику (*Helianthus annuus* L.) сорту Піракокс середньо-пізній. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженому водою фільтрувальному папері у темному термостаті за температури +24°C. Після цього проростки пересаджували на водні розчини сульфату цинку у концентрації 10<sup>-3</sup>М, 10<sup>-4</sup>М і 10<sup>-5</sup>М. Контролем слугували рослини, вирощені на розчині Холанда–Арнона. Через 7 і 14 діб у дослідних та контрольних рослин визначали вміст пероксиду водню й активність процесів перекисного окиснення ліпідів за утворенням малонового альдегіду.

При визначенні вмісту пероксиду водню встановлено, що за дії іонів цинку відбуваються суттєві зміни активності антиоксидантної системи рослин – зростає активність пероксидази у рослин соняшнику, що супроводжується нагромадженням пероксиду водню. Проте у коренях рослин вміст пероксиду нижчий, ніж у пагонах. У цьому випадку розщеплення H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у коренях забезпечує антиоксидантний фермент пероксидаза, тому що її активність на цій частині рослин досить висока.

У другій серії наших досліджень було встановлено, що зі збільшенням концентрацій  $ZnSO_4$  вміст малонового діальдегіду зростає, це було видно як у 7- так, і у 14-добових проростках рослин сояшнику. Це може служити показником активності окислювальних процесів, обумовлених кисневими радикалами. Показано, що активність процесів ПОЛ у листках відрізняється від відповідної у коренях рослин. Очевидно, хлоропласти суттєво впливають на розвиток перекисного окиснення ліпідів, оскільки містять велику кількість ненасичених жирних кислот у мембранах тилакоїдів, а також є джерелом продукції активних форм кисню.

### **Маленька У., Кобилецька М.**

#### **ВПЛИВ АЛЬТЕРНАТИВНИХ МЕТОДІВ ОБРОБКИ САЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТОЮ НА СТАН ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У РОСЛИН КУКУРУДЗИ (*ZEA MAYS L.*) ЗА ДІЇ КАДМІЮ ХЛОРИДУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: ylka\_mala@mail.ru*

З тих пір, як було показано, що речовина, виділена з кори верби, може використовуватись як лікарський препарат і відіграє важливу роль у метаболізмі рослин, минули століття, однак ми ще й досі, крок за кроком, відкриваємо у ній нове, що дивує і вражає науковий світ. Цією унікальною багатофункціональною сполукою є саліцилова кислота. Вважається, що саме вона здатна стимулювати й інгібувати перебіг біохімічних процесів у рослинних організмах і тим самим впливати на їх пристосування та виживання за стресових умов (Косаківська, 1997).

Забруднення довкілля важкими металами ініціює зміни на всіх рівнях метаболізму в рослин. Кадмій – токсичний і небезпечний для живих організмів хімічний елемент, незначна концентрація якого спричинює пригнічення росту культурних рослин. Проблема токсичної дії сполук кадмію на даний час є дуже актуальною, особливо враховуючи теперішній критичний стан навколишнього середовища (Максимов і др., 2004).

В організмі рослин всі процеси є взаємопов'язані, і саліцилова кислота може впливати на будь-яку ланку метаболізму. З огляду на це, метою нашого дослідження було вивчення стану фотосинтетичної системи у пагонах проростків кукурудзи за дії саліцилової кислоти та кадмію хлориду.

Об'єктом досліджень були проростки кукурудзи (*Zea mays L.*) сорту «Титан». Насіння кукурудзи, попередньо замочене в розчині СК у концентрації  $10^{-4}$  М протягом 3 годин, пророщували у термостаті за загальноприйнятою методикою. Контрольне насіння замочували в дистильованій воді протягом того ж часу. Проростки, вирощені з насіння, попередньо обробленого СК, переносили на розчин кадмію хлориду з концентрацією  $10^{-6}$  М. Частину контрольних проростків вирощували на дистильованій воді, а на 6-ту добу після висаджування обприскували розчином СК концентрації  $10^{-4}$  М.

Попередня обробка проростків кукурудзи СК веде до послаблення ефекту інгібування росту кореня, спричиненого присутністю йонів кадмію. Саліцилова кислота викликає обводнення тканин пагонів кукурудзи за наявності кадмію хлориду. Цей ефект спостерігається у прямій залежності від концентрації СК.

У ході досліджень спостерігали зміни кількості фотосинтетичних пігментів у рослинах кукурудзи за дії важких металів. Вплив йонів кадмію на проростки кукурудзи призводив до зниження концентрації хлорофілу b приблизно в 4 рази, порівняно з концентрацією хлорофілу a. Відомо, що для нормального функціонування фотосинтетичного апарату має значення певне співвідношення хлорофілів a та b. При обприскуванні проростків кукурудзи розчином СК співвідношення хлорофілів a/b максимально наближене до контролю, що може свідчити про регуляторний вплив цієї сполуки на процеси фотосинтезу.



За дії кадмію хлориду також виявлено зміни у вмісті каротиноїдів. СК у досліджуваній концентрації підвищує вміст каротиноїдів у пагонах кукурудзи. Враховуючи те, що каротиноїди розглядаються як один із факторів, які забезпечують толерантність рослин до різних видів стресу, можна припустити, що зростання їхньої концентрації в наших дослідах пов'язане з їхньою захисною функцією (Khoday, 2004). Одержані результати свідчать про зниження вмісту каротиноїдів при дії іонів кадмію. Це свідчить про токсичний вплив важкого металу, і як наслідок порушення процесів біосинтезу пігментів.

Підсумовуючи отримані результати, можна зробити висновок про те, що СК в досліджуваній концентрації у всіх варіантах підвищувала вміст хлорофілів а та b щодо контролю, а також виявлено зростання вмісту каротиноїдів у рослин кукурудзи за дії СК.

### **Панас І., Петрович І., Терек О.**

#### **ВМІСТ ВІТАМІНУ С У ДЕЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИНАХ ЛЬВІВЩИНИ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

З давніх-давен людство використовувало лікарські рослини для лікування різних хвороб. Препарати, отримані з рослин, є надійними лікувальними засобами, які не викликають, на відміну від синтетичних, побічних явищ. Лікування травами, так звана фітотерапія, і сьогодні є могутнім засобом боротьби за здоров'я людей (Носаль, 1992; Чекман, 2001, 2001, 2007 та ін.).

Варто зазначити, що ще Гіппократ – батько медицини – говорив про те, що в рослинах лікарські речовини містяться в оптимальних кількісних співвідношеннях. Сучасний стан вивчення хімічного складу лікарських рослин розширило можливості застосування їх для укріплення і збереження здоров'я людини.

Основними діючими компонентами лікарських рослин є комплекси фармакологічно активних і супутніх речовин, які утворюються у процесах первинного і вторинного синтезу. Ці речовини (переважно вторинного синтезу – алкалоїди, сапоніни, серцеві глікозиди, дубильні речовини), надходячи в організм людини, і визначають фізіологічну, власне лікувальну, дію рослин на окремі органи та системи і на організм у цілому. Серед численних біологічно активних речовин рослин важливе значення мають вітаміни, зокрема вітамін С – аскорбінова кислота.

Аскорбінова кислота – унікальна поліфункціональна сполука. Володіючи здатністю окислюватися і відновлюватися, вона бере участь у важливих енергетичних процесах рослинної клітини – фотосинтезі, диханні та є визнаним антиоксидантом. Безсумнівна її участь у процесах росту, цвітіння, вегетативної і репродуктивної диференціації, у водному обміні, регуляції ферментативної активності, стимуляції реакцій, метаболізму, пов'язаних з обміном нуклеїнових кислот і синтезом білку, у захисних реакціях рослин.

Підвищений інтерес до аскорбінової кислоти як до лікарського препарату зумовлений противірусною і протипухлинною дією аскорбінової кислоти і її похідних, а також авторитетною рекламою двічі лауреата Нобелівської премії Л. Полінга.

Зазначимо, що аскорбінова кислота не синтезується в організмі людини, а тому джерелом її надходження є рослини, овочі, фрукти, де вміст вітаміну коливається залежно від виду, сорту і різних умов вирощування та зберігання рослинної продукції. При дефіциті аскорбінової кислоти (авітамінозі) у людини розвивається цинга, порушуються процеси окислення і відновлення, знижується біохімічна активність ряду ферментних систем, опірність організму до інфекцій, погіршується загоєння ран.

Виходячи з вищенаведеного, метою наших досліджень було проведення порівняльного визначення вмісту вітаміну С у деяких лікарських рослинах Львівщини, вирощених у різних місцевостях. Для аналізів були відібрані рослини рути запашної (*Ruta graveolens* L.), розмарину (*Rozmarinus officina-*

lis L.) та чебрецю (*Thymus serpyllum* L.), які росли у Ботанічному саду Львівського національного університету ім. І. Франка (1 група), придбані в аптеці у вигляді сухих трав (2 група) і на базарі (3 група).

Отримані нами результати засвідчують суттєву різницю у вмісті вітаміну С у досліджуваних рослин. Найбільший вміст аскорбінової кислоти мали рослини 1-ої групи, які росли в Ботанічному саду, зокрема рута запашна, а найменший – рослини 3-ї групи, зокрема чебрець. Проміжне місце за вмістом вітаміну С займали рослини, придбані в аптеці.

Вочевидь, умови росту досліджуваних рослин, збирання та висушування лікарської сировини були різними, що, безперечно, вплинуло на вміст у них вітаміну С. Тривають дослідження з визначення в цих рослинах вмісту важких металів та інших показників, що дасть змогу повніше оцінити їх придатність до використання як лікувальних засобів.

### **Панчишин В., Джура Н.**

#### **АДАПТИВНІ РЕАКЦІЇ РОСЛИН-ФІТОРЕМЕДІАНТІВ ЗА УМОВ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ НАФТОЮ І НАФТОПРОДУКТАМИ**

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

Нафтове забруднення ґрунту, що виникає при аварійних викидах, супроводжується недовготривалою гострою токсичною дією на всю ґрунтову біоту. Проте довготривале зниження біологічної продуктивності нафтозабруднених ґрунтів пов'язане зі зміною їх важливих фізико-хімічних властивостей. Складність проблеми полягає ще й у розробці критеріїв оцінки і методів ліквідації наслідків цього неперервного за своїм складом забруднення. Різноманіття нафтопродуктів ускладнює процес їх моніторингу.

Прийняття рослин до несприятливих умов довкілля проявляються у першу чергу на фенотиповому рівні. Оскільки фенотипова пластичність включає зміни фенотипу, які експресуються генотипом у різних зовнішніх умовах, то для вивчення фенотипової пластичності кожен генотип тестують у різних експериментальних умовах. Враховуються такі показники, як висота рослин, кількість, довжина і ширина листків, довжина черешків, кількість і довжина пагонів, кількість квіток, розміри частин цвітіння, кількість плодів і насіння у плоді, загальна маса рослини і маса окремих її частин тощо.

Корисними є тести на дикорослих і сільськогосподарських рослинах, які дають змогу проводити моніторинг ґрунтових забруднень, а також біотестування довкілля в цілому.

З огляду на актуальність проблеми та з метою подальшого прогнозування ефективності застосування рослин для відновлення нафтозабруднених територій ми вивчали адаптивні реакції фіторемедіантів – *Carex hita* L. та *Faba bona* (*Vicia faba* var. *minor*) за дії нафти у ґрунті. Досліди закладали у лабораторних умовах. У посудини з ґрунтом вносили сиру нафту (густиною 0,87 г/мл) у кількості 50 і 100 г нафти на 1 кг ґрунту. Через 4 тижні після внесення нафти висаджували вегетативні особини осоки шорстковолосистої (*Carex hita* L.), попередньо викопані з екологічно чистої території і насіння рослин *Faba bona* (*Vicia faba* var. *minor*), попередньо замочене у воді (15 год.). Контролем слугували рослини, вирощені на екологічно чистому ґрунті. На 10 добу після висаджування, визначали схожість насіння бобу, а після 50 днів росту *C. hita* і *V. faba* аналізували чутливі тест-реакції рослин-фіторемедіантів.

Виявлено пряму залежність між кількісним вмістом нафти у ґрунті та ростовими показниками рослин *C. hirta* і *V. faba*: висота надземної частини, довжина кореневищ, розміри листових пластинок дослідних рослин зменшувалися прямо пропорційно зі зростанням концентрації нафти у ґрунті. Показано вплив нафти на характер опушення верхньої частини листків *C. hirta*: на забруднених нафтою ґрунтах спостерігали форми з гладенькими не опушеними листками та блискучою поверхнею, а в контролі – листки опушені, мають матову поверхню; у дослідних рослин *C. hirta* спостерігали аномалії при утворенні продохів (злиття двох-трьох продохів). За дії нафтового забруднення ґрунту

(50 г/кг) збільшувалася кількість продихів на листовій поверхні дослідних рослин, зокрема, у *V. faba* майже на 43%, у *C. hirta* – на 13% щодо контролю. Проте за дії сильного нафтового забруднення (100 г/кг ґрунту), спостерігали зменшення кількості продихів на одиницю площі листка: у *V. faba* на 18%, у *C. hirta* – на 15% щодо контролю.

Досліджувані тест-реакції фітореemedіантів (схожість насіння, ростові показники, стан продигового апарату, симптоми ушкодження листків) доцільно використовувати при фітоіндикації нафтозабруднених територій, а рослини *C. hirta* і *V. faba* – для відновлення нафтозабруднених ґрунтів.

### **Русенюк Ю., Бойко І., Кобилецька М.**

#### **ВМІСТ БІЛКА В РОСЛИННИХ ТКАНИНАХ ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ ТА САЛІЦИЛАТУ**

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

Термін “важкі метали” застосовують до металів з густиною, що перевищує 5 г/см, або з атомним номером >20, хоча існує інша точка зору, згідно з якою до важких металів відносять більше 40 хімічних елементів з атомними масами, які перевищують 50 ат. од. До дуже токсичних відносять 75 хімічних елементів, серед яких важливе місце займають: Cd, Co, Cu, Zn, Pb, Ni, Hg та інші (Гуральчук, 1994). Іони кадмію негативно впливають на ріст рослин, особливо чутливою до їх дії є фотосинтетична система. За дії іонів кадмію спостерігається деградація хлорофілу, знижується активність ключових ферментів фотосинтезу – рибулозо-1,5-біфосфаткарбоксилази та фосфоенолпіруваткарбоксилази (Cagno et al., 2001).

Саліцилова кислота (СК) належить до групи фенольних сполук. СК виявлена у листках рослин та інших органах, має здатність знижувати енергетичний обмін у тканинах під час старіння рослини. СК може швидко переміщуватись по флоемі. У рослинах СК синтезується з транс-коричної кислоти. Вона виконує регуляторну роль у рослинному організмі. Виявлено, що СК відіграє важливу роль у захисних реакціях рослин проти фітопатогенів, бере участь у формуванні стійкості рослин до дії біотичних і абіотичних стресів (Адамовська, 1999).

У відповідь на дію екстремальних температур, сольового, водного та інших стресів у рослин спостерігається підвищений синтез білків (Vierling, 1992; Sabehat et al., 1998). За стресових умов спостерігається синтез спеціальних білків, які беруть участь у формуванні адаптаційних реакцій рослин. За дії іонів важких металів у рослинах можуть синтезуватися стресові білки, які беруть участь у детоксикації іонів, - металотіонеїни та фітохелатини. Деякі вчені виявили зниження загального вмісту білка на фоні підвищення синтезу стресових білків (Косаківська та ін., 2006). Також показано, що СК індукує підвищений синтез стресових білків у рослин за дії кадмієвого стресу (Pal et al., 2005).

Наші дослідження стосуються вивчення впливу СК та іонів кадмію на вміст білка в рослинних тканинах.

Об’єктом дослідження були 28-добові рослини пшениці сорту “Поділька” (*Triticum aestivum* L.) та кукурудзи сорту Закарпатська жовта зубовидна. (*Zea mays* L.). Застосовували 2 методи обробки СК: 1) 5-годинне замочування в 0,1 та 0,5 мМ СК та 2) обприскування 7-добових проростків даними розчинами СК. У піщану культуру вносили хлорид кадмію в розрахунку 25 мг/кг. Загальний вміст білка визначали за М. Бредфорд (Bradford, 1976).

Виявлені достовірні зміни вмісту білку в пагонах рослин за дії іонів кадмію. Вплив СК на вміст білку в органах рослин відрізнявся залежно від об’єкта і методу обробки. Обробка СК рослин пшениці, що росли на субстраті з вмістом Cd, спричинювала зростання вмісту білка, особливо в коренях. Спостерігалось значне підвищення вмісту білків в органах рослин кукурудзи за дії іонів кадмію та замочування насіння в 0,5 мМ СК.

Наші дослідження показують, що саліцилова кислота впливає на загальний вміст білка в рослинних тканинах за дії іонів кадмію та при самостійному впливі.

**<sup>1</sup>Скрипець Х., <sup>1</sup>Баранов В., <sup>1</sup>Фецко З., <sup>2</sup>Остудімов А.**  
ВМІСТ СИРОГО ЖИРУ ТА БІЛКА В НАСІННІ *GINKGO BILOBA* L.  
ЗАЛЕЖНО ВІД ЧАСУ ЗБЕРІГАННЯ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Національний лісотехнічний університет України

вул. Ген. Чупринки, 103, м. Львів, 79057, Україна

Гінкго дволопатеве (*Ginkgo biloba* L.) – реліктове дерево, єдиний представник класу гінкгових, який дожив до наших днів. Дерево дуже поширене на нашій планеті в мезозойську еру – 150 - 400 млн. років тому. Вперше в Україні *Ginkgo biloba* L. було інтродуковане у Кременецькому ботанічному саду на Волині у 1811 р., а з 1818 р. завдяки Христіану Стевену почало вирощуватися у Нікітському ботанічному саду в Ялті. Звідси гінкго розповсюдилося по всіх ботанічних садах України. Деревя гінкго ростуть до тисячі і більше років, сягаючи висоти до 40 м і до 3 м у діаметрі. Деревя гінкго поділяються на чоловічі та жіночі особини. Для посадки на вулицях міст жіночі особини менш придатні, оскільки дозріваючі плоди неприсмно пахнуть. За хімічним складом, вказаним у літературі, насіння містить 3% жиру, 13% білку та 68% крохмалю.

Насіння гінкго з різних географічних зон має різну енергію проростання, що безумовно залежить від його біохімічного складу. Тому основною метою наших досліджень було встановити зміни вмісту білка та сирого жиру у насінні з чотирьох міст зростання: Одеси, Кам'янець-Подільського, Ужгорода та Львова, залежно від часу зберігання насіння. На час стратифікації насіння зберігали у вологому моху при температурі 6-8°C.

Визначення вмісту сирого жиру проводили в три етапи – у лютому, травні та серпні 2010 року. На першому етапі зберігання всі зразки насіння мали великий вміст жиру 85-90%. Через 3 місяці стратифікації спостерігалось зменшення вмісту жиру в усіх зразках у межах 48-70%, причому найбільше зниження спостерігалось у насіння з м. Львова, а в серпні вміст жиру був у межах 3-3,9%, що збігається з даними літератури.

Вміст білка в насінні з різних місць зростання після стратифікації становить приблизно 24-42%. Між вмістом жиру і вмістом білка зразків насіння різних міст спостерігалася зворотна залежність.

На наш погляд, ці зміни визначають життєздатність насіння гінкго і можуть бути біохімічними маркерами схожості насіння.

**Ващук С., Баранов В.**

ВМІСТ ПІГМЕНТІВ ФОТОСИНТЕЗУ В ПРОРОСТКАХ СОСНИ ТА ГЛЕДИЧІЇ  
ЗА РОСТУ НА СУБСТРАТАХ ПОРОДНОГО ВІДВАЛУ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

Ґрунтові умови відвалу Центральної збагачувальної фабрики, який розташований у с. Сілець Сокальського району Львівської області площею 76 га і висотою 68 м є прикладом дії багатофакторного стресу на рослини. Класична рекультивація відвалу відсіпкою ґрунтом, товщиною 30-50 см є економічно недоцільною, крім того, на відміну від класичної, фіторекультивація є набагато дешевшою, але потребує підбору стійких рослин.

Об'єктами наших досліджень були сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.), окремі екземпляри якої ростуть на відвалі, та гледичія триколючкова (*Gleditsia triacanthos* L.), які характеризуються потужною

кореневою системою, мають високу посухо- та солестійкість, невибагливі до ґрунтових умов (Грисюк, Царенко, 1989.). Відомо, що хлорофіли можуть виступати як адаптивні структури фотосинтезувальних систем до несприятливих умов (Горьшина, 1989; Гуляев, 1996; Vjorkman, 1997) і тому визначення вмісту пігментів фотосинтезу є об'єктивним фактором оцінки екологічного стану довкілля.

Насіння сосни та гледичії замочували у воді та у розчині гібереліну (ГК) 50 мг/л на 24 години, але насіння гледичії попередньо на 1 годину замочували в концентрованій  $H_2SO_4$  для руйнування насінневої оболонки після чого насіння висаджували у горщики з породними субстратами (чорним та червоним) на які був нанесений 1 см шар торфу. Вміст пігментів фотосинтезу визначався у листках і у хвої рослин на 25-ту добу росту.

За дії ГК у проростків сосни вміст хлорофілу а збільшувався в межах 114-137%, хлорофілу b в межах 111-113%, причому на субстратах більше, ніж на торфі. Вміст каротиноїдів за дії ГК був на рівні контролю, знижувався на чорній породі до 44,7%, але збільшувався до 118% на червоній. За росту на породах у гледичії вміст хлорофілів і каротиноїдів зменшувався, за дії ж ГК ступінь негативного впливу субстратів зменшувався.

### **Васянович І., Пацула О.**

#### **НАГРОМАДЖЕННЯ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ ТА МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ У РОСЛИН РІПАКУ ЗА ДІЇ ІОНІВ КАДМІЮ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, 79005, м. Львів, Україна  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua*

Важкі метали для рослин здебільшого є мікроелементами і в певних кількостях необхідні для перебігу біохімічних і фізіологічних процесів у їхніх організмах. При високих концентраціях цих металів у навколишньому середовищі в рослин спостерігаються різні порушення росту і розвитку, викликані отруєнням цими металами. Наприклад, спостерігається зменшення коефіцієнта проростання насіння, органи рослин виростають меншими, порушується ріст органів, синтез хлорофілів, білків, вуглеводів та перебіг інших фізіологічних процесів у рослин. Тому актуальним є пошук засобів для підвищення толерантності рослин до дії високих концентрацій важких металів.

Об'єктом досліджень були рослини ярого ріпаку (*Brassica napus* L.) сорту Микитинецький. Насіння пророщували протягом 3 діб у чашках Петрі на зволоженій марлі в темному термостаті за температури +24°C. Після цього проростки пересаджували на водні розчини хлориду кадмію ( $10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}$ ). Контролем слугували рослини, вирощені на середовищі Холанда-Арнона без додавання хлориду кадмію.

Показано, що за дії іонів кадмію відбуваються суттєві зміни активності антиоксидантної системи рослин, що супроводжується нагромадженням пероксиду водню у рослин ріпаку. Такий ефект може бути спричинений токсичністю іонів кадмію, оскільки відомо, що за своїми фізико-хімічними властивостями кадмій є суттєво небезпечним.

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників. Відмічено, що з підвищенням концентрації іонів кадмію у поживному середовищі збільшується концентрація пероксиду водню. Отже, пероксид водню виступає як індуктор стресової реакції та запускає розвиток стрес-реакції в рослинному організмі.

У результаті проведених дослідів встановлено, що швидкість процесів перекисного окиснення ліпідів у рослин ріпаку збільшується при дії низьких концентрацій кадмію.

Крім того, встановлено, що причиною розвитку кадмій-індукованого оксидного стресу є здатність цього важкого металу вступати в конкурентні взаємодії з мікроелементами.

**Abramowski D., Floryszak-Wieczorek J., Janus J., Milczarek G.**

## THE KINETIC OF NITRIC OXIDE BURST IN INDUCED POTATO LEAVES

*Poznan University of Life Sciences  
35, Woiycska St., 60-637 Poznan, Poland  
e-mail: d.abram@up.poznan.pl*

In spite of intensive efforts leading to the recognition of signalling molecules involved in plant-host defence responses, the phenomenon of plant resistance is still poorly understood. Plants following a primary stress occasionally acquire resistance to a much stronger secondary response. This mechanism in relation to pathogenic microorganisms is usually described as systemic acquired resistance (SAR) or induced systemic resistance (ISR). The action involved in SAR can be non-specifically induced in susceptible plants. In our study high systemic protection of susceptible potato leaves cv. 'Bintje' – against late blight disease caused by *Phytophthora infestans* was induced by local pre-treatment with inducers like e.g. 2,6-dichloroisonicotinic acid and  $\gamma$ -amino-n-butyric acid (Andreau et al., 2006). Among endogenous signals, which potentially modulate defence responses in the course of resistance acquisition, a special role is played by nitric oxide (Floryszak-Wieczorek et al., 2007). This important molecule, which synthesis increases rapidly during stress, cooperate with other signals and intracellular hormones as well as participate in the transduction of stress information, e.g. via S-nitrosylation/denitrosylation of metabolic, structural, signalling proteins and protein transcription factors. Therefore we analyzed the intensity and the kinetic of NO burst by electrochemical microsensor designed specifically for this study (Ciszewski and Milczarek, 2004). We assessed the importance of NO in triggering defense responses in potato tissue challenged by hemibiotrophic – *Phytophthora infestans* or treated with SAR inducers. We attempted to elucidate how NO has been linked to reactive oxygen species generation and other signalling compounds activation leading to resistance. Late blight disease caused by *Phytophthora infestans* is ranked as world agriculture's most destructive disease (according to the International Potato Centre – approx. 10 billions of dollars of losses per year). The climate changes observed as the global warming have resulted in facilitating evolution of *P. infestans* new races with new virulence alleles which strongly increase the infection potential (Gianessi et al., 2003). Study of SAR signalling may provide new tools for rational crop controlling in order to improve potato disease resistance.

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education (grant no. NN303340735)

**<sup>1</sup>Бешлей С., <sup>2</sup>Баранов В., <sup>2</sup>Вашук С.**ФІТОТОКСИЧНІСТЬ СУБСТРАТІВ ВІДВАЛІВ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ  
ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ

*<sup>1</sup>Інститут екології Карпат НАН України  
вул. Козельницька, 4, м. Львів, 79026, Україна  
<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: beshley.stepan@gmail.com*

Техногенне навантаження на ґрунті комплекси значно погіршує екологічні функції едафотопу, які забезпечують умови для формування рослинних угруповань. Унаслідок функціонування Червоноградського гірничопромислового комплексу мільйони тонн породи були вивезені із шахт і сформували десятки породних відвалів, які «закрили» сотні гектарів потенційно родючих ґрунтів. Едафотоп відвалів несприятливий для росту рослин, оскільки характеризується високим вмістом важких металів, малим рН, сильнокам'янистим складом породи, провальною водопроникністю та низьким вмістом органічної речовини (Баранов, 2007). Для визначення ступеня токсичності едафотопу використали біотест на фітотоксичність, який здатний адекватно реагувати на екзогенні хімічні зміни, які проявляються у морфологічних змінах у процесах росту і розвитку. Для такого аналізу використовуються різні тест-рослини, які реагують на найбільш несприятливі зміни у ґрунті чи повітрі.

Об'єктами дослідження були субстрати породних відвалів центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) та шахти «Надія», які перебувають на різних стадіях формування рослинного покриву відвалів, а саме: стадії окиснення, вивітрювання, масового поселення рослин. Зразки субстрату відбирали у 20-сантиметровому шарі та просіювали через сита діаметром 2 мм. Визначення фітотоксичності субстратів проводили за Берестецьким (1971) – методом пророщування на субстратах протягом 7 діб редису посівного (*Raphanus sativus* L.). Для цього проби субстрату поміщали в чашки Петрі, зволожували дистильованою водою до сметаноподібного стану, вирівнювали поверхню та наносили на неї шар сухого стерильного піску товщиною 0,5 см. Чашки закривали і витримували одну добу при кімнатній температурі для дифундування токсинів у пісок і після цього висівали насіння. Вологість субстратів із піском була в межах 70-80%. Контролем слугував стерильний пісок, зволожений до 70-80% від повної вологоємності. Насіння пророщували при 23-25°C в темноті протягом 7 діб (повторність досліду 3x100 насинів). Визначали схожість насіння та морфометричні параметри проростків – довжину кореня і пагона та їх масу. Найбільший фітотоксичний вплив спричиняв субстрат породного відвалу шахти «Надія» на стадії окиснення – не відбувалося проростання. На стадії вивітрювання субстрату (породний відвал ЦЗФ) інгібування проростання насіння було 34% на червоній породі та 57% на чорній порівняно із контролем. Найменш токсичним (проростання насіння 94%) виявився субстрат на стадії масового поселення рослин (відвал ЦЗФ), де формується рослинне угруповання з берези повислої, сосни звичайної та куничника наземного, який є домінантним видом у даному угрупованні (*Betula pendula* – *Pinus sylvestris* – *Calamagrostis epigeios*).

За показником проростання та морфометричними параметрами проростків редису простежуються така послідовність зниження токсичності субстратів відвалів: стадія окиснення → стадія вивітрювання (червона порода) → стадія вивітрювання (чорна порода) → стадія масового поселення рослин.

### **Чайка О. В., Метрусенко О. Г.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ГЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ *PLEUROTUS OSTREATUS***

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: bio.graff@yandex.ua*

Реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є важливою ланкою багатьох метаболічних процесів, що відбуваються в клітинах усіх живих організмів, зокрема в міцелії грибів. Ініціаторами перекисного окиснення є так звані радикальні сполуки, серед яких найбільше значення мають супероксидний радикал і гідроксильний радикал, а також нерадикальні (перекис водню), що являють собою активовані форми кисню. Основний субстрат ПОЛ – ланцюги поліненасичених жирних кислот, що входять до складу клітинних мембран, а також ліпопротеїдів. Атака кисневими радикалами цих субстратів призводить до ряду хімічних перетворень, що сприяє утворенню міжмолекулярних зшивок і супроводжується порушенням структури біологічних мембран, макромолекул, та, як наслідок, дезорганізації їхнього функціонування. Тому відносно низький рівень інтенсивності цих реакцій контролюється діяльністю антиоксидантної системи і є показником фізіологічного стану організму. В нормі процеси вільнорадикального окиснення пов'язані з регулюванням росту і поділу клітин грибів, а продукти ПОЛ мають важливе значення для розвитку грибів (Бадалян, 2003; Капич, 1995).

Базидіоміцети характеризуються не лише високою харчовою цінністю, але й здатністю до синтезу різноманітних біологічно активних речовин, що зумовлює також їх велике лікарське значення. Плодові тіла гливи звичайної є цінним дієтичним продуктом харчування, оскільки мають низьку калорійність, а за вмістом і амінокислотним складом білків майже рівні м'ясним продуктам. Також вони

є джерелом як водорозчинних, так і жиророзчинних вітамінів, мікроелементів і інших БАР (Бисько, 1982; Дудка, 1992; Соломко, 1985).

Враховуючи вищезазначене, метою досліджень було вивчення динаміки перекисного окиснення ліпідів і біохімічних характеристик росту штаму Р-107 гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. Штам виділено з дикоростучих плодових тіл, зібраних в НПП „Святі Гори”. Досліджуваний штам культивували на глюкозо-пептонному середовищі при температурі 27,5°C. Для оцінки інтенсивності ПОЛ у міцелії та культуральному фільтраті використовували тест із тіобарбітуровою кислотою – ТБК-тест (Федотов, 2007). Отримані експериментальні дані обробляли з використанням програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів (Приседський, 1999).

Дані, що були отримані в ході дослідження, дають змогу зазначити, що під час культивування відбувалося збільшення повітряно-сухої біомаси міцелію до максимального значення 3,28 г/л на 15-ту добу росту. Спостерігалось поступове зниження водневого показника культуральної рідини з 6,43 на початку експерименту до 5,05 на 15-ту добу. Мінімальний рівень кислотності живильного середовища збігається з максимальним накопиченням біомаси штамом. Це, можливо, викликано накопиченням екзометаболітів кислої природи чи зміною співвідношення розчиненого кисню та вуглекислого газу в середовищі. Максимальний вміст продуктів ПОЛ у культуральному фільтраті зафіксовано на 6-ту добу ферментації, з плином часу цей показник знижувався та досяг мінімального рівня наприкінці культивування. У міцелії на 6-ту добу була відзначена висока концентрація продуктів, активних до тіобарбітурової кислоти, яка на 9-ту добу дещо знизилася, а на 15-ту, навпаки, досягла свого максимального рівня за весь період культивування. Після цього спостерігали зниження інтенсивності ПОЛ до мінімального рівня у кінці терміну культивування. Вміст білка в культуральному фільтраті протягом культивування коливався в незначних межах щодо початкового значення. До 12-ї доби визначалася тенденція до зменшення, а на 15-ту добу було зафіксоване незначне підвищення концентрації білка.

### Чапкевич С., Матвєєва Н.

#### РІСТ РОСЛИН *WARNSTORPHIA FONTINALIOPSIS* У КУЛЬТУРИ *IN VITRO* В ПРИСУТНОСТІ ХРОМУ (VI)

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України*  
*вул. Заболотного, 148, Київ-143, 03680, Україна*  
*e-mail: joyna56@gmail.com*

Антарктида є материком, що за кліматичними умовами значно відрізняється від інших регіонів земної кулі. У той же час Антарктика є територією, що, внаслідок віддаленості від заселених регіонів, найменше потерпає від антропогенного забруднення. Таким чином, рослинний світ цього регіону, який налічує лише кілька вищих судинних рослин та ряд мохоподібних і лишайників, не адаптований до численних забруднювачів, що є стресовими факторами для рослин і впливають на їх ріст. Виходячи з цього, становить інтерес дослідити адаптивні можливості антарктичних рослин до дії стресових чинників, зокрема, токсичних металів.

Об'єктом наших досліджень були рослини моху *Warnstorphia fontinaliopsis* (Müll.Hal.) Ochyra, антарктичного ендеміка, в культурі *in vitro* на середовищах, що містили сполуки шестивалентного хрому ( $K_2CrO_4$ ). Досліджувався вплив Cr (VI) на вегетативний ріст рослин за приростом довжини пагонів.

Експланти (по 8 пагонів моху довжиною 10 мм кожний) були посаджені на агаризоване середовище 1/2 MS (Murashige, Skoog, 1962) в чашки Петрі діаметром 60 мм (об'єм середовища 10 мл), з додаванням шестивалентного хрому в таких концентраціях: 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 мг/л. Приріст довжини визначали як різницю довжин  $\Delta l_n = l_n - l_0$ , де  $n$  – порядковий номер вимірювання через 3, 10, 17, 24, 31 та 38 діб. Експерименти проводили у трьох повторностях, враховуючи середні значення та проводячи статистичну обробку отриманих результатів за стандартною методикою. Через 3 доби най-



більший приріст довжини ( $2,12 \pm 0,14$  мм) визначено у контрольних рослин на середовищі без хрому. В присутності хрому ріст рослин також відбувався, хоча приріст був дещо меншим. Так, при вмісті хрому 50 мг/л приріст довжини рослин був у 1,37 разу меншим, ніж у контролі, а при вмісті хрому 200 мг/л – у 1,64 разу меншим. Найменшим виявився приріст довжини при 300 мг/л Cr (VI) – він був у 1,8 разу менший від контролю. Через 17 діб приріст довжини контрольних рослин становив  $11,08 \pm 1,02$  мм. При концентрації хрому 50 мг/л приріст довжини був у 4,09 разу менший, а при концентрації 300 мг/л – у 7,38 разу менший, ніж у контролі.

У подальшому при тривалому культивуванні (до 38 діб) ріст рослин не припинявся навіть при вмісті хрому 300 мг/л. Найбільший приріст довжини був у контрольних рослин ( $15,7 \pm 0,73$  мм). При концентрації Cr (VI) 50 мг/мл приріст довжини був меншим від контрольного у 2,56 разу, а при концентрації 300 мг/л – у 7,69. При короткостроковому культивуванні (до 3 діб) рослин *W. fontinaliopsis* на живильних середовищах, що містили Cr (VI) у концентраціях від 50 до 300 мг/л, відмінності у прирості довжини пагонів порівняно з контролем були значно меншими, ніж при довготривалому (до 38 діб) культивуванні за тих же умов. Разом з тим, при тривалому культивуванні (більше 7 діб) не виявлено достовірних відмінностей у прирості довжини рослин при вмісті Cr (VI) 100-300 мг/л на ріст пагонів, усі вказані концентрації хрому однаковою мірою пригнічували ріст рослин, хоча і не припиняли його повністю. Разом з тим, концентрації 50-75 мг/л інгібували ріст значно менше навіть при культивуванні протягом 38 діб.

**Chen W., Zaworska A., Li Z., Knaflewski M.**

**GROWTH DYNAMICS OF YOUNG ASPARAGUS PLANTS AS INDICATOR  
FOR THEIR PERFORMANCE AT THE END OF VEGETATION PERIOD**

*Poznan University of Life Sciences*

*159, Dabrowskiego St., 60-649, Poznan, Poland*

*e-mail: cwj819@yahoo.com.cn*

In Poland, after nearly 6 months of dormancy, asparagus starts to grow in the first half of April. After approximately 7 weeks of harvest, summer stalks expand and photosynthesis takes place. The yield of asparagus depends among others on plant performance, photosynthesis rate and carbohydrates distribution in roots in the previous year. The size of roots and number of buds in rhizomes are also closely correlated with asparagus yield potential. The question arose if the growth dynamics of young asparagus plants correlate with their performance at the end of the vegetation period. Growth dynamics of seven asparagus cultivars of different origins was recorded in 2010 in the experiment established in July 2008. At the end of the vegetation period, summer stalks were cut, weighed and counted. Their height, height of branching, diameter and crown circumference (the area from which summer stalks emerged) were measured. At the same time, the crowns were dug out, the storage roots were counted; fresh and dry weight, length and diameter of them were measured and soluble solid content was determined.

The growth dynamics was different for each cultivar. The time when 50% of plants started to grow, had harvestable spears (20 cm high) and had branching summer stalks varied between the earliest and latest cultivars for 11, 9 and 3 days, respectively. The branching height of summer stalks, known to be correlated with the tightness of spear heads, ranged from 19 cm to 28 cm for different cultivars. Greater differences were found for the characteristics of under ground part of plants in comparison to over ground part, e.g., the difference in fresh weight of storage roots amounted to 162% and that of summer stalks to 114%. On the other hand, the difference of summer stalks growth index (summer stalk cross-sectional area x height) amounted to 131% between the strongest and the weakest cultivars. The growth dynamics of plants was found to be highly and negatively correlated with the number of summer stalks as well as the crown circumference. Some plant characteristics were found to be correlated between each other, e.g., the fresh weight of roots was found to be highly correlated with the number of buds.

On the basis of the preliminary results from 2-year-old asparagus plants in 2010, it could be concluded that the growth dynamics and characteristics of young asparagus plants varied among seven cultivars. The asparagus growth dynamics was mainly found to be negatively correlated with the characteristics of young asparagus plants, and it could be partly attributed to some characteristics at the end of the vegetation period.

**Formela M., Morkunas I., Floryszak-Wieczorek J., Mielcarz B.**

THE EFFECT OF EXOGENOUS NITRIC OXIDE ON THE ACTIVITY  
OF PHENYLALANINE AMMONIA- LYASE IN YELLOW LUPINE EMBRYO AXES  
WITH DIFFERENT LEVELS OF SOLUBLE CARBOHYDRATES

*Poznan University of Life Sciences, 35, ul. Woiycska, 60-637 Poznan, Poland*

*e-mail: formelamagda@o2.pl*

Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) is a key enzyme initiating the transition from primary metabolism to phenylpropanoid metabolism and simultaneously controlling the biosynthesis of isoflavonoids and other phenylpropanoid compounds. It was previously revealed that sucrose alone strongly stimulated the expression of flavonoid biosynthetic genes, including phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Morkunas et al. 2010) and PAL activity in yellow lupine embryo axes (Morkunas et al. 2005). The aim of the present study was to examine effects of the nitric oxide donor - sodium nitroprusside (SNP) on phenylalanine ammonia-lyase activity (PAL; EC 4.3.1.5) in embryo axes of *Lupinus luteus* L.cv. Juno cultured in vitro on a medium with or without sucrose. Simultaneously, the impact of the donor on the growth of these embryo axes, i.e. the length and fresh weight, was determined.

Nitric oxide donors, such as SNP and S-nitrosothiols, are compounds, which produce NO when applied to the biological systems and are able to either mimic an endogenous NO-related response or substitute for an endogenous NO deficiency. However, as it was showed by Floryszak-Wieczorek et al. (2006), the process of donor decomposition depends on numerous external factors. For example the rate of NO generation from SNP is especially dependent on the light. The induction PAL activity via NO was detected only in the light, beginning from the first hour after SNP treatment. Moreover, the effect of NO action to a large extent is dependent on its concentration. At a too high NO donor concentration – instead of stimulation – an inhibition of the process may be observed and thus the obtained results will not reflect the action of endogenous NO in the cell.

It results from the conducted investigations that the simultaneous administration of sucrose (60 mM) and the nitric oxide donor SNP at concentrations ranging from 100 to 200 mM strongly stimulates PAL activity in 48-h embryo axes of yellow lupine. In axes treated with a lower SNP concentration, i.e. 10 - 50 mM, the activity of the enzyme was 1.5 - 3 times lower than at higher concentrations. Besides, a very low PAL activity was recorded in embryo axes with carbohydrate deficit and treated with SNP, considerably lower than in axes with a high carbohydrate level and treated with SNP or in axes with carbohydrate deficit alone.

When analyzing growth of embryo axes it was found that the highest increment in the length and fresh matter was recorded in 72- and 96-h embryo axes with a high carbohydrate level and treated with 10 mM SNP.

The strong stimulation of PAL activity observed within this study in embryo axes of yellow lupine in embryo axes of yellow lupine is the result of the amplification of the signal coming from sucrose and nitric oxide. Sucrose and nitric oxide act as signal molecules, which alter gene expression, leading to specific metabolic responses.

This study was supported by the Polish Committee for Scientific Research (KBN, grant no. N N303 414437)

**Григорович В., Оверченко О., Оверченко В.**

ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ БАРБАРISУ ТУНБЕРГА

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: overv@i.ua*

У промисловому озелененні барбарис є однією з провідних культур, а також є цінною лікарською рослиною, яку використовують у фармакології та в харчовій промисловості. Найбільшим попи-

том при благоустрої та озелененні як приватних так і громадських територій користуються такі декоративні різновиди барбарису Тунберга: Rose Glow, Golden Ring, Atropurpurea Nana. Барбарис Тунберга важко укоріняється традиційними вегетативними методами, тому доцільно застосувати метод культури ізольованих тканин, що дає можливість у досить короткий термін збільшити коефіцієнт розмноження, оздоровити рослинний матеріал від вірусних патогенів. Відбір матеріалу та введення в культуру *in vitro* барбарису проводили в липні місяці. Вихідним матеріалом слугували молоді пагони довжиною до 4 см, з боковими та бічними бруньками. Для введення було обрано три сорти: Rose Glow, Golden Ring, Atropurpurea Nana. Як первинні експланти використовували молоді пагони. Стерилізацію пагонів проводили за допомогою 1%  $\text{AgNO}_3$  та 2,5% гіпохлориту натрію (торгова марка “Domestos”, що містить активного хлору не менше 5%). На етапі введення одержані експланти культивували на агаризованих середовищах MS і WPM в різних модифікаціях. Культивування проводили в термальній кімнаті за таких умов: освітлення 2500 люкс, температурі 25°C, відносна волога 70% зі світловим періодом 16 годин. Відбір матеріалу та введення в культуру *in vitro* барбарису проводили в липні місяці. Вихідним матеріалом слугували молоді пагони довжиною до 4 см, з боковими та бічними бруньками. З пагонів зрізали листя. Попередньо пагони відмивали в мильному розчині (30 хв), потім у проточній воді (30 хв). Стерилізацію проводили за двома варіантами. Перший варіант передбачав стерилізацію в 70% розчині етанолу (1 хв) і в розчині 2,5% гіпохлориту натрію з часом експозиції 20 хв. У другому варіанті в схему стерилізації додано 1%  $\text{AgNO}_3$ , і схема набула такого вигляду: після відмивання пагонів детергентом (як у першому варіанті) занурювали експланти в 70% етанол на 1 хв, потім переносили в 1%  $\text{AgNO}_3$  на 5 хв, після чого відмивали у стерильній дистильованій воді 1 хв і стерилізували в 2,5% гіпохлориту натрію (15 хв). Порівнявши дані отримання асептичної культури барбарису за I та II варіантами відзначено, що стерилізація, в якій основним компонентом виступає 2,5% – гіпохлорит натрію з часом експозиції 20 хв дає можливість отримати асептичну культуру на рівні 10-20% залежно від сорту даної культури. Динаміка прояву епіфітної флори розтягнута в часі та спостерігається 9 діб для першого сорту, 12 діб для другого і 16 діб для третього сорту. Відношення між нежиттєздатними і життєздатними асептичними експлантатами становить на рівні 28-50%, що свідчить про велику кількість перестерилізованих експлантів. Додавання до протоколу стерилізації 1%  $\text{AgNO}_3$  і зменшення часу перебування зразків у гіпохлориді натрію до 15 хв дало змогу зменшити динаміку прояву екзогенних мікроорганізмів у першого і другого сортів до 9 діб, а третього до 6 діб, а також збільшити вихід асептичної життєздатної культури, порівняно з I варіантом, від 2 до 4 разів, що становить для сорту Rose Glow - 50%, сортів Golden Ring і Atropurpurea Nana по 40%. Відношення життєздатних до нежиттєздатних перебуває в межах 50-71%. Таким чином, у результаті проведених досліджень були отримані асептичні експланти культури барбарису *Berberis thunbergii* DC сортів Rose Glow, Golden Ring, Atropurpurea Nana, підібрані умови стерилізації. У подальшому проводяться дослідження підбору середовища і регуляторів росту для органогенезу барбарису.

### **Janowicz J.**

#### THE EFFECT OF GROWTH REGULATORS ON LEAF AND HYPOCOTYL EXPLANTS REGENERATION OF FLAX (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

Poznan University of Life Sciences  
Wojska Polskiego, 71c, Poznan, 60-625, Poland  
e-mail: jowita6@interia.pl

*In vitro* cultures became an important tool, helpful in classical method plant breeding to obtain valuable plant material, which is hardly obtainable in *in vivo* conditions. Linum (*Linum usitatissimum* L.) is one of the species, in which regeneration processes succeeded. Recently, being commonly used for research in plant biotechnology, involving biochemical issues and plant regeneration in *in vitro* conditions, this species can be regenerated from hypocotyls segments and, which is harder to obtain, leaf explants, callus and another culture.

Regeneration ability in *in vitro* cultures is determined not only by endogenous, but also exogenous conditions, and their alterations can lead to the culture efficiency. Present study aim to determine the growth regulators concentration influence on flax (*Linum usitatissimum* L.) regeneration abilities.

Plant material used for the study was flax cultivars (*Linum usitatissimum* L.): Modran and Atena, of which 7-days old seedlings, hypocotyls and leaf explants were derived from. The basic medium used in the study was MS (Murashige i Skoog, 1962), which was enriched with IAA or 6-Benzylaminopurine (BAP) in different combinations. Various concentrations of these growth regulators were tested, both for BAP and IAA following concentrations were applied: 0,5; 1,0; 1,25; 1,5 and 2,0 mg l<sup>-1</sup>. After 28 days, the ultimate evaluation of callus, shoot and root formation from the explants, was made.

In both cultivars examined, the best medium for regeneration was MS enriched with 1 mg l<sup>-1</sup> BAP. On most media, leaf explants formed only callus or roots, in turn on hypocotyls explants, shoots were observed. Enriching media with IAA, did not stimulate the regeneration abilities of cultivars tested. Cultivar Modran appeared to have better regeneration abilities.

### **Євтушевська Л., Коломієць Ю.**

#### **ВПЛИВ ТОКСИЧНИХ МЕТАБОЛІТІВ ПАТОГЕНА НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В КУЛЬТУРІ ТКАНИН ПШЕНИЦІ**

*Національний університет біоресурсів та природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: julyja@i.ua*

Оцінка селекційного матеріалу на стійкість до хвороб є необхідною умовою створення стійких сортів. Така оцінка в польових умовах на штучних інфекційних фонах є високотратною та довготривалою, хоч і найбільш адекватною. Тому вона доцільна в кінцевих ланках селекційного процесу. При використанні методів *in vitro* як альтернативних методів створення селекційного матеріалу доцільніше використовувати експрес-методи оцінки, які базуються на біохімічних аспектах взаємодії хазяїн-патоген. Сигнальні системи імунітету спрямовані на розпізнавання рослиною патогена, ізолювання його та атаку за допомогою гідролітичних ферментів або фітоалексинів (Дмитрієв О.П., 2005), і зараз залишаються предметом поглиблених досліджень (Дмитрієв А.П., 2002).

Метою роботи було дослідити вплив токсичних метаболітів на фізіолого-біохімічні показники в культурі калюсних тканин пшениці. Об'єктами дослідження були калюсні тканини пшениці сортів Колос Миронівщини (стійкий до фузаріозу), Волошкова (нестійкий до фузаріозу) при кокультивуванні з *F. graminearum*. Як експланти використовували зрілі зародки злакової культури. Для одержання первинного калюсу використовували модифіковане середовище Мурасіге-Скуга, доповнене 1 мг/л 6-бензиламінопурином і 0,5 мг/л індолілоцтовою кислотою. Для оцінки стійкості генотипів пшениці на рівні калюсних культур було використано активність ферменту пероксидази, який знищує перекиси в клітині. Активність визначали спектрофотометричним методом (Єрмакова А. І., 1987)

Відомо, що у відповідь на інфікування або обробку еліситором у тканинах рослини-хазяїна відбувається утворення активних форм кисню (АФК), перекис водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) і гідроксильний радикал, з яких лише перекис водню відносно стабільний у розчині. При цьому спостерігається двофазне збільшення вмісту АФК у відповідь на обробку грибними або бактеріальними еліситорами через 1 год і через 4-5 год після обробки (Baker B., 1997). Для візуального визначення пероксидази на чашки Петрі з культурою патогена перед посадкою подвійних культур розміщали нейлонову сітку, на яку поміщали калюси. Через 5 год спільного культивування сітку з калюсами переносили на середовище МС з 500 мг/мл гваяколу. Чашки переносили в термостат при 24°C на 3 год. Оксидазна активність проявлялась у вигляді почервоніння калюсів.

Ми спостерігали, що для сорту Колос Миронівщини на 10 годину інкубації з грибом активність пероксидази становила 10 відносних одиниць на 1 г ваги калюсу, на 17 год – 24 відносних одиниць на

1 г ваги калюсу і на 31 год активність спала до 18,5 відносних одиниці на 1 г ваги калюсу. А для сорту Волошкова активність переоксидази на 10 год становила 5,5 відносної одиниці на 1 г ваги калюсу, на 17 год – 4 відносних одиниці на г ваги калюсу і на 31 год – 3,8 відносних одиниці на 1 г ваги калюсу. Отже, нами встановлено, що активність у стійкого генотипу Колос Миронівщини значно зростала, тоді як у нестійкого генотипу Волошкова вона або зменшувалась, або ж майже не змінювалась.

Таким чином, нами встановлено, що дія КФ *F. graminearum* супроводжується значними змінами в біохімічних процесах калюсних тканин, а саме зростанням активності пероксидази у генотипу, який мав стійкість до фузаріозу.

### **Józwiak W., Politycka B.**

#### THE INFLUENCE OF SELENIUM AT DIFFERENT CONCENTRATIONS ON THE GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS CONTENT OF CUCUMBER (*CUCUMIS SATIVUS L.*) SEEDLINGS

*Poznan University of Life Sciences  
35, Woiycska, 60-637 Poznan, Poland  
e-mail: wjozwiak@up.poznan.pl*

Selenium (Se) is an essential element for animal growth but its role in higher plants has not been demonstrated yet. However, there are some evidences that trace amounts of selenium can enhance the growth and development of some plant species, whereas at higher concentrations toxic effects are observed (Hartikainen et al. 2000, Hu 2003, Severi 2001).

The aim of the study was to examine the response of cucumber (*Cucumis sativus L.*) seedlings cv. ‘Dar’ to selenium treatment. For this purpose, content of photosynthetic pigments as well as growth indices were measured.

Experiments were carried out in water cultures. Seedlings were grown in a growth chamber in glass boxes at 27°C under luminescent light (140 W m<sup>-2</sup>, Philips lamps) for 14-h day and 10-h night. Seven-days old seedlings were moved into 20% Hoagland’s nutrient solution containing selenium for the 4 days. Se was added as 1, 5 and 10 µM sodium selenite (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O).

A concentration-effect relationship of selenite with growth of cucumber seedlings was observed. Area of cotyledons tended to decrease with selenium addition. Selenium at higher concentrations (10 µM) markedly reduced the growth of cotyledons - about 40% - as compared to the control seedlings. Moreover, high decrease of fresh weight of roots was also found at this combination. Photosynthetic pigments content increased with increasing selenium concentration in nutrient solution. Total chlorophyll content as well as carotenoids content were the highest in the seedlings exposed to Se at the concentration of 10 µM.

Obtained results show beneficial effect of selenium at low concentration on cucumber seedlings by increasing chlorophyll content. However, the critical threshold for adverse effects in cucumber seedlings was about 10 µM Se.

### **Kruczek M., Swiderski A.**

#### EFFECT OF EXOGENOUS ASCORBIC ACID ON THE GROWTH OF SAVORY (*SATUREJA HORTENSIS L.*)

*Department of Biochemistry, University of Agricultural in Krakow, Poland  
e-mail: Kruczek.Michael@gmail.com*

The study investigated the effect of exogenous ascorbic acid (AA), in the form of foliar sprayed on garden savory (*Satureja hortensis L.*) cultivated in the test pot cultures, to confirm its positive effects on plant growth. In recent years, it was found impact of AA on the plant protection against salinity stress and toxic effects of acid rain or UV-B. Hypothesis is also back on the impact of AA on the growth of plants what is connected to the work initiated by Synnove von Hausen (1935). Was also found a slight positive

effect of ascorbic acid on the growth of plants (Smirnoff, 2000), mainly at the cellular level and used as an ingredient in culture media *in vitro*. The authors also found positive impact of exogenous AA on growth of thyme (Swiderski and Kruczek, 2011).

For many years the importance of ascorbic acid (AA) for the plants has not been clearly defined, in contrast to its importance as vitamin C for humans. The best known of its role in plants has been detoxification of reactive oxygen species. It is also known participation of AA in metabolic pathways of enzymes containing copper or iron ions, involved in the biosynthesis of plant hormones such as ethylene and gibberellin. The high level of content and use of ascorbate ions, which is characteristic for meristematic tissue was often associated with his participation in the division and cell elongation. The first evidence of increased demand for AA in the cell cycle was obtained over 20 years ago in the root meristem tissue. The need for AA to the cell cycle was further confirmed using cell cultures of tobacco. Relationship between the ASC accessibility and increase of plants growth was confirmed using the mutant of thale cress (*Arabidopsis thaliana*).

The study material consisted plants of garden savory (*Satureja hortensis* L), grown in the pots cultures behind the glass windows in 2009. Seedlings obtained from seed were divided into equal numbers of control and test groups. The test group was treated daily with an aqueous solution of ascorbic acid in the spray form, and a control group with water alone. Harvesting of plants was conducted after 5 weeks, before the date of flowering.

Based on measurements of morphological parameters of plants, it was found that exogenous AA results in a significant expansion of savory fresh weight by 34% and length of weed by 20%, compared to control plants. Liquid chromatography (HPLC) was an increase in total polyphenol content in the leaves of test plants compared to control, which was 31%, and 16% for thymol, together with derivatives. This is in accordance with trend line of positive effect of exogenous AA on the growth of the plants and polyphenol content of thyme (Swiderski and Kruczek, 2011).

### **Kucharczyk M., Fiedor L.**

#### CHLOROPHYLLS LARGE SCALE EXTRACTION AND PURIFICATION

*Jagiellonian University*

*7, Gronostajowa St., 30-387 Krakow, Poland*

*e-mail: mateusz.kucharczyk@uj.edu.pl*

Simple method of a large scale extraction and purification of chlorophylls is presented in this work. Chlorophylls were extracted from frozen spinach leaves (*Spinacia oleracea*) using methanol and acetone as solvents. To facilitate extraction of the pigments, slurry of the leaves was several times sonicated/centrifuged with fresh portions of methanol. Supernatants which contained crude chlorophylls were combined and precipitated by adding 1,4-dioxane and water, and freezing to  $-20^{\circ}\text{C}$ . Partially purified chlorophylls were isolated by centrifugation at lower temperature. To remove lipids, the solid residue of precipitated pigments was dissolved in acetone and transferred to another flask. The solvent was then evaporated under vacuum and the procedure was repeated several times. The next step of purification were carried out by using a column chromatography on Sepharose CL-6B gel. The fractions of chlorophyll a and chlorophyll b were collected. Purity of the isolated pigments was confirmed spectrophotometrically and by high pressure column chromatography. All steps of the isolation procedure were performed in darkness as quickly as possible to protect the pigments.

From 100 g of spinach leaves 87 mg of chlorophyll a and chlorophyll b mixture, 57 mg of chlorophyll a and 19 mg of chlorophyll b of high purity (about 85%) were obtained. These are satisfactory yields.

The costs of commercially available pigments of comparable purity are very high, which creates an insurmountable obstacle in preparative work with chlorophylls. The presented method can be successfully applied when large amounts of pure chlorophylls are required.

**Кваско О., Матвєєва Н.**

**ВИСОКОЕФЕКТИВНА РЕГЕНЕРАЦІЯ РОСЛИН ЦИКОРІЮ  
*CICHORIUM INTYBUS* L. З ІЗОЛЬОВАНИХ КОРЕНІВ**

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України  
вул. Заболотного, 148, м. Київ, 03680, Україна  
e-mail: kvasko.olena@gmail.com*

Розробка методів регенерації рослин є однією зі складових отримання рослин зі зміненим генотипом. Регенерація рослин у багатьох випадках є видоспецифічною, отже, методики мають бути оптимізовані стосовно кожного виду або сорту рослин. Об'єктом наших досліджень були рослини цикорію (*Cichorium intybus* L.) салатного сорту Пала роса.

Вихідним матеріалом слугували корені 12-денних проростків цикорію сорту Пала роса, які культивували на середовищі Мурасиге та Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962) без регуляторів росту. Для дослідження особливостей регенерації використовували середовища МС з різними концентраціями та співвідношеннями бензиламінопурина (БАП) та індолілоцтової кислоти (ІОК): 0,5 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК; 1,5 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК; 1 мг/л БАП та 0,2 мг/л ІОК; 2 мг/л БАП та 1 мг/л ІОК.

На 7 добу культивування по всій довжині кореня утворювалася калюсна тканина зеленого забарвлення, з якої в подальшому відбувалася регенерація пагонів. Помічено різну швидкість регенерації залежно від складу середовища. Так, при використанні середовища МС з 2 мг/л БАП та 1 мг/л ІОК та середовища МС з 1 мг/л БАП та 0,2 мг/л ІОК регенерація починалася вже на 14-ту добу культивування. Через 14 діб регенерація спостерігалася на всіх досліджуваних середовищах.

На 60-ту добу культивування частота регенерації на всіх чотирьох середовищах становила 100%. Разом з тим виявлено, що ефективність регенерації рослин цикорію залежить від складу середовища. Так, найбільша ефективність регенерації (70 рослин на експлант) показана у випадку використання середовища МС з 1 мг/л БАП та 0,2 мг/л ІОК. Зменшення концентрації БАП та ІОК удвічі призводило до зниження ефективності регенерації в 2,6 разу. При використанні середовища МС з 1,5 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК та середовища МС з 2 мг/л БАП та 1 мг/л ІОК ефективність регенерації виявилась меншою та становила 12,5 та 14 рослин на експлант відповідно.

Таким чином, найбільш ефективна регенерація пагонів цикорію з ізольованих коренів спостерігається у випадку використання середовища МС з 1 мг/л БАП та 0,2 мг/л ІОК. Збільшення або зменшення вмісту регуляторів росту призводить до зниження ефективності регенерації. Отримані експериментальні дані можуть бути використані для мікроклонального розмноження рослин цикорію, а також в експериментах з генетичної трансформації рослин цикорію з використанням коренів як експлантів.

**Лушак Ю.**

**ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ПРОРОСТКАХ КУКУРУДЗИ  
ЗА ДІЇ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ХЛОРИДУ НАТРІЮ**

*Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна  
e-mail: julialushchak@ukr.net*

Засоленість як один із видів абіотичного стресу є одним із найпоширеніших природних стресів, який знижує врожайність зернових культур, зокрема, кукурудзи. Сольовий стрес у рослинних організмах порушує осмотичний та іонний гомеостаз в клітинах, до якого, як і при дії інших негативних факторів, додається вплив вторинного оксидативного стресу (Куриленко, Палладіна, 2001). Експеримент проводили на десятидобових проростках кукурудзи, які вирощували на рідкому середовищі Хогланда. Експозицію проростків проводили на різних концентраціях NaCl (0, 50, 100 та 200 мМ) протягом 24, 48 та 72 діб. Підвищення стаціонарної концентрації активованих форм кисню призводить до інтенсифіка-

ції окисної модифікації білків, маркером якої є вміст у них карбонільних груп. Зниження концентрації карбонільних груп білків спостерігалось після 24 год експозиції при концентрації 200 мМ NaCl.

Малоновий диальдегід (продукт вільнорадикального окислення ліпідів) взаємодіє з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) з утворенням так званих ТБК-активних продуктів (ТБКАП). Визначення вмісту ТБКАП дає змогу частково оцінити інтенсивність вільнорадикального окислення ліпідів. Концентрація ТБКАП на 24 год сольової експозиції зростала при концентраціях NaCl 50-200 мМ. На 48 та 72 год сольової експозиції відбувалося зниження ТБКАП як у контрольній, так і в дослідних групах.

Експозиція рослин на розчинах хлориду натрію викликала підвищення вмісту загальних і високомолекулярних тіолових груп, яке спостерігалось протягом 24, 48 та 72 год експозиції при концентрації 200 мМ NaCl. Рівень низькомолекулярних тіолових груп (основним представником яких є глутатіон) був на 20-25% вищий на 48 год при усіх використаних концентраціях NaCl.

Відомо, що пероксид водню є ключовим метаболітом регуляції багатьох клітинних функцій рослин. Тому надалі ми дослідили вплив сольового стресу на активність основних ферментів його деградації – каталази і неспецифічної пероксидази. Активність неспецифічної пероксидази була вищою лише на 24 год експозиції при концентрації 100 і 200 мМ NaCl, а каталази – при концентрації 50 мМ NaCl на 48 год експозиції. Після 72 год інкубації активність каталази була на 27 і 41% вищою у проростків, експонованих з 50 і 200 мМ NaCl відповідно.

З представленої роботи випливає, що в дослідних умовах у проростках кукурудзи сольова експозиція призводила до зростання концентрації ТБК-активних продуктів на 24 год і тіолів протягом трьох діб. Також спостерігалось підвищення активності пероксидази і каталази, оскільки ці ферменти можуть запобігати розвитку оксидативного стресу в рослинах за умов сольової експозиції.

### **Маліщук І., Бучацька М., Чебан Л., Шелифіст А.**

#### **АНАЛІЗ КОРЕНІВ *SAUSSUREA DISCOLOR* (WILLD.) DC. НА ПРЕДМЕТ НАЯВНОСТІ СЕСКВІТЕРПЕНОВИХ ЛАКТОНІВ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна*

*e-mail: larisa.cheban@mail.ru*

Видам роду *Saussurea* DC. (Asteraceae) притаманна здатність синтезувати різноманітний спектр біологічно активних сполук, що пояснює їх широке використання у народній медицині країн Сходу (Нурмухаметова, Краснов, 2004). Для представників роду встановлено протипухлинну (Zhang, Won, 2005), антимікробну, протигрибкову (Адекенов, 2006), протизапальну й антивірусну дію (Ren, Yu, 2007). У флорі Буковинських Карпат рід *Saussurea* представлений двома рідкісними видами – *S. discolor* (Willd.) DC. і *S. porcii* Degen, які на сьогодні залишаються абсолютно недослідженими з точки зору їх хімічної будови та можливої біологічної дії (Марченко, Шелифіст, Чебан, 2010).

Специфічну активність рослинної сировини видів роду в першу чергу пов'язують зі здатністю синтезувати й накопичувати сесквітерпенові лактони. Це кисневмісні похідні сесквітерпеноїдів, різноманітність яких у межах одного типу визначається ступенем насиченості кілець, розташуванням подвійних зв'язків і наявністю різних функціональних груп (Рыбалко, 1978). Отримання даних сполук у чистому вигляді потребує розробки нових і оптимізації вже існуючих методів екстракції, очищення та ідентифікації. У зв'язку з цим метою нашої роботи було підібрати оптимальні умови екстракції, очищення та розділення суми сесквілактонів із тканин коренів *S. discolor* (Willd.) DC.

Найбільш точним методом, який дозволяє виявити будову сесквітерпенових лактонів і характер функціональних груп, є метод ІЧ-спектроскопії. Її проведення за різних умов екстракції дає змогу найбільш повно охарактеризувати досліджувані сполуки. Нами не було виявлено відмінностей у характері спектрів поглинання, як ацетонових, так і хлороформних екстрактів *S. discolor*. Виявлена спектральна



активність у діапазоні 1740-1800  $\text{cm}^{-1}$  (поглинання лактонного карбонілу) свідчить на користь присутності у рослинній сировині *S. discolor* сесквітерпенових лактонів. Також аналізовані зразки характеризувалися відсутністю спектральної активності у ділянках 1680-1750 та 1600-1620  $\text{cm}^{-1}$ , що дає право стверджувати про відсутність у коренях *S. discolor* карбонілу д-лактонів кумаринів і ароматичних складних ефірів. У зразках не виявлено ОН-груп, ароматичних зв'язків і кристалогідратної води, що підтверджено відсутністю активності у притаманих їм ділянках поглинання. Можна стверджувати також про наявність у складі сесквітерпенових лактонів груп  $-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$  (1735-1740 та 1250  $\text{cm}^{-1}$ ) та  $\text{CH}_2=\text{C}=\text{C}=\text{O}$  (1660-1665  $\text{cm}^{-1}$ ). Підвищена активність у ділянці 1740-1765  $\text{cm}^{-1}$  свідчить на користь присутності екзоциклическої метиленової групи, а виражений пік у ділянці 1610-1660  $\text{cm}^{-1}$  дає змогу зробити висновок про наявність у коренях *S. discolor*  $\gamma$ -лактонів із подвійними зв'язками у спряженні ( $\beta$ -метилен- $\gamma$ -лактонний цикл). Аналогічні дані були раніше отримані нами для листків і експлантів *S. discolor* (Марченко, 2010).

Для очищення суми лактонів зазвичай використовують адсорбційну хроматографію на колонці з використанням силікагелю чи оксиду алюмінію як сорбентів та різні системи розчинників. Нами була використана подібна схема експерименту. Сесквітерпенові лактони із носія елюювали системою розчинників бензол'етилацетат зі змінним співвідношенням. Проби, що мали неперервне поглинання, об'єднували й аналізували за допомогою ТШХ на пластинках “Силуфол” (Чехія), яку здійснювали висхідним методом відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (2004). За таких умов розділення не вдалося отримати фракцій, що містили індивідуальні компоненти. Надалі екстракти аналізували за допомогою хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Спектр отриманих речовин суттєво відрізнявся від такого для листків та експлантів *S. discolor*.

### **Матвєєва О., Сакало В., Курчій В., Тищенко О.**

#### **МЕТАБОЛІЗМ САХАРОЗИ НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ КУКУРУДЗИ (*ZEA MAYS* L.), ІНФІКОВАНОЇ *IN PLANTA* ОБЕЗЗБРОЄНИМИ ШТАМАМИ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS***

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*

*вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна*

*e-mail: mgirais@mail.ru*

За сучасними уявленнями сахароза та продукти її гідролізу розглядаються як сигнальні й регуляторні молекули, що беруть участь у процесах росту й розвитку рослин (Сакало, 2006; Koch, 2004). На шляхи передачі сигналів і регуляцію експресії генів можуть впливати різні фактори, в тому числі патогени, зокрема *Agrobacterium tumefaciens* (*A. tumefaciens*). Питання, пов'язані з вуглеводно-ферментними комплексами у процесі трансгенезу рослин, вивчені недостатньо (Krausgrill et al., 1998; Simoh et al., 2009). У зв'язку з цим ми проводили порівняльний аналіз активності ферментів метаболізму сахарози – сахарозсинтази й інвертази і вмісту вуглеводів в етіюльованих пагонах 9-денних проростків й в ендоспермі зернівок на стадії молочно-воскової зрілості канаміцин-стійких рослин кукурудзи Т1, отриманих після інфікування *in planta* штамми *A. tumefaciens* GV2260 та LBA4404, що містять вектори pCB002 й pBi2E, відповідно.

Встановлено тканиноспецифічність функціонування ферментів сахарозсинтази (СС) й інвертази, а також вмісту вуглеводів і білків. Так, у пагонах загальна активність СС у реакції синтезу знижувалася на 17-20% за дії обох штамів, тоді як в ендоспермі рослин, інфікованих LBA4404 (pBi2E), навіть підвищувалася на 19%. У реакціях розщеплення активність СС знижувалася в усіх випадках, причому у пагонах зміни були у 2 рази більшими, ніж в ендоспермі, що можна пояснити включенням сахарози в метаболізм на найбільш ранніх етапах розвитку переважно СС. Крім того, за дії різних штамів в обох типах проаналізованих тканин спостерігалася 2-кратна різниця загальної активності цього ферменту, причому більше зниження було характерним для LBA4404 (pBi2E).

Що стосується різних форм інвертази, то у пагонах її загальна активність суттєво зменшувалася: кислої вакуолярної й апопластної, не зв'язаної з мембраною, – на 39 і 50%, кислої мембранозв'язаної (ІКС) – на 7 і 25%, лужної – на 16 і 35% для штамів GV2260 (pCB002) і LBA4404 (pBi2E), відповідно. В ендоспермі за дії останнього спостерігалось значне зростання загальної активності всіх форм інвертази, особливо ІКС (у 6 разів). Тоді як за дії GV2260 активність ІКС не змінювалася, лужної – знижувалася на 40%, а решти кислих форм – підвищувалася тільки на 16%. Поряд із цим відбувалися зміни вмісту легкокорозчинних білків: у пагонах їх кількість зменшувалася приблизно на 30% незалежно від застосованих штамів, тоді як в ендоспермі рослин, інфікованих LBA4404 (pBi2E), – підвищувалася на 27%, а GV2260 (pCB002) – не змінювалась. Вміст білків клітинної стінки, навпаки, в ендоспермі залишався на рівні контролю, а в пагонах значно збільшувався (на 65% для штаму GV2260 і на 25% для штаму LBA4404). Отже, варіабельність загальної активності інвертази і вмісту білку дає змогу зробити припущення, що агробактеріальна інфекція впливає як на функціонування різних форм ферменту, так і на процеси біосинтезу білка.

Вміст вуглеводів у пагонах варіював у межах контролю (сахароза й моноцукри), крохмалю – знижувався на 24 і 13% за дії GV2260 й LBA4404 відповідно; в ендоспермі спостерігалась інша динаміка змін: вміст сахарози зростав на 73 і 61% відповідно, моноцукрів – знижувався на 31 і 44%, вміст крохмалю, навпаки, не змінювався. Отже, в проаналізованих нефотосинтетичних тканинах Т1-рослин кукурудзи відбуваються зміни у співвідношенні сахарози до моноцукрів, тобто балансу гексоз, які беруть участь у метаболічних процесах в онтогенезі кукурудзи, що, ймовірно, є результатом зниження активності різних форм інвертази.

Таким чином, отримані дані свідчать про зміни функціонування ферментів метаболізму сахарози та вмісту вуглеводів і білків у процесі трансгенезу кукурудзи залежно від використаних обеззброєних штамів *A. tumefaciens*.

### **<sup>1</sup>Mech-Nowak A., <sup>1</sup>Swiderski A., <sup>2</sup>Krol K.**

#### **CAROTENOID CONTENT IN BERRIES OF SELECTED CULTIVARS OF SEA BUCKTHORN (*HIPPOPHAE RHAMNOIDES* L.) GROWN IN THE MALOPOLSKA PROVINCE IN POLAND**

<sup>1</sup>*Department of Biochemistry, University of Agricultural in Krakow, Poland*

<sup>2</sup>*The Pomology Experiment Station in Brzezna, Poland*

*e-mail: meszysza@gmail.com*

Sea buckthorn berries are considered beneficial for health due to their high contents of vitamins such as ascorbic acid and tokopherols, as well as healthy phenols, fatty acids and carotenoids (Univer, 2004). This increases their role as food supplements and feedstock in the cosmetic and pharmaceutical industries. Eating Sea Buckthorn berries is believed to strengthen the immune system and protect coronary vessels, which raises hope they can be used in prophylaxis. In Poland Sea Buckthorn naturally occurs at the Baltic Sea coast as a plant characteristic of northern and eastern Europe. In the south of Poland, Sea Buckthorn does not occur naturally and is occasionally grown by plant lovers.

Carotenoid content was studied in nine cultivars of sea buckthorn as part of a comparative study of cultivar differences conducted at The Pomology Experiment Station in Brzezna near Nowy Sącz in the Malopolska Province, Poland. Berry extracts were analysed using a visible spectrophotometric and liquid chromatography (HPLC) methods. The highest carotenoid content was found in berries of sea buckthorn cultivars: 'Arumnyi', 'Podorok Sadu' Aromatnyia' and 'Botanicheskaya'.

Carotenoids are needed in human diet as provitamin A and they also contribute to the protection of membrane lipids as important antioxidants soluble in fats. When eaten in proper quantities, they play an important role in prevention of cancer, heart diseases, hypertension and osteoporosis (Rao and Rao 2007). To ensure healthy food or to elevate some natural foodstuffs to the rank of functional products, fruit and

vegetables are sought with a high carotene content that could be used as additives to processed foodstuffs or pharmaceutical feedstock. Identifying the Sea Buckthorn cultivars with the highest carotenoid content in berries will make it possible to promote them in the Malopolska region as health beneficial, and contribute to further selection of carotenoid rich cultivars in horticultural breeding.

Acknowledgements: This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education, grant no NN 312 252 536

### **Панов В., Матвєєва Н.**

#### **ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОСТУ РЯСКИ *LEMNA MINOR* L. НА СЕРЕДОВИЩІ ЗІ ШЕСТИВАЛЕНТНИМ ХРОМОМ У КУЛЬТУРІ *IN VITRO***

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України*  
вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03680, Україна  
e-mail: valerapanov90@gmail.com

Метою роботи було дослідження впливу одного з токсичних металів, Cr(VI), на ріст і розмноження рослин *Lemna minor* L. Токсичні метали є одними з основних хімічних забруднювачів навколишнього середовища. Отже, актуальним напрямком біотехнології є розроблення ефективних методів очищення забруднених територій, що сприятиме збереженню довкілля. Ряска *L. minor* має властивості детоксикувати важкі метали, тому може бути використана для очищення водойм, забруднених токсичними продуктами життєдіяльності людини. Ряска – це рід дрібних багаторічних плаваючих або занурених у воду рослин (родина ряскових). В Україні є 3 види. Найпоширенішими є ряска мала (*L. minor* L.) і ряска борозенчаста (*L. trisulca* L.). Зазвичай ряска росте у застояних водоймищах та водоймах із повільною течією. *L. minor* є біоіндикатором стану водойм та може використовуватися для моніторингу ступеня забруднення води.

Хромати є забруднювачами, що містяться у стічних водах ряду підприємств, зокрема, стоків гальванічних виробництв. Значні кількості хрому надходять в довкілля саме з промисловими стоками. Сполуки хрому є токсичними для живих організмів, причому токсичність залежить від валентності - найбільш отруйні сполуки Cr(VI). Токсична дія Cr(VI) полягає у гальмуванні проростання насіння, пригніченні росту коренів та надземної частини рослин, порушенні фотосинтезу, активності ферментів (Яковлева, 1998). У зв'язку з цим, актуальним є створення біотехнологій очищення забруднених хроматами стічних вод, у тому числі при використанні рослин ряски.

Об'єктом досліджень були рослини *L. minor*, які культивували у стерильних умовах на середовищі 1/2MS (Murashige, Skoog, 1962) з такими концентраціями Cr(VI): 50, 75, 100, 150, 200, 400 мг/л. У чашки Петрі діаметром 60 мм додавали по 10 мл рідкого середовища з відповідною концентрацією Cr(VI) та розмішували рослини ряски (по 100 листочків). За 3, 6, 10 та 17 діб проводили підрахунок кількості листеців і їх приріст, а також визначали концентрацію Cr(VI) у живильному середовищі з використанням резауринату на спектрофотометрі «Erpendorf» при довжині хвилі 550 нм. Експерименти проводили у трьох повторностях, статистичну обробку результатів здійснювали за стандартною методикою в програмі Microsoft Office Excel 2003.

При визначенні інтенсивності росту рослин ряски у присутності Cr(VI) показано, що через 17 діб кількість листеців при вмісті хрому 0, 50, 75, 100, 150, 200 мг/л збільшувалася відповідно у 7,4; 5,4; 4,5; 3,5; 2,2; 1,9 разу. Мінімальним був приріст кількості листеців при вмісті хрому 400 мг/л – 1,1. На 6 добу культивування детектували відсутність Cr(VI) у чашках, вихідна концентрація хрому в яких дорівнювала 50 та 75 мг/л. На 10 добу культивування шестивалентний хром був відсутній у тих варіантах середовища, в яких вихідні концентрації дорівнювали 100, 150 та 200 мг/л. При високих концентраціях хрому відбувалося зменшення його вмісту на 17 добу з 400 до 37 мг/л. Зменшення або відсутність Cr(VI) у середовищах при рості рослин ряски зумовлюється тим, що екзометаболіти, що виділяються,

відновлюють Cr(VI) до Cr(III), який візуально детектується в середовищі у вигляді осаду. Крім того, рослини накопичують Cr(VI) та відновлюють його у клітинах до малотоксичного Cr(III).

Таким чином, вивчено особливості росту рослин ряски *L. minor* у присутності Cr(VI) та показано можливість біологічного відновлення токсичного Cr(VI). Зазначені результати можуть бути використані для розроблення біотехнологій очищення забруднених вод від Cr(VI) за допомогою рослин *L. minor*.

### **Ричок О., Оверченко В.**

#### **БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИЙОМИ ОДЕРЖАННЯ БЕЗВІРУСНОГО ПОСАДКОВОГО МАТЕРІАЛУ ТРОЯНДИ ЧАЙНО-ГІБРИДНОЇ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
лабораторія фітовірусології та біотехнології, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: o\_rich@mail.ru*

Серед великого асортименту вирощуваних квіткових культур особливе місце займає троянда чайно-гібридна, яка широко використовується для квітково-декоративного оформлення й озеленення у багатьох країнах світу. Традиційні методи розмноження не дають змогу отримувати достатню кількість посадкового матеріалу троянди чайно-гібридної, тому саме мікроклональне розмноження культури троянди *in vitro* займає провідне місце у промисловому квітникарстві. Як первинні експланти відбирали молоді пагони рослин довжиною 5-10 см, які перевіряли на ураження вірусними хворобами. Для одержання асептичних експлантатів використовували стерилізуючі розчини 70% етиловий спирт та 2,5% гіпохлорид натрію різних концентрацій із часом експозиції 15 хв. Вихід стерильних експлантатів при концентрації 1:1 становив 95%. Рослини регенеранти культивувалися в термальній кімнаті з 16-годинним фотоперіодом, температура світлового дня становила 22°C, несвітлового 18-19°C, вологість 70-75%, освітлення 3,5-4 т. люкс.

Для індукції морфогенезу первинних експлантів використовували живильні середовища MS із різним вмістом і концентрацією регуляторів росту. Оптимальним середовищем для первинного морфогенезу було середовище з додаванням БАП і кінетином (по 1 мг/л), що сприяло розвитку з меристемних бруньок значної кількості пагонів і придаткових бруньок, що характеризувалися уповільненим розвитком (місячний приріст складає 0,5-1,0 см), які після субкультивування на середовище з 2,4-Д утворювали кущ добре сформованих пагонів, здатних до самостійного росту на середовищі з кінетином (0,5 мг/л). Для подальшого культивування рослини перенесли на ризогенні живильні середовища. Ризогенез спостерігався на середовищах, до яких додавали різну концентрацію макроелементів та ІМК від 0,05 до 0,2 мг/л. Найбільший відсоток укорінених рослин-регенерантів спостерігали на середовищі з 0,2 мг/л ІМК. Сформовані рослини-регенеранти отримували на 40-45 добу культивування. Адаптацію проводили з використанням субстратів, що склалися з таких основних компонентів: торф - 3 частини, пісок - 1 частина, земля - 1 частина. Суміш ретельно перемішували і просівали через сито. Субстрат стерилізували при температурі 80°C протягом 4 годин у сушильній шафі. Охолоджували його і набивали контейнери або в торфоперегнійні горшечки. Рослини пінцетом виймали з пробірки, залишки середовища ретельно відмивали в дистильованій воді, далі занурювали кореневу систему в слабкий розчин перманганату калію і висаджували рослини в горшечки. Горшечки з рослинами накривали склянкою для створення вологої камери, а торфо-піщану суміш поливали розчином макросолей за MS. Через 3 тижні адаптовані таким чином рослини троянди висадили у закритий ґрунт (теплиці) для оцінки інтенсивності росту, морфологічних особливостей. Уже через два тижні рослини висадили у відкритий ґрунт для створення розсадників плантаційних насаджень (маточників).

**Рибчинська М., Коломієць Ю.**

**ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ ГІБРИДІВ СОНЯШНИКУ *IN VITRO***

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

*e-mail: julyja@i.ua*

Соняшник – головна олійна культура України. Але його потенціал ще повністю не використано. На сьогодні зусилля вчених спрямовані на вдосконалення технології вирощування соняшника, виведення скоростиглих сортів та гібридів, які забезпечать розширення зон вирощування. Соняшник є перехреснозапильною культурою, що значно ускладнює селекційний процес по створенню вихідного матеріалу, одержання та генетичного вивчення індукованих мутацій, що, певною мірою, обумовлює генетичну одноманітність сортів та гібридів. Для створення конкурентноздатних сортів та гібридів соняшника необхідні продуктивні ранньостиглі лінії, стійкі до посухи, особливо у зв'язку зі зміною клімату внаслідок глобального потепління, лінії з якісним біохімічним складом насіння та іншими цінними ознаками. Біотехнологія пропонує багато перспективних методів розмноження рослин, які сприяють збереженню генофонду цінних рідкісних рослин та одержанню перспективних видів рослин.

Метою нашої роботи було одержання рослин-регенерантів в умовах *in vitro* різних сортів соняшника.

У роботі використовували насіння таких сортів соняшника: Лакомка, Мастер, Роднік, Флагман. Насіння очищали від зовнішньої твердої оболонки і поміщали в 50% розчин комерційного відбілювача «Білизна». Час експозиції становив 10, 15, 20, 40 хв при постійному помішуванні. Стерилізоване насіння висаджували в пробірки, що містили 10 мл 50% за концентрацією солі середовища МС, 10% сахарози і 0,8% агар-агару і пророщували протягом 6 діб. Рослини, що досягли 4-6 см у висоту, виїмали з пробірок в асептичних умовах і розрізали скальпелем на 3 диска, товщиною 2-3 мм. Отримані експланти переносили в середовище МС, яке містило вітаміни комплексу В<sub>5</sub>, 30 г/л сахарози і 1 мг/л фітогормону 6-БАП. Експланти розміщували в середовищі у відповідності з їх початковою локалізацією в гіпокотилі і культивували протягом 6 діб до появи паростків (Гапоненко А.К., 2002).

У результаті стерилізації вдалося отримати високий вихід стерильного насіння: для сорту Лакомка – 86,4%, Мастер – 90,4%, Роднік – 88,1%, Флагман – 87,9%. Збільшення часу експозиції від 20 до 40 хв для цих сортів не привело до підвищення стерильності насіння. У більшості насінин після 40 хв стерилізації спостерігали численні порушення в розвитку рослини: 18% становили «карлики», які до кінця 7-го дня культивування не перевищували 2 см у висоту, 19% рослин коренями догори, у 10% насінин був пошкоджений кореневий конус наростання, а 3% рослин були альбіносами. Найчастіше використовуваними типами експлантів соняшника для регенерації проростків в культурі *in vitro* є незрілі і зрілі зародки. За літературними даними, в роботах із зрілими зародками в якості експлантів використовували ділянку апекса проростка. Ми як джерела експлантів використовували проростки на стадії перших листків. Експланти являли собою висічки гіпокотіля. Частота регенерації проростків із експлантів, варіювала а середньому від 15,2 до 25% і показала деяку залежність від генотипу. Так, для сорту Лакомка частота регенерації становила в середньому 16,1%, для сорту Мастер – 18,3%, для сорту Флагман – 16,6%, а для сорту Роднік – 25%.

Таким чином була розроблена ефективна система стерилізації насіння соняшника, що дає змогу отримати високий відсоток стерильного насіння, яке в результаті відбору непошкоджених варіантів зберігає 100%-ву схожість. Був розроблений високоефективний метод регенерації соняшника *in vitro*, що використовує які джерела експлантів проростки на стадії перших листків.

**Семилетова О., Бойко С.****ПЕКТОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДИКАРІОТИЧНИХ І МОНОСПОРОВИХ  
КУЛЬТУР ГРИБ *IRPEX LACTEUS* (FR.) FR. НА СЕРЕДОВИЩІ З ВМІСТОМ ПЕКТИНУ**

Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, Україна, 83050  
e-mail: a.semiletova@gmail.com

Одним з напрямів біотехнології сьогодення є процес промислового отримання ферментів, здатних до гідролізу пектинових речовин (Даниляк, Семичаевский, 1989). Зростаюча потреба у препаратах пектолітичної дії зумовлює актуальність пошуку активних продуцентів цих речовин серед об'єктів живої природи. Активно досліджується здатність нижчих грибів та бактерій до синтезу пектиназ. Однак кількість досліджень у цій галузі, які б стосувалися вищих базидіальних грибів є недостатня (Bhat, 2000). У зв'язку з великим інтересом сучасної науки до пошуку активних продуцентів пектиназ, актуальним є питання пошуку організмів, здатних до синтезу ферментів пектолітичної дії.

Зважаючи на вищезазначене, метою нашої роботи було дослідження пектолітичної активності (ПА) культуральних фільтратів (КФ) моноспорових та дикаріотичних культур вищого базидіального гриба *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. Об'єктами досліджень були такі культури: П-11 (дикаріон), П-11-1, П-11-3, П-11-4, П-11-5 та П-11-6 (монокаріони). Для дослідження активності пектиназ штами культивували на модифікованому глюкозо-пептонному середовищі (джерело вуглецю – пектин) протягом 15 діб при температурі 28°C. Активність пектолітичних ферментів визначали титруванням за методикою Кертеза (Kertezs, 1955). За одиницю активності приймали таку кількість ферменту, яка утворювала 1 мкМ галактуронової кислоти з молекули пектину протягом 1 хв в умовах досліді (рН=4,0; t=24°C). Вміст білка визначали спектрофотометрично (Дарбре, 1989). Отримані дані обробляли статистично методами дисперсійного аналізу (Приседський, 1999).

Динаміка ПА КФ дикаріону П-11 мала вигляд кривої з однією вершиною – максимумом активності на 6 добу культивування (0,17±0,01 од/мл). ПА КФ монокаріону П-11-1 також мала максимум активності на 6 добу (0,16±0,01 од/мл), однак у цієї культури ПА також мала другий, менший порівняно з першим, пік активності, зафіксований на 12 добу експерименту (0,05±0,01 од/мл). Пік ПА КФ культури П-11-3 зафіксовано трохи пізніше (порівняно з раніше описаними культурами), на 9 добу культивування (0,21±0,01 од/мл), однак в той же час це значення є абсолютним максимумом активності серед усіх культур. У культури П-11-4 максимальна ПА КФ проявлялась протягом 6-9 доби та становила 0,17±0,01 од/мл та 0,15±0,01 од/мл відповідно. ПА КФ культури П-11-5 була незначною порівняно із ПА інших культур. Протягом експерименту ПА цієї культури достовірно не змінювалась протягом 3-12 доби та незначно зростала на 15 добу (0,06±0,01 од/мл). Крива динаміки ПА КФ монокаріону П-11-6 мала вигляд кривої з двома максимумами, які достовірно відрізнялись між собою (0,13±0,02 од/мл та 0,18±0,01 од/мл).

Паралельно з визначенням ПА КФ культур розраховували також їх питому ПА. Результати були аналогічними до результатів визначення загальної ПА. Крім того, також визначали зміну кислотності поживного середовища при вирощуванні культур гриба *I. lacteus*. У результаті встановлено, що кислотність КФ достовірно змінюється порівняно з контролем в напрямі збільшення та зберігається на сталому рівні в межах похибки протягом всього терміну культивування.

Таким чином, культури виду *I. lacteus* здатні до активного синтезу ферментів пектолітичної дії, активність цих ферментів широко варіює залежно від доби культивування. Монокаріотична культура П-11-3 *I. lacteus* показала найбільшу пектолітичну активність і відібрана для подальшої роботи.

**Сенечин Н., Джура Н.**

**РОСТОВІ ПОКАЗНИКИ І ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ  
РОСЛИН—ФІТОРЕМЕДІАНТІВ ЗА ДІЇ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ**

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

Забруднення природного середовища нафтою і нафтопродуктами є однією з багатопланових проблем екології та охорони природного середовища. Жоден інший забруднювач не може зрівнятися з нафтою за масштабами поширення, кількістю джерел забруднення, рівнями хімічних навантажень на всі компоненти ландшафтів при аваріях свердловин, нафтопроводів та інших технічних об'єктів, пов'язаних з видобутком, транспортуванням, переробкою та зберіганням нафти. Щорічно десятки тонн нафти забруднюють ґрунти, знижуючи їх родючість. Через зміну фізико-хімічних властивостей забрудненого ґрунту (підвищення гідрофобності та заповнення нафтою ґрунтових капілярів) і пряму токсичну дію вуглеводнів нафти (фітотоксичність) рослинний покрив вимирає. Проте, стійкі види рослин можуть виживати і рости при помірному чи слабкому забрудненні (менше 10% нафти у ґрунті).

Одним із напрямів наших наукових досліджень є вивчення фізіологічних реакцій фіторемедіантів на дію забруднення ґрунту нафтою з метою подальшого прогнозування ефективності їх застосування та розроблення фіторемедіаційних заходів нафтозабруднених територій шляхом розширення видового різноманіття насінним способом.

Об'єктами досліджень були однорічні (білковмісні та олійні) рослини *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* var. *minor*) та *Linum usitatissimum* L. Досліди закладали у лабораторних умовах. У посудини з ґрунтом вносили нафту у концентрації 10, 25 і 50 г/кг ґрунту. Після необхідного терміну для вивітрювання летких токсичних сполук (7 тижнів) висаджували попередньо замочене у воді насіння вищезгаданих рослин. Контролем слугували рослини вирощені на ґрунті без нафти. Після 25 днів росту у рослинах аналізували морфометричні показники та вміст пігментів фотосинтезу.

Показано, що за дії нафти 10 і 25 г/кг довжина кореня і висота пагона *V. faba* і *L. usitatissimum* сягали контролю, тоді як за дії нафти 50 г/кг ріст рослин *L. usitatissimum* суттєво пригнічувався. Білковмісні рослини *V. faba* виявилися стійкішими до нафтового стресу, оскільки, при високих концентраціях нафти (50 г/кг) довжина їх кореня дещо перевищує контроль.

Фотосинтетичні пігменти є чутливими індикаторами стану листкового апарату рослин до дії нафти у ґрунті. Показано, що сума хлорофілів (a+b) у листках *V. faba* за дії нафти 10 г/кг є вищою, порівняно із вмістом хлорофілів у листках *L. usitatissimum* і навіть дещо перевищувала контроль.

Отже, на основі вивчення ростових параметрів і вмісту фотосинтетичних пігментів ремедіантів *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* var. *minor*) та *Linum usitatissimum* L. можна стверджувати, що стійкішим до дії нафти у ґрунті є рослини *Faba bona*, тому їх доцільно використовувати для фіторемедіації нафтозабруднених територій.

**Смірнов О., Косян А., Косик О.**

**АНТОЦΙΑНИ ЯК МАРКЕРИ ДЛЯ ВІДБОРУ РОСЛИН ГРЕЧКИ З ВИСОКИМ ВМІСТОМ РУТИНУ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна  
e-mail: mcd\_smirnov@mail.ru*

Пошук нових економічно вигідних шляхів отримання флавоноїдів – речовин з Р-вітамінною активністю та антиоксидантними властивостями є одним з найперспективніших напрямів сучасної фармацевтичної індустрії. Найпоширенішим та найбільш цінним представником цього класу сполук є рутин – флавоновий глікозид кверцетину. Рутин, отриманий з рослин роду *Fagopyrum*, є основною

багатьох лікарських засобів. Широкий спектр дії рутину робить його цінною біологічно активною речовиною і потребує вирішення питання дешевого та легкого способу виділення його з рослинної сировини. Завдяки біохімічній спорідненості антоціанів та флавоноїдів можна припустити існування коефіцієнту кореляції між вмістом цих сполук. Антоціани гречки (пеларгонідин-3-глікозид та інші глікозидні форми пеларгонідину) мають яскраво виражене рожеве забарвлення. Ця ознака може бути використана для візуалізації методики відбору рослин з високим вмістом рутину.

Метою даної роботи було, використовуючи традиційний метод визначення вмісту рутину та ступінь забарвлення вегетативних органів різних видів і сортів рослин гречки, відібрати ті з них, які характеризуються високим вмістом антоціанів та флавоноїду рутину. Об'єктом дослідження були рослини гречки різних видів та сортів: *Fagopyrum esculentum* Moench. (сорті Лілея, Більшовик, Рубра), *Fagopyrum tataricum* G. (ssp. *rotundatum* (Bab) Krot. and ssp. *tuberculatum* Krot.), *Fagopyrum cymosum* Meissn, and *Fagopyrum giganteum* Krot.

Результати визначення вмісту рутину в вегетативних органах різних видів та сортів гречки вказують на існування певної залежності між кольором частин рослини і вмістом антоціанів. У рослин з не яскраво вираженим рожевим забарвленням концентрація антоціанів незначна. Вміст антоціанів становить близько 1,1% у стеблі, 6,6% у листках та близько 14,2% у суцвітті. При цьому у рослин з інтенсивним рожевим забарвленням вегетативних органів антоціани становлять: 1,6% у стеблі, 9,4% у листках та близько 17,4% у суцвіттах. Отримані дані вказують на залежність кольору органів від вмісту антоціанів.

Для виявлення залежності між кольором органів (вмістом антоціанів) та вмістом біофлавоноїду рутину рослини були розподілені на п'ять категорій: Рожеве забарвлення відсутнє на сім'ядольних та справжніх листках; Нижня поверхня лисків частково забарвлена; Нижня поверхня листків яскраво забарвлена; Нижня поверхня листків забарвлена яскраво, верхня поверхня частково забарвлена; І нижня, і верхня поверхня листків яскраво забарвлена.

Отримані дані вказують на існування кореляційної залежності між забарвленням листків та вмістом рутину. Провівши кількісний аналіз та статистичну обробку результатів, ми отримали такі коефіцієнти кореляції: для стебла – 0,984, для листків – 0,913, для суцвіть – 0,938.

Отже, нами розроблений новий простий та не затратний тест-метод для відбору найбільш рутинвмісних видів та сортів гречки. В основі методу лежить залежність вмісту флавоноїду від забарвлення вегетативних органів рослини, що корелює з вмістом антоціанів. Метод не потребує використання біохімічного обладнання та реактивів, він заснований лише на візуальному спостереженні.

**<sup>1</sup>Куцоконь Н., <sup>2</sup>Сорока Р., <sup>3</sup>Левчик Н., <sup>3</sup>Левенко Б.**

**МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ КЛОНІВ ТОПОЛЬ**

<sup>1</sup>Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

<sup>3</sup>Національний ботанічний сад ім. М.М.Гришка НАН України

Площа лісів в Україні становить менше 15%, тому проблема відтворення лісових ресурсів є надзвичайно актуальною. Мікроклональне розмноження деревних рослин має ряд переваг порівняно зі звичайним живцюванням, оскільки дає змогу в короткі строки одержати значну кількість генетично однорідного садивного матеріалу, позбавленого вірусної інфекції; скоротити тривалість і підвищити ефективність селекційного процесу; проводити роботи впродовж всього року; економити виробничі площі та використовувати трансгенні технології для покращення генотипів, розмножувати гібриди тополь, які погано вкорінюються з використанням традиційного живцювання. Однак, часто методи культивування залежать від генотипу. Тому метою нашої роботи було вдосконалення методів мікро-



клонального розмноження двох високопродуктивних видів тополь: осокора *Populus nigra* L. і тополи канадської *P. x canadensis* Moench.

Простерилізовані меристемні ділянки бруньок висаджували на середовище Мурасіге і Скуга (МС) з внесенням фітогормону БАП у концентрації 1 мг/л. Через 2-3 тижні культивування на поживному середовищі на листових експлантатах з'являлися мікропагони, які пересаджували в пробірки на середовище МС з ІМК (індолілмасляна кислота, 0,1 мг/л), де відбувався їх ріст в довжину та розвиток численних пазушних бруньок протягом 4-6 тижнів. Пагони живцювали і для вкорінення переносили їх на безгормональне МС середовище (або з додаванням ІМК). Після досягнення корінням довжини 3-5 см, рослини з 3-6 листками і активно ростучою брунькою виймали з культуральних баночок, і висаджували у зволожені водою торф'яні таблетки Jiffy-7 (Данія). Застосування цих таблеток показало високу ефективність даного способу вкорінення, вже через 2-3 тижні спостерігали значний приріст рослин в тепличній культурі. У подальшому планується проведення генетичної трансформації цих клонів з метою отримання високопродуктивних рослин тополь як сировини для біопалива.

### **Stefaniuk D., Grzywnowicz K.**

#### **MYCOPARASITIC FUNGI AS BIOCONTROL AGENTS IN PLANT DEFENCE AGAINST PATHOGENS**

*Maria Curie-Skłodowska University, 19, Akademicka, 20033, Lublin, Poland*

*e-mail: dawid.stefaniuk@gmail.com*

Growing interest in eco-friendly farming and awareness of the negative environmental effects of chemical pesticides have led to their application being increasingly restricted, which has in turn resulted in a rise in the significance of biological control of plant pathogens. Mycoparasitic fungi in many cases make suitable biocontrol agents through their antagonistic effects on pathogen populations in agricultural ecosystems.

There exist many and varied mechanisms of biocontrol. For maximum effectiveness of biocontrol agents for the control of plant diseases, we must understand how they function and what their limitations are, so as to develop effective means of culturing, storing and application of biocontrol agents. Many biocontrol strains act against fungal phytopathogens either indirectly – by competing for nutrients and space, modifying the environmental conditions or promoting plant natural defensive mechanisms and antibiosis – or directly – by mechanisms such as mycoparasitism. Activation of those mechanisms involves the production of specific compounds and metabolites, such as plant growth factors, hydrolytic enzymes and antibiotics.

In order for the biocontrol factors to have proper effect, a wide spectrum of defense mechanisms of the target host pathogen has to be overcome. Through the course of time, many plant pathogens have developed resistance against antibiosis. Furthermore, they are able to influence the synthesis and degradation of antibiotics or even synthesize their own toxins. Various other mechanisms include modification of the growth environment, structural barriers, induction of sporulation or even reverse mycoparasitism.

Biocontrol still has some limitations hampering its wider adoption in the field. In many areas it is not as effective as its chemical counterparts. The atmospheric conditions, microorganisms inhabiting rural ecosystems and natural host defense mechanisms have a large impact on the success or failure of the control agents. Nevertheless, utilization of biocontrol factors alongside chemical fungicides enhances their effectiveness, whilst rendering the influence of natural control agents more lasting. Also notable is the ability of biocontrol fungi to stimulate growth and plant defense mechanisms. This short review summarizes some of the current research on mycoparasitic natural pesticides and demonstrates that complex and comprehensive research is needed, involving not only biocontrol agents as such but also their target organisms and host plants, for the natural pest control methods to reach a higher level of effectiveness.

**Венгер А., Кожухова Н.****ВИВЧЕННЯ ДІЇ ТІДІАЗУРОНУ НА РІСТ *IN VITRO* ХМЕЛЮ ЗВИЧАЙНОГО***Південний біотехнологічний центр у рослинництві НААН України**Овідіопольська дор., 3, м. Одеса, 65036, Україна**e-mail: venger87@ukr.net*

Хміль звичайний *Humulus lupulus* L. - важлива сільськогосподарська культура. Господарський потенціал хмелю суттєво пов'язаний з кількістю та співвідношенням різних частин рослини - пагонів, шишок та листя. Цінними частинами хмелю є шишки та листя, що використовують у харчовій та фармацевтичній промисловості.

Клональне мікророзмноження *in vitro* хмелю звичайного має досить велике значення через можливість швидкого розмноження та накопичення мериклонів, що значно скорочує час розповсюдження цінних сортів, а також отримання вільного від патогенів матеріалу. Загальноприйнятим середовищем для цього є середовище Мурасиге-Скуга (Murashige, Scoog 1962), модифіковане додаванням регуляторів росту. Перспективним у цій галузі біотехнології є використання цитокінінів, зокрема тидіазурону, шляхом додавання до поживного середовища. Цитокініни здатні викликати утворення адвентивних бруньок та стимулюють розмноження клітин рослин. Відомо, що тидіазурон у низьких концентраціях здатний проявляти властивості цитокініну. Тидіазурон апробований при культивуванні експлантів інших видів рослин (тропічні, субтропічні та лікарські рослини) і показана його активність у концентраціях 0,01-2 мг/л (Митрофанова, 2007; Зеленіна, 2007). Метою даної роботи слугувало вивчення дії тидіазурону на появу адвентивних бруньок та утворення додаткового міжвузля на стовбурі хмелю шляхом мікроклонування.

Для ініціювання утворення адвентивних бруньок досліджених генотипів хмелю використовували середовище Мурасиге-Скуга з додаванням 0,2 мг/л тидіазурону. Експлантували *in vitro* сегменти стебла з вузлами хмелю сорту Альта (селекції Інституту сільського господарства Полісся, Житомир). Як контроль використовували експланти хмелю Альта, що культивували на середовище Мурасиге-Скуга без тидіазурону. Аналіз результатів проводили через три місяці культивування шляхом підрахування кількості вузлів на пагоні. За результатами дослідження середня кількість вузлів на середовищі без тидіазурону становила 2,6 +/- 0,1, тоді як на середовищі з тидіазуроном кількість сягала 3,1 +/- 0,2.

Таким чином, встановлено позитивний вплив тидіазурону на утворення адвентивних бруньок хмелю та показано перспективність використання тидіазурону у мікроклонуванні хмелю *in vitro*.

**Юсипович Ю., Ковальова В., Гут Р.****ВМІСТ ДЕФЕНЗИНІВ ЯК ПОКАЗНИК ПОСІВНОЇ ЯКОСТІ НАСІННЯ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ***Національний лісотехнічний університет України**вул. Ген. Чупринки, 103, м. Львів, 79057, Україна**e-mail: ukrdltu@forest.lviv.ua*

Деревостани сосни звичайної, розвиваючись у певних географічних і едафічних умовах, створюють адаптовані до даних умов форми, які передають набуті корисні ознаки своєму потомству. Якість насіння сосни звичайної має визначальний вплив на стійкість сіянців. Найбільш критичним етапом онтогенетичного розвитку сосни звичайної є проростання насіння, під час якого проросток контактує з численними мікроорганізмами, які живуть у ґрунті. Найтипівішими фітозахворюваннями на цьому етапі є фузаріози, спричинені грибами роду *Fusarium*, які викликають вилягання сіянців. Одним з універсальних механізмів захисту насіння у стані спокою, під час проростання і особливо в період його дозрівання є накопичення антимікробних пептидів у насінні. Раніше нами була виявлена експресія дефензинів PsDef1 і PsDef2 у проростках *Pinus sylvestris* L., які проявляли антифунгальну активність (Ковальова та ін., 2008, Kovaleva et al., 2009).

Метою даного дослідження було визначити взаємозв'язок вмісту дефензинів з посівними якостями насіння сосни звичайної Лопатинського і Брюховицького лісгоспів. Аналізували масу насіння, енергію проростання, ґрунтову схожість, вилягання сіянців, колір насіння та середню довжину семи-добових проростків. Вміст дефензину визначали ELISA методом із використанням отриманих нами поліклональних антидефензин антитіл.

Колір насіння вважається важливою селекційною ознакою сосни (Сандул та ін., 2007). Для порівняльного аналізу було відібрано насіння з Лопатинського та Брюховицького лісгоспів. Відсоткова частка насіння різного кольору становила: лопатинське світле – 35,16%, темне – 48,94%, плямисте – 15,9%; брюховицьке світле – 55,31%, темне – 29,47% і плямисте – 15,22%. Відсоткова частка плямистого насіння з двох лісгоспів була майже однаковою, проте темне лопатинське насіння кількісно переважало світле, а відсоток світлого брюховицького був більшим, ніж темного. Насіння різних кольорів відрізнялося також за масою: брюховицьке світле –  $0,77 \pm 0,02$  мг, темне –  $0,69 \pm 0,01$  мг та лопатинське світле –  $0,69 \pm 0,01$  мг і темне –  $0,72 \pm 0,02$  мг. Важче насіння мало меншу енергію проростання та формувало довші проростки. Вміст дефензинів був вищим у важчому насінні: на 24% вищий вміст дефензинів у темному лопатинському, ніж у світлому, а світле брюховицьке містило на 90% більше дефензинів, ніж темне. Ґрунтова схожість лопатинського насіння сосни була вищою від брюховицького на 3,44%, а також вищий вміст дефензинів, відповідно й вилягання 7-денних сіянців було нижчим від брюховицького на 3,05%. Лопатинське насіння мало перевагу над брюховицьким за такими посівними якостями, як енергія проростання, показник ґрунтової схожості, менший ступінь вилягання сіянців і високий загальний вміст дефензинів.

Нами виявлено, що вищий вміст дефензинів пов'язаний з більшою масою насіння, яке переважає за кольором серед інших та формує довші семиденні проростки. Насіння з високою ґрунтовою схожістю і вищим вмістом дефензинів формує сіянці, стійкіші до вилягання. Таким чином, вміст дефензинів може бути важливим показником посівної якості насіння *Pinus sylvestris* L.

### **Заболотна А., Якименко І., Ружицька О.**

#### **ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ СОРТІВ І ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ ТА ЯЧМЕНЮ ПРОТЯГОМ ПІСЛЯЗБИРАЛЬНОГО ДОЗРІВАННЯ**

*Одеський національний університет імені І.І.Мечникова*

*Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна*

*e-mail: flores@ukr.net*

Оцінка тривалості та з'ясування причин різних термінів фізіологічного спокою насіння сортів та культур озимих хлібних злаків, вивчення лабільності цієї ознаки у зв'язку із впливом чинників зовнішнього середовища має значний науковий та практичний інтерес, у тому числі з метою вдосконалення оцінки нових перспективних сортів хлібних злаків, які проходять державні випробування і впроваджуються у виробництво.

Метою нашої роботи було проведення порівняльного аналізу показників посівних якостей насіння пшениці (*Triticum aestivum* L.) та ячменю (*Hordeum vulgare* L.) нових сортів і ліній технологічного напрямку протягом 10 місяців післязбирального дозрівання, а також оцінка впливу передпосівного охолодження насіння на дані показники. У дослідженнях використовували насіння озимої пшениці сортів Селянка і Куяльник, двох ліній твердозерної і м'якозерної пшениці, а також сорту озимого півчастого ячменю та двох ліній голозерного ячменю. Насіння було отримане та люб'язно надане нам для досліджень співробітниками відділу генетичних основ селекції СГІ – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення УААН. Оцінку динаміки проростання насіння проводили в результаті визначення посівних якостей (енергії проростання та схожості) протягом 10 місяців зберігання насіння у лабораторних умовах після збору врожаю. Енергію проростання та схожість насіння визначали згід-

но ДСТУ 2240-93 як за стандартних умов пророщування так і за впливу холодової стратифікації (при +5°C протягом 3 діб).

Згідно з отриманими даними, енергія проростання і схожість у свіжозібраного насіння (2 тижні після збору врожаю) дослідних зразків пшениці становила 32–36% і 32–60%, ячменю 28–40% і 40–56% відповідно. Протягом 10 місяців сухого зберігання насіння зміна показників їх посівних якостей в усіх зразках характеризувалась поступовим і нерівномірним збільшенням, а за ступенем змін в певні строки зберігання різні генотипи значно відрізнялись. У насіння зразків пшениці найвищі показники енергії проростання (80%) і схожості (83%) спостерігались у січні (після 5 місяців зберігання) незалежно від генотипу. Найвищі показники енергії проростання та схожості у насіння ячменю, які спостерігали у грудні, становили у сорту Вакула 52 та 64% відповідно, а у ліній голозерного ячменю – 40 та 52% відповідно. Попереднє охолодження насіння сприяло збільшенню посівних якостей у насіння всіх дослідних зразків. Згідно з отриманими даними, в результаті передпосівного охолодження свіжозібраного насіння пшениці його енергія проростання зросла, в середньому, до 78%, а схожість – до 84%. При цьому вплив охолодження з періоду серпня по січень був тим ефективнішим, чим більший був строк сухого зберігання насіння. Застосування ж охолодження насіння пшениці після більш тривалих строків його зберігання не викликало суттєвого збільшення посівних якостей дослідних зразків. Водночас, ефективність температурної дії на насіння ячменю виявилась тим вищою, чим більш дозріле насіння підлягало обробці протягом усього терміну зберігання. Так, найвищі показники проростання насіння ячменю спостерігали лише при його холодovій обробці через 10 місяців після жнив: енергія проростання становили 56–90%, а схожість – 68–92% залежно від зразку.

Отже, насіння ячменю відрізнялось більш тривалим періодом виходу зі стану фізіологічного спокою під час сухого зберігання та меншою чутливістю до вказаного способу холодової стратифікації, ніж насіння пшениці. Крім того, плівчате насіння ячменю сорту Вакула характеризувалось більш високими темпами зростання схожості та енергії проростання протягом сухого зберігання та меншою чутливістю до дії стратифікації, ніж насіння нових ліній голозерного ячменю, що може вказувати на присутність у вказаних генотипів ячменю різних механізмів забезпечення фізіологічного спокою насіння.

### **Жук І.**

#### **ВПЛИВ ІНГІБУВАННЯ ВОДНОГО ТРАНСПОРТУ НА ФОРМУВАННЯ ЗЕРНІВОК ПШЕНИЦІ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01013, Україна  
e-mail: zhuk\_bas@voliacable.com*

Забезпечення рослин пшениці водою в період формування зерна визначає продуктивність рослин. В останні роки встановлено, що у період колосіння рослин пшениці значну роль відіграє рух води по аквапоринових каналах (Rugiero, Angelino, Maggio, 2007). Для з'ясування ролі цієї компоненти водного транспорту у формуванні врожаю були використані специфічні інгібітори активності аквапоринів  $HgCl_2$  та  $AgNO_3$ , які дають змогу на певний проміжок часу заблокувати аквапоринові канали і вивчити наслідок дії короточасного порушення водного транспорту на формування зернівок пшениці. Метою наших досліджень було вивчити значення транспорту води по аквапоринових каналах у період трубкування на формування зернівок рослин ярої та озимої пшениці сортів степового і лісостепового екотипів.

Рослини ярої м'якої пшениці сортів Вітка, Скороспілка 95, Скороспілка 99, Недра, Миронівська яра, Елегія миронівська, Скороспілка 98, Етюд, Дніпрянка та озимої м'якої пшениці сортів Смуглянка, Артеміда, Перлина Лісостепу, Бенефіс, Епілог, Аналог, Поліська 90, Харус, Донська напівкарликова вирощували в польових умовах в Київській області на дерново-підзолистому ґрунті у вегетаційний

період 2009-2010 років. Обробку рослин озимої та ярої пшениці проводили у фазі трубкування водним розчином  $\text{HgCl}_2$  0,5 мМ. Рослини ярої пшениці у окремому досліді обробляли водним розчином  $\text{AgNO}_3$  в концентрації 0,5 мМ. Протягом періоду формування зернівок аналізували нагромадження сирої та сухої маси, а також вмісту води в зернівках.

Встановлено, що після обробки рослин ярої та озимої м'якої пшениці у фазі трубкування специфічними інгібіторами аквапоринів зменшувалось надходження води в зернівки, затримувалось наростання їх сирої та сухої маси, особливо в період молочної стиглості зерна. Найбільш інтенсивне інгібування водного транспорту спричиняв  $\text{HgCl}_2$  у рослин ярої та озимої пшениці. Маса зернівок найбільше зменшувалась у середньо- та слабостійких сортів Поліська 90, Артеміда в період молочної стиглості зерна. Значно слабше впливало інгібування аквапоринового транспорту на наростання маси зернівок озимої пшениці сортів Бенефіс, Аналог, Харус і Донська напівкарликова. У рослин ярої пшениці інгібування водного транспорту за допомогою  $\text{HgCl}_2$  суттєво зменшувало масу зернівок у період молочної стиглості у сортів Скороспілка 95, Миронівська яра, Вітка, Скороспілка 98 і практично не впливало на масу зернівок сортів Етюд, Дніпрянка, Елегія миронівська.

Вплив  $\text{AgNO}_3$  на інгібування водного транспорту та наростання маси зернівок досліджували на прикладі сортів ярої пшениці. Найбільш значне пригнічення наростання маси зернівок після обробки рослин  $\text{AgNO}_3$  відзначено у сортів Скороспілка 95, Скороспілка 99, Дніпрянка, Елегія миронівська. Значно слабший вплив мав розчин  $\text{AgNO}_3$  на наростання маси зернівок у сортів Недра, Скороспілка 98, Вітка, Етюд, Миронівська яра.

Таким чином, інгібування водного транспорту рослин ярої та озимої пшениці у критичний за водовикористанням період трубкування спричиняло зменшення маси та розмірів зернівок, кількості зерен в колосі. Використання специфічних інгібіторів дало змогу з'ясувати, що транспорт води по аквапоринових каналах належить до лімітуючих чинників забезпечення водою рослин пшениці в критичні періоди онтогенезу.

### **Жук В.**

#### **ВПЛИВ 6-БАП НА ПОСУХОСТІЙКІСТЬ ЯРОГО ЯЧМЕНЮ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01013, Україна  
e-mail: zhuk\_bas@voliacable.com*

Ячмінь належить до цінних продовольчих культур і займає четверте місце у світі в посівах зернових. В Україні значне місце займають посіви ярого ячменю, однак часті посухи суттєво знижують його продуктивність. Стійкість ярого ячменю до умов природної посухи, яка характеризується дефіцитом води та високою температурою середовища, залишається майже не вивченою. Метою наших досліджень було вивчення дії природної посухи на рослини ярого ячменю та можливості зменшення її негативних ефектів за допомогою екзогенного цитокініну 6-БАП.

Рослини ярого ячменю сортів Асторія, Бадьорий, Циліндра вирощували в умовах польового досліді в Київській області. Грунт дерново-підзолистий. Умови посухи спостерігались в період колосіння-цвітіння та формування зерна і характеризувались денними температурами повітря близько 40 °C та 20-30% польової вологості ґрунту. Обробку рослин здійснювали водним розчином 6-БАП в концентрації 0,1 мМ у фазі виходу рослин в трубку. Після обробки у листках рослин визначали вміст води, хлорофілів, протехлорофілу, каротиноїдів. В період формування зерна вимірювали висоту рослин, довжину останнього листка. Після дозрівання зерна визначали врожайність рослин, кількість зерен в колосі, масу 1000 зерен.

Встановлено, що у рослин ячменю найвищий вміст хлорофілів був у фазі кушіння рослин, а в подальшому зменшувався більш ніж удвічі. Обробка рослин 6-БАП зменшувала деструктивну дію

посухи на хлорофіли листків ячменю. Найменший рівень деструкції хлорофілу за дії 6-БАП спостерігався в листках ячменю сортів Асторія і Бадьорий. У рослин ячменю сорту Циліндра після обробки 6-БАП відзначено збільшення вмісту хлорофілів в листках вдвічі, однак у фазі молочної стиглості зерна кількість хлорофілів зменшилась майже вдвічі. Кількість протохлорофілу значно зростала в листках після обробки рослин 6-БАП у період колосіння, однак в період цвітіння та наливу зерна кількість протохлорофілу зменшилась майже втричі. Вміст каротиноїдів у листках ячменю суттєво збільшився після обробки рослин 6-БАП у фазі молочної стиглості зерна у сортів Асторія і Бадьорий. У сорту ячменю Циліндра вміст каротиноїдів у цей період суттєво зменшився.

У оброблених 6-БАП рослин ячменю сортів Асторія та Бадьорий у період формування зерна висота рослин, довжина останнього листка, довжина колоса, кількість зерен в колосі і маса 1000 зерен були більшими, порівняно з контролем. У рослин сорту Циліндра обробка рослин БАП збільшувала довжину останнього листка, довжину колоса та масу 1000 зерен. Продуктивність рослин ячменю після обробки рослин 6-БАП зросла у сорту Асторія з 36,5 до 40,7 ц/га, у сорту Бадьорий з 21,9 до 28,2 ц/га і у сорту Циліндра з 18,4 до 19,6 ц/га.

Серед досліджених нами сортів ярого ячменю найвищу стійкість до природної посухи та реакцію на 6-БАП виявили сорти Асторія та Бадьорий. Обробка рослин 6-БАП зменшувала негативну дію природної посухи на рослини ячменю шляхом затримки деструкції хлорофілу, підвищення вмісту протохлорофілу в листках, особливо в період колосіння. Очевидно, екзогенний цитокінін компенсує дефіцит ендогенних цитокінінів і таким чином послаблює негативну дію посухи на ростові процеси. Це явище сприяло збільшенню розмірів рослин та останнього листка, який продовжував ріст у період трубкування та колосіння. Затримка деструктивних процесів в період посухи та збільшення асиміляційної поверхні і періоду функціонування асиміляційного апарату під впливом 6-БАП підвищували продуктивність рослин ярого ячменю в несприятливих (за забезпеченням водою та за температурою) умовах середовища.

## **ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE**

**Котлярова А., Білоус М., Манько В. В.**

**ОСОБЛИВОСТІ ВИДІЛЕННЯ ТА ПЕРМЕАБІЛІЗАЦІЇ  
ІЗОЛЬОВАНИХ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН СЛІЗНИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ**

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

Розробка методів ізолювання і пермеабілізації плазматичної мембрани клітин різних тканин є надзвичайно важливою і актуальною проблемою фізіології, оскільки більшість сучасних фізіологічних досліджень проводиться на клітинному рівні.

Метою цієї роботи було підібрати оптимальні умови виділення та пермеабілізації ізолюваних секреторних клітин слізних залоз щурів. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях масою 250-300г. Після декапітації тварини швидко виділяли зовнішньоорбітальну слізу залозу, очищали від сполучної тканини та промивали у зовнішньоклітинному середовищі такого складу (мМ): NaCl 119, KCl 6, MgCl<sub>2</sub> 1,2, NERES 10, CaCl<sub>2</sub> 1, глюкоза 6, NaHCO<sub>3</sub> 25; (pH 7,4). У відпрепаровану залозу ін'єкцією вводили суміш колагенази (600 U/мл) з лідазою (400 U/мл) та інкубували протягом 25 хвилин у водяному термостаті при температурі 37°C.

Після завершення інкубації змінювали розчин на зовнішньоклітинний, що містить ЕГТА (2 мМ) та механічно розрихлювали тканину залози шляхом піпетування. Отриману суспензію ацинусів інкубували у ЕГТА-вмісному розчині протягом 15 хв. Після цього повторно інкубували у Ca<sup>2+</sup>-вмісному середовищі, що містить суміш колагенази (400 U/мл) та лідази (400U/мл) протягом 15 хв і повторно інкубували у безкальцієвому (2 мМ ЕГТА) зовнішньоклітинному середовищі (10 хв). Показано, що перед інкубацією з ЕГТА ацинуси зібрані у ацинарні комплекси, що значно ускладнює пермеабілізацію клітин. Після першої інкубації з ЕГТА ацинарні комплекси розрихлюються, а після другої інкубації з ЕГТА отримуємо суспензію окремих клітин та невеликих їх груп. Проте трапляються також великі групи клітин, яких можна позбутися шляхом фільтрування суспензії через нейлонову тканину. Пермеабілізацію клітин проводили шляхом їх інкубації у номінально безкальцієвому внутрішньоклітинному розчині, що містить дигітонін (25-30 мкг/мл) протягом 10 хв при температурі 37°C. Ступінь пермеабілізації оцінювали візуально, шляхом фарбування трипановим синім (0,1%).

Отримані результати дають змогу зробити такі висновки: оптимальними умовами виділення ізолюваних ацинарних клітин слізних залоз щурів є їх двохразова почергова інкубація у Ca<sup>2+</sup>-вмісному середовищі, що містить суміш колагенази і лідази, та у безкальцієвому розчині, що містить ЕГТА (2мМ).

Пермеабілізацію плазматичної мембрани ацинарних клітин слізних залоз доцільно проводити у номінально безкальцієвому внутрішньоклітинному середовищі, що містить дигітонін у концентрації 25-30 мкг/мл.

**Грабовська С., Бичкова С.**

**ВПЛИВ ІФ<sub>3</sub> НА АТФАЗНУ АКТИВНІСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: lunadark@yandex.ru, s.bychkova@gmail.com*

У гепатоцитах Ca<sup>2+</sup> відіграє важливу роль у передачі зовнішньоклітинних сигналів та у формуванні клітинної відповіді на ці сигнали, тобто є вторинним месенджером (Gaspers, Thomas, 2005). На

сьогодні  $\text{I}\Phi_3$ -індуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  вважається ключовим механізмом генерування кальцієвих сигналів у незбудливих клітинах (Berridge, 1993; Berridge et al., 2003). Однак після закінчення дії сигналу концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  у цитозолі необхідно нормалізувати, адже її тривале підвищення може спричинити порушення метаболізму та навіть загибель клітини. Цю функцію виконують  $\text{Ca}^{2+}$  помпи, зокрема  $\text{Ca}^{2+}$  АТФази мембран ЕПР та ПМ, які знижують концентрацію кальцію в цитозолі клітин, затрачаючи при цьому енергію АТФ. Зміна активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз може впливати й на інші системи активного транспорту йонів. Метою нашого дослідження було виміряти зміни АТФазної активності мембран гепатоцитів щурів за наявності  $\text{I}\Phi_3$ .

Дослідження проводили на нелінійних щурах обох статей масою 0,18-0,2 кг. Відпрепаровану печінку гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма при швидкості 300 об/хв у тріс-НСІ-буфері (50 ммоль/л, рН 7,4). Фракцію мікросом гепатоцитів отримували методом диференційного центрифугування. Активність АТФазних систем мембран гепатоцитів розраховували за різницею вмісту неорганічного фосфору у середовищах різного складу, виміряного за методом Фіске-Суббароу та виражали у мкмоль  $\text{P}_i$  в перерахунку на 1 мг білка на 1 год. Сумарну АТФазну активність мікросом визначали у стандартному  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ -вмісному середовищі інкубації. Для визначення питомої  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазної активності від сумарної АТФазної активності віднімали АТФазну активність за присутності 1 ммоль/л оубаїну. Для визначення питомої  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності розраховували різницю між сумарною  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ - та  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазними активностями. Питому  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазну активність визначали у середовищі інкубування, що містило 1 ммоль/л ЕГТА за відсутності  $\text{CaCl}_2$  та у присутності 1 ммоль/л оубаїну. Для стимулювання  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих кальцієвих каналів до середовища інкубування мікросом додавали  $\text{I}\Phi_3$  (10 мкмоль/л).

Встановлено, що  $\text{I}\Phi_3$  підвищує загальну АТФазну активність везикул мембран гепатоцитів щурів на  $(50,98 \pm 9,05)\%$ , ( $P \leq 0,01$ ,  $n = 6$ ) щодо контролю. При цьому питома  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазна активність гепатоцитів щурів за дії  $\text{I}\Phi_3$  не зазнає статистично достовірних змін. Показано, що питома значення загальної  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазної активності мембран гепатоцитів щурів за дії  $\text{I}\Phi_3$  збільшується на  $(56,14 \pm 13,33)\%$ , ( $P < 0,05$ ,  $n = 5$ ), а питома значення базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності за дії  $\text{I}\Phi_3$  збільшується на  $(51,76 \pm 9,80)\%$ , ( $P < 0,01$ ,  $n = 6$ ) щодо контролю. Отже  $\text{I}\Phi_3$  збільшує сумарну АТФазну активність мембран везикул щурів за рахунок зростання загальної  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазної активності і базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності.

Ми припускаємо, що раніше виявлене нами, збільшення вмісту депонованого кальцію (Бичкова, 2009) під впливом  $\text{I}\Phi_3$  залучає, очевидно, реакумулювання цього йона в ендоплазматичному ретикулумі за рахунок активування  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз мембран ЕПР гепатоцитів щурів. Це, очевидно, може свідчити про наявність тісної колокалізації між  $\text{I}\Phi_3$ -рецепторами та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазами у гепатоцитах. Такий взаємозв'язок постулюється, зокрема, для адипоцитів та клітин скелетних м'язів (Gilchrist, 2003).

### **Крамар С., Федірко Н.**

#### **КІНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВЗАЄМОДІЇ $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ ТА $\text{Co}^{2+}$ З МІТОХОНДРІАЛЬНОЮ ПОРОЮ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ ПРОНИКНОСТІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: n\_fedirko@yahoo.co.uk*

Сьогодні у літературі широко обговорюється явище неспецифічної проникності мітохондрій, яке супроводжується відкриттям пор цих органел, набряканням останніх та швидким виходом  $\text{Ca}^{2+}$  з них. Враховуючи безпосередню участь цієї системи у метаболізмі клітини, її енергетичному та кальцієвому гомеостазі, важливо з'ясувати особливості взаємодії мітохондріальної пори з катіонами металів. Такі результати є необхідною ланкою у процесі встановлення потенційної ролі неспецифічної



проникності мітохондрій у розвитку патологічних станів, викликаних інтоксикаціями солями металів. Тому метою даної роботи є кінетичний аналіз впливу  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  та  $\text{Co}^{2+}$  на роботу мітохондріальної пори неспецифічної проникності.

Дослідження проводили на ізольованих мітохондріях печінки щурів. Мітохондрії виділяли методом диференціального центрифугування. Метал-індуковану неспецифічну проникність мітохондрій аналізували за виходом  $\text{Ca}^{2+}$  з цих органел. Реєстрацію виходу  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій здійснювали електрометричним методом з використанням  $\text{Ca}^{2+}$ -селективного електрода Orion 93-20 та оцінювали процес за трьома параметрами: швидкістю, тривалістю та амплітудою (кількістю  $\text{Ca}^{2+}$ , що вивільнився крізь мітохондріальну пору). Вміст білка у суспензії мітохондрій визначали за методом Лоурі. Показано, що  $\text{Cd}^{2+}$  у концентраціях 0,1–3,0 мкмоль/л активує відкриття мітохондріальної пори неспецифічної проникності, тобто, викликає інтенсивний вихід  $\text{Ca}^{2+}$  із цих органел. Причому зі збільшенням концентрації доданого  $\text{Cd}^{2+}$  зростає швидкість та, відповідно, зменшується тривалість процесу, проте достовірно не змінюється його амплітуда. Залежність швидкості  $\text{Cd}^{2+}$ -індукованого виходу  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій від концентрації доданого  $\text{Cd}^{2+}$  описується параболічною кривою. Натомість,  $\text{Pb}^{2+}$  і  $\text{Co}^{2+}$  у концентраціях відповідно 0,1x10,0 і 0,1x50,0 мкмоль/л не активують відкриття мітохондріальної пори. Так, додавання до середовища інкубації цих катіонів викликає вихід  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій. Втім, інтенсивність цього процесу є незначною (аналогічною до контрольної) та не зазнає змін зі зростанням концентрації доданих  $\text{Pb}^{2+}$  та  $\text{Co}^{2+}$ . Таким чином,  $\text{Cd}^{2+}$ , на відміну від  $\text{Pb}^{2+}$  та  $\text{Co}^{2+}$ , здатний індукувати неспецифічну проникність мітохондрій.

### **Малоїд М., Бичкова С. В.**

#### **ВПЛИВ $\text{I}\Phi_3$ НА АТФАЗНУ АКТИВНІСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ІНСУЛІНУ**

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

Гепатоцити є високодиференційованими і просторово поляризованими клітинами, які виконують широкий спектр функцій, включаючи проміжний метаболізм, синтез та секрецію білків, синтез, транспорт і секрецію жовчних кислот (Barritt G.J et al., 2008). Зміна концентрації кальцію в цитозолі, ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях та інших внутрішньоклітинних органелах клітин здійснює необхідний вклад у регулювання цих функцій. Зокрема, кальцієвий сигнал відіграє важливу роль у контролюванні метаболізму гепатоцитів, включаючи мітохондріальний метаболізм і розпад глікогену (Hajnoczky et al., 1995). Гормони, такі як вазопресин, ангіотензин II і агоністи б-адренорецепторів мобілізують внутрішньоклітинні  $\text{Ca}^{2+}$ -депо, стимулюючи утворення вторинного посередника – інозитол-1,4,5-трифосфату ( $\text{I}\Phi_3$ ) (Gaspers, Thomas, 2005). Оскільки раніше нами було встановлено, що перфузія печінки інсуліном змінює на протилежне вплив  $\text{I}\Phi_3$  на вміст депонованого кальцію у пермеабілізованих гепатоцитах щурів (Бичкова, 2009), тому ми вважали за потрібне дослідити, як змінюється дія  $\text{I}\Phi_3$  на АТФазну активність мембран гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсулінвмісним розчином.

Дослідження проводили на 16 нелінійних щурах обох статей масою 0,18-0,2 кг. Відпрепаровану печінку перфузували зовнішньоклітинним розчином, що містив інсулін («Монодар», 0,04 МО). Цей розчин шприцом нагнітали у тканину печінки впродовж 10 хв. Відперфузовану печінку гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма при швидкості 300 об/хв у тріс-НСІ-буфері (50 ммоль/л, рН 7,4). Фракцію мікросом гепатоцитів отримували методом диференційного центрифугування. Активність АТФазних систем мембран гепатоцитів розраховували за різницею вмісту неорганічного фосфору у середовищах різного складу, виміряного за методом Фіске-Суббароу та виражали у мкмоль  $\text{P}_i$  в перерахунку на 1 мг білка на 1 год. Для стимулювання  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих кальцієвих каналів до середовища інкубування мікросом додавали  $\text{I}\Phi_3$  (10 мкмоль/л). Встановлено, що додавання  $\text{I}\Phi_3$  до везикул, отриманих

після попередньої перфузії печінки інсулінвмісним розчином викликало збільшення загальної АТФазної активності порівняно з контролем на  $(53,83 \pm 9,37)\%$ , ( $P \leq 0,001$ ,  $n = 5$ ). При цьому  $I\Phi_3$  не впливає на питому  $Ca^{2+}$ -АТФазну активність мембран отриманих після перфузування печінки інсулінвмісним розчином, а також не зазнає змін і питома  $Na^+$ ,  $K^+$ - АТФазна. Питомий вклад базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-азної активності за дії  $I\Phi_3$  на везикули, що отримані після перфузії печінки інсулінвмісним розчином є вищим ніж у контролі (везикули, що отримані після перфузування печінки інсуліном, що не зазнавали дії  $I\Phi_3$ ) на  $(67,69 \pm 11,65)\%$ , ( $P \leq 0,01$ ,  $n = 5$ ).

Таким чином після перфузування печінки інсулінвмісним розчином за дії  $I\Phi_3$  ми спостерігали збільшення загальної АТФазної активності, що реалізується у збільшенні питомого внеску лише базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-азної активності. При цьому  $I\Phi_3$  не лише не впливає на питоме значення  $Na^+$ ,  $K^+$ - АТФ-азної активності мембран гепатоцитів щурів, а й запобігає збільшенню активності цього ферменту, яке спостерігається під впливом перфузії печінки інсулінвмісним розчином (Бичкова, 2010). Отже, перфузія печінки інсулінвмісним розчином запобігає збільшенню  $Ca^{2+}$ -АТФазної активності під впливом  $I\Phi_3$  та не впливає на зростання за дії  $I\Phi_3$  базальної  $Mg^{2+}$ -АТФазної активності.

### **Мроць О., Бичкова С.**

#### **ВПЛИВ РІАНОДИНУ НА АТФАЗНУ АКТИВНІСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ**

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

Раніше нами було показано, що застосування ріанодину викликає збільшення вмісту депонованого кальцію у пермеабілізованих гепатоцитах щурів (Бичкова, 2009), що підтверджує функціонування у цих клітинах ріанодинчутливих каналів вивільнення кальцію (RyRs) і узгоджується з даними інших авторів (Pierobon et al., 2006). Однак залишається нез'ясованим, у якому саме  $Ca^{2+}$ -вмісному депо рекамулюється кальцій, вивільнений за дії ріанодину. Ми припустили, що активування RyRs у гепатоцитах, створюючи локальні ділянки із підвищеною концентрацією кальцію поблизу мембран, може впливати на роботу систем активного транспортування йонів, в першу чергу  $Ca^{2+}$ -транспортувальних. Для того щоб виявити таку залежність між RyRs та системами активного транспорту йонів, ми вивчали вплив ріанодину на зміни АТФазної активності гепатоцитів щурів.

Дослідження проводили на нелінійних щурах обох статей масою 0,18-0,2 кг. Відпрепаровану печінку гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма при швидкості 300 об/хв у тріс-НСІ-буфері (50 ммоль/л, рН 7,4). Фракцію мікросом гепатоцитів отримували методом диференційного центрифугування. Активність АТФазних систем мембран гепатоцитів розраховували за різницею вмісту неорганічного фосфору у середовищах різного складу, виміряного за методом Фіске-Суббароу та виражали у мкмоль  $P_i$  в перерахунку на 1 мг білка на 1 год. Сумарну АТФазну активність мікросом визначали у стандартному  $Ca^{2+}$  та  $Mg^{2+}$ -вмісному середовищі інкубації. Для визначення питомої  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазної активності від сумарної АТФазної активності віднімали АТФазну активність за присутності 1 ммоль/л оубаїну. Для визначення питомої  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -АТФазної активності розраховували різницю між сумарною  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ - та  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазними активностями. Питому  $Mg^{2+}$ -АТФазну активність визначали у середовищі інкубування, що містило 1 ммоль/л ЕГТА за відсутності  $CaCl_2$  та у присутності 1 ммоль/л оубаїну. Для стимулювання вивільнення кальцію з RyRs у досліді ми додавали ріанодин (50 нмоль/л) до середовища інкубування мікросом.

Нами показано, що ріанодин збільшує загальну АТФазну активність на  $(58,34 \pm 4,40)\%$  ( $P < 0,001$ ,  $n = 5$ ). Аналіз питомого внеску різних АТФаз у сумарну АТФазну активність показав, що вона зростає за рахунок збільшення питомих активностей  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФази на  $(67,35 \pm 12,78)\%$  ( $P \leq 0,001$ ,  $n = 5$ ) і базальної  $Mg^{2+}$ -АТФази на  $(55,25 \pm 5,45)\%$  ( $P < 0,001$ ,  $n = 5$ ). Однак не спостерігається змін питомої

активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази мембран гепатоцитів щурів за дії на них ріанодину. На основі цього можна припускати, що раніше виявлене нами, збільшення вмісту депонованого кальцію (Бичкова, 2009) під впливом ріанодину не залучає, очевидно, реакумулювання цього йону у ендоплазматичному ретикулімі за участю  $\text{Ca}^{2+}$ -помпи. Виявлений нами вплив ріанодин-індукованого вивільнення кальцію на зміни концентрації  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  у гепатоцитах узгоджується з даними літератури для інших тканин (Saini, Dhalla, 2006; Woodcock, Matkovich, 2005).

Таким чином, підтвердилося наше припущення про те, що активування RyRs впливає на системи активного транспорту йонів у гепатоцитах. Це стосується, зокрема,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - АТФази, а також базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази. Ми припускаємо, що активування RyRs може бути пов'язане із збільшенням вмісту кальцію у ендосомному апараті гепатоцитів. Це певною мірою підтверджує підвищення базальної активності  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази і  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази мембран гепатоцитів за дії ріанодину.

### **Улицька Н., Бичкова С.**

#### **ВПЛИВ ІНСУЛІНУ НА АТФАЗНУ АКТИВНІСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ**

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

Відомо, що інсулін підсилює ріст і регенерацію печінки, збільшує надходження глюкози до гепатоцитів, бере участь у регулюванні жовчоутворювальної функції цього органу (Barritt G.J et al., 2008). Нами було попередньо показано (Бичкова, 2010), що після перфузування печінки інсулінвмісним розчином спостерігається підвищення внутрішньоклітинного рівня кальцію. З літератури відомо, що інсуліновий сигнал у гепатоцитах залежить від концентрації натрію і калію (Schliess F., Hdussinger D., 2003). Відомо, що гомеостаз  $\text{Ca}^{2+}$  в клітинах також залежить від концентрації цих йонів. Однак залишається не з'ясованим, як змінюється АТФ-залежне транспортування кальцію, натрію та калію у гепатоцитах після дії інсуліну. Тому метою роботи було дослідити вплив перфузії печінки інсуліном на АТФазну активність мембран гепатоцитів щурів.

Дослідження проводили на нелінійних щурах обох статей масою 0,18-0,2 кг. Дві частки відпрепарованої печінки перфузували зовнішньоклітинним розчином, що містив інсулін («Монодар», 0,04 МО). Цей розчин шприцом нагнітали у тканину печінки впродовж 10 хв. Для контролю використовували інші дві частки печінки, які перфузували зовнішньоклітинним розчином без інсуліну. Відперфuzовану печінку гомогенізували в гомогенізаторі Поттера-Евельгейма при швидкості 300 об/хв у тріс-НСІ-буфері (50 ммоль/л, рН 7,4). Фракцію мікросом гепатоцитів отримували методом диференційного центрифугування. Активність АТФазних систем мембран гепатоцитів розраховували за різницею вмісту неорганічного фосфору у середовищах різного складу, виміряного за методом Фіске-Суббароу та виражали у мкмоль  $P_i$  в перерахунку на 1 мг білка на 1 год. Сумарну АТФазну активність мікросом визначали у стандартному  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ -вмісному середовищі інкубації. Для визначення питомої  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазної активності від сумарної АТФазної активності віднімали АТФазну активність за присутності 1 ммоль/л оуабаїну. Для визначення питомої  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності розраховували різницю між сумарною  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ - та  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазними активностями. Питому  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазну активність визначали у середовищі інкубування, що містило 1 ммоль/л ЕГТА за відсутності  $\text{CaCl}_2$  та у присутності 1 ммоль/л оуабаїну.

Показано, що після перфузування печінки інсуліном зростає АТФазна активність мембран гепатоцитів на  $(53,29 \pm 7,90)\%$ , ( $P = 0,05$ ,  $n = 7$ ) за рахунок зростання питомих активностей  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази на  $(77,92 \pm 10,25)\%$ , ( $P = 0,05$ ,  $n = 7$ ) та загальної  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазної активності на  $(54,74 \pm 12,52)\%$ , ( $P = 0,05$ ,  $n = 6$ ), а питома  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазна активність не змінюється. Виявлений нами вплив інсуліну на функціонування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази, підтверджений, наприклад, для скелетних м'язів (Marette A., et al.,

1993; Schliess F., Hdussinger D., 2003). Дані літератури щодо дії інсуліну на  $\text{Ca}^{2+}$ -помпи гепатоцитів не є численні, а окремі повідомлення констатують про відсутність впливу цього гормону на активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ізольованих гепатоцитів (Lin S. et all., 1983), тоді як не вивчалось, який ефект чинить перфузування печінки інсуліном.

Ми вважаємо, що підвищенням активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз за дії інсуліну можна пояснити виявлене нами раніше (Бичкова, 2010), збільшення вмісту депонованого кальцію у пермеабілізованих гепатоцитах, яке спостерігалось після перфузії печінки інсулінвмісним розчином. Тобто вплив інсуліну на кальцієвий гомеостаз гепатоцитів полягає у акумуляванні цього йона всередині ендоплазматичного ретикулуму шляхом стимулювання  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз до закачування кальцію у це внутрішньоклітинне депо. Крім того в гепатоцитах інсулін підсилює транспортування  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$ , однак у яких внутрішньоклітинних компартаментах відбувається таке транспортування, потребує подальшого вивчення.

### **Янків О., Бичкова С., Бичков М.**

#### **ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ СЛИНИ У ХВОРИХ РЕВМАТОЛОГІЧНОГО ПРОФІЛЮ**

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

Ревматоїдний артрит та остеоартроз є широко розповсюдженими ревматичними захворюваннями. В Україні на ці хвороби страждає до 10% дорослого населення. Основою сучасного лікування цих захворювань є використання базисних препаратів тривалої дії у поєднанні з нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗП). Встановлено, що НПЗП впливають на збалансовану систему захисту слизової оболонки гастродуоденальної зони: порушують слизово-бікарбонатний бар'єр, пригнічують активність простагландинів, порушують кровотік та регенерацію слизової оболонки. Слина – одна з не багатьох біологічних рідин з великим набором дослідницьких можливостей. Слина є складним полікомпонентним секретом, основними складовими якого є: муцин, немучинові білки, епідермальний фактор росту слини, простагландин  $\text{E}_2$ , слини, електроліти, бікарбонати, фосфати. Слина відіграє важливу роль у гомеостазі шлунково-кишкового каналу. Беручи участь у формуванні захисного гелевого шару, секрет слинних залоз істотно поліпшує функціонування преепітеліального бар'єру слизової оболонки стравоходу. Біохімічний та імунологічний склад слини розглядається як «маркер» діагностики і моніторингу перебігу захворювань і фармакотерапії. Для отримання різноманітної діагностичної інформації важливим є вивчення хімічних компонентів слини. Метою нашої роботи було виміряти вміст білка, кальцію та фосфору у слині здорових людей та пацієнтів, які тривало приймали НПЗП.

Вивчали зразки слини практично здорових добровольців ( $n = 10$ ) та пацієнтів ревматологічного профілю, що тривало приймають НПЗП ( $n = 15$ ). Для дослідження брали нестимульовану слину, зібрану через 1 годину після чищення зубів і ретельного полоскання порожнини рота дистильованою водою. Вимірювали вміст кальцію в слині за допомогою кальцій-чутливого барвника арсеназо III, вміст білка за методом Лоурі та вміст неорганічного фосфору в слині за методом Фіске-Суббароу.

Встановлено, що вміст кальцію в слині пацієнтів, які тривало приймали НПЗП статистично достовірно нижчий від контролю на 67,93 % ( $n = 15$ ,  $P \leq 0,01$ ), вміст білка також проявляє тенденцію до зниження, а вміст фосфору нижчий від контрольної групи на 66,03 % ( $n = 15$ ,  $P \leq 0,001$ ).

Таким чином, встановлені зміни показників слини у пацієнтів ревматологічного профілю. Такі порушення якості слини, яка забезпечує хімічний кліренс стравоходу, може приводити з часом до істотного погіршення як структури, так і функції гелевого шару, що представляє першу лінію захисту слизової оболонки стравоходу від агресивних компонентів рефлюкату (хлористоводнева кислота, пепсин, жовч, трипсин). Все це може призвести до розвитку ще однієї патології (гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби) у пацієнтів ревматологічного профілю. Тому вивчення показників слини є простим

та водночас важливим діагностичним методом визначення розвитку гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби у осіб, що тривало вживають НПЗП.

**Великопольська О., Качмар М., Манько Б., Манько В. В.**  
РОЛЬ  $\text{I}\Phi_3$ -ЧУТЛИВИХ  $\text{Ca}^{2+}$ -КАНАЛІВ У РЕГУЛЯЦІЇ ДИХАННЯ  
СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЛИЧИНКИ ДЗВІНЦЯ

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

$\text{Ca}^{2+}$ -сигнали спричиняють посилення окисних процесів у мітохондріях (Voronina, 2002). Ініціація  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналів у секреторних клітинах відбувається, зазвичай, внаслідок активації  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів апікального полюса. Експериментально доведена наявність цих каналів у секреторних клітинах слинних залоз личинки дзвінця (Манько та ін., 2004). Метою роботи було встановлення ролі  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів в регуляції мітохондріального дихання секреторних клітин слинних залоз личинки дзвінця.

Дослідження проведені на ізольованих слинних залозах личинки дзвінця *Chironomus plumosus* L. Швидкість дихання визначали полярографічно з використанням кисневого електрода Кларка. Позаклітинне середовище містило, ммоль/л:  $\text{NaCl}$  – 136,90,  $\text{KCl}$  – 5,36,  $\text{CaCl}_2$  – 1,76,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 0,35,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,44,  $\text{MgCl}_2$  – 0,95, глюкоза – 5,55; рН 7,2. Клітинне дихання стимулювали сумішшю пірувату та малату (по 5 ммоль/л). Для забезпечення проникнення субстратів окислення через плазматичну мембрану її пермеабілізували, активуючи з допомогою АТФ (100 мкмоль/л)  $\text{P2X}$ -рецептори. Для блокування  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів залози інкубували 15 хв з 2-АФБ (10 мкмоль/л).

Внесення в полярографічну комірку суміші пірувату з малатом стимулювало дихання у контролі на  $22,80 \pm 5,35$  % ( $P \leq 0,01$ ,  $n = 6$ ). Після преінкубації залоз з 2-АФБ швидкість ендogenous дихання залоз не змінювалась. Суміш пірувату з малатом на тлі 2-АФБ інтенсифікувала дихання цих залоз на  $43,97 \pm 6,72$  % щодо ендogenous дихання ( $P \leq 0,001$ ,  $n = 6$ ), що є суттєво більшим, ніж у контролі. Тобто, зростання дихання, стимульованого сумішшю пірувату з малатом, під впливом 2-АФБ становило  $11,07 \pm 2,87$  % ( $P \leq 0,05$ ,  $n = 6$ ).

Отже, оскільки 2-АФБ не впливає на ендogenous дихання досліджуваних клітин, спонтанна активність  $\text{I}\Phi_3$ -чутливих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів не відображається на процесах мітохондріального окислення за цих умов. Проте інтенсифікація піруват- і малатстимульованого дихання може свідчити про певні неспецифічні впливи 2-АФБ безпосередньо на системи мітохондріального окислення.

**<sup>1</sup>Остапів Р., <sup>2</sup>Остапів Д.**

**ОСОБЛИВОСТІ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ЕЯКУЛЯТАХ БУГАЇВ**

*<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
<sup>2</sup> Інститут біології тварин НААН України  
вул. Стуса, 36, м. Львів, 79000, Україна  
e-mail: Ximera190@gmail.com*

Фізіологія статевих клітин самців тісно пов'язана зі здатністю нагромаджувати і використовувати енергетичні субстрати та взаємодіяти з позаклітинними редокс-системами. Інтенсивність вказаних процесів визначає, з одного боку, фізіологічну якість статевих клітин і свідчить про напруженість в них обмінних процесів, а з другого, залежить від фізіологічних характеристик еякулятів, концентрації спермій.

Тому метою дослідження було вивчення залежності дихальної і відновної здатності сперми від фізіологічних характеристик еякулятів бугаїв.

Встановлено, що еякуляти бугаїв характеризуються об'ємом  $4,3 \pm 0,18$  мл та концентрацією спермійів  $1,09 \pm 0,11 \cdot 10^9$  клітин /мл, а статеві клітини проявляють дихальну активність –  $13,3 \pm 0,62$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми) і відновну здатність –  $1,5 \pm 0,14$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми). Вивченням кореляцій між фізіологічними показниками еякулятів і дихальною активністю сперми встановлено зниження інтенсивності споживання кисню спермою зі збільшенням об'єму еякуляту. Кореляційне відношення за об'ємом еякуляту для дихальної активності сперми –  $\eta = 0,20$ . Не виявлено залежності від об'єму еякуляту відновної здатності сперми без додавання акцептора електронів. Величина значення становить  $0,5 - 0,6$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми). Присутність акцептора електронів ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) у еякулятах знижує споживання кисню і нівелює різницю дихальної активності сперми залежно від об'єму еякуляту ( $9,8 \pm 0,60 - 11,4 \pm 1,12$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми)). При цьому, відновна здатність сперми низька ( $0,8 \pm 0,14$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми) при мінімальному об'ємі еякуляту (менше 2,0 мл), зростає більше ніж у два рази ( $P \leq 0,01$ ) при 2,0–4,0 мл і досягає максимуму ( $2,5 \pm 0,70$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми) при величині фізіологічного показника більше 6,0 мл. Кореляційне відношення за об'ємом еякуляту для відновної здатності сперми  $\eta = 0,23$ .

Вивченням кореляцій між концентрацією спермійів та досліджуваними біохімічними показниками сперми виявлено зростання дихальної активності: за концентрації менше  $0,80 \cdot 10^9$ /мл споживання кисню низьке ( $11,8 \pm 0,71$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми)), зростає на 10,1% при збільшенні до  $1,20 \cdot 10^9$ /мл і досягає максимальної величини ( $18,0 \pm 2,44$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми) при концентрації спермійів більше  $1,20 \cdot 10^9$ /мл, що вище вихідного значення на 34,5% ( $P \leq 0,05$ ). При цьому, відновна здатність сперми низька ( $0,5$  мкг  $K_3 \dots$ /хв  $\times$  0,1 мл сперми) за концентрації статевих клітин до  $1,20 \cdot 10^9$ /мл і вища на 37,5 % ( $0,8 \pm 0,11$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми) при концентрації більше  $1,20 \cdot 10^9$ /мл. Подібну закономірність встановлено за присутності в еякулятах акцептора електронів: при концентрації спермійів менше  $0,80 \cdot 10^9$ /мл низька дихальна активність ( $9,9 \pm 0,90$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми)), за концентрації до  $1,20 \cdot 10^9$ /мл споживання кисню майже не змінюється ( $10,0 \pm 0,50$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми)), а при величині фізіологічного показника більше  $1,20 \cdot 10^9$ /мл зростає до  $17,3 \pm 3,71$  нг-ат. О/(хв  $\times$  0,1 мл сперми), що вище вихідного значення 42,8 % ( $P \leq 0,05$ ). Додавання акцептора електронів виявило подібні відмінності відновної здатності сперми відносно концентрації спермійів у еякуляті. Максимальним значенням ( $3,3 \pm 1,31$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми) характеризуються еякуляти з концентрацією більше  $1,20 \cdot 10^9$ /мл, нижчим на 27,3 % з концентрацією менше  $0,80 \cdot 10^9$ /мл і найнижчим ( $1,3 \pm 0,21$  мкг  $K_3 \dots$ /(хв  $\times$  0,1 мл сперми) при  $0,80 - 1,20 \cdot 10^9$ /мл спермійів.

Із результатів вивчення кореляцій між досліджуваними показниками випливає, що між об'ємом еякуляту та інтенсивністю споживання кисню і відновною здатністю сперми існує слабка залежність, кореляційне відношення не перевищує величину  $\eta = 0,23$ , а між концентрацією спермійів та дихальною активністю сперми виявлено середньої сили позитивну кореляцію  $h = 0,30$ , за додаванням акцептора електронів –  $h = 0,39$  і відновною здатністю, відповідно,  $h = 0,22$  та  $h = 0,33$ .

### **Абдулахад К. Ф., Берегова Т. В., Цирюк О. І., Головинська Ю. Ю., Янковський Д. С.**

#### **БАЗАЛЬНА СЕКРЕЦІЯ СОЛЯНОЇ КИСЛОТИ В ШЛУНКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ОМЕПРАЗОЛУ В КОМБІНАЦІЇ З МУЛЬТИПРОБІОТИКАМИ ГРУПИ «СИМБІТЕР»**

*Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська 64, Київ, 01601, Україна*

*e-mail: tberegova@mail.ru*

Раніше нами було встановлено, що у щурів через добу після 28 денного введення омепразолу зростала концентрація гастрину в крові, розвивався дисбактеріоз у шлунку, реєструвалися суттєві морфологічні зміни в слизовій оболонці (у частини щурів зареєстрована гіперплазія, у частини – метаплазія, атрофія та рак) і, як наслідок, змінювалася секреція кислоти в шлунку. З метою корекції дисбак-

теріозу в іншій групі шурів одночасно з введенням омепразолу вводили мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» концентрований, який значною мірою запобігав морфологічним і функціональним змінам в шлунку, викликаних омепразолом. Таким чином, ми підтвердили роль дисбактеріозу в шлунку в розвитку раку та запропонували використовувати мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» концентрований для корекції дисбактеріозу в шлунку та для профілактики структурно-функціональних змін, що виникають на його фоні. Оскільки термін зберігання мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» концентрований становить 2 місяці, розроблено новий вид мультипробіотика групи «Симбітер® «Симбітер® форте», який завдяки новій технології виробництва має значно більший термін зберігання.

Метою роботи було порівняти ефективність впливу мультипробіотиків «Симбітер® ацидофільний» концентрований та «Симбітер® форте» на секрецію кислоти в шлунку шурів як показника структурних змін в слизовій оболонці шлунка.

Експерименти виконано на 89-ти нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, які були поділені на 4 групи. Щури I групи, яким упродовж 28-ми днів внутрішньоочеревинно (в/о) вводили 0,2 мл води та перорально (п/о) 0,2 мл води, слугували контролем. Щурам II групи упродовж 28-ми днів вводили блокатор  $H^+-K^+-ATP$ ази омепразол в дозі 14 мг/кг в/о один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл води. Щурам III групи упродовж 28 днів одночасно з введенням омепразолу п/о вводили мультипробіотик “Симбітер® ацидофільний» концентрований (ТОВ фірма «О.Д. Пролісок») в дозі 0,14 мл/кг. Щурам IV групи упродовж 28 днів одночасно з введенням омепразолу п/о вводили мультипробіотик “Симбітер® форте» (ТОВ фірма «О.Д. Пролісок») в дозі 0,14 мл/кг. Через добу після останнього введення препаратів або води щурам контрольної групи проводили експеримент. Шлункову секрецію досліджували в умовах гострого експерименту методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом під уретановим (1,15 г/кг, в/о) знечуленням.

Встановлено, що через добу після 28-денного зниження шлункової секреції соляної кислоти, викликаного введенням омепразолу, базальна секреція соляної кислоти в шлунку шурів зростає на 305,8% ( $p < 0,001$ ), що є показником розвитку гіперплазії в слизовій оболонці. Отримані результати збігаються з нашими попередніми дослідженнями, в яких показано, що 28-ми денне введення омепразолу у половини піддослідних шурів викликало збільшення дебіту кислоти базальної шлункової секреції (Цирюк, Берегова, 2007). Після одночасного 28-денного введення омепразолу з мультипробіотиком «Симбітер® ацидофільний» концентрований базальна секреція кислоти в шлунку шурів була на 43,9% меншою, ніж за умов 28-денного ізольованого введення омепразолу, хоча і залишалася вищою, ніж в контролі. За однакових умов введення «Симбітер® форте» справляв аналогічний вплив на базальну секрецію кислоти у шлунку шурів.

Отже, мультипробіотик «Симбітер® форте» за ефективністю впливу на секреторну функцію шлунка, як показника структурної цілісності слизової оболонки, в умовах тривалої гіпоацидності не відрізнявся від мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» концентрований. Зважаючи на більший термін зберігання, мультипробіотик «Симбітер® форте» знайде більш широке використання в клінічній практиці.

### **Артамонова Г. Б.**

#### **АНТИМЕТАСТАТИЧНА ДІЯ ГЛІКОПЕПТИДНОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ ВАКЦИНИ**

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.С.Кавецького НАН України*

*вул.Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна*

*e-mail: Anna\_Artamonova@ukr.net*

Останнім часом значна увага приділяється біотерапевтичним підходам лікування злоякісних новоутворень, особливо протирадикальними вакцинами. У відділі ензимології пухлин Інституту експеримен-

тальної патології, онкології та радіобіології ім Р.С. Кавецького НАН України створена протипухлинна глікопептидна вакцина (ГПВ). Попередні дослідження продемонстрували, що ГПВ виявляє протипухлинну активність, але через низьку імуногенність пухлинних антигенів є недостатньо ефективною. Застосовуються численні стратегії та підходи для підвищення її ефективності, пов'язані з пошуком необхідного режиму та схеми застосування, а також пошук імуномодуляторів та імуноад'ювантів. Вважається, що протипухлинна активність ГПВ здійснюється опосередковано через активацію протипухлинного імунітету.

Пошук та відбір імуноад'юванта, дослідження його впливу на деякі показники неспецифічного протипухлинного захисту організму та ефективність застосування в різних дозах та режимах введення окремо і в поєднанні з ГПВ в експериментальній імунотерапії пухлин. Для досліджень були використані біохімічні та імунологічні методи дослідження. Протипухлинну активність в терапевтичному і профілактичному режимах та антиметастатичну активність полісахаридної фракції окремо та в поєднанні з ГПВ досліджували на карциномі легені Льюїс та меланомі В16.

Як імуномодулятор нами був використаний полісахарид грибного походження, виділений з плодового тіла гриба *Lentinus edodes*. Введення полісахариду лабораторним мишам підвищувало цитотоксичну активність природних кілерів та лімфоцитів, активність перитонеальних макрофагів в НСТ-тесті, показники спленічного, тимічного індексів та відносної маси лімфатичних вузлів, а також загальну клітинність тимуса та лімфатичних вузлів у різних дозах та режимах. Монотерапевтичне застосування грибного полісахариду продемонструвало виражену терапевтичну ефективність незалежно від дози та режиму введення, а при комбінованому застосуванні полісахариду та ГПВ спостерігалось значне підвищення показників гальмування протипухлинного росту, порівняно із застосуванням ГПВ окремо. За умов терапевтичного режиму введення ГПВ не виявляє вираженої антиметастатичної активності, тоді як поєднане застосування ГПВ із ПСФ<sub>LE</sub> у якості Ад характеризується достовірно значимою пригнічувальною дією на ріст метастазів у легенях тварин із трансплантованою епідермоїдною карциномою легені Льюїс.

У результаті проведеного пошуку відібрано речовину з вираженою імуномодулюючою активністю, яка підвищує ефективність застосування ГПВ та має виражену протипухлинну й антиметастатичну активність, опосередковану активацією клітин-ефекторів протипухлинного захисту організму.

### **Чиж М. О., Бабасва Г. Г.**

#### **МОДЕЛЮВАННЯ НЕКРОЗУ МІОКАРДА КРІОХІРУРГІЧНИМ МЕТОДОМ**

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України*

*вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна*

*e-mail: chizh.kol@mail.ru*

Інфаркт міокарда (ІМ) - одна з форм некрозу міокарда (НМ), викликаного порушенням притоки крові через уражені артерії. Висока летальність і відсутність повторюваності пошкодження серця при використанні існуючих експериментальних моделей ІМ примушують дослідників шукати нові підходи до моделювання цієї патології, які дають змогу стандартизувати зону ураження.

Мета роботи: розробити спосіб отримання прогнозованої зони некрозу міокарда методом локальної кріодеструкції.

Експериментальну модель НМ створювали хірургічним способом на безпородних щурах-самках масою 180-250 г під ефірним наркозом на спонтанному диханні. Кріовплив на серце проводили автономним азотним кріоінструментом. Після цього грудну порожнину швидко і герметично зашивали. Кріонекроз, викликаний впливом на серце кріоаплікатора з діаметром 7 мм, приводив до 100% летальності тварин, а при діаметрі 5 мм летальність щурів складала 60%. Застосування кріоаплікатора з діаметром 3 мм приводило до утворення певної зони некрозу серцевого м'яза, і загибелі тварин не



спостерігалось. У зв'язку з цим подальші експерименти по моделюванню НМ проводили за допомогою кріоаплікатора з діаметром 3 мм. У контрольних тварин (з торакотомією без кріовпливу на серце) грубих порушень в електрокардіограмах виявлено не було.

Кріовплив на серце при оперативному доступі в 4-5 межребер'ї з експозицією 10 і 15 с приводило до утворення на бічній поверхні лівого шлуночка серця зон заледеніння, діаметри яких відповідали розмірам кріоаплікатора (3 мм). Глибина кріопошкодження серця тварин складала  $0,18 \pm 0,03$  і  $0,28 \pm 0,02$  мм відповідно. Спостерігалось зниження амплітуди зубців R, поява Q зубця і негативних зубців T в I та bVL відведеннях, що свідчило про розвиток у тваринних даних підгруп субепікардіального НМ. При збільшенні часу кріовпливу на серце до 30 с збільшувалася і глибина кріопошкодження серця, яка досягала  $0,42 \pm 0,05$  мм. При цьому ЕКГ відповідала картині трансмурального ІМ. Поява зубця Q в I та bVL відведеннях супроводжувалось елевацією сегмента ST. Кріовплив на серце при оперативному доступі в 5-6 межребер'ї з експозицією 10, 15 або 30 с приводив до утворення на верхівці серця зон кріопошкодження, таких же, як і при доступі в 4-5 межребер'ї з появою Q зубця в III та bVF відведеннях на ЕКГ.

Дослідження гістологічних препаратів серця щурів через 1 добу показало, що кріовплив на серце викликав утворення трьох біологічно значущих зон. I зона – зона кріопошкодження, в якій відзначали ділянки некрозу і паранекрозу серцевого м'яза з вираженими дистрофічними явищами; II зона – перехідна, яка оточує зону кріопошкодження і в якій помітні ознаки реакції запалення; III зона – периферійні ділянки серця, морфологічна картина яких практично не відрізнялася від норми. Зміни ЕКГ, відзначені безпосередньо після операції, зберігалися і до 30 доби спостереження. При цьому амплітуди Q зубців після 30 с кріовпливу зберігалися на незмінному рівні.

Дослідження гістологічних препаратів серця щурів після кріовпливу дають підставу стверджувати, що ремоделювання міокарда відбувається по класичним шляхом - від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця.

### **Бачуріна А. С., Запухляк О. С.**

#### **ВПЛИВ СТИМУЛЯЦІЇ ДОФАМІНЕРГІЧНОЇ ТРАНСМІСІЇ НА ПОКАЗНИКИ ТРИВОЖНОЇ ПОВЕДІНКИ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ**

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: gljukkk@ukr.net*

Незважаючи на досить широкий спектр досліджень у галузі впливу алкоголю на психоемоційні показники особистості, відкритим залишається питання щодо адекватних методів корекції цих порушень. Крім того, не вирішеним залишається питання індивідуальної чутливості як до алкоголю, так і до дії речовин, які застосовуються для терапії розладів, спричинених етанолвмісними речовинами. Метою проведеного дослідження було встановлення ефективності стимулювання дофамінергічної трансмісії помірним антидепресантом сульпіридом при тривожних розладах, викликаних хронічною алкоголізацією з урахуванням індивідуально-типологічних особливостей.

Експеримент було виконано на 40 статевозрілих щурах-самцях масою  $190 \pm 10$  г, які містилися в стандартних умовах віварію. Рівень тривожності встановлювали за допомогою стандартної методики піднесеного хрестоподібного лабіринту (ПХЛ). Хронічна алкоголізація відбувалась шляхом внутрішньоочеревинного введення 10% розчину етилового спирту в розрахунку 2 мл розчину на 1 кг маси тіла, після чого щури проходили повторне тестування в ПХЛ. Активация дофамінергічної трансмісії проводили за допомогою вибіркового блокування пресинаптичних центральних D2-рецепторів головного мозку 3 денним в/о введенням еглонілу (сульпіриду) в дозі 1 мг/кг. Після закінчення трьох днів щурів тестували повторно. Первинні експериментальні дані оброблялися за допомогою загальноприйнятих

методів математичної статистики за допомогою пакету програм STATISTIKA 6.0 та Excel. Розділення досліджуваних груп тварин на підгрупи з різними індивідуально-типологічними особливостями проводився згідно з правилом  $\pm 0,67d$ . Для оцінки достовірності відмінностей між контрольними та експериментальними значеннями використовувався U-критерій Манна-Уїтні.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що хронічна алкоголізація викликала збільшення тривожності лише в підгрупі щурів з низьким рівнем тривожності в контролі (17,5% від піддослідної групи тварин) – час перебування на відкритому просторі у них знизився на  $62,9 \pm 9,18\%$  ( $p_u < 0,01$ ). Крім того, спостерігалось достовірне зменшення кількості стійок та переходів між закритими рукавами ( $p_u < 0,05$ ). Проте, стимуляція дофамінергічної трансмісії не вплинула на показники тривожності щурів цієї підгрупи.

Підгрупи тварин із вихідним високим і середнім рівнями тривожності реагували на обрані впливи однаково – хронічна алкоголізація не вплинула на маркерний показник в піднесеному хрестоподібному лабіринті (час перебування в відкритому просторі), а сульпірид виявив анксиолітичний ефект. Так, час перебування на відкритому просторі у тварин з високою тривожністю в контролі (20% від всієї групи тварин) збільшився в 2,4 рази щодо показників алкоголізації ( $p_u < 0,05$ ), зі середньою – в 1,78 рази ( $p_u < 0,05$ ).

Звертає на себе увагу, що кількість повторних виходів на відкритий простір у середньотривожних щурів на фоні алкоголізації зменшилась ( $p_u < 0,05$ ), а під впливом сульпіриду підвищилась до вихідного рівня ( $p_u < 0,05$ ). Так само змінювались показники переходів між закритими рукавами в цій підгрупі. Однак, кількість заглядань з закритих рукавів, яку автори відносять до прямого показника тривожності, також збільшувалась в результаті стимуляції активності дофамінергічної системи.

Тварини з високим рівнем тривожності в контролі виявили збільшення кількості повторних виходів на відкритий простір ( $p_u < 0,05$ ) під впливом сульпіриду, що підтверджує анксиолітичну дію активації дофамінової трансмісії.

Таким чином, встановлено, що чутливими до стимуляції дофамінергічної трансмісії на тлі хронічної алкоголізації є щури із вихідним високим і середнім рівнями тривожності.

### **Бобровська А. В., Мальцева А. С.**

#### **ОЦІНКА ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ НА ПОВЕДІНКОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ У ВІДКРИТОМУ ПОЛІ**

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: gljukkk@ukr.net*

Велика кількість робіт, присвячених вивченню дії етанолу на організм, пов'язана зі значним підвищенням психоемоційних порушень, викликаних вживанням надмірних доз алкоголю. Одним з питань, що потребують уточнень та поглиблень існуючих знань, є питання індивідуальної чутливості до хронічної дії етанолу.

Метою представленого фрагменту комплексної роботи є встановлення особливостей індивідуальної чутливості до хронічної дії етанолу в умовах відкритого поля.

Експеримент було виконано на 40 статевозрілих щурах-самцях вагою  $180 \pm 154$  г., які містилися у стандартних умовах віварію. Хронічну алкоголізацію моделювали 14-денним в/о введенням 10%-го розчину етилового спирту в розрахунку 2 мл розчину на 1 кг маси тіла. Вплив етанолу вивчали в умовах відкритого поля (ВП), де фіксували такі показники: дослідницьку активність (ДА, сумарна кількість пересічених внутрішніх квадратів та стійок), рухову активність (РА, сумарна кількість пересічених зовнішніх квадратів) та рівень вираженості емоційної поведінки (частоту актів грумінгу та дефекації). Первинні експериментальні дані оброблялися за допомогою загальноприйнятих методів математичної статистики за допомогою пакету програм STATISTIKA 6.0 та Excel. Розділення досліджу-

ваних груп тварин на підгрупи з різним рівнем дослідницької активності проводилось згідно з правилом  $\pm 0,67d$ . Для оцінки достовірності відмінностей між контрольними та експериментальними значеннями використовувався U-критерій Манна-Уїтні.

Згідно зі сумарним рівнем дослідницької активності, експериментальна група щурів розділилась на підгрупи із різним рівнем активності: високий рівень ДА було виявлено у 6 щурів, що становило 15% від загальної кількості тварин, середню ДА встановлено у 50% популяції і низьку – у 35%. Цікавим виявився той факт, що рівень рухової активності в підгрупах з низьким та середнім рівнями ДА достовірно не відрізнявся та становив в середньому  $10,1 \pm 1,5$  пересічених квадратів; у високоактивних тварин цей показник сягнув  $18,0 \pm 1,53$  квадрати. Стосовно показників емоційної поведінки, то виявлено, що високоактивні тварини виявились більш емоційними, ніж інші щури, на що вказує більша кількість фекальних болусів, на відміну від цього показника в інших підгрупах.

При аналізі похвилинної динаміки поведінкових показників у відкритому полі встановлено, що на першій хвилині тестування тварини демонструють максимальні прояви різних форм поведінки, незалежно від вихідного рівня ДА. Встановлено, що хронічна алкоголізація не вплинула на сумарний рівень (протягом 5 хвилин експерименту) ДА низькоактивних тварин. Рухова активність, навпаки, під дією етанолу знизилась майже вдвічі ( $p_u < 0,05$ ). У середньо- та високоактивних тварин прояви дослідницької активності знизились в середньому на 32-41% ( $p_u < 0,05$ ) щодо показників контролю. Однак РА щурів із середнім рівнем активності не змінилась щодо контрольних значень, тоді як направленість зміни РА високоактивних щурів збігалася з результатами, отриманими в підгрупі з вихідним низьким рівнем активності.

Показники емоційності також зазнали деяких змін у результаті хронічної алкоголізації. Так, в підгрупах тварин із крайніми рівнями ДА (низьким та високим) виявлено протилежні за направленістю зміни кількості фекальних болусів: у низькоактивних – підвищення ( $p_u < 0,05$ ) їх кількості, у високоактивних – зниження ( $p_u < 0,05$ ).

Таким чином, можна зробити висновок, щодо хронічної дії етанолу чутливими є тільки особини із середнім та високим рівнями дослідницької активності.

**<sup>1</sup>Онуфрієнко О. В., <sup>2</sup>Бойко М. С.**

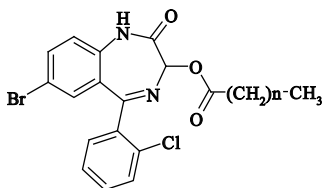
**СНОДІЙНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ 3-ЗАМІЩЕНИХ 1,2-ДИГІДРО-3Н-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНІВ**

*<sup>1</sup>Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України  
Люстдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080, Україна  
e-mail: tkaraseva1@gmail.com*

*<sup>2</sup>Одеський національний університет ім. І.І. Мечнікова  
кафедра фізіології людини і тварин  
Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна*

На сьогоднішній день розлади нічного сну – інсомнії – зустрічаються у 28-45% населення і є найбільш поширеними та неспецифічними симптомами при різноманітних психічних і соматичних захворюваннях. Однак більшість снодійних засобів, які використовуються для лікування різноманітних розладів сну, змінюють фізіологічну структуру природного сну, та при їх скасуванні виявляється так званий «синдром віддачі»: порушення тривалості сну, часті нічні пробудження, кошмарні сновидіння, які можуть викликати різноманітні розлади ЦНС. У зв'язку з цим актуальними є синтез і розробка нових снодійних засобів, які не будуть порушувати структуру нормального фізіологічного сну і не мати цих побічних ефектів.

Тому метою нашої роботи є вивчення снодійної активності нових 3-заміщених 1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів у дослідах на мишах за методом потенціювання снодійної дії барбітуратів.



Сполуки. 1 n=0; R= Cl; 2 n=1; R= Cl; 3 n=4; R= Cl; 4 n=4; R= H; 5 n=5; R= Cl; 6 n=5; R= H; 7 n=6; R= Cl; 8 n=6; R= H; 9 n=10; R= Cl; 10 n=10; R= H

Досліди проводили на білих безпородних мишах-самцях масою 18-20 г. Досліджувані сполуки вводили внутрішньочеревно в суспензії з Twin-80. Тваринам контрольних груп вводили фізіологічний розчин. Снодійну активність вивчали за методом потенціювання снодійної дії барбітуратів. Оцінювали за їх здатністю збільшувати число заснулих від барбітурату мишей. Гексенал у дозі, що викликає сон у 5% мишей ( $ED_5 = 50$  мг/кг), вводили внутрішньочеревно через 40 хв після внутрішньочеревної ін'єкції бенздіазепінів з подальшою реєстрацією числа заснулих мишей за критерієм втрати ними рефлексу перевертання. Встановлювали дозу  $ED_{50}$ , при якій у 50% тварин пригнічується рефлекс перевертання.

Показано, що досліджувані сполуки (1-10) виявляють високу снодійну активність в інтервалі доз 0,22 – 1,5 мг/кг. Слід зазначити, що  $ED_{50}$  по снодійній дії для циназапама (3-гемісукцинілокси-7-бром-5-(орто-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-он) і його метаболіту (7-бром-3-гідрокси-5-(2'-хлор)-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2она) 3-гідрокси-БД становить 0,37 і 0,25 мг/кг, відповідно. У результаті отриманих нами даних було встановлено, що з збільшенням довжини вуглецевого ланцюга (від n=0 до n=10) активність синтезованих сполук знижується з 0,22 до 1,5 мг/кг. Так, найбільш високу снодійну активність проявляє сполука 1, що містить атом хлору в орто-положенні фенільного кільця з  $ED_{50}$  0,22 мг/кг. Ефір лауринової кислоти (сполука 10), що не містить атома хлору в орто-положенні фенільного кільця і з довжиною вуглецевого ланцюга n = 10 проявляє найнижчу снодійну активність ( $ED_{50}$  1,5 мг/кг). Досліджувані сполуки малотоксичні, їх  $LD_{50} > 500$  мг/кг.

**Бондаренко О. В., Коваленко О. А., Говоруха Т. М., Макачук М. Ю.**  
**ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У МОЗКУ СХИЛЬНИХ ТА НЕ СХИЛЬНИХ ДО**  
**АЛКОГОЛІЗМУ ЩУРІВ, ЯКІ МАЮТЬ РІЗНУ ЗДАТНІСТЬ ДО НАВЧАННЯ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
 вул. Володимирська, 64, 01601 Київ, Україна  
 e-mail: sashokbond@ukr.net*

Останні дослідження вказують на те, що феномен підвищеної алкогольної мотивації у тварин та схильність до вживання алкоголю у людей можуть бути пов'язані з перебігом фізіолого-біохімічних процесів тканинного метаболізму, визначаючи в кінцевому результаті особливості психофізіологічних функцій. Метою дослідження було визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у тканинах головного мозку щурів з різним ступенем алкогольної мотивації та індивідуальної реактивності тварин.

Досліди були проведені на білих щурах-самцях. Умовний рефлекс виробляли за методикою Я.Буреша і співавт. у радіальному лабіринті (РЛ) упродовж 14 діб. У однієї частини щурів умовний рефлекс виробляли до початку алкоголізації (група А), у іншій частині – після завершення алкоголізації (група В). Через 14 діб після початку тестування в РЛ тварин ділили на тих, що добре навчаються (ДН), і тих, що погано навчаються (ПН). Хронічна алкоголізація здійснювалася в 2 етапи: 1) тварини мали вільний вибір між 15% розчином етанолу і водою упродовж 14 діб; 2) тварини отримували етанол як єдине джерело рідини впродовж місяця. Після завершення алкоголізації всіх тварин поділяли на ал-

коголь- залежних та алкоголь-незалежних. Таким чином були сформовані такі групи тварин: «контроль ДН» (I); «контроль ПН» (II); «алкогользалежні ДН» (III); «алкогользалежні ПН» (IV); «алкогольнезалежні ДН» (V); «алкогольнезалежні ПН» (VI). Інтенсивність ЛПП у гомогенатах мозку оцінювали за тестом з 2-тіобарбітуровою кислотою. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програми Statistica 7.0.

У тварин групи А, після завершення алкоголізації, в групах алкоголь-залежних щурів (III і VI) порівняно з групою контролю спостерігався найнижчий рівень ПОЛ як у тварин III ( $p=0,001$ ) так і у VI ( $p=0,0002$ ). Інша ситуація спостерігається в групах тварин з низькою алкогольною мотивацією (V та VI групи). Вони мали найвищий рівень ПОЛ у тканинах мозку, причому в обох групах він був достовірно вищий за показники контрольної групи: (V ( $p=0,001$ ); VI ( $p=0,0002$ )) та показники групи алкогользалежних тварин (V ( $p=0,002$ ); VI ( $p=0,0001$ )). Групи контрольних тварин займають проміжне положення за рівнем ПОЛ в тканинах мозку щурів між двома групами алкоголізації. Між тканинами мозку щурів груп ДН та ПН, як серед контрольних тварин так і у алкогользалежних і алкогольнезалежних щурів достовірної різниці в рівнях ПОЛ не виявлено.

Зовсім інша ситуація спостерігалася в групі В. Рівень ПОЛ серед контрольних тварин в I групі (ДН) був достовірно нижчим, ніж в II групі (ПН) ( $p=0,003$ ). Порівнюючи рівні ПОЛ алкоголізованих груп виявили неоднозначний ефект етанолу. У щурів з груп ДН спостерігали антиоксидантний ефект хронічної алкоголізації. Рівень ПОЛ був достовірно меншим за I групу в III групі щурів (схильних до алкоголізму) ( $p=0,01$ ), а особливо у щурів V групи (не схильних до алкоголізму) ( $p=0,0002$ ). У щурів груп ПН, після алкоголізації спостерігається прооксидатний вплив етанолу у схильних до алкоголізму щурів група IV ( $p=0,0002$ ), причому він був найвищим порівняно з іншими 5 групами. У щурів, не схильних до алкоголізму, рівень ПОЛ достовірно не відрізняється, що дозволяє припустити про включення певних компенсаторних механізмів організму, які дають змогу забезпечити нормальне функціонування антиоксидантної системи.

Отримані дані показують, що алкоголь може справляти, як антиоксидантний, так і прооксидантний вплив на тканини мозку щурів, в залежності від здатності до засвоєння нової інформації та природної генетичної схильності до алкоголізму. Більш детальні дослідження рівня ПОЛ в тканині мозку алкоголізованих щурів дозволять вивчити проблему алкоголізму з різних боків, включаючи поведінкові та біохімічні аспекти.

### **Дмитрієв Л. С.**

#### **ОЦІНКА ПРОТИТРИВОЖНОЇ ДІЇ ПРОГЕСТЕРОНУ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛІЗАЦІЇ**

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: gljukkk@ukr.net*

Загальновідомим є той факт, що основна дія психоактивних речовин, до яких належить етанол, спрямована на дофамінергічну систему мозку, що може спричинити зміни в психоемоційному стані. Наприклад, зрушення нейрохімії мозку, можуть служити біологічною базою формування тривожних розладів. Статеві стероїдні гормони впливають на активність норадренергічної і дофамінергічної систем в окремих ділянках мозку, які регулюють рухову активність і поведінку людини і тварин. Отже, статеві стероїди чинять модулюючу дію на синтез і метаболізм нейротрансмітерів і нейропептидів.

Метою представленого фрагменту комплексної роботи є оцінка протитривожної дії жіночого статевого гормону прогестерону на тлі хронічного введення етанолу.

Експеримент було виконано на 20 статевозрілих щурах-самцях масою  $190\pm 10$  г, які містилися в стандартних умовах віварію. Рівень тривожності встановлювали за допомогою стандартної методики піднесеного хрестоподібного лабіринту (ПХЛ). Вихідна група тварин була розділена на 2 групи по 10

особин в кожній. У тварин першої групи формували стан хронічної алкоголізації шляхом внутрішньочеревного введення 10%-го розчину етилового спирту в розрахунку 2 мл розчину на 1 кг маси тіла протягом 14 днів (умовний контроль), у тварин другої – застосування цієї моделі відбувалось разом із підшкірним введенням масляного розчину прогестерона в дозі 1 мг/кг, після чого шури проходили повторне тестування в ПХЛ. Первинні експериментальні дані оброблялися за допомогою загальноприйнятих методів математичної статистики за допомогою пакету програм STATISTIKA 6.0 та Excel. Для оцінки достовірності відмінностей між контрольними та експериментальними значеннями використовувався U-критерій Манна-Уїтні.

Отримані результати вказують на те, що в групі умовного контролю хронічне введення етанолу підвищило рівень тривожності шурів, оскільки показник часу перебування на відкритих руках цих тварин скоротився майже на 45% ( $p_u < 0,05$ ). Шури, що разом із етанолом отримували підшкірні ін'єкції прогестерону, достовірних відмінностей по даному показнику не виявили.

Але, разом з цим встановлено, що у тварин, які отримували тільки етанол, збільшилась кількість повторних виходів на відкритий простір ( $p_u < 0,05$ ) та кількість стійок ( $p_u < 0,05$ ), чого не спостерігалось у тварин, які отримували окрім етанолу, жіночий стероїд. Навпаки, кількість стійок у останніх зменшилась ( $p_u < 0,05$ ).

Крім того, в умовах піднесеного хрестоподібного лабіринту виявлено, що прогестерон не впливає на емоційну поведінку алкоголізованих шурів, тоді, як у групі умовного контролю спостерігалось пригнічення рівня емоційності, на що вказує зменшення частоти дефекацій ( $p_u < 0,05$ ).

Таким чином, можна зробити висновок, що жіночий статевих гормон прогестерон діє як анксиолітик при тривожних розладах, які викликані хронічною алкоголізацією.

### **Durkalec-Michalski K., Suliburska J., Jeszka J.**

#### **ASSESSMENT OF NUTRITIONAL STATUS AND EATING HABITS IN SELECTED GROUP OF STUDENTS OF POZNAN UNIVERSITIES**

*Department of Hygiene and Human Nutrition, University of Life Sciences in Poznan*

*Wojska Polskiego, 31, 60-624, Poznan, Poland*

*e-mail: durkmich@up.poznan.pl*

The aim of the study was assessment of nutritional status and eating habits in selected group of students in Poznan.

**Materials and Methods.** The study was carried out among 165 students (114 women and 51 men) aged  $23 \pm 5$  years. Based on the body mass and body height measurements results, the Body Mass Index (BMI) was calculated. The results pertaining to the nutritional habits were analyzed based on the questionnaire.

It was observed underweight in nearly 11% of women, while 7% were overweight. Overweight and obesity were found respectively in 20% and 9% of men.

In the study group was observed abnormal eating habits. Over 30% of men and 17% of women declared consumption of less than 3 meals a day. Students ate too little milk, dairy products, vegetables and fruits. In both groups, nearly half of students declared intake of these products less than 2 times a day. Nearly 70% of men and women reported consumption of fresh vegetables and fruits only once a day. Very low frequency of consumption of whole grain products was also found. Nearly 50% of respondents declared intake of these cereal products less than 3 times a week. Moreover the daily consumption of sweets was observed in nearly 30% of students.

**Conclusions.** The results obtained in this study suggest that overweight is more common in men, while underweight among women. Assessment of eating habits in students indicate the abnormal eating behavior e.g. insufficient amount of meals, low intake of milk, dairy products, fruits, vegetables and whole grain products.

**Глов'як А., Лушак О. В.**

**ДІЄТА ВИЗНАЧАЄ ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ПЛОДОВОЇ МУШКИ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника*

*вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна*

*e-mail: andriyhm@mail.ru*

Харчування виступає одним з основних факторів, які визначають тривалість і якість життя. В даній роботі ми провели аналіз впливу білкового і вуглеводного компонентів харчового раціону і калорійності дієти на тривалість життя плодової мушки *Drosophila melanogaster*. Для вивчення ролі вуглеводного компоненту дієти дорослих особин обох статей годували дієтами з концентраціями сахарози від 0,25 до 10% при фіксованій концентрації дріжджів 5%. Зміни концентрації дріжджів від 0,25 до 10% при фіксованій концентрації сахарози 10% дало можливість оцінити вплив білкового компоненту дієти. Дієти з різною калорійністю отримували при розведенні їжі, яка містила сахарозу і дріжджі в концентраціях 15% до 10, 5 і 1%. Мух утримували у демографічних клітках. Їжу замінювали кожних два дні, а мертвих особин підраховували і видаляли. Аналіз кривих виживання проводили за допомогою програми JMP 9.0 (SAS). Різницю між кривими виживання розраховували за допомогою log-rank тесту. Максимальну тривалість життя визначали як середню тривалість життя останніх 10% особин, які вижили.

Зниження концентрації сахарози у середовищі з 10 до 5% призводило до збільшення середньої тривалості життя самців на 13% ( $\chi^2=25,1$ ;  $P<0,0001$ ). Подальше зниження концентрації сахарози до 1 і 0,25% знижувало тривалість життя на 57 і 61% у самок та 66 і 67% у самців відповідно. Максимальна тривалість життя у самців і самок спостерігалась при споживанні дієти з концентраціями сахарози 5 і 10%. Зменшення концентрації дріжджів у харчовому раціоні з 10 до 5% збільшувало середню і максимальну тривалість життя самок на 12% ( $\chi^2=94,4$ ;  $P<0,0001$ ) і 18% ( $\chi^2=71,8$ ;  $P<0,0001$ ) відповідно. Зменшення концентрації дріжджів до 1 і 0,25% зменшувало середню і максимальну тривалість життя самок і самців приблизно у 2 рази. Розведення їжі з концентрації компонентів від 15 до 5% збільшувало тривалість життя самок і самців на 7% ( $\chi^2=44,3$ ;  $P<0,0001$ ) і  $\chi^2=39,4$ ;  $P<0,0001$ ). Розведення їжі до концентрації компонентів 1% знижувало середню і максимальну тривалість життя в 2-3 рази. Визначення відсотка мух, що харчуються, показує, що маніпуляції з концентраціями сахарози або дріжджів не значно впливали на харчову поведінку мух. Водночас розведення їжі значно зменшувало час харчування мух.

Отримані результати вказують на те, що зміна концентрацій як окремих компонентів харчового раціону, так і розведення їжі впливають на середню і максимальну тривалість життя і харчову поведінку мушок.

**Глушенко Д., Яковецька О., Сухорукова В.**

**ВПЛИВ ПОМІРНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА ПРОЯВЛЕННЯ ЕФЕКТІВ ДЕКСАМЕТАЗОНУ, ЩО ХРОНІЧНО ВВОДИВСЯ, НА СКЕЛЕТНИЙ М'ЯЗ БЛИХ ЩУРІВ**

*Донецький національний університет*

*вул. Університетська, 24, м. Донецьк, 83001, Україна*

*e-mail: dasha.glushchenko@rambler.ru, felixlacrima@ukr.net*

Відомо, що першопричиною багатьох функціональних і метаболічних розладів у скелетній мускулатурі, викликаних надлишком глюкокортикоїдів в організмі, є їхній катаболічний вплив на скелетні м'язові волокна, особливо гліколітичного типу. Виходячи із цього, у літературі існує думка (Riso E.M., 2007, Seene T. et al., 2003), згідно з якою помірні фізичні навантаження, що здійснюють анаболічний ефект на скелетні м'язи, котрі беруть участь в їхньому здійсненні, можуть трохи згладжувати негативні ефекти глюкокортикоїдів на скелетну м'язову тканину. Разом із тим, літературні дані щодо характеру впливу фізичних навантажень на проявлення ефектів глюкокортикоїдів на скелетну мускулатуру досить

суперечливі. У зв'язку з відзначеним метою нашої роботи стало дослідження динаміки функціональних змін у скелетному м'язі білих щурів при тривалому введенні терапевтичних доз дексаметазону (0,25 мг/кг, внутрішньочеревне, 1 раз у 2 доби, протягом від 10 до 60 днів), які поєднувалися із застосуванням помірного фізичного навантаження, що моделювалося шляхом примусового плавання зростаючої тривалості (починалося з 5-ти хвилин, після чого кожні 2 дні період плавання збільшували на 1 хвилину).

В експериментах на 130 молодих (4-х місячних) білих щурах в умовах *in situ* досліджували деякі параметри функціонального стану переднього великогомілкового м'яза при викликаному його скороченні, яке індукували шляхом подразнення електричним струмом малогомілкового нерва (напряга струму – 200 мВ, тривалість імпульсів – 0,5 мс, частота електричної стимуляції нерва варіювала в діапазоні від 8 до 100 Гц, а зовнішнє навантаження становило 20 г).

Порівняльний аналіз впливу хронічного введення терапевтичних доз дексаметазону протягом періоду від 10 до 60 днів, застосовуваного ізольовано й у комплексі з помірним фізичним навантаженням, на параметри функціонального стану переднього великогомілкового м'яза показав, що фізичне навантаження модулює деякі ефекти дексаметазону на скелетний м'яз. Так, щоденне короткочасне плавання запобігло зниженню швидкості й надійності нервово-м'язової передачі, викликаному хронічним введенням дексаметазону. Разом із тим, після 5 ін'єкцій дексаметазону, що сполучалися із плаванням, аналогічно ізольованому застосуванню дексаметазону, спостерігалось скорочення латентного періоду викликаного збудження м'яза, яке свідчить на користь полегшення нервово-м'язової передачі.

Короткочасне щоденне плавання щурів, що отримували дексаметазон, запобігло зниженню маси досліджуваного м'яза й погіршенню його силових характеристик, які мали місце у щурів, що піддавалися хронічному введенню дексаметазону без плавання.

Після 5-25 ін'єкцій дексаметазону, що сполучалися із плаванням, спостерігалися деякі ознаки, які свідчать на користь можливості збільшення частки швидких м'язових волокон у передньому великогомілковому м'язі: укорочення латентного періоду скорочення м'яза й фази скорочення (після 5-30 ін'єкцій), загальної тривалості одиночного скорочення (після 10-20 ін'єкцій), збільшення частоти тетанізації м'яза (після 10-25 ін'єкцій) і збільшення тривалості впрацьовування м'яза (після 5-25 ін'єкцій).

Проте щоденне короткочасне плавання не змогло запобігти розвиткові енергетичного дефіциту в м'язових волокнах, викликаного хронічним введенням дексаметазону, на користь чого свідчить ряд ознак підвищеної стомлюваності м'яза, особливо виражених після 25-30 ін'єкцій гормону й не характерних для інтактних тварин і тварин, які просто плавали: укорочення фази плато й дуже різке вкорочення латентного періоду скорочення м'яза щодо вихідного рівня по закінченню 7-секундного періоду його ритмічної роботи, а також укорочення періоду максимальної стійкої працездатності м'яза, яке зберігалось після 30 ін'єкцій дексаметазону, що сполучалися із плаванням.

### **Головинська Ю., Фалалєва Т., Берегова Т.**

#### **ВПЛИВ N-МЕТИЛ-D-АСПАРТАТУ НА БАЗАЛЬНУ СЕКРЕЦІЮ КИСЛОТИ В ШЛУНКА ЩУРІВ В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ M-АЦЕТИЛХОЛІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Глушкова, 2, м. Київ, 01601, Україна*

*e-mail: Stepanova\_Juliya@ukr.net*

Раніше нами було показано, що N-метил-D-аспартат посилює шлункову секрецію кислоти (ШСК), стимульовану карбахоліном. Карбахолін є неселективним агоністом мускаринових ацетилхолінових рецепторів, локалізованих на парієтальних клітинах ( $M_3$ -типу), мускаринових ацетилхолінових рецепторів локалізованих на пре- і постсинаптичній мембрані гангліїв ентеральної нервової системи ( $M_1$ -типу) та нікотинових ацетилхолінових рецепторів, локалізованих на постсинаптичній мембрані нейронів ентеральної нервової системи.



Для того щоб віддиференціювати, який із вказаних типів рецепторів залучений у посилюючу дію N-метил-D-аспартату на карбахолінову ШСК, ми дослідили вплив N-метил-D-аспартату на шлункову секрецію, стимульовану агоністом нікотинових ацетилхолінових рецепторів цитізином. Використання в якості стимулятора цитізіну, а не нікотину обумовлено тим, що нікотин в ЦНС стимулює виділення дофаміну (Hamada M., 2005), який бере участь у регуляції ШСК, а також різнонаправленими даними щодо ефектів нікотину на ШСК.

Дослідження впливу N-метил-D-аспартату на стимульовану цитізином ШСК проведені в гострих дослідах на 97 білих щурах-самцях методом перфузії ізольованого шлунка за Гхошем та Шільдом (Ghosh U.H., Shild H.O.). Щурів, вагою 180-250 г, утримували у віварії за стандартного раціону. Протягом доби до початку експерименту тварини не отримували їжі, але мали вільний доступ до води. Щурів наркотизували уретаном (Sigma Chemichal Co, St. Louis, USA) в дозі 1,1 г/кг ваги внутрішньоочеревинно (в/о). У дослідженнях ми вивчали базальну секрецію, використовували цитізин, а як агоніст NMDA-рецепторів - N-метил-D-аспартат (3 мг/кг, в/о, Sigma, USA) вводили через 40 хв, після цитізіну. У зібраних пробах визначали рН за допомогою іономіра ЭВ-74 та титраційним методом визначали вміст соляної кислоти в перфузаті. Всі отримані дані піддавались статистичній обробці.

Контролем для дії цитізіну слугувала базальна секреція кислоти, яку збирали впродовж 120 хв. Встановлено, що дебіт соляної кислоти базальної секреції в середньому дорівнював  $27,3 \pm 1,7$  мкмоль/120хв (n=11). Цитізин в дозах 0,021, 0,042, 0,084 та 0,168 мг/кг не впливав на базальну ШСК. Проте в дозах 0,336 та 0,672 мг/кг цитізин виявляв виражений стимулюючий вплив на ШСК: після введення цитізіну у вказаних дозах за 120 хв спостереження відповідно виділялося  $59,3 \pm 8,6$  мкмоль (n=11) та  $61,2 \pm 7,9$  мкмоль (n=11) соляної кислоти. Подальше збільшення дози було неможливе у зв'язку із зупинкою дихання у щурів. N-метил-D-аспартат не впливав на виділення кислоти в шлунку щурів, стимульованої цитізином в дозі 0,336 мг/кг.

Зроблено висновок, що N-метил-D-аспартат посилює ШСК лише за умов одночасного збудження нікотинових та мускаринових ацетилхолінових рецепторів.

**Голишкін Д., Берегова Т. В., Фалалєєва Т., Кухарський В.**  
ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ТА МАСУ НАДНИРКОВИХ  
ЗАЛОЗ І ТИМУСУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ДІЇ СТРЕСУ

*Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська 64, м. Київ, 01601, Україна  
e-mail: b\_dimonoff@ukr.net*

Сучасне суспільство характеризується все більшим поширенням «хвороби цивілізації», патогенетичною основою яких є емоційний стрес. При цьому хронічні несприятливі впливи, яких зазнає організм людини в умовах техногенного пресингу, соціальної нестабільності, напруженого ритму життя можуть бути як головним, так і додатковим етіологічним чинником багатьох захворювань. За умов дії стресу знижуються функціонально-адаптаційні резерви організму, що зумовлює пошук і впровадження адаптогенів природного походження, використання яких активує компоненти локальної стреслімітуючої системи. Серед них особливу увагу приділяють поліфенольним сполукам. На сьогодні проведена достатньо велика кількість робіт, яка переконливо свідчить про антивиразкову дію меланіну та його антиоксидантні властивості. Проте жодного разу дослідники не використали класичну модель виразкоутворення за Сельє, автора теорії впливу стресу на організм та адаптації до нього.

Метою роботи було дослідити вплив меланіну на розвиток уражень в слизовій оболонці шлунка (СОШ) щурів та зміни маси органів стрес-протекторної системи тимусу та наднирників, викликаних методом нервово-м'язового напруження за Сельє.

Дослідження проведені на 30 білих нелінійних щурах - самках, масою 120-150 г. Тварини були розділені на 3 групи. Щури першої групи слугували контролем. Щурам другої групи перед нанесен-

ням стресу внутрішньошлунково (в/ш) вводили плацебо (0,5 мл води). Щурам третьої групи перед нанесенням стресу вводили меланін в дозі 5 мг/кг, розчинений в 0,5 мл води. Продуцентом меланіну, використаного в наших дослідженнях, є дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* штам X1, що були висіяні із зразків вертикальних скель о. Галіндез (Українська Антарктична станція академік Вернадський). Стресові ураження в СОШ щурів викликали методом нервово-м'язевого напруження за Сельє. Тварин умертвляли за допомогою летальної дози уретану (3 г/кг, в/о). Діставали та зважували тимус і наднирники. Після чого виймали шлунок, розрізали по малій кривизні, вивертали слизовою назовні та промивали, на гастроскопі при транслюмінаційному освітленні за допомогою лупи (x4) проводили ретельний огляд СОШ. Диференційно підраховували площу виразок та довжину ерозій.

Встановлено, що через 2 години після закінчення дії стресу в СОШ щурів контрольної групи розвивались виразки та ерозії, площа та довжина яких відповідно становили 10,47±2,17 мм та 14,45±2,37 мм з розрахунку на один шлунок. Гострий стрес також супроводжувався інволюцією тимусу та гіпертрофією наднирникових залоз. У групі щурів, яким за 20 хвилин до початку дії стресу вводили меланін, ураженість СОШ була значно меншою. В середньому площа виразок та довжина ерозій в одному шлунку складала 3,38±1,01 мм<sup>2</sup> та 9,6±2,61 мм. Тобто, меланін на 93% (P<0,001) зменшував площу виразок, викликаних методом нервово-м'язевого напруження за Сельє. Що стосується ерозій, то зменшення їх довжини було статистично недостовірним. Профілактичне введення меланіну призводило до відновлення показників коефіцієнтів маси правого та лівого наднирників та тимусу до контрольного рівня, тобто меланін мав виражену стреспротекторну активність.

Зроблено висновок, що меланін проявляє властивості стреспротектора та є перспективним засобом фармакологічної корекції стресу. Такі препарати є необхідними для профілактики і лікування наслідків екологічних та техногенних катастроф, бойових дій, оперативних і стоматологічних втручань. Вони можуть використовуватися за будь-яких ситуацій, що викликають психоемоційний стрес і напруження механізмів адаптації.

### Гороховський Є. Ю.

#### ВМІСТ СЕКРЕТОРНОГО МАТЕРІАЛУ В КЛІТИНАХ ПАНЕТА ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ АМПІЦИЛІНУ НАТРІЮ

*Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66, м. Запоріжжя, 69000, Україна  
e-mail: EgorGorohovski@yandex.ru*

Роль клітин Панета базальних відділів кишкових крипт тонкого кишечника на даний час остаточно не встановлена. Припускають, що вони беруть участь у процесах виведення важких металів з організму, перетравленні вуглеводів (Ergun, 2003). Але найбільш вірогідною здається їх роль у реалізації механізмів антибактеріального захисту, так як в їх секреторних гранулах містяться значні кількості антимікробних пептидів – дефенсинів (Ganz, 2003) та хелатованого цинку (Єщенко, 1979). З огляду на це актуальним є дослідження вмісту секреторного матеріалу у клітинах Панета при введенні антибіотиків, які впливають на кишкову бактеріальну флору.

Мета роботи полягала у одночасному дослідженні вмісту секреторного матеріалу в гранулах клітин Панета та кількості бактерій в пристінковому слизовому шарі клубової кишки при введенні антибактеріального препарату, активного щодо мікрофлори кишечника.

Для досягнення поставленої мети вирішували такі завдання: введення тваринам ампіциліну натрію, оцінка вмісту секреторного матеріалу в клітинах Панета та підрахунок кількості бактерій у слизовому шарі клубової кишки після введення антибіотика.

У дослідженні було використано 17 дорослих щурів, з яких 7 особин становили контрольну групу. Тваринам дослідної групи (10 особин) вводили ампіцилін натрію у дозі 100 мг/кг та через 3 години

виводили із дослідів шляхом декапітації. Для цитохімічного визначення секреторного матеріалу в клітинах Панета шматочки клубової кишки фіксували в формаліні, а для підрахунку кількості бактерій у пристінковому слизовому шарі кишки — в рідині Карнуа, потім тканину кишки за загальноприйнятою методикою заливали у парафінові блоки. З блоків робили мікротомні зрізи, наклеювали їх на предметні скельця і забарвлювали: флоксином, для визначення секреторного матеріалу, та азур-еозином – для підрахунку кількості бактерій. Інтенсивність реакції флоксину оцінювали напівкількісно за трибальною шкалою. Кількість бактерій підраховували в 100 полях зору мікроскопу, потім розраховували їх середню кількість у полі мікроскопу. Для порівняння відмінностей між дослідною та контрольною групами використовували критерій Манна-Уїтні, статистично значущими визнавали результати при  $p < 0,05$ .

У контрольних тварин кількість бактерій в пристінковому слизовому шарі дорівнювала 4,3 бактерії в полі зору, інтенсивність цитохімічної реакції флоксину дорівнювала  $1,9 \pm 0,06$  ум. од. При введенні ампіциліну натрію спостерігалось зниження кількості бактерій у слизовому шарі до 1,2 бактерій у полі зору та накопичення секреторного матеріалу в клітинах Панета, про що свідчило підвищення інтенсивності цитохімічної реакції флоксину до  $2,6 \pm 0,09$  ум.од.

Ці спостереження підтверджують припущення про те, що клітини Панета відіграють суттєву роль в антимікробному захисті кишкових крипт. Викид дефенсинів, імовірно, відбувається у відповідь на стимуляцію рецепторів клітин Панета бактеріальними антигенами. При зменшенні кількості бактерій у пристінковому слизовому шарі кишечника внаслідок антибактеріальної дії ампіциліну активації рецепторів не відбувається, що викликає накопичення секреторного матеріалу у гранулах клітин Панета.

### **Кожем'якіна С., В'ялих Ю., Назаренко Є.**

#### **ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ДЕКСАМЕТАЗОНУ В ТЕРАПЕВТИЧНІЙ ДОЗИ НА СТАН НЕРВОВО-М'ЯЗОВОЇ ПЕРЕДАЧІ, СИЛОВІ ТА ШВИДКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ**

*Донецький національний університет*

*вул. Університетська, 24, м. Донецьк, 83001, Україна*

*e-mail: cler\_mio@mail.ru*

Відомо, що природний або лікарський гіперкортицизм супроводжується певними розладами в нервово-м'язовій системі, виразність і характер яких залежать не тільки від важкості й тривалості захворювання, але й типу скелетного м'яза, його чутливості до глюкокортикоїдів, віку й статі тварин і деяких інших обставин (Savary I. et al., 1998, Сергеев П.В. і співавт., 1981). Проте характер функціональних змін у різних типах скелетних м'язів у динаміці розвитку лікарського гіперкортицизму вивчений не достатньо. У зв'язку з відзначеним метою даної роботи стало дослідження динаміки функціональних змін у скелетному м'язі змішаного типу при тривалому введенні терапевтичних доз дексаметазону ( $0,25$  мг/кг, внутрішньочеревне, 1 раз у 2 доби, протягом від 10 до 60 днів).

В експериментах на 70 статевозрілих молодих (2-4 місячних) щурах-самках в умовах *in situ* досліджували деякі параметри нервово-м'язової передачі, а також силові та швидкісні характеристики переднього великогомілкового м'яза при викликаному його скороченні, яке індукували шляхом подразнення електричним струмом малоомілкового нерва (напруга струму – 200 мВ, тривалість імпульсів – 0,5 мс, частота електричної стимуляції нерва варіювала в діапазоні від 8 до 100 Гц, а зовнішнє навантаження становило 20 г).

Аналіз отриманих результатів виявив певну фазність зміни параметрів функціонального стану досліджуваного м'яза в динаміці розвитку дексаметазону гіперкортицизму. Так, після 5 ін'єкцій дексаметазону латентний період збудження м'яза коротшав, тоді як після 10 ін'єкцій – повертався до рівня контролю, після 15-25 ін'єкцій – подовжувався, а після 30 ін'єкцій гормону – знову нормалізував-

ся. Разом із тим, надійність нервово-м'язової передачі знижувалася після 10 ін'єкцій дексаметазону й зберігалася зниженою протягом усього періоду подальшого його введення в організм.

Після 5 ін'єкцій дексаметазону спостерігалось зменшення амплітуди скорочення м'яза, яке було адекватним зменшенню м'язової маси. Після 10-25 ін'єкцій гормону зменшення силових характеристик м'яза перевершувало ступінь зменшення його маси, тоді як після 30 ін'єкцій, навпаки, спостерігалася нормалізація максимально досяжної амплітуди м'язового скорочення, незважаючи на зменшену порівняно з контролем масу м'яза.

Тривалість одиночного скорочення м'яза, латентного періоду скорочення, фази скорочення й розслаблення збільшувалася, а частота тетанізації м'яза зменшувалася після 10-25 ін'єкцій дексаметазону, що свідчить на користь зменшення частки задіяних у скороченні швидких м'язових волокон. Після 30 ін'єкцій гормону ці параметри поверталися до рівня контролю, що вказує на користь нормалізації стану швидких рухових одиниць.

Уже після 5 ін'єкцій дексаметазону спостерігалися ознаки погіршення енергетичного забезпечення скорочувального акту (подовження фази розслаблення наприкінці періоду 7-секундної роботи м'яза в режимі одиночних скорочень), а після 10 ін'єкцій – і скорочення тривалості періоду максимальної стійкої працездатності м'яза, які зберігалися протягом усього періоду введення гормону.

Таким чином, зміни ряду параметрів функціонального стану м'яза (амплітуди скорочення, частоти тетанізації м'яза, тривалості одиночного скорочення і його фаз, маси м'яза) при хронічному введенні дексаметазону носили фазний характер: спочатку (після 5-10 ін'єкцій) спостерігалось їхнє відхилення від контрольного рівня, після чого (після 25-30 ін'єкцій) – тенденція до нормалізації. Разом із тим, надійність нервово-м'язової передачі й ряд параметрів, що відбивають стан енергетичного забезпечення м'язових волокон (тривалість стійкої максимальної працездатності, тривалість фази розслаблення), не нормалізувалися наприкінці 2-місячного періоду введення дексаметазону.

### **<sup>1</sup>Кучеренко М. І., <sup>1</sup>Фалалєєва Т. М., <sup>1</sup>Берегова Т. В., <sup>2</sup>Самоніна Г. Є.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ВПЛИВУ ГЛПРЛІНІВ НА ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ КИСЛОТИ У ЩУРІВ**

*<sup>1</sup>Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська 64, Київ, 01601, Україна*

*<sup>2</sup>Біологічний факультет, Московський державний університет ім. М.В. Ломоносова  
Воробйови гори, б.1, корпус 12, м. Москва, 119899, Росія  
e-mail: tfalalyeyeva@mail.ru*

Серед численної родини регуляторних пептидів, що беруть участь у регуляції функцій шлунково-кишкового тракту, найменш вивченими є продукти розпаду колагену - пролінвімістні пептиди. У зв'язку з встановленими на різних експериментальних моделях виразкоутворення їх цитопротективні властивості, відкривається перспектива розробки на основі простих пептидів, що складаються з гліцину і проліну, природних гастропротекторів. Однак, така розробка неможлива без вивчення їх впливу на кислотно-пептичний фактор, який, безсумнівно, є одним з головних ланок патогенезу пептичної виразки. Дані літератури про вплив пептидів Про-Глі-Про, Глі-Про і Про-Глі на секреторну активність шлунка обмежується їх дією на базальну та стимульовану подразненням блукаючих нервів шлункову секрецію кислоти (ШСК) у щурів. Проте у природних умовах ШСК є результатом комплексу подій, що включають як збудження блукаючих нервів, так і збудження ацетилхолінових, гістамінових і гастринових рецепторів.

Тому метою роботи було дослідження впливу Про-Глі-Про, Глі-Про і Про-Глі на базальну та стимульовану карбахоліном, гістаміном і пентагастрином ШСК у щурів.

Дослідження проведені в умовах гострого експерименту на 140 білих нелінійних щурах самцях, масою 180-220 г, під уретановою анестезією (1.15 г/кг, внутрішньоочеревицею(в/о)). ШСК вивчали ме-

тодом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом. Ми досліджували вплив гліпролінів на базальну та стимульовану карбахоліном (0.01 мг/кг, в/о), гістаміном (3 мг/кг) та пентагастином (0,26 мг/кг, в/о) ШСК. Про-Глі-Про, Глі-Про, Про-Глі вводилися в/о в дозі 3.7  $\mu$ М/кг (-1) за 15 хвилин до введення стимуляторів. Вміст аніонів нітриту ( $\text{NO}_2^-$ ) в плазмі крові визначали за допомогою реактиву Грісса (Green, 1982).

Встановлено, що гліпроліни значно зменшували базальну ШСК у щурів: Про-Глі-Про на 62% ( $p < 0,001$ ), Глі-Про на 59% ( $p < 0,001$ ), Про-Глі на 46% ( $p < 0,001$ ). Аналогічно Про-Глі-Про та Глі-Про зменшували ШСК стимульовану карбахоліном, гістаміном та пентагастрином. Проте Про-Глі не впливав на стимульовану ШСК.

У зв'язку з відсутністю специфічних рецепторів для гліпролінів на парієтальних клітинах, виникає питання про механізм їх дії на секреторну функцію шлунка. Раніше було показано, що гліпроліни підсилюють кровообіг у слизовій оболонці шлунка (Самонина Г.Е., 2001). Беручи до уваги роль оксиду азоту у регуляції кровотоку в слизовій оболонці шлунка і дані літератури про пригнічувальний вплив в певних дозах донорів оксиду азоту на ШСК у щурів, ми вирішили виміряти в плазмі крові щурів метаболіт оксиду азоту  $\text{NO}_2^-$ , як показник генерації оксиду азоту, до і після введення гліпролінів. Показано, що через 30 хвилин після введення Про-Глі-Про концентрація  $\text{NO}_2^-$  в плазмі крові збільшилася на 17% ( $p < 0,001$ ). Метаболіти Про-Глі-Про - Глі-Про і Про-Глі збільшували рівень  $\text{NO}_2^-$  на 25% ( $p < 0,001$ ) і 28% ( $p < 0,001$ ) відповідно.

Отже, можна зробити висновок, що дійсно одним з механізмів впливу гліпролінів на ШСК є стимуляція виділення оксиду азоту, який призводить до гальмування базальної і стимульованої ШСК. Таким чином, враховуючи ендогенне походження пролінвмістних пептидів і їх метаболітів, а також встановлений гальмівний їх вплив на ШСК, можна за рахунок цих пептидів розширити спектр відомих факторів захисту (захисний слизовий бар'єр, адекватна мікроциркуляція, активна регенерація), що протистоять в природних умовах чинникам агресії (кислотно-пептичний, стрес тощо).

### **Левчук С., Типлинська К.**

#### **КОРЕКЦІЯ СТЕРОЇДНОГО ПРОФІЛЮ ЖІНОК У ПЕРІОД МЕНОПАУЗИ ЗА ДОПОМОГОЮ ІНДИВІДУЛЬНО ПІДБРАНИХ ПРОБІОТИКІВ**

*Кафедра промислової біотехнології*

*Національний технічний університет України „Київський політехнічний інститут”*

*пр. Перемоги, 37, м.Київ, 03056, Україна*

*e-mail: Sw\_KPI\_fr@i.ua*

У період менопаузи жіночий організм проходить через ряд біологічних і ендокринних змін, одними з яких є зміни у синтезі статевих гормонів. Зокрема найбільш суттєвими і найбільш дослідженими є коливання рівня тестостерону, естрадіолу, естрогену, прогестерону і лютеїнізуючого гормону (Ткачук, 1983; Тгйvouх, 2005). Оскільки стероїдні гормони відіграють значну роль в нейро-ендокринній регуляції організму, то зміна їх рівнів може викликати розлади у роботі практично всіх органів та систем (Meurman, 2008). Існує багато медичних засобів для маскування або усунення негативного впливу змін під час менопаузи. Зокрема, на початку 90-их років використовували кон'югований естроген в комбінації з ацетатом медроксипрогестерону (Soker, 2010), зараз часто призначають дегідроепітестостерон (Witkin, 2007). Але вживання гормонів може спричиняти порушення інших метаболічних шляхів та навіть припинення синтезу власних гормонів (Mareck, 2008). Тому часто результати лікування є протирічними і є важливим створення методу покращення гормонального профілю під час менопаузи без вживання гормонів. Одним з шляхів корекції метаболічних процесів в організмі є пробіотикотерапія, тому нами було запропоновано метод нормалізації стероїдного профілю жінок за допомогою пробіотиків. Даний метод є безпечним для організму завдяки індивідуальному підбору препаратів. Також зміни у стероїдному профілі відбуваються за рахунок активації власних резервів організму і є стійкими.

Для кожного пацієнта було проведено діагностику і за допомогою співставлення спектрально-динамічних характеристик (СДХ) організму з СДХ пробіотичних штамів підібрано індивідуальну композицію.

Для оцінки ефективності лікування було проаналізовано стероїдний профіль до, протягом та після лікування. Аналіз проводився за допомогою газової хроматографії-маспектрометрії згідно з технічними рекомендаціями ВАДА щодо аналізу стероїдного профілю „TD2009EAAAS Endogenous Anabolic Androgenic Steroids. Testing, Reporting and Interpretive Guidance”. Відбувся аналіз наступних гормонів та їх співвідношень: андростерон, етіохоланолон, 5-б-андростендіол, 5-в-андростендіол, дегідроепіандростерон, епітестостерон, тестостерон.

У піддослідній групі простежувались чіткі зміни стероїдного профілю. Насамперед, у осіб, у яких був відсутній тестостерон, він з’явився. Також збільшилися концентрації дегідроепіандростерону. Основним досягненням є збільшення розмаху коливань як в концентраціях гормонів, так і в їх співвідношеннях. Це свідчить про відновлення нормальних змін гормонів протягом циклу, а отже, і про омолодження організму.

З отриманих результатів можна зробити висновки, що дія на організм системна і відбувається за рахунок не лише підвищення синтезу певного гормону, а й оздоровлення організму цілому.

**Павлович О. С., Федорчук О. Ю., Киричук Є. О.**

**ОСОБЛИВОСТІ ПРОСТОРОВОЇ СИНХРОНІЗАЦІЇ ЕЕГ У ДІАПАЗОНІ АЛЬФА-РИТМУ  
В УМОВАХ СЛУХОВОГО СПРИЙНЯТТЯ Й МАНУАЛЬНОГО ВІДТВОРЕННЯ  
ЖІНКАМИ РИТМІЧНИХ ПАТЕРНІВ**

*Кафедра фізіології людини і тварин, біологічний факультет  
Волинський національний університет ім. Лесі Українки  
пр. Волі, 13, м. Луцьк, 43000, Україна  
e-mail: pos-bio@mail.ru, ksiushin09@gmail.com*

У дослідженні при дотриманні норм біомедичної етики взяли участь 50 жінок віком 19-21 років, що не мали спеціальної музичної освіти та ніколи не навчались гри на музичних інструментах. Усі жінки були праворукі з ведучим правим вухом. Кількісну оцінку ЕЕГ-даних мозку здійснювали при визначенні коефіцієнтів ( $r$ ) когерентності (Cог) для усіх пар відведень в усіх тестових ситуаціях для частотного діапазону альфа-ритму (8-13 Гц). ЕЕГ реєстрували у стані функціонального спокою (фон); під час слухового сприйняття й мануального відтворення ритмічних патернів із рівновисотним звучанням і звуковисотних (мелодійних). Усі патерни створювали за допомогою звукових стимулів, що подавалися бінаурально. Вони мали частотний діапазон близько 120 Гц, гучність у 55-60 дБ, тривалість – близько 10 мс (програмне забезпечення Finale-2006). Ритмічні патерни з рівновисотним звучанням вибудовували на основі електронної версії барабанного бою (висота усіх звуків була однаковою), звуковисотні патерни – шляхом накладання на рівновисотні ритмічні патерни електронної версії гри на фортепіано з різновисотним звучанням (мелодії). У всіх ритмічних патернах подавали одиночні та здвоєні стимули у такій послідовності –  $///$ . Протягом однієї проби тим ритмічного патерну. Як мануальне відтворення запропонованих ритмічних патернів піддослідні відтворювали (відбивали) їх пальцями кисті спочатку правої, а потім лівої руки. Аналізували статистично значимі зміни ( $t$ -критерій Стьюдента, при  $t \geq 2,0086$  і  $p \leq 0,05$ ) показників порівняно зі станом функціонального спокою, з іншими тестовими ситуаціями.

Під час сприйняття й відтворення ритмічних патернів з рівновисотним звучанням правою рукою встановлено зниження коефіцієнтів Cог у лобній і тім’яно-потиличній зонах, порівняно з фоном. Разом з тим відзначено відповідне зростання досліджуваних показників у скроневих і центральних ділянках кори, переважно у лівій півкулі. При виконанні досліджуваними завдання лівою рукою виявлено

значиме зростання коефіцієнтів Коґ у скроневої, центральній, тім'яній і потиличній частках кори та зниження у лобній зоні, порівняно з фоном. Відзначено зростання коефіцієнтів Коґ у контрлатеральній півкулі при виконанні тесту кистю ведучої руки та дифузний характер розподілу при аналогічній дії кисті субдомінантної кінцівки.

Сприйняття й відтворення звуковисотних ритмічних патернів досліджуваними кистю правої руки супроводжувалось подальшим значимим зниженням коефіцієнтів Коґ у лобній зоні, а також у передніх ділянках скроневої частки. Відзначено зменшення рівня дистантних когерентних взаємодій між передніми ділянками симетричних лобних часток і центральними ділянками скроневої і тім'яної часток, правою потиличною ділянкою. Натомість у симетричних задніх ділянках скроневої частки, у центральних, тім'яних і лівій потиличній зонах установлено зростання коефіцієнтів Коґ. При виконанні даного завдання досліджуваними кистю лівої руки відзначено значиме зниження коефіцієнта Коґ у лобних і передніх ділянках скроневої частки обох півкуль кори. У задніх ділянках скроневої частки, у центральних, тім'яних та потиличних зонах обох півкуль кори виявлено зростання досліджуваних показників.

### **Прибитько І. Ю., Харченко М. М.**

#### **ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ ЖИРОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА ЕВАКУАТОРНУ ФУНКЦІЮ ШЛУНКА В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ПЕРЕРІЗКИ ПІЛОРИЧНОЇ ГІЛКИ ПЕРЕДНЬОГО СТОВБУРА БЛУКАЮЧИХ НЕРВІВ У СОБАК**

*Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна*

*e-mail: ibosyuk@mail.ru*

Пригнічуючий вплив жиру на моторно-евакуаторну функцію шлунка відомий з початку ХХ століття і був предметом численних і різноманітних досліджень, узагальнених в ряді оглядів. Також встановлено, що стовбурава ваготомія, селективна та селективна проксимальна ваготомії збільшують тривалість евакуації з шлунка жирної їжі. Проте, в літературі відсутні дані стосовно дози жиру, що не змінює тривалість та характер евакуації з шлунка вуглеводної їжі. Не вивченим залишився вплив перерізки пілоричної гілки переднього стовбура блукаючих нервів (*ramus pyloricus nervi vagi (RPNV)*) на тривалість і характер евакуації з шлунка жирної їжі.

Метою роботи було дослідити вплив різних доз жиру (12,5 г (27,6 ккал/кг), 15 г (28,8 ккал/кг), 17,5 г (30 ккал/кг), 25 г (33,6 ккал/кг)) на евакуаторну функцію шлунка у собак з інтактною нервовою системою та у собак після перерізки RPNV.

Дослідження проведені в умовах хронічного експерименту на 6-ти безпородних собаках з вживленими фістулами в фундальний відділ шлунка та дванадцятипалу кишку (5-7 см дистальніше пілоричного сфінктера). 3 собаки були з інтактною нервовою системою та слугували контролем, 3-м іншим була виконана операція перерізки RPNV за Холе (1992). Харчовий раціон, використаний в експерименті, складався з 100 г хліба, в який додавали як маркери 600 сфер харчової гуми розміром 1 мм<sup>3</sup> та досліджуваних доз жиру. Питома вага кульок дорівнювала питомій вазі їжі. Після годівлі собак через кожні 25 хв відкривали фістулу дванадцятипалої кишки на 5 хв та збирали хімум, в якому підраховували кількість сфер, за якими судили про частину шлункового вмісту, що покидав шлунок за кожний 30-хвилинний проміжок часу. Після цього реконструювали динаміку спорожнення шлунку.

Встановлено, що у собак з інтактною нервовою системою 27,6 ккал/кг є граничною дозою жиру, що не справляє гальмівного впливу на евакуацію з шлунка. При цьому зберігався експоненціальний характер евакуації. Збільшення дози жиру у цих же собак до 28,8, 30, 33,6 ккал/кг уповільнювало евакуацію з шлунка вуглеводної їжі на 12% ( $p < 0,001$ ), 36% ( $p < 0,001$ ) та 43% ( $p < 0,001$ ) відповідно та усувало експоненційний характер евакуації. У собак після перерізки RPNV дози жиру 27,6, 28,8, 30 і

33,6 ккал/кг жиру збільшували тривалість евакуації з шлунка їжі вуглеводно-жирового складу на 6% ( $p < 0,05$ ), 11% ( $p < 0,05$ ), 32% ( $p < 0,001$ ) та 8% ( $p < 0,05$ ). Всі використані дози жиру усували експоненційний характер евакуації з шлунка вуглеводної їжі. Порівняння тривалостей евакуації досліджуваних доз жирового навантаження у собак з інтактною нервовою системою та у собак з перерізаною RPNV показало, що вуглеводна їжа з додаванням жиру в дозі 33,6 ккал/кг у собак з перерізкою RPNV на 24% ( $p < 0,001$ ) швидше покидала шлунок, ніж у собак з інтактною нервовою системою.

Отримані результати можуть бути експериментальним поясненням стеатореї, що виникає у пацієнтів після панкреато-дуоденальної резекції за Віплі, при якій перерізають RPNV. Також наші дані можуть бути підґрунтям для розробки спеціальних дієт вказаним пацієнтам.

### Сєдих М. М.

#### РОЛЬ ЖІНОЧОГО СТАТЕВОГО ГОРМОНУ ПРОГЕСТЕРОНУ В ФОРМУВАННІ ПОВЕДІНКОВОЇ АКТИВНОСТІ АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ У ВІДКРИТОМУ ПОЛІ

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: gljukkk@ukr.net*

Однією з найбільших проблем здоров'я людини залишається проблема психоемоційних порушень, викликаних різними факторами – спадковими порушеннями, стресами, фармакологічними агентами. Серед причин виникнення таких порушень вагоме значення має вживання алкоголю, оскільки етанол викликає порушення нейромедіаторної трансмісії, а перш за все – дофамінергічної системи. Оскільки практично всі нейрохімічні системи мозку перебувають у певних взаємовідносинах, порушення нормальної роботи дофамінової системи впливають і на інші нейрохімічні системи. Крім того, етанол викликає ряд самостійних ефектів як на клітинному, так і на тканинному рівні. Досить широке застосування у сучасній медицині має гормональна терапія, яку використовують для корекції психоемоційних порушень. Разом з тим, загальновідомим є той факт, що жіночі статеві гормони виступають в якості модуляторів для медіаторів центральної нервової системи.

Метою представленого дослідження було вивчення ролі жіночого статевого гормону прогестерону в формуванні поведінкової активності алкоголізованих щурів у відкритому полі.

Експеримент був проведений на 19 статевозрілих самцях білих щурів масою  $180 \pm 15$  г. Тварини містилися у віварії у стандартних умовах. Вихідна група тварин була протестована в умовах відкритого поля для встановлення стандартних поведінкових показників: кількості пересічених квадратів (зовнішніх та внутрішніх), кількості стійок, фекальних болосів та частоти актів ґрумінгу. Вихідна група тварин була розділена на 2 групи по 10 і 9 особин в кожній. У тварин першої групи формували стан хронічної алкоголізації шляхом внутрішньоочеревиного введення 10%-го розчину етилового спирту в розрахунок 2 мл розчину на 1 кг маси тіла протягом 14 днів (умовний контроль), у тварин другої – застосування цієї моделі відбувалось разом із підшкірним введенням масляного розчину прогестерону в дозі 1 мг/кг, після чого щури проходили повторне тестування в відкритому полі. Первинні експериментальні дані оброблялися за допомогою загальноприйнятих методів математичної статистики за допомогою пакету програм STATISTIKA 6.0 та Excel. Для оцінки достовірності відмінностей між контрольними та експериментальними значеннями використовувався U-критерій Манна-Уїтні.

У результаті контрольного тестування виявлено, що максимальний рівень поведінкової активності у щурів спостерігається на першій хвилині, після чого зменшується практично до нуля.

Встановлено, що після хронічного впливу етанолу значно зменшилися показники перетину зовнішніх квадратів поля, а щодо внутрішніх, то можна сказати про достовірно підвищену їх кількість ( $p_u < 0,05$ ); кількість дефекацій і актів ґрумінгу змінилась у порівняно з контролем, але не можна судити про достовірно значну різницю. Стосовно кількості стійок, виявлено значне зменшення цього показника щодо контрольного рівня ( $p_u < 0,05$ ).



В результаті одночасного застосування етанолу з прогестероном, отримано такі результати: емоційність тварин (кількість фекальних болюсів) починаючи з другої хвилини знизилась до показників контролю, в той час, як хронічна алкоголізація підтримувала достатньо високий рівень вираженості цього показника до 3-ї хвилини експерименту; крім того, виявлено суттєве пригнічення грумінгової активності щурів під дією прогестерону разом з етанолом – починаючи з 3-ї хвилини ця складова поведінки була відсутня у тварин. Виявлено також стимулюючий ефект прогестерону на дослідницьку активність щурів в відкритому полі, оскільки кількість стійок достовірно ( $p < 0,05$ ) збільшилася щодо контрольного рівня.

Таким чином, прогестерон корегує поведінку щурів, які перебувають під хронічним впливом алкоголю, оскільки стимулює дослідницьку активність тварин і значно пригнічує частоту актів грумінгу.

### **Венцковська О. А.**

#### **ТИРЕОЇДНА АКТИВНІСТЬ ПІСЛЯ ХОЛОДОВОЇ АКЛІМАЦІЇ У ЩУРІВ**

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України  
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна  
e-mail: elena.vens@gmail.com*

В адаптації до холоду значну роль відіграють ендокринні реакції організму, зокрема щитовидної залози (Yen, 2001). В даний час широко поширені два основних експериментальних способи адаптації організму до холоду: тривала і короткочасна аклімації (LeBlanc, 1967, Пастухов, 2003). Відомо, що при тривалій аклімації до холоду спостерігається значне напруження тиреоїдної функції організму, що призводить до диспропорцій в гормональному статусі, підвищення загальних витрат енергії, пошкодження периферичних тканин, підвищення кров'яного тиску та інше (Султанов, 1991). Слід зазначити, що при природній адаптації подібної активації тиреоїдної функції та її негативних наслідків не спостерігається. При цьому тиреоїдний статус при короткочасній аклімації до холоду, яка є більш природним способом адаптації, залишається невивченим. У зв'язку з цим метою роботи стало дослідження впливу ритмічних холодкових впливів (РХВ), що базуються на ендогенних ритмах організму, на концентрацію тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів.

Експерименти проведені на щурах самцях лінії Вістар (7-8 міс, маса 220-250 г) і схвалені комітетом з біоетики при ІПКіК. РХВ проводили за методом (Пастухов, 2003), а саме: кожну годину тварин охолоджували при температурі  $-12^{\circ}\text{C}$  або  $+10^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв, наступні 45 хв тварини перебували при кімнатній температурі (Тсер =  $22-24^{\circ}\text{C}$ ). Тривалий холодковий вплив здійснювали шляхом утримання тварин протягом 30 днів при  $+4^{\circ}\text{C}$  з вільним доступом до води та їжі. Визначення концентрації тиреоїдних гормонів (загального  $3,5,3'$  - трийодтироніну ( $T_3$ ) та загального тироксину ( $T_4$ )) у сироватці крові здійснювали радіоімунологічним аналізом, застосовуючи стандартизовані набори реактивів PIA- $T_3$ -СТ і PIA- $T_4$ -СТ. Статистичну обробку експериментальних даних проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). У результаті експериментів показано, що при тривалій хронічній дії холоду спостерігалася значна активація тиреоїдної системи організму: збільшувався рівень  $T_4$  з  $84,3 \pm 7,3$  до  $157,1 \pm 23,7$  нмоль/л, рівень  $T_3$  вірогідно не змінювався  $2,9 \pm 0,5$  нмоль/л порівняно з  $4,5 \pm 1$  нмоль/л у контролі. РХВ ( $-12^{\circ}\text{C}$ ) призводить до незначного збільшення концентрації  $T_4$  в сироватці крові з  $84,3 \pm 7,3$  до  $125,8 \pm 9,8$  нмоль/л, залишаючи рівень  $T_3$  незмінним ( $4,5 \pm 1$  у контролі та  $4,9 \pm 0,6$  нмоль/л після впливу). У той час як після РХВ ( $+10^{\circ}\text{C}$ ) активації тиреоїдної системи не відбувалося, судячи по відсутності достовірних змін рівня тиреоїдних гормонів у сироватці крові ( $T_4$  -  $84,3 \pm 7,3$  в контролі та  $103,6 \pm 16,9$  нмоль/л після впливу,  $T_3$  -  $4,5 \pm 1$  у контролі та  $3,1 \pm 0,5$  нмоль/л після впливу).

Отримані дані свідчать про те, що постійний тривалий вплив холоду має тиреоїдактивуєчий вплив, а під час ритмічних холодкових впливів подібний ефект менш виражений, що свідчить про те, що даний вплив є більш м'яким і природним для організму.

Автор висловлює щирю подяку старшому науковому співробітникові відділу НГС ІПКіК НАН України Божок Г.А. та старшому науковому співробітникові Шило О.В. відділу кріофізіології ІПКіК НАН України за практичні та методичні консультації при проведенні вимірювань вмісту гормонів.

### **Юркевич І., Лушак О. В.**

#### **ПРОТОНОФОР 2,4-ДИНІТРОФЕНОЛ ПРОДОВЖУЄ ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ПЛОДОВОЇ МУШКИ DROSOPHILA MELANOGASTER**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна  
e-mail: streetman-rss@mail.ru*

Регуляція мітохондріального мембранного градієнта є одним із адаптаційних механізмів, задіяних у регуляції метаболізму залежно від харчування. Важливим компонентом регуляції мембранного потенціалу є так звані білки-роз'єднувачі UCPs (uncoupling proteins), які в окисленому вигляді утворюють канал, через який можуть проходити протони. Це призводить до зниження мембранного потенціалу мітохондрій. Проте, є група сполук, що здатні утворювати пори і, відповідно, знижувати мембранний потенціал. До таких сполук-протонофорів належить 2,4-динітрофенол (ДНФ). У даній роботі ми провели аналіз впливу 2,4-динітрофенолу на тривалість життя плодової мушки *Drosophila melanogaster* за різних дієт. Для вивчення можливого впливу ДНФ на тривалість життя дорослі особини обох статей годували дієтами з різною калорійністю з додаванням ДНФ у концентраціях від 0,005 до 0,02%. Дієти з різною калорійністю отримували при розведенні їжі, яка містила сахарозу і дріжджі в концентраціях 15% до 10, 5 і 1%. Мух утримували у демографічних клітках. Їжу замінювали кожних два дні, а мертвих особин підраховували і видаляли. Аналіз кривих виживання проводили за допомогою програми JMP 9.0 (SAS). Різницю між кривими виживання обчислювали за допомогою log-rank тесту. Максимальну тривалість життя визначали як середню тривалість життя останніх 10% особин, які вижили.

Додавання ДНФ у концентраціях 0,005, 0,01, і 0,02% до раціону мух, що споживали низькокалорійну їжу (1%), знижувало середню і максимальну тривалість життя мух обох статей (log-rank,  $P < 0,0001$  щодо контролю). При збільшенні концентрації інгредієнтів у їжі до 5% спостерігались зміни в напрямку продовження тривалості життя при додаванні ДНФ. Так, додавання ДНФ в концентраціях від 0,005 і 0,02% збільшувало середню тривалість життя самок на 7, 14 і 6% ( $\chi^2=11,1$ ;  $P < 0,0009$ ;  $\chi^2=71,8$ ;  $P < 0,0001$ ;  $\chi^2=36,4$ ;  $P < 0,0001$ ). У самців даний показник був достовірно вищий від контролю на 4 і 5% ( $\chi^2=14,6$ ;  $P < 0,0001$  і  $\chi^2=17,9$ ;  $P < 0,0001$ ). Проте самці, до раціону яких додавали ДНФ у концентрації 0,02%, характеризувались меншою середньою тривалістю життя на 31% ( $\chi^2=47,5$ ;  $P < 0,0001$ ). При збільшенні концентрації компонентів їжі до 10% спостерігали посилення ефекту ДНФ. Середня тривалість життя самок була на 8, 18 і 27% більшою порівняно з контролем ( $P < 0,0001$ ) при додаванні ДНФ у концентраціях 0,005, 0,01 і 0,02% відповідно. Максимальна тривалість життя була достовірно більшою при додаванні 0,01 і 0,02% ДНФ. Середня і максимальні тривалості життя самців була більшою при всіх досліджуваних концентраціях ДНФ. При концентрації компонентів їжі 15% ДНФ при найнижчій досліджуваній концентрації не впливав на тривалість життя мушок. Проте, ДНФ у концентраціях 0,01, і 0,02% збільшував середню тривалість життя самок на 6 і 16% ( $\chi^2=16,6$ ;  $P < 0,0001$  і  $\chi^2=67,6$ ;  $P < 0,0001$ ) і самців на 13 і 18% ( $\chi^2=41,6$ ;  $P < 0,0001$  і  $\chi^2=87,8$ ;  $P < 0,0001$ ). За цих же концентрацій ДНФ максимальна тривалість життя була більшою у самок на 9 і 13% ( $\chi^2=27,9$ ;  $P < 0,0001$  і  $\chi^2=47,3$ ;  $P < 0,0001$ ) і самців на 11 і 13% ( $\chi^2=40,0$ ;  $P < 0,0001$  і  $\chi^2=53,0$ ;  $P < 0,0001$ ).

Отримані результати свідчать про те, що додавання ДНФ у раціон мушок продовжує тривалість життя, і ефект залежить від калорійності дієти.

**Завидовський Б. І.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ПРОГЕСТЕРОНУ НА КОРЕКЦІЮ ПОВЕДІНКОВИХ ПОРУШЕНЬ,  
ВИКЛИКАНИХ ХРОНІЧНОЮ АЛКОГОЛІЗАЦІЄЮ**

*Донецький національний університет  
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна  
e-mail: boqdan91@meta.ua*

Механізм дії різноманітних екзогенних факторів є важливим для вивчення їх впливу на зміну поведінки людини та фізіологічних ефектів. Ці ефекти залежать від введеної дози, присутності у крові інших речовин, а також від того, яка кількість речовини вживалася в минулому. З цієї точки зору цікавим для нейроетологічних досліджень є питання, яким чином зміниться динаміка дослідницької та рухової активності тварини при одночасному впливі двох біологічно активних речовин – прогестерону та етанолу, котрі в комплексі діють на функціонування нейротрансмітерних систем головного мозку (серотонінергічну, дофамінергічну, норадренергічну), а також змінюють функціонування рецепторів, котрі забезпечують інформацією про зміну навколишнього світу кору, яка у відповідь реагує певними реакціями поведінки. Прогестерон – основний гормон жовтого тіла яєчників, за хімічним складом є стероїдним гормоном. Також продукується у значній кількості корою надниркових залоз у обох статей. Є попередником алопрегненолону, котрий здійснює алостеричну модулюючу дію на рецептори ГАМК у головному мозку через специфічний нейростероїдний сайт ГАМК-рецептора. Етанол – це одноатомний спирт, що являє собою прозору рідину. При всмоктуванні у тонкому кишечнику рівномірно розподіляється на всі структури організму, зокрема на нервову систему. В нервовій системі впливає на функціонування хімічних переносників – нейротрансмітерів, серед котрих головний – серотонін. Збільшення його функціонування пов’язують з асоціальними розладами особистості, імпульсивною поведінкою, жорстокістю.

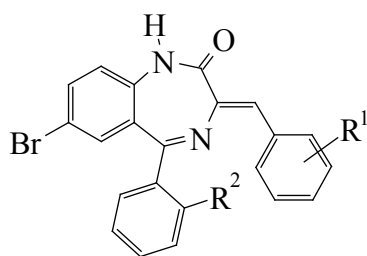
Досліди виконувалися на 20 лабораторних щурах-самцях масою 190±13 г. Вплив етанолу та прогестерону оцінювали стандартною методикою на установці «діряве поле», в умовах якої оцінювали наступні показники: 1 – дослідницька активність (ДА), яка визначалась як сумарна кількість вертикальних стійок та просувань голови у нірку; 2 - рухова активність (РА) – кількість квадратів, котрі перетнула тварина за 4 хвилини експерименту; 3 – частота актів грумінгу. Для досягнення мети на початковій групі щурів був встановлений контрольний рівень тривожності поведінкової активності в умовах дірявого поля. Потім початкову групу було розділено на дві підгрупи: на тварин першої діяли лише внутрішньочеревними ін’єкціями 10% розчину етилового спирту в розрахунку 2 мг/кг протягом 14 днів, на другу – комплексним введенням етанолу та підшкірними ін’єкціями розчину прогестерону у оливковій олії в дозі 1 мг/кг. Отримані дані оброблялись стандартними статистичними методами, їх достовірність перевірялася за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Вплив алкоголізації призвів до таких змін у першій підгрупі: достовірно збільшилась ДА на 35,55% ( $p_u < 0,05$ ), кількість актів грумінгу на 242,86% ( $p_u < 0,01$ ). Зменшилась кількість фекальних болюсів на 400% ( $p_u < 0,01$ ). Рівень РА достовірно не змінився. Вплив одночасних ін’єкцій етанолу і прогестерону викликав такі зміни у другій підгрупі: рівень ДА та РА та кількість дефекацій достовірно не змінились, кількість актів грумінгу достовірно зменшилась на 115,97% ( $p_u < 0,01$ ). Цікавою є зміна грумінгової активності, де алкоголізація призвела до її збільшення, а прогестерон з етанолом навпаки – достовірно зниження актів грумінгу, що може вказувати на антидепресивну дію прогестерону на фоні хронічної алкоголізації.

Таким чином етанол та прогестерон впливають на характеристики поведінки: хронічне введення етанолу підвищує рівень поведінкової активності (гіпердинамія) та грумінгової, що вказує на збільшення емоційного статусу тварин, а одночасне введення етанолу з прогестероном корегує це порушення поведінки знижуючи частоту актів грумінгу та утримуючи дослідницьку активність на початковому рівні.

**Бачинський С. Ю., Халімова О. І.****АНАЛЬГЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЦИС-3-АРИЛІДЕН-1,2-ДИГІДРО-3Н-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНІВ***Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України**Люстдорфська дор. 86, м. Одеса, 65080, Україна**e-mail: medchem\_department@ukr.net*

Відомо, що похідні 1,4-бенздіазепінів мають анксиолітичні, снодійні, протисудомні властивості. Є наявними дані про те, що деякі 3-заміщені 1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепіни проявляють значну анальгетичну активність і афінітет до брадикінінових ( $B_1$  і  $B_2$ ) рецепторів (Dziadulewicz E.K., 1999; Wood M.R., 2003).

З метою пошуку нових анальгетиків здійснено синтез похідних цис-3-ариліден-5-арил-7-бром-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепінів 1-20:



1-20

1 $R^1=H$ ; $R^2=H$	11 $R^1=4-Cl$ ; $R^2=H$
2 $R^1=H$ ; $R^2=Cl$	12 $R^1=2-Cl$ ; $R^2=Cl$
3 $R^1=2-OCH_3$ ; $R^2=Cl$	13 $R^1=3-Cl$ ; $R^2=Cl$
4 $R^1=3-OCH_3$ ; $R^2=Cl$	14 $R^1=4-Cl$ ; $R^2=Cl$
5 $R^1=4-OCH_3$ ; $R^2=Cl$	15 $R^1=2-Br$ ; $R^2=H$
6 $R^1=2-F$ ; $R^2=H$	16 $R^1=3-Br$ ; $R^2=H$
7 $R^1=3-F$ ; $R^2=H$	17 $R^1=4-Br$ ; $R^2=H$
8 $R^1=4-F$ ; $R^2=H$	18 $R^1=2-Br$ ; $R^2=Cl$
9 $R^1=2-Cl$ ; $R^2=H$	19 $R^1=3-Br$ ; $R^2=Cl$
10 $R^1=3-Cl$ ; $R^2=H$	20 $R^1=4-Br$ ; $R^2=Cl$

Синтезовані сполуки 1-20 виявили виразну анальгетичну активність в дозі 1 мг/кг у дослідах *in vivo* на моделі «корчів», викликаних внутрішньоочервинним введенням оцтової кислоти у мишей. Найбільш активні сполуки зменшували кількість «корчів» у піддослідних тварин на 53,5-67,1%, що перевершує ефект препарату порівняння диклофенак-натрію, взятого в дозі 10 мг/кг (51,7%).

Можна відзначити позитивний вплив на анальгетичну активність положення (о-, м- або п-) і природи замісника в ариліденовому фрагменті.

Таким чином, наведені вище результати свідчать про перспективність подальшого вивчення похідних цис-3-ариліден-5-арил-7-бром-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепінів в плані пошуку сполук, що мають анальгетичну активність для створення високоефективних знеболювальних засобів.

**Чекаліна Н., Мегалінська Г., Страшко С.****ВПЛИВ ДЕЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН НА ПСИХОЕМОЦІЙНИЙ СТАН ЛЮДИНИ***Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова**вул. Пирогова, 9, м. Київ, 01030, Україна*

Оскільки актуальним питанням сучасної медичної ботаніки є персоніфікація лікарської сировини за групами крові, нами проводилося дослідження впливу трави *Plex parguariensis*, *Thea sinensis* та плодів *Nirporhae rhamnoides* на психоемоційний стан студентів та паралельно вивчалася активність реакції агрегації між лектинами досліджуваних рослин та рецепторами мембран еритроцитів представників чотирьох груп крові. За даними П. Д'Адамо (2003) 95% лектинів, що потрапили до організму, виводяться, в той час як 5% потрапляють у кров і можуть впливати на різноманітні процеси, у тому числі склеювати еритроцити, тобто впливають на рівні клітин на формування психоемоційного фону в людини. Зміна психоемоційного стану піддослідних студентів визначалася за допомогою методики САН Я. (Райгородський, 2005). Методика САН розроблена в 1 Московському медичному інституті І.М. Сеченова і застосовується для оперативної оцінки самопочуття, активності, настрою. При цьому крайній ступінь вираженості негативного полюса пари оцінювався в 1 бал, в той час, як крайній

ступінь вираженості позитивного полюса в анкеті САН – в 7 балів. Самопочуття розглядається як система суб’єктивних відчуттів, що свідчить про деякий ступінь фізіологічної і психічної комфортності внутрішнього стану. Самопочуття може бути представлене відчуттям дискомфорту в різних частинах тіла, або труднощами виконання моторних і когнітивних актів, які впливають на навчання. Настрій розглядається як порівняно довгий, стійкий психологічний стан помірної або слабкої інтенсивності, що виявляється як позитивний або негативний емоційний фон психічного життя особи.

За результатами дослідження чай мате підвищує самопочуття, активність, настрій у носіїв I, II та IV групи крові. У студентів з першою групою крові самопочуття, активність та настрій покращилися відповідно на 0,26, 0,27 та 0,54 бали; з другою групою крові на 0,69, 0,06 та 0,37 балів. Найбільш позитивний вплив на психоемоційний стан людини спричиняє сировина падуба парагвайського на представників четвертої групи крові, у яких самопочуття покращилося на 0,5 балів, а активність і настрій на 1 бал. На представників третьої групи крові мате впливає негативно: самопочуття після приймання відвару знизилось в середньому на 0,08 балів, активність і настрій – на 0,23 бали. Тому можна припустити, що саме носії цієї групи крові будуть мати високий титр аглютинації лектинів мате з еритроцитами, а еритроцити четвертої групи крові будуть демонструвати низький рівень гемаглютинуючої активності. Лектини падуба парагвайського мають високу гемаглютинуючу активність щодо еритроцитів третьої групи крові (титр 1/256), чим можна пояснити погіршення самопочуття, активності та настрою у представників цієї групи після вживання чаю мате.

Вивчення впливу чаю з плодів *Pyrrophae rhamnoides* свідчить про стимулюючий ефект цього напою на носіїв усіх чотирьох груп крові людини. У осіб з I групою крові рівень самопочуття покращився на 2%, активності – на 16,7%, настрій лишився незмінним. В стані піддослідних з III групою крові було виявлено покращення самопочуття, активності, настрою на 46%, 25,6%, 9% відповідно. Щодо групи АВ, її носії виявили покращення досліджуваних станів, яке склало 25,8%, 48% і 16%. Вилив трави *Thea sinensis* підвищив самопочуття активність, настрій осіб з другою групою крові на 8,6%, 4,3% та 5,7%. У носіїв III групи крові ці показники збільшилися на 5,9%, 5,9% та 5,7% відповідно.

У представників I групи крові самопочуття знизилось на 2%, активність – на 2%, а настрій на 1%. Для носіїв IV групи досліджувані показники теж зменшувались на 4,3%, 1% та 5%. Таким чином, можна зробити висновок, що для фітобара в закладах освіти найкращим стимулюючим універсальним напоєм може бути чай з плодів обліпіхи.

### Деніс Є.

#### ВПЛИВ ДЕФЦИТУ АНДРОГЕНІВ НА СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ СИНАПТИЧНИХ ВЕЗИКУЛ В ТЕРМІНАЛЯХ CA1 ЗОНИ ГІПОКАМПА

*Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ  
вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна  
e-mail: Panteratigris@mail.ru*

Мозок дорослих ссавців зберігає високу пластичність, і значну роль у підтриманні пластичності відіграють статеві гормони, які у цьому випадку здійснюють вплив на когнітивні процеси (MacLusky N. J., 2006). Нейрони гіпокампа чутливі до змін концентрації статевих гормонів – як до незначних змін рівня естрогенів, пов’язаних з естральним циклом, так і до змін кількості андрогенів (Gould E., 1990, McEwen B., 2009). Недостатність андрогенів, змодельована шляхом кастрації, спричинює пригнічення синаптогенезу в гіпокампі. Кількість синаптичних шипиків на одиницю площі зрізу гіпокампа знижується майже вдвічі у кастратів, порівняно з контрольними тваринами (Hajszan T., 2008). Але особливості морфологічних змін в синапсах, спричинені андрогенною недостатністю, залишаються маловідомими, особливо це стосується пресинаптичної частини синапса. У зв’язку з цим було проведено дослідження, сфокусоване переважно на визначенні особливостей просторового розподілу синаптичних везикул в терміналях асиметричних синапсів CA1 зони гіпокампа.

Для експерименту відібрані молоді шурі самці масою 300-350 г. Їх розділили на дві групи: контрольну - несправжньооперованих, та дослідну - кастрованих. Проміжок часу між операцією та відбором тканини становив тиждень – саме стільки достатньо для розвитку виражених змін у нервовій тканині (Parducz A., 2006). Тканину мозку фіксували із застосуванням інтракардіальної перфузії фіксуєчим розчином, який містив 4% параформальдегіду і 2,5% глютаральдегіду на 0,1 М фосфатному буфері, контрастували плюмбум цитратом та ураніл ацетатом. Тонкі зрізи аналізували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ - 125К (Україна) при збільшенні Ч12000. Отримані цифрові мікрофотографії обробляли за допомогою комп'ютерних програм Corel PHOTO-PAINT 12, Image Tool та LoClust01b.

Для оцінки ймовірності участі везикули в процесі синаптичної передачі ми аналізували відстань, на якій кожна везикула знаходиться від активної зони. Визначали середню кількість синаптичних везикул в пресинаптичній частині. Також встановлювали довжину перерізу активної зони, із якої можна судити про площу активної зони та можливу кількість сайтів докінгу везикул.

Слід відзначити, що середня кількість везикул у 1 синапсі не зазнавала змін: 29 у контрольній групі, 28 у дослідній. Виявилось, що значно різниться саме розташування везикул. Синаптичні везикули у терміналях кастрованих тварин розташовані, в середньому, вдвічі далі від активної зони, ніж в аналогічних синапсах контрольних тварин. Особливого збіднення зазнає пул готових до вивільнення везикул, розташований безпосередньо біля активної зони, але на фоні цього зростає частка везикул, сильно віддалених від активної зони. Довжини перерізів активних зон у дослідній групі були стабільно майже вдвічі більшими, ніж у контролі, що можна розглядати як певний компенсаторний ефект з вельми сумнівним значенням.

Зниження концентрацій андрогенів призводить до зменшення частки везикул безпосередньо біля активної зони і зростання кількості везикул, розташованих на великій відстані від неї. Отож, виходячи з досліджень наведеної моделі, нормальний рівень андрогенів має велике значення для підтримки у безпосередній близькості до активної зони пулу готових до вивільнення синаптичних везикул – пулу, який вважається найбільш значущим для здійснення ефективної синаптичної передачі. Зменшення кількості везикул біля активної зони може призводити до швидкого їх вичерпання, що, ймовірно, виражається у нездатності синапсу передавати високочастотні послідовності нервових імпульсів.

### **Galkin O. Yu., Dugan O. M.**

#### **STUDY OF PHARMACOLOGICAL AND IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF PHYTOPREPARATION THAT IS DESIGNED FOR ALOPECIA TREATMENT**

*National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute"*

*Peremogy Avenue 37, Kyiv, 03057, Ukraine*

*e-mail: alexfbt@mail.ru*

At earlier stages of research we have performed pharmacological and phytochemical design of herbal preparation for the treatment and prevention of alopecia (Galkin, 2011; Галкін, 2010). Phytopreparation is complex tincture of collection of medicinal plant material, consisting *Arctii Radices*, *Sophora Japonica* fruits, *Acorus Clamaus* rhizome, *Folia Urticae Dioicae* and *Humulus Lupulus*. Biologically active substances of medicinal plants have analgetic, antiitch, epithelium creating, and antiseptic properties. They restore the structure and functions of skin, improve blood circulation in skin capillary system, stimulate metabolism and trophic processes, improve supply scalp (Виноградова, 1998; Ковальов, 2000). It should be noted that the main criteria for successful implementation of medicines in clinical practice is it's safety and it's specific activity. Thus, the study has been devoted, to investigation of biological and pharmacological activity of herbal preparation.

Study of pharmacological activity. Study of antiextravasate activity of phytopreparation have been performed on the "rigid" model of inflammation, which is swelling of the limbs caused by subplantaric injection of 2% formalin solution. Rate of antiextravasate activity also have been obtained on the model of adrenalin

pulmonary edema. Study of phytopreparation influence on the proliferate component of inflammatory reaction have been evaluated on the model of “cotton granuloma”. The analysis revealed anti-inflammatory activity of phytopreparation by antiextravasate and antiroliferate effects, due to the presence of flavonoids and tannins.

Study of immunomodulating activity. It has been found that mouse tissue macrophages derived from peritoneal exudate, become activated when they are cultivated in vitro in the presence of phytopreparation. Activation of macrophages was shown by changes in their size and shape, as well as their metabolic and enzymatic activities. It has been established that phytopreparation increases the ability of macrophages production of oxidation metabolites after contact with the components of microorganisms. Incubation of peritoneal macrophages in the presence of phytopreparation for 24 h has not affected the level of spontaneous chemiluminescence, but has increased markedly (26%) the ability of cells to produce oxidative metabolites in response to zymozan. This increase in chemiluminescence activity occurs gradually in the range of concentrations of phytopreparation from 50 to 200 mg/ml and maximal effect has achieved at concentrations of 300 mg/ml. These data agrees well with the concentration of phytopreparation that leads to maximal activation of macrophages, judging from their morphological characteristics. In the study of secretion of monocytic cytokines during their cultivation in phytopreparation containing medium has been established pronounced effect on production of IFN- $\gamma$  and IL-2. There has no marked effect on secretion of interferon IFN- $\beta$ , tumor necrosis factor- $\beta$ , IL-1 and IL-8.

### **Гончарова К.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ПРЕКОНДИЦІОНУВАННЯ НА НЕЙРОНИ CA1 ЗОНИ ГІПОКАМПА ТА ЛОКОМОТОРНУ АКТИВНІСТЬ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ МОЗКУ**

*Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ  
вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна  
e-mail: Panteratigrys@mail.ru*

Прекондиціонування – процедура, впродовж якої тканина підлягає дії шкідливого фактора, який за інтенсивністю близький, але нижчий за межу ураження. Невдовзі після прекондиціонування чи після певного проміжку часу, орган (і таким чином, організм) розвиває стійкість (толерантність) до дії того самого, схожого чи навіть іншого шкідливого фактора, що за інтенсивністю перевищує межу ураження. Дослідження прекондиціонування здійснюють з метою створення нових нейропротективних засобів для допомоги пацієнтам. З одного боку, прекондиціонування є привабливою експериментальною стратегією для визначення ендогенних захисних чи регенеративних механізмів, що можуть бути індуковані чи підтримані терапевтично (Tarugia N., 2008). З іншого боку, прекондиціонування може бути використане як терапевтична техніка для індивідів з очікуваними ішемічними станами (Obrenovitch T.P, 2008). Метою цього дослідження було з'ясування нейропротекторного впливу ішемічного прекондиціонування на пірамідні нейрони CA1 зони гіпокампа ішемізованих піщанок монгольських (*Meriones unguiculatus*) (Kato R., 1990).

Дослідження впливу прекондиціонування було проведено на 20 статевозрілих самцях піщанок масою 70-90 г. Тварин було розділено на 4 групи: 1 – контрольна група (інтактні тварини), 2 – група тварин, у яких моделювали ішемію мозку, 3 – група тварин, які не були ішемізовані, але підлягали прекондиціонуванню, 4 – група тварин, що перед ішемізацією підлягали прекондиціонуванню. Прекондиціонування експериментальних тварин проводили, піддаючи їх нормобаричної гіпоксії газовою сумішшю (10% O<sub>2</sub> в N<sub>2</sub>) впродовж 21-ї доби. Для моделювання ішемії мозку створювали оклюзію загальних сонних артерій. На 7-му добу після оклюзії брали матеріал для структурних досліджень. У роботі були використані морфологічні, імуногістохімічні методи та морфометричний аналіз нейронів CA1 зони гіпокампа. Локомоторну активність тварин аналізували в тесті відкритого поля, який проводили че-

рез добу після оклюзії. Рухову активність оцінювали за кількістю квадратів, яку перетнула тварина за п'ятихвилинний інтервал часу. Для вивчення рівня ішемічного ушкодження пірамідних нейронів СА1 гіпокампа на світлооптичному рівні використовували напівтонкі зрізи, забарвлені толуїдиновим синім та крезилфіолетом. В імуногістохімічному дослідженні для ідентифікації нейронів використовувалися антитіла, специфічні до нейронального білка NeuN та поліклональні антитіла до гліального фібрилярного кислого білка (GFAP). Морфометричний аналіз одержаних препаратів робили за допомогою комп'ютерної системи аналізу зображень Image Tool (США) та BIOQUANT (R&M Biometrics, США). Відносну кількість неушкоджених нейронів в зоні СА1 гіпокампу на 10000 мкм<sup>2</sup> довжини пірамідного шару підраховували через 7 днів після ішемії порівняно з контролем.

При аналізі впливу гіпоксичного прекодиціонування на виживання нейронів СА1 зони гіпокампа в умовах експериментальної ішемії мозку було виявлено збільшення кількості пірамідних нейронів на сьому добу після ішемії на 28,5%, за допомогою імуногістохімічного аналізу виявлено тенденцію до зменшення активації астроцитів. Аналіз впливу гіпоксичних тренувань на локомоторну активність за перекондиціонування виявивлено достовірне зменшення постішемічної гіперактивності тварин на 76%. Таким чином, наведені вище дані свідчать, що режим гіпоксичних тренувань активує тривалі ендогенні нейропротекторні реакції в гіпокампі.

### **Лазоренко О., Мегалінська Г., Афанасьєва І. Ф.**

#### **ЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЛЕКТИНІВ ДЕЯКИХ ПРЯНО-АРОМАТИЧНИХ РОСЛИН**

*Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова*

*вул. Пирогова, 9, м. Київ, 01030, Україна*

*e-mail: lady.lazorenko@yandex.ua*

Однією з актуальних проблем урології є профілактика повторного нефролітіазу. Видалення конкрементів із сечовивідних шляхів – оперативне чи інструментальне – по суті спрямоване на усунення наслідку захворювання, а сама хвороба залишається, загроза повторного каменеутворення не ліквідується. У списку факторів зменшення ризику утворення сечових каменів одне з перших місць посідає фітотерапія. Рослинні засоби використовуються, здебільшого, як діуретики. В останні десятиріччя вчені проявляють надзвичайний інтерес до лектинів – біологічно активних речовин білкової природи, які успішно використовуються для діагностики багатьох хвороб.

Представлене дослідження присвячене вивченню впливу лектинів деяких пряно-ароматичних рослин на ендогенні конкременти *in vitro*. Проведені експерименти мають велике практичне значення, оскільки деякі досліджувані рослини мають літичні та лізогенні властивості. Проводилось дослідження літичної активності лектинів таких пряно-ароматичних рослин – *Acorus calamus*, *Mentha piperita*, *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens*, *Piper nigrum*, *Crocus sativus*, *Zingiber officinale*.

Результати експерименту свідчать, що лектинова фракція з усіх видів досліджуваної сировини виявила гемаглютинуючу та літичну активність. Серед досліджених витяжок пряно-ароматичних рослин найвищі показники гемаглютинуючої активності до IV(AB) групи крові виявлені у *Anethum graveolens* (титр – 1/256), а найнижчі у *Mentha piperita* (гемаглютинація не відбувається). При дослідженні III (B) групи крові найбільша гемаглютинуюча активність виявилась у лектинової фракції *Petroselinum crispum* (титр – 1/64) та в *Piper nigrum* (титр – 1/64), найменша у *Mentha piperita* (титр – 1/4). Кров II (A) групи мала найвищу аглютинуючу активність до лектинової витяжки *Acorus calamus* (титр – 1/32) та найменшу до *Mentha piperita*. Еритроцити I групи крові найвищий показник продемонстрували при гемаглютинації з витяжки *Crocus sativus* (титр – 1/128), найнижчий – для *Acorus calamus* (титр – 1/4) та *Petroselinum crispum* (титр – 1/4).

Лектинова витяжка з *Mentha piperita* та *Petroselinum crispum* розчинили урати, а аналогічний екстракт з у *Anethum graveolens* збільшив масу сечової кислоти. *Piper nigrum* розчинив оксалат (веделіт),



*Crocus sativus* збільшив його масу на 38,9%. Для фосфатів (струвіти) найбільш літичним став *Zingiber officinale*, а *Crocus sativus* збільшив масу на 14,1%. Згідно з проведеними дослідженнями можна зробити висновок, що людям з I(0) групою крові для профілактики та лікування сечокам'яної хвороби краще вживати петрушку городню, яка ефективна при фосфато- та оксалатонурії, а також айр для розчинення уратів. З II (A) групою крові бажано більше вживати м'яту перцеву, петрушку городню, оскільки рослини розчиняють усі види каменів. М'ята перцева не виявила гемаглютинуючої активності, тому найкраще підходить для людей даної групи. Перець чорний буде ефективним для профілактики утворення оксалатів. Негативно впливатиме шафран. Носіям III (B) групи крові бажано обмежити вживання лепехи, кропу пахучого, шафрану посівного, петрушки городньої, перцю чорного та імбиру. Всі ці рослини мають високу гемаглютинуючу активність щодо мембран еритроцитів носіїв III групи крові. Проте м'яту перцеву вживати можна (титр – 1/4, лектини цієї рослини розчиняють фосфати, оксалати, урати). Носіям IV (AB) групи крові м'ята перцева найкраще підходить, тому що не проявляє гемаглютинуючої активності та літично діє на всі види каменів.

### **Ogrodnik M.**

#### GO THROUGH SEVERAL THEORIES OF AGING

*University of Wrocław*

*pl. Uniwersytecki, 1, 50-137 Wrocław, Poland*

Most scientists agree that substantial variability exists in the rates of ageing across different species. A large extent is genetically based. In model organisms and laboratory settings, researchers have been able to demonstrate that selected alterations in specific genes can extend lifespan. It is quite substantially in nematodes, less in fruit flies, and even less in mice. I will shortly describe a few theories.

Evolutionary Theories are based on fact that adverse effects (e.g. aging) that occurred well beyond puberty would have relatively little impact on the organism's ability to reproduce. It also would have propagate its design relative to the same effects occurring at a younger age (Medawar, 1952).

Reproductive-Cell Cycle Theory. The idea that ageing is regulated by reproductive hormones that act in an antagonistic pleiotropic manner via cell cycle signalling, promoting growth and development early in life in order to achieve reproduction, but later in life, in a futile attempt to maintain reproduction, become dysregulated and drive senescence (dyosis) (Bowen, Atwood, 2004).

Mitohormesis. It has been known since the 1930s that restricting calories can extend lifespan in laboratory animals. Michael Ristow's group has provided evidence for the theory that effect of calorie restriction is due to increased formation of free radicals within the mitochondria. It cause a secondary induction of increased antioxidant defense capacity (Schulz et al., 2007).

Reliability theory of ageing and longevity. This is a scientific approach aimed to gain theoretical insights into mechanisms of biological aging and species survival patterns by applying a general theory of systems failure. Reliability theory predicts that even those systems that are entirely composed of non-aging elements (with a constant failure rate) will nevertheless deteriorate (fail more often) with age, if these systems are redundant in irreplaceable elements. Aging, therefore, is a direct consequence of systems redundancy (Gavrilov, Gavrilova, 2006).

### **Ptaszek K.**

#### THE INFLUENCE OF 'SMARTS' (DESIGNER DRUGS) ON ANIMAL BEHAVIOR

*Students' Scientific Circle "Homunculus" affiliated with Department of Animal Physiology*

*University of Gdansk, Kiadki St., 24, 80-822 Gdansk, Poland*

*e-mail: homunculus@biotech.ug.gda.pl*

'Smarts', 'legal/herbal highs', 'boosters' or 'designer drugs' - these names describe synthetic or natural substances which are using to obtain the effects similar to that of illegal drugs of abuse. Label 'smarts' refers

to the whole group of substances producing stimulating, psychedelic or hallucinogenic effects. To the end of 2009 European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction described over 90 chemical compounds found in 'smarts'. However their compositions still change because of anti-drugs bans in many countries.

'Smarts' became popular around the world in the middle of 1980's. In Poland the problem of 'smarts' began in 2008 when in Jydu first 'smartshop' has opened. The number of working 'smartshops' has been dramatically risen during recent years. In February 2009 there were 42 working 'smartshops' in Poland, and in October 2010 their number exceeded 1300. 'Smarts' popularity in Poland describes, for example, the report published by Polish Public Opinion Research Center, which showed that 3.5% of Polish teenagers used 'smarts' at least once during their life. The Polish National Bureau for Drug Prevention defines 'smarts' as one of three most popular drugs of abuse. On the other hand, The Polish Ministry of Health reports that to the end of October 2010 there were 304 hospitalization due to 'smart' poisoning and 18 people died in Poland. The serious risk related to using 'smarts' resulted among others from small number of studies on these substances.

The aim of the study was to examine the effects of one of the most popular 'smart', 'koko cherry', on behavior, sleep latency, anxiety, as well as body mass and food intake in mice. In addition the discriminative stimulus properties of this 'smart' were studied.

Sixteen mice were divided randomly to two groups: (1) experimental mice were injected i.p. with 4.5 mg/kg and 22.5 mg/kg 'koko cherry' dissolved in saline in a volume of 0.1 ml (n=8); (2) control mice were administered i.p. with saline in a volume of 0.1 ml (n=8). In the first experiment mice received 'smart' in a dose of 4.5 mg/kg (or saline in control group) to examine the effects of 'smart' on behavior and sleep latency. There were no differences in behavior and sleep latency between experimental and control mice during the whole 120 min observational period after 'smart' or saline injection. Three days later, in the second experiment mice received 22.5 mg/kg 'koko cherry' or saline. Mice injected with 'smart' showed markedly higher behavioral activity (locomotor activity and cleaning) from 20 min to 40 min after injection ( $p < 0.01$ ; one-way ANOVA) as well as showed longer sleep latency ( $p < 0.01$ ) in comparison to saline treated mice. Three days later, in the third experiment discriminative stimulus properties of 'koko cherry' were tested in the two-bottle choice test. For three days mice were given access to 1% 'koko cherry' solution (first bottle) and water (second bottle). In comparison to water, consumption of 'smart' was significantly lower ( $p < 0.001$ ). Three days later, in the fourth experiment, for two days, ones daily, mice were subjected to elevated plus-maze test to examine the influence of 'smart' on anxiety behavior. In comparison to controls, mice injected with 22.5 mg/kg 'koko cherry' show significantly more entries to the open arm of elevated plus-maze ( $p < 0.05$ ) as well as more often leaned out their head of the closed arm of maze ( $p < 0.01$ ). Furthermore, there were no differences in body weight and food intake between saline and 'koko cherry' treated mice during the whole experimental period.

The obtain results indicate that examined 'smart' 'koko cherry' increases behavioral activity and reduce anxiety of mice. However, these stimulating and anxiolytic properties are limited to higher dose of the 'smart'. On the other hand, 'koko cherry' have no influence on food intake and body weight of mice. Furthermore, the results of two-bottle test revealed that 'koko cherry' may not have additive or rewarding properties. On the contrary, it may have aversive properties.

### **Рассомагіна М. П., Кравченко В. І.**

#### **ВПЛИВ ЕМОЦІЙНОЇ ЗНАЧУЩОСТІ ВЕРБАЛЬНИХ СТИМУЛІВ НА ШВИДКІСТЬ ОБРОБКИ ЇХ ПЕРШОСИГНАЛЬНИХ ПАРАМЕТРІВ**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*кафедра фізіології людини і тварин*

*пр. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, Україна*

*e-mail: masha\_r26@ukr.net*

Однією з важливих проблем сучасної психофізіології є дослідження впливу семантичного значення слова на обробку інформації в головному мозку, оскільки відомо, що паралельно з обробкою

інформації про параметри стимулів в асоціативних зонах відбувається оцінка їх емоційної значущості для людини за участю мигдалини, і у разі її виявлення таким емоційно-значущим подразником надається пріоритет при розподілі ресурсів уваги.

Метою роботи було дослідити особливості обробки вербальних стимулів за умови їх різного емоційного навантаження в ситуації, коли семантичне значення слова є поза фокусом довільної уваги, за допомогою комп'ютерної реалізації методики «емоційний Струп-тест». В першому тесті обстежувани визначали місцезнаходження слова на екрані (субтест 1) та колір (червоний чи зелений) написання вербальних стимулів (субтест 2) з використанням емоційно-нейтральних слів (чашка, ложка, жакет) (T1) - і відповідно реагували правою або лівою рукою. Другий тест проводився аналогічно, з тією лише різницею, що стимулами виступали як нейтральні, так і емоційно забарвлені слова (порно, труна, зрада) (T2). З метою оцінки можливого слідового ефекту впливу емоційно забарвлених стимулів на час обробки інформації про їх колір і просторове розміщення обстежуваних було поділено на 2 групи. Перша група спочатку виконувала завдання з нейтральними словами, потім з емоційно забарвленими. У другій групі завдання поміняли місцями. У дослідженні взяли участь 68 праворуких студентів віком 19-22 років обох статей. У обстежуваних реєстрували латентні періоди (ЛП) сенсомоторних реакцій (середній, для правої, лівої рук, і окремо для різних типів стимулів – нейтральних та емоційно забарвлених). Було виявлено збільшення часу реакції на емоційні стимули (361мс) порівняно з нейтральними (332 мс) в групі, у якій першочергово демонструвався тест з емоційними словами за умови порівняння тестів лише з нейтральними словами (T1) та тестів з емоційними словами (T2). Також в межах цієї групи було досліджено вплив рівня нейротизму обстежуваних на швидкість реакції на стимули. Обстежувані з низьким рівнем нейротизму реагували повільніше (364 мс) на емоційні стимули в тесті з використанням емоційних слів (T2), ніж обстежувані з високим рівнем нейротизму реагували на нейтральні стимули (327 мс), в тесті з використанням лише нейтральних слів (T1). Аналіз статевих відмінностей обробки інформації виявив, що жінки повільніше реагували на емоційно-забарвлені слова (382 мс) ніж чоловіки на емоційно нейтральні стимули (332 мс), що може свідчити про більший вплив емоційної компоненти подразника на його сприйняття у жінок. Подібні залежності простежуються у тестах як на визначення сторони пред'явлення, так і кольору написання стимулів. В групі, у якій тести демонструвались в зворотному напрямку таких зв'язків не було виявлено. Отже спостерігається різне захоплення мимовільної уваги семантичним значенням слів, залежно від валентності вербальних стимулів, порядку пред'явлення тестів, статі та рівня нейротизму.

### **Sorochynska K. I., Borbulyak I. Z.**

#### FUNCTIONAL ACTIVITY OF BONE MARROW PROGENITOR CELLS OF MICE IRRADIATED IN VARIOUS DOSES

*National University of Kyiv-Mohyla Academy  
Skovorody St. 2, Kyiv, 04070, Ukraine  
e-mail: khrystyna.s91@gmail.com*

One of the leading research areas in radiobiology and hematology is the study of hematopoietic stem and progenitor cells under the influence of ionizing radiation. Investigation of this issue is highly actual due to the risk of radiation exposure as a consequence of the Chernobyl accident. The purpose of this study was to assess the functional activity of bone marrow progenitors of CBA mice in cell culture under conditions of recipient mice irradiation in various doses.

Bone marrow was extracted from femoral bones of the untreated mice. Suspension of hematopoietic cells with concentration of  $1 \times 10^5$  in semisolid agar was inserted in diffusion chambers and implanted in the abdomen of recipient mice, which were irradiated one day before experiment in doses of 2.8 Gy; 5.6 Gy; 7.8 Gy and 9.4 Gy. The contents of the chambers were examined under inverted microscope on the 13<sup>th</sup> day of

cultivation. We observed the formation of clusters (under 40 cells) and colonies (more 40 cells) in culture and counted the number of cell aggregates.

Maximal colony-forming efficiency was observed after irradiation of recipient animals at the doses of 7.8 and 9.4 Gy, and was equal to  $54,35 \pm 5,6$  and  $54,45 \pm 4,2$  colonies per  $1 \times 10^5$  explanted cells. That was caused by high production of colony-forming factor and suppression of recipients' immune reactivity. However, at these doses we observed high mortality rate of recipient animals. Thus, exposure in these doses is not advisable. Irradiation dose of 5.6 Gy provided relatively high colony-forming efficiency ( $38,02 \pm 8,74$  colonies per  $1 \times 10^5$  cells) with minimal mortality of recipients (5%). However, after irradiation of mice at the dose of 2.8 Gy colony-forming efficiency was quite low and amounted to  $10,9 \pm 3,2$  colonies per  $1 \times 10^5$  explanted cells and was followed by absence of mortality among irradiated animals.

So, as a result of our investigations, it was found that optimal colony-forming efficiency in the culture of bone marrow progenitor cells of CBA mice was  $38,02 \pm 8,74$  colonies per  $1 \times 10^5$  explanted cells. Besides, it was found that 5.6 Gy was the optimal dose for further evaluation of the functional activity of stem cells in case of irradiation. This investigation can be the basis for further studies of the functional activity of hematopoietic progenitor cells in case of ionizing radiation influence in different doses.

### **Zybur M., Nowacka-Chiari E.**

#### THE DIMENSIONS OF HEALTH IN THE LIGHT OF THE SELF-ASSESSMENT OF THE YOUTH FROM SELECTED REGIONS OF THE LUBUSKIE PROVINCE

*University of Zielona Gora, Faculty of Biological Sciences*

*ul. Prof. Z. Szafrana, 1, 65- 516, Zielona Gora, Poland*

*e- mail: echiasi@wnb.uz.zgora.pl, magda.zybur@wp.pl*

The paper "The dimensions of health in the light of the self-assessment of the youth from selected regions of Lubuskie Province" was prepared - among other sources - on the basis of the analysis of the material rendered from the questionnaire surveys performed in small and slightly larger towns of Lubuskie Province. The research covered students of primary, junior- and senior high schools. The data pertains to the total of 2,422 students, including 983 boys and 1,433 girls. The respondents were asked to assess their own health, life, appearance as well as selected emotional states. The respondents assessed their health in the following scale: very good, good, satisfactory, poor and bad. While evaluating their lives, they might choose among the suggested phrases, i.e. very satisfied, satisfied, completely unsatisfied, I would like to change my life. The appearance was assessed as 'satisfying' or 'unsatisfying'. The evaluation of emotional states included irritability, aggressiveness, exasperation.

The majority of the respondents evaluated their health as good (46.9%) and very good (37.8%) while the fewest marked the poor grade (3.1%) or bad (0.9%). The most frequent negative assessments of health were reported in Iiowa Ćagacska (8.0%) whereas in Krosno Odrzacskie such assessments were the most seldom (3.1%) and near-border Siubice (3.8%). The material shows that 19.3% of the youth is not satisfied with their lives, which was most frequently reported by the respondents from Iiowa Ćagacska and Maiomice (24.3% in each of the towns), and the lowest number of such opinions was reported in Zielona Gyra (16.1%). There is a large fraction of the respondents who are not satisfied with their appearance (40.1%). Most of them come from Sulechuw (46.0%), and the smallest number of such opinions was recorded in Krosno Odrzacskie (33.0%). Among the respondents from Lubuskie Province, there was a significant number of young people who declared irritability (47.9%). Frequent irritability was reported by 26.9% of the respondents whereas merely 11.2% of the surveyed people reported that they are often aggressive. The subject material shows that irritability occurred most often among young people from Iiowa Ćagacska (61.3%) and least frequently among the respondents from Lubsko (39.4%). Exasperation was most often reported by the respondents from Maiomice (36.2%) and least frequently in Krosno Odrzacskie (22.6%). Aggression occurs most often among the youth from Maiomice (32.4%) and most seldom in the youth from Lubsko (5.9%).

The differences between the fractions of the individual features self-assessed by the youth from selected towns of Lubuskie Province may be related to their social and economic variability. And the latter shall be further analyzed.

**Feden'ko Kh., Gospodaryov D.**

**DROSOPHILA AS A SUITABLE MODEL OBJECT FOR NUTRITION RESEARCH**

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University  
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk, 76025 Ukraine  
e-mail: gospodaryov@rambler.ru*

Metabolic disorders, such as obesity and diabetes, seem to be one of the largest problems of contemporary medicine. Quite various causes of these disorders are known today – from impairments in gene expression to crying ignorance regarding nutritional value of foods and diets. Application of mammal models for investigation of different aspects, concerning impact of diet on organism, have a range of limitations, particularly long time of investigation and difficulties with gene manipulation. Today, fruit fly *Drosophila melanogaster* is examined as a good model for studying some aspects of healthy nutrition (Baker and Thummel, 2007; Bharucha, 2009). Fruit fly has a short development, small numbers of genes, and similarity of the main signaling pathways which govern metabolism. Recently, some new methods were developed, making fruit fly especially suitable for nutrition research. Among them capillary feeding assay (Ja et al., 2007), allowing measurement of eaten food amount and subsequent calorie count.

Current work aimed to detect a difference between consumption of fructose and glucose by *Drosophila melanogaster*, and define how concentration of carbohydrate in the diet impacts on fly's appetite. It is known that fructose-containing sweeteners are routinely administered to diabetic patients. At the same time, fructose is considered to be one of metabolic syndrome causes, and is the most distributed sweetener throughout the world. What is the principal difference between fructose- and glucose-containing diets? Is this difference dependent on sugar concentration? How “appetite” depends on sugar and protein concentrations in the diet? Our experiments have been organized to answer this questions using fruit fly model. All analyses were performed using capillary feeding assay. It was shown that flies consume in average about 60 mg of sugar per day. Among nutritious solutions with concentrations 25 mg/ml and 50 mg/ml carbohydrates, fructose solution was the most consumed by flies. However, among solutions with 100 mg/ml carbohydrates flies mostly drank glucose solution. It was proven, that flies drank 3-5-fold and 2-3-fold larger volumes of solutions with 25 mg/ml and 50 mg/ml carbohydrates, respectively, as compared with 100 mg/ml solution. We also compared nutrient consumption between 100 mg/ml sucrose solutions with 10 and 2.5 mg/ml yeast extract referred as a source of protein. It has been shown that flies drank 26% more ( $P < 0.001$ ) of solution with lower yeast extract concentration. However, this overfeeding did not compensate protein deficit: flies, consuming solution with 2.5 mg/ml yeast extract, obtained about 3-fold lower mass of this nutrient.

Thus, it can be concluded that fructose in concentrations lower than 100 mg/ml promotes appetite of the fruit flies, while glucose happens the most consumed carbohydrate at higher concentrations. The flies drink larger volumes of solutions with lower carbohydrate concentration adjusting mass of consumed sugar to about 60 mg per day. Protein concentration also affects appetite: in our case, flies consume approximately quarter more solution with 2.5 mg/ml yeast extract, as compared to one, containing 10 mg/ml this nutrient.

**Головей О., Гололобов Б.,**

**ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ БІОСЕНСОРІВ НА ОСНОВІ ФЕРМЕНТУ UREAZUM**

*Дніпродзержинський державний технічний університет  
вул. Дніпробудівська, м. Дніпродзержинськ, 251918, Україна  
e-mail: lamber@bk.ru*

Останнім часом достатньо велика увага приділяється проблемі використання ферментів у галузі медицини для діагностики і терапевтичного лікування різних захворювань. Ферменти входять до скла-

ду всіх тканин і клітин живих організмів і регулюють хід процесів, що лежать в основі життєдіяльності організмів. Різноманітність цих процесів свідчить про існування великої кількості ферментів. Уреаза – гідролітичний фермент з групи амідаз, виявляє специфічну властивість каталізувати реакцію гідролізу сечовини до вуглекислоти й аміаку, виявлена у клітинах бактерій, дріжджів, у насінні багатьох рослин, а також у безхребетних; в організмі людини і тварин уреазу утворюється бактеріальною флорою.

Використовують капсульовану уреазу для діагностичного визначення сечовини у біологічних рідинах, очищення крові від сечовини та для проведення гемодіалізу в апараті «штучна нирка» (Чуєшов та ін., 1999). Біосенсиори на основі уреазу використовуються для кількісної оцінки загального забруднення води іонами важких металів. Імобілізована форма ферменту застосовується у системі ферментного електроду для аналітичних і діагностичних цілей. Отримана іммобілізована уреазу на полімерному носії (Кульчицький та ін., 1995) може бути використана для кількісного видалення сечовини з біологічних рідин та стічних вод, в яких крім сечовини присутні інші сполуки. Висока стабільність каталітичних властивостей дозволяє використовувати отриману іммобілізовану уреазу при підвищених значеннях температури та рН середовища. Деякі хвороботворні мікроорганізми шлунково-кишкового тракту і сечовивідних шляхів (*Proteus* spp., *Helicobacter pylori*) продукують уреазу, що дозволяє використовувати її для діагностування наявності хвороботворних мікроорганізмів. Вважається (Nednol, 1997), що провідну роль у розвитку і прогресуванні хронічного гастриту відіграє інфекційний агент *Helicobacter pylori*. За результатами багатьох досліджень, частота інфікування *H. pylori* підвищується при низькому соціально-економічному рівні суспільства, великій скупченості людей і поганих санітарних умовах, при недотриманні елементарних норм гігієни. Фактори, що провокують інфекцію, викликану *Proteus* spp., – застій сечі, інструментальні дослідження та операційні втручання, довготривала антибактеріальна терапія, яка створює сприятливі умови для росту *Proteus* spp. у сечових шляхах.

Експрес-методи діагностики на основі уреазу мають високу чутливість і специфічність. Розроблений алгоритм використання швидкого уреазного тесту для діагностики *H. pylori* у різних відділах шлунково-кишкового тракту (Коваленко, 2005). У ряді випадків промислового виробництва лікарських препаратів використання рослинної сировини для отримання ферментів має ряд переваг: заготівля технологічно проста, висушена сировина компактно упаковується і зберігається довготривалий час без спеціального технологічного обладнання. Крім того, для виділення ферментів часто використовують насіння рослин, які багаті на білки, можуть зберігати ферментативну активність протягом декількох років.

Ведуться дослідження щодо розробки і виготовлення біосенсора на основі уреазу, отриманої з насіння столового кавуна (Чуєшов та ін., 1999), визначення активності та оптимальних умов використання у діагностичних цілях.

Отримані дані можуть бути використані при розробці нових експресних модифікацій уреазного тесту для оцінки стану питної води з різних джерел та у діагностичних цілях при дослідженні біологічних рідин. Подальші дослідження оптимальних характеристик біосенсора направлені на підвищення чутливості при збереженні селективності й експресності методик.

### **Іванов О., Журенко О.**

#### **ЗМІНА МОРФОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ У КОРІВ РІЗНИХ ТИПІВ ВНД ПРИБГОДОВУВАННІ ЛЮЦЕРНИ**

*Кафедра фізіології, патофізіології та імунології тварин  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна*

Дослідження морфологічних показників крові у корів різних типів ВНД після згодовування тваринам люцерни показало, що їх рівень вірогідно зменшувався, але перебував у межах величин фізіологічних параметрів. Кількість еритроцитів у крові до згодовування люцерни у тварин сильного врівно-

важеного рухливого типу ВНД становила  $6,81 \pm 0,05 \cdot 10^{12}$  /л. Після згодовування кількість еритроцитів зменшилася на 4,70% і становила  $6,49 \pm 0,08 \cdot 10^{12}$  /л ( $P \leq 0,01$ ). У крові тварин сильного врівноваженого інертного типу ВНД кількість еритроцитів до згодовування становила  $6,73 \pm 0,07 \cdot 10^{12}$  /л. До годівлі тварин люцерною у крові тварин сильного неврівноваженого типу ВНД цей показник становив  $6,63 \pm 0,08 \cdot 10^{12}$  /л. Зазначимо, що кількість еритроцитів до згодовування фітогормонів люцерни у крові особин сильних типів вірогідно відрізнялася від такої в тварин слабого типу ВНД. Найбільшою різниця була між сильним урівноваженим рухливим і слабким типом (на 7,93%,  $P \leq 0,001$ ). Після згодовування люцерни різниця у кількості еритроцитів виявлена між аналогічними групами корів (на 10,17%,  $P \leq 0,001$ ).

Таким чином, найбільша кількість еритроцитів була у крові корів сильного врівноваженого рухливого типу ВНД, а найменша - у слабких корів. На нашу думку, особини сильного врівноваженого рухливого типу володіють інтенсивнішим еритропоезом порівняно з аналогами інших типів ВНД.

За умов згодовування кількість лейкоцитів у крові всіх типів вищої нервової діяльності вірогідно збільшувалась (у межах фізіологічної норми), що є доказом стимулювального впливу на лейкопоез. Це також є показником активації захисних механізмів організму. Проте, найістотніше збільшення кількості лейкоцитів встановлене у корів сильного врівноваженого рухливого типу ВНД. А у корів слабого типу кількість лейкоцитів збільшувалась не так інтенсивно (на 16,23%,  $P \leq 0,001$ ), як у тварин сильних типів ВНД (у СВР – на 29,86%,  $P \leq 0,01$ ). Різниця за кількістю лейкоцитів відзначалася між тваринами з різною силою й урівноваженістю нервових процесів як до, так і після згодовування, що свідчить про взаємозв'язок реакції на введення фітогормонів з цими характеристиками процесів у корі мозку. Найбільше така різниця проявлялася між коровами сильного врівноваженого рухливого та слабого типу ВНД (20,54%,  $P \leq 0,001$ ).

Вміст гемоглобіну в крові тварин сильного врівноваженого типу ВНД становив  $112,88 \pm 1,72$  г/л. Після згодовування фітогормонами люцерни він знизився на 11,63%, ( $P \leq 0,01$ ). У крові тварин сильного врівноваженого інертного типу ВНД цей показник становив  $112,38 \pm 2,04$  г/л. Після згодовування він знижувався на 9,90% і становив  $101,25 \pm 3,40$  г/л ( $P \leq 0,05$ ). Рівень гемоглобіну в крові інтактних корів сильного неврівноваженого типу ВНД досягав  $111,38 \pm 2,90$  г/л. У крові тварин слабого типу ВНД у початковому стані рівень гемоглобіну становив  $109,88 \pm 3,64$  г/л. Після згодовування люцерни у крові тварин цієї групи відзначали, що вміст гемоглобіну знизився на 16,38%, і становив  $91,88 \pm 2,32$  г/л ( $P \leq 0,001$ ).

Таким чином, при згодовуванні тварин фітогормонів люцерни вміст гемоглобіну був найнижчим у корів слабого типу ВНД.

### **Катюшина О., Черетаєв І., Османова С.**

#### **РОЛЬ ДОФАМІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ ЩУРІВ У РЕАЛІЗАЦІЇ ПСИХОТРОПНИХ ЕФЕКТІВ АСПІРИНУ ТА ЙОГО СОЛЕЙ**

*Таврійський національний університет імені В.І. Вернадського  
пр. Акад. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, Україна  
e-mail: katsea87@mail.ru*

На сьогодні відсутня єдина концепція депресивних розладів, що обумовлено різними підходами до цієї проблематики у психіатрії, фізіології, психології та клінічній фармакології. Для лікування депресії застосовується велика кількість антидепресантів і проводиться пошук нових, більш ефективних. Так, вивчаючи ацетилсаліцилову кислоту (Asp) та її солі, ми виявили у них психотропні ефекти, механізм дії котрих не вивчено. У зв'язку з цим метою цієї роботи було вивчення та оцінка змін у проявах психотропних ефектів ацетилсаліцилової кислоти, ацетилсаліцилатів кобальту (АСК) та цинку (АСЦ) у щурів при блокуванні центральних D<sub>2</sub>-рецепторів дофамінергічної системи (Богданова, 2008).

Для цього контрольній групі (n=20) щурів внутрішньочеревно по 0,2 мл вводили фізіологічний розчин, а двом експериментальним – ацетилсаліцилати у дозі 40 мг/кг (n=20), одній з котрих робили

одноразово ін'єкцію дофамінблокатору галоперидолу упродовж 3 днів у дозі 2,5 мг/кг, щоб знизити активність дофамінергічної системи (Талалаєнко, 1991). Психоемоційний стан тварин оцінювалось за допомогою тестів «відкрите поле», «темно-світла камера», «підвішування за хвіст», тест Порсолта. У тесті відкритого поля Asp зменшував дослідницьку активність (ДА) щурів на 58% ( $p < 0,01$ ), тоді як його солі навпаки її збільшували: АСК на 30% і АСЦ на 81% при  $p < 0,01$ . Ці дані характеризують Asp, як анксиоген, а ацетилсаліцилат цинцу та кобальту як анксиолітики. При блокуванні дофамінергічної системи ДА пригнічувалась у порівнянні як з контролем, так і з групою без дії галоперидолу. Виходячи з цього видно, що психотропні властивості аспірину і його солей зумовлені впливом на дофамінергічну систему мозку тварин, тому що при блокуванні галоперидолом Д2-рецепторів ацетилсаліцилати припиняють спричиняти психотропну дію. Поряд із цим виявлено пригнічення локомоторної активності та емоційності, але ці дані вказують лише на нейролептичну дію самого галоперидолу.

У тест темно-світла камера для ацетилсаліцилатів не відзначено достовірних змін поведінкових показників. Проте при блокуванні Д2-рецепторів спостерігалось зменшення кількості і часу визирань, що спричиняє нейролептична дія самого галоперидолу. У тесті Порсолта ацетилсаліцилати спричиняли збільшення часу активного плавання у порівнянні з контролем: Asp на 18% ( $p < 0,01$ ), АСЦ на 34% ( $p < 0,05$ ) і АСК на 13% ( $p < 0,01$ ), що свідчить про наявність у них антидепресантних властивостей. Однак при блокуванні Д2-рецепторів у Asp, АСК і АСЦ не відзначено достовірних змін часу активного плавання, тобто у цих речовин не виявлена антидепресантна дія. Цей факт свідчить про те, що антидепресантні властивості аспірину та його солей залежить від дофамінергічної системи.

Таким чином, психотропна дія Asp, АСК і АСЦ може реалізуватися через дофамінергічну систему мозку досліджуваних тварин, оскільки залежить від її функціонального стану.

### **Манько Б. О., Гренюх В. П., Манько В. В.**

#### **ВПЛИВ СКЛАДУ СЕРЕДОВИЩА ІНКУБАЦІЇ НА МІТОХОНДРІАЛЬНЕ ДИХАННЯ *IN SITU* АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: mankobo@gmail.com*

Клітинне дихання є інтегральним показником, за інтенсивністю якого оцінюють процеси мітохондріального окислення, а отже, і функціональний стан цілої клітини. Значного поширення набув метод дослідження кінетики поглинання кисню ізольованими мітохондріями, розроблений Чансом та Вільямсом (Chance, Williams, 1955), який, однак, має свої недоліки. Зокрема, мітохондрії *in vivo* перебувають у складних структурно-функціональних зв'язках з іншими клітинними органелами (Dolman et al, 2005; Rizzuto, Pozzan, 2006), що втрачається після виділення ізольованих мітохондрій. Метою нашої роботи було адаптувати метод дослідження мітохондріального окислення *in situ* для ацинарних клітин підшлункової залози.

Дослідження проводили на ізольованих ацинусах підшлункової залози статевозрілих нелінійних щурів-самців масою 200 – 250 г. Ацинуси ізолювали за методом Вільямса (Williams, 1978) з використанням колагенази у базовому позаклітинному середовищі, що містило, ммоль/л: NaCl – 140,0, KCl – 4,7, CaCl<sub>2</sub> – 1,3, MgCl<sub>2</sub> – 1,0, HEPES – 10,0, глюкоза – 5,0; соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл; сироватковий альбумін – 2,5 мг/мл; рН 7,4. Кількість клітин, що не зафарбовувались 0,1% розчином трипанового синього становила не менше 90%. Для забезпечення проникності субстратів окислення і АДФ панкреатици пермеабілізували дигітоніном (25 мкг/мл). Швидкість поглинання O<sub>2</sub> ізольованими ацинусами визначали полярографічним методом при 37°C. Як субстрати окислення використовували піруват, глутамат, малат і сукцинат (5 ммоль/л). Для стимуляції окисного фосфорилування додавали АДФ (0,75 ммоль/л). Базове внутрішньоклітинне середовище інкубації містило, ммоль/л: KCl – 127,0,



NaCl – 20,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2,0,  $\text{MgCl}_2$  – 1,0, NEPES – 10,0, глюкоза – 5,0; соєвий інгібітор трипсину – 0,1 мг/мл; рН 7,2.

За інкубації у базовому внутрішньоклітинному середовищі швидкість дихання становила  $0,54 \pm 0,05$  нг-ат. О / (с Ч млн клітин). Додавання дигітоніну статистично вірогідно знижувало швидкість дихання на 36,96% ( $P \leq 0,05$ ,  $n = 5$ ), що свідчить про вихід ендogenous субстратів окислення із клітини в процесі пермеабілізації. У цьому випадку ми спостерігали поступове зниження швидкості дихання, яка стабілізувалась приблизно через 5 хв після додавання дигітоніну. У подальшому дихання клітин стимулювалось сукцинатом (ФАД-залежний субстрат) на 102,85%, ( $P \leq 0,01$ ,  $n = 5$ ) або сумішшю пірватату, глутамату і малату (НАД-залежні субстрати) на 51,80% ( $P \leq 0,05$ ,  $n = 5$ ). Подальше додавання АДФ короткочасно інтенсифікувало дихання. Так, внаслідок стимуляції окисного фосфорилування за окислення сукцинату швидкість дихання зростала на 91,11% ( $P \leq 0,01$ ,  $n = 5$ ), а за окислення суміші – на 117,39% ( $P \leq 0,001$ ,  $n = 5$ ). Після фосфорилування АДФ швидкість дихання зменшувалась до попередніх значень. Вилучення із середовища фосфату чи глюкози, підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  до 1,3 ммоль/л, і навіть використання базового позаклітинного середовища статистично вірогідно не впливало на показники дихання. Проте, за умови використання середовища із низькою (фізіологічною) концентрацією  $\text{Ca}^{2+}$  (100 нмоль/л: 1 ммоль/л ЕГТА + 0,55 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ ) екзогенний АДФ не стимулював дихання ні за окислення сукцинату, ні за окислення суміші пірватату, глутамату і малату.

Отже, при дослідженні мітохондріального дихання ацинарних панкреатитів *in situ* мітохондрії зберігають високу функціональну активність. Використання ЕГТА для зниження  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  до її фізіологічних значень повністю блокує АДФ-стимульоване дихання. Для з'ясування механізму такого впливу ЕГТА потрібні подальші дослідження.

Автори висловлюють щире подяку доцентів кафедри анатомії і фізіології Львівського державного університету фізичної культури, кандидатів біологічних наук М.Я.Гриньків за надану методичну допомогу.

### **<sup>1</sup>Новохацька Т., <sup>1</sup>Іванова І., <sup>1</sup>Тишкін С., <sup>2</sup>Досенко В., <sup>1</sup>Соловійов А.**

#### **РНК-ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ Д-ІЗОФОРМИ ПРОТЕЇНКІНАЗИ С ВІДНОВЛЮЄ АКТИВНІСТЬ $\text{VK}_{\text{Ca}}$ КАНАЛІВ, ЕНДОТЕЛІЙ-ЗАЛЕЖНЕ РОЗСЛАБЛЕННЯ ТА НОРМАЛІЗУЄ АРТЕРІАЛЬНИЙ ТИСК У ЩУРІВ З ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ**

<sup>1</sup>Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Е.Потьє, 14, м. Київ

<sup>2</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, м. Київ

e-mail: chocolatekma@mail.ru

Відомо, що родина протеїнказ С (ПКС) відіграє важливу роль у розвитку гіпертонії, серцевої гіпертрофії та серцевої недостатності (Soloviev, Bershtein, 1992, Jalili et al., 1999, Wang et al., 2003). Тонус гладеньких м'язів (ГМ) судин тісно пов'язаний із мембранним потенціалом, який значною мірою визначається активністю  $\text{K}^+$  каналів. Провідність калію змінюється як при індукованій опроміненням (Soloviev et al., 2009), так і при генетично детермінованій гіпертензії (Cox et al., 2001). Отже, високий рівень активності ПКС є спільною відмінною рисою гіпертензивних станів.

Метою цього дослідження було визначити доцільність фармакологічного впливу на д-ізоформу ПКС для корекції судинної дисфункції при артеріальній гіпертензії.

Було виміряно рівень експресії гену д-ізоформи ПКС у грудній аорті щурів із генетично детермінованою гіпертонією (ГДГ) та щурів з ГДГ після введення малих інтерферуючих РНК до д-ізоформи ПКС. За допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі було показано, що рівень експресії д-ізоформи ПКС був вищим у 6 разів у клітинах ГМ щурів з ГДГ та достовірно вищим, ніж у щурів з ГДГ після введення малих інтерферуючих РНК до д-ізоформи ПКС (контроль,  $11,8 \pm 1,7$ ,  $n=6$ ; щурі з ГДГ,  $43,6 \pm 6,3$ ,  $n=6$ ; щурі з ГДГ після введення малих інтерферуючих РНК до д-ізоформи ПКС,

33,7±1,3, n=6; p<0,05). Компонент вихідного струму  $VK_{Ca}$  каналів суттєво зменшився з  $48 \pm 5$  pA/pF у контрольних щурів до  $25 \pm 2$  pA/pF у щурів з ГДГ, тоді як у щурів з ГДГ після введення малих інтерферуючих РНК до д-ізоформи ПКС він становив  $35 \pm 3$  pA/pF, P<0,05, n=18. Окрім того застосування РНК інтерференції д-ізоформи ПКС призвело до збільшення рівня розслаблення на Ach та активності  $VK_{Ca}$  каналів та привело до нормалізації артеріального тиску у щурів з ГДГ.

Отримані дані демонструють, що застосування РНК інтерференції д-ізоформи ПКС відновлює ендотелій-залежне розслаблення та функцію  $VK_{Ca}$  каналів у гладеньком'язових клітинах судин щурів з ГДГ. Отже, РНК інтерференція може бути вдалим методом для «нокдауну генів» ПКС та нормалізування вазодилататорного потенціалу у щурів з ГДГ.

### **Пустошило Д.**

#### **ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ДО НАВЧАЛЬНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ**

*Кафедра фізіології людини і тварин*

*Донецький національний університет, біологічний факультет*

*вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050, Україна*

Комплекс чинників, що забезпечують успішність адаптації до зовнішніх впливів, включає особливості середовища й індивідуальні характеристики організму (Ільїн Е.П., 2004). Процес навчання у ВНЗ – специфічний вид діяльності, пов'язаний з високим рівнем психічних навантажень, дефіцитом часу, необхідністю інтенсивно освоювати великий обсяг інформації, підвищеними вимогами до вирішення проблемних ситуацій, суворим контролем і регламентацією режиму дня. Серед основних чинників, що визначають успішність пристосування до цього вигляду діяльності, можна назвати розумову працездатність (РП) (Донська Л.В., 1980; Ільїн Є.П., 2004). Інтерес до динаміки цієї характеристики останнім часом зростає, що зумовлено ущільненням інформаційного потоку, підвищенням вимог до людей розумової праці – з одного боку, і погіршенням екологічної обстановки, зниженням інтелектуальної активності студентів – з іншого (Донська Л.В., 1980).

Таким чином, метою дослідження було вивчення динаміки зв'язків між РП і її нейродинамічними корелятами впродовж учбового дня у 20-25-річних студентів біологів (n = 18). Як психодинамічні показники РП використовували обсяг слухової пам'яті при безпосередньому (БЗ) і опосередкованому (ОЗ) запам'ятовуванні, а також перемикання уваги (ПУ) (Комарова Т.К., 2002). Суб'єктивну оцінку ФС визначали по методикою «Самопочуття-Активність-Настрій». Властивості ВНД вивчали за стандартними психофізіологічними методиками: рівень фонові активності і швидкість активації нервової системи – за швидкістю оптимального і максимального тепінгу; інертність збудження і гальмування та їх співвідношення – за кінематометричною методикою (Ільїн Є.П., 2004).

Аналіз отриманих даних показав різноспрямовану динаміку зв'язків між компонентами функціональної системи, що забезпечує підтримку РП. Так, на першій парі функціональна система, що забезпечує розумову діяльність, не сформована: показники РП не утворюють зв'язків ані з показниками ФС, ані з властивостями ВНД, ані між собою. На другій парі спостерігається інтеграція між БЗ і ПУ ( $r=-0,50$ ). Рівень фонові активності знижується ( $p=0,05$ ) і спричиняє негативний вплив на БЗ ( $r=-0,52$ ). Психічна активність прискорює виконання проби на ПУ ( $r=-0,50$ ), що сприяє його поліпшенню. На третій парі продовжується поліпшення ПУ. Психічна активність, настрої і самопочуття теж підвищуються, їх вплив на ПВ стає позитивним ( $r=-0,48$ ), а на ОЗ – негативним ( $r=-0,51$ ). Через зниження фонові рівня активності зростає роль інтенсивності збудження в забезпеченні БЗ, що знижуються, і ОЗ ( $r=0,63$ ). На четвертій парі підвищується успішність ОЗ і ПУ ( $p<0,001$ ), між ними з'являється зв'язок ( $r=-0,48$ ). ОЗ в цей час пов'язано лише з ПУ, а ПУ – з настроєм ( $r=-0,49$ ). Вирішальної ролі в забезпеченні БЗ набуває інертність гальмування ( $r=-0,50$ ).

Таким чином, показники ефективності опосередкованого запам'ятовування і перемикання уваги наприкінці учбового дня покращуються і формують комплекс з суб'єктивними показниками функціо-

нального стану (самопочуттям, активністю, настроєм). Із трьох показників успішності адаптації до учбової діяльності найбільша динаміка під час стомлення характерна для ефективності безпосереднього запам'ятовування. Це пов'язано із зниженням фонові активності й інтенсивності збудження, а також з посиленням впливу процесів гальмування.

### **Щербина А., Журенко О.**

#### **ЗМІНА КЛІНІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЧЕРЕЗ 12 ГОДИН ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ СУСПЕНЗІЇ ІЗ СЕТАРІЙ**

*Кафедра фізіології, патофізіології та імунології тварин  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна*

Останнім часом проблема захворювання тварин на сетаріоз у нашій країні набуває значного поширення. У великої рогатої худоби ця хвороба призводить до зниження продуктивності, а інколи й до загибелі тварин. Сетаріоз, як і інші гельмінтози, негативно впливає на організм тварин і призводить до розвитку функціональних та структурних порушень на клітинному рівні, на рівні органів, тканин, цілого організму. Вивченню токсинів у гельмінтів присвячена значна кількість робіт, серед них є дослідження з суперечливими результатами. Доведено, що для організму господаря велике значення у виникненні патології мають продукти обміну паразитів та їх секрети.

Для проведення досліджень були сформовані дослідні групи із лабораторних тварин: морські свинки масою 250-300 г, кролі – 2-2,5 кг, шурі – 200-250 г, по 36 тварин у кожній. Тварин утримували при температурі 18°C в умовах віварію кафедри фізіології, патофізіології та імунології тварин. Приготовану суспензію вводили лабораторним тваринам дослідної групи внутрішньом'язово з розрахунку 100 мг білка на 1 кг маси тіла.

Через кожних 1, 12, 24 години у тварин відбирали проби крові. Протягом доби проводили також спостереження за станом тварин. Найбільш характерні зміни клінічних, морфологічних та біохімічних показників були виявлені у тварин всіх видів через 12 годин після введення суспензії.

Нами було встановлено, що у морських свинок у відповідь на введення суспензії сетарій найяскравіше проявлялись реакції імунологічного характеру.

Через 12 годин після введення суспензії самок сетарії у морських свинок дослідної групи температура тіла становила  $41,1 \pm 0,050^\circ\text{C}$ , що достовірно вище на 9,4% порівняно з контрольними  $37,2 \pm 0,027^\circ\text{C}$ . Крім того, відмічали достовірне прискорення частоти дихання на 34,7% при ( $P < 0,001$ ) порівняно з тваринами контрольної групи.

Частота серцевих скорочень становила  $612,1 \pm 0,345$  раз./хв., що достовірно вище на 50,5% порівняно з контролем ( $302,5 \pm 0,561$ ).

У кролів через 12 годин відмічали достовірне підвищення температури тіла та частоти дихання відповідно на 7,1% та 34,4% порівняно з тваринами контрольної групи. Частота серцевих скорочень була достовірно більша на 17,8% ніж у тварин контрольної групи. Крім того, у кролів спостерігали загальну підвищену збудливість та чутливість шкіри. Згодом збудження змінювалось пригніченням, тварини ставали сонливими, малорухливими.

У лабораторних шурів дослідної групи в період спостережень температура тіла була достовірно вища на 9%, а частота дихання та частота серцевих скорочень відповідно на 37,6% і 13,5% порівняно з показниками тварин контрольної групи.

Отже, через 12 годин після введення суспензії із сетарій у всіх видів дослідних тварин виникали порушення фізіологічного стану, які характеризувалися підвищенням температури тіла, збільшенням частоти серцевих скорочень. За цих умов дихання ставало важким, стенотичним, яке, очевидно, обумовлювалось дією компонентів досліджуваної суспензії на активність тонуусу гладеньких м'язів бронхів.

**Сорокіна Д., Морозова Н.**  
**ВПЛИВ ТЕСТОСТЕРОНУ НА ПРОЯВЛЕННЯ ЕФЕКТІВ ДЕКСАМЕТАЗОНУ**  
**НА ПАРАМЕТРИ М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ У БІЛИХ ЩУРІВ**

*Донецький національний університет*  
*вул. Університетська, 24, м. Донецьк, 83001, Україна*  
*e-mail: w.e.l.l@mail.ru*

Відомо, що андрогенні стероїди здійснюють виражений анаболічний вплив на більшість органів організму як у нормальних фізіологічних умовах, так і при різних патологічних станах, що супроводжуються посиленням катаболізму білків (Теппермен Дж. і співав., 1989). Деякі автори (Дегтярь В.І і співав., 2004, Сеєне і співав., 1999) висловлюють припущення щодо здатності стероїдних анаболіків сповільнювати катаболізм білків у тканинах, індукований надлишком інших гормонів (наприклад, глюкокортикоїдів) або певними порушеннями обміну речовин. Разом із тим, літературні дані щодо ефективності андрогенів у динаміці розвитку стероїдної міопатії досить суперечливі. У зв'язку з цим метою даної роботи стало дослідження динаміки функціональних змін у передньому великогомілковому м'язі білих щурів при тривалому введенні терапевтичних доз дексаметазону (0,25 мг/кг, внутрішньочеревно, 1 раз у 2 доби, протягом 10 – 60 днів), у поєднанні із хронічним введенням тестостерон-пропіонату (0,6 мг/кг, підшкірно, 1 раз в 2 доби, протягом 10–60 днів).

В експериментах на 130 молодих (3–4-місячних) білих щурах в умовах *in situ* досліджували деякі параметри функціонального стану переднього великогомілкового м'яза при викликаному його скороченні, яке індукували шляхом подразнення електричним струмом малогомілкового нерва (напряга струму – 200 мВ, тривалість імпульсів – 0,5 мс, частота електричної стимуляції нерва варіювала в діапазоні від 8 до 100 Гц, а зовнішнє навантаження становило 20 г).

Аналіз отриманих даних показав таке. Комплексне застосування дексаметазону й тестостерону запобігло зниженню маси м'яза, викликаного введенням дексаметазону, і навіть обумовило деяке її збільшення після 20–30 ін'єкцій комбінації стероїдних гормонів. Тестостерон, застосований разом із дексаметазоном, обумовив більш тривале збереження полегшення синаптичної передачі (після 5–15 ін'єкцій стероїдних гормонів), в порівнянні з ізольованим застосуванням дексаметазону (тільки після 5 його ін'єкцій), запобіг зниженню швидкості нервово-м'язової передачі (яке мало місце після 15–25 ін'єкцій дексаметазону) і зменшенню її надійності (яке було характерне після 10–30 ін'єкцій дексаметазону).

Комплексне застосування тестостерону й дексаметазону запобігло зниженню максимально досяжної амплітуди скорочення м'яза, що спостерігалось після 5–25 ін'єкцій дексаметазону у разі ізольованого його застосування. Зміна швидкісних характеристик переднього великогомілкового м'яза в міру збільшення кількості введених ін'єкцій дексаметазону в комбінації з тестостероном мала фазний характер. Так, на початкових етапах введення гормональної пари (після 5–10 ін'єкцій) анаболічний стероїд обумовлював прискорення одиночного скорочення, збільшення частоти тетанізації м'яза й укорочення періоду впрацювання, що свідчить на користь можливого збільшення питомої частки швидких м'язових волокон у м'язі. Разом із тим, при подальшому введенні тестостерону з дексаметазоном (після 15–25 ін'єкцій) спостерігалось вкорочення в порівнянні з контролем періоду впрацювання м'яза, зменшення частоти його тетанізації й подовження фаз одиночного скорочення, що свідчить на користь збільшення питомої частки працюючих повільних волокон м'яза при викликаному його скороченні. Після 30 ін'єкцій комбінації стероїдних гормонів спостерігалась нормалізація швидкісних характеристик переднього великогомілкового м'яза.

Однак, тестостерон не забезпечив згладжування негативного впливу дексаметазону на енергетичне забезпечення скорочувального акту, а отже, на стійкість м'яза до розвитку стомлення, що проявлялося в подовженні фази розслаблення наприкінці періоду 7-секундної ритмічної роботи м'яза, не характерному для м'яза інтактних щурів, і вкороченні періоду максимальної стійкої працездатності м'яза.

**Суханова К., Гудіна С., Шабельнік О.**

**ВПЛИВ ПОМІРНИХ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ, ЩО МОДЕЛЮВАЛИСЯ ШЛЯХОМ  
ПРИМУСОВОГО ПЛАВАННЯ, НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЛОКОМОТОРНОГО  
СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА БЛИХ ЩУРІВ**

*Донецький національний університет*

*вул. Університетська, 24, м. Донецьк, 83001, Україна*

*e-mail: Gudina.svetik@mail.ru*

Функціональний і метаболічний профіль скелетних м'язів багато в чому обумовлює можливість їхньої участі в розвитку адаптації організму до різних видів рухової активності. Разом із тим, у літературі існує думка (Сеєне, 1990), згідно з якою гістологічні й метаболічні характеристики м'яза є досить лабільними й можуть зазнавати певних змін при дії різних фізичних навантажень, у результаті чого функціональні особливості м'яза протягом життєдіяльності організму можуть змінюватися. Проте, характер функціональних змін у скелетних м'язах різного типу при дії різних фізичних навантажень має свої особливості й може змінюватися в динаміці періоду їх дії на організм внаслідок розвитку певних адаптаційних процесів у скелетних м'язах. Метою даної роботи було дослідження характеру функціональних змін у м'язі змішаного типу (передньому великогомілковому м'язі щурів) протягом 2-х місячного періоду дії на організм помірних фізичних навантажень. Експерименти проводилися на 70 молодих (2-4 місячних) щурах-самках, розділених на 2 групи: контрольну (n=10) і дослідну (n=60), тварини якої піддавалися 10–60-денному примусовому плаванню зростаючої тривалості (від 5 хвилин спочатку плавального періоду до 35-40 хвилин наприкінці двомісячного періоду плавання) при температурі комфорту (32-34°C). На наркотизованих тваринах (тіопентал натрію, 100 мг/кг) в умовах *in situ* досліджували деякі параметри функціонального стану переднього великогомілкового м'яза при викликаному його скороченні, яке індукували шляхом подразнення електричним струмом малогомілкового нерва (напруга струму – 200 мВ, тривалість імпульсів – 0,5 мс, частота електричної стимуляції нерва варіювала в діапазоні від 8 до 100 Гц, а зовнішнє навантаження становило 20 г).

Аналіз отриманих даних показав наступне. Щоденне короткочасне плавання щурів зростаючої тривалості (від 5 до 35 хвилин) протягом 10–60 днів не викликало первинного зниження маси їх тіла, не здійснювало вплив на приріст цієї маси за двомісячний період, не супроводжувалося первинною гіпертрофією та подальшою атрофією кори надниркових залоз й щитоподібної залози, не впливало на масу серця, печінки й нирок, але приводило до деякого збільшення ваги переднього великогомілкового м'яза наприкінці двомісячного періоду плавання щодо контролю. Усе це свідчить на користь помірності модельованих нами фізичних навантажень, що обумовлюють можливість повної адаптації організму до них, не здійснюють катаболічної дії на організм у цілому й на скелетні м'язи зокрема.

Помірне фізичне навантаження, застосовуване протягом 10–60 днів, не вплинуло на тривалість латентного періоду збудження переднього великогомілкового м'яза й надійність синаптичної передачі. Разом із тим, після 10 днів плавання у тварин уже спостерігалися ознаки, що побічно свідчать на користь можливого збільшення питомої частки швидких м'язових волокон у передньому великогомілковому м'язі: вкорочення латентного періоду скорочення, збільшення максимально досяжної амплітуди скорочення на тлі відсутності змін м'язової маси, подовження періоду впрацювання, вкорочення періоду максимальної стійкої працездатності м'яза й збільшення частоти його тетанізації, а після 20-30 днів плавання мало місце й зменшення тривалості фаз вкорочення, плато й розслаблення. Наприкінці 60-денного періоду плавання швидкісні характеристики переднього великогомілкового м'яза нормалізувалися, тоді як максимально досяжна амплітуда скорочення м'яза залишалася збільшеною щодо контролю, що може бути викликане розвитком деякої гіпертрофії м'яза за цього експериментального терміну.

**Тарабріна Н. Ю.****ПРО ВЗАСМОЗВ'ЯЗОК МІОРЕЛАКСАЦІЇ З РІВНЕМ АЕРОБНОЇ ПРАЦЕЗДАТНОСТІ  
СПОРТСМЕНІВ ПРИ ВЕСТИБУЛЯРНОМУ НАВАНТАЖЕННІ**

*Таврійський національний університет імені В.І.Вернадського  
пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, АР Крим, 95000, Україна  
e-mail: tarabrina08@mail.ru*

Підвищення фізичної працездатності в умовах спортивної діяльності, пов'язаної з інтенсивним навантаженням на аналізатори, є актуальною проблемою сучасної спортивної фізіології, медицини та реабілітації. У єдиноборствах множинні комбіновані вестибулярні навантаження (ВН) викликають перезбудження аферентних систем вестибулярного аналізатора, що приводить до порушень патерну вестибуло-вісцеральних реакцій. Виявлена залежність між фізичною працездатністю і тонусом паравертебральних утворів (Височин, 1997), а також особливості вестибуло-вісцеральних реакцій у зв'язку з функціональним станом рухової системи при ВН (Сишко, 2005). На сучасному етапі, серед методів, здатних підвищувати рівень спеціальної витривалості, перевага віддається немедикаментозним діям, заснованим на міо-соматичних і міо-вісцеральних рефлексах. Проте ці методи не увійшли у практику тренувань висококваліфікованих борців. Логічно передбачити, що корекція міотонуса рефлексогенних зон С<sub>3</sub>-Th<sub>8</sub> мінімізує вплив ВН на рівень фізичної працездатності спортсменів.

З метою вивчення впливу тону м'язів сегментів С<sub>3</sub>-Th<sub>8</sub> на рівень фізичної працездатності при ВН проведено дві серії обстежень 36 єдиноборців. Порівнювали робочий приріст показників потужності при проведенні тесту РWC<sub>170</sub> після ВН (серія-1) і після комплексу ВН + активна міорелаксація (АМ) за методом Н. Ю. Тарабріної (Заявка на винахід № 34203 от 05.05.2010. «Засіб підвищення координаційних здібностей у спортсменів (в умовах вестибулярних навантажень») у серії- 2 обстежень.

Показано, що в серії-1 за інтактного вихідного міотонусу (МТ) в точці С<sub>1</sub>- Th<sub>7</sub> 58,3 ± 2,3 од. ВН істотно знижувала потужність на 22,1 кгм / хв (p<0,05). Така динаміка свідчить про зниження ефективності і економності роботи міокарда, що не може розцінюватися як високоефективна адаптивна відповідь організму. У серії-2 обстежень передстартова активна тракція м'язів плечового поясу понизила МТ на 12,6% (p < 0,05), що спричинило збільшення працездатності на 26,5 кгм / хв (p<0,05) після комплексу (ВН+АМ).

Відомо, що РWC<sub>170</sub> - це «робота» міокарда серця при ЧСС = 170 уд. / хв ЧСС формується зв'язаним тонусом симпатичної і парасимпатичної вегетативної нервової системи (ВНС). Тонус симпатичної системи визначає стан шийно-грудного відділу ВНС, який у борців ненормальний, у зв'язку із специфікою тренувальної і змагальної діяльності. У борців відбувається механічне розтягнення МТ плечового поясу, що супроводжується порушенням трофіки (дистрофії, ферментопатії, гіпоксії), місцевим ацидозом, а також порушенням міо-вегето-вісцеральних рефлексів. Активна тракція нормалізує МТ, тим самим мінімізує фізіологічну надлишкову симпатикотонію.

Вестибулярні навантаження призводять до зниження ефективності і економності серцево-судинної системи. Виконання комплексу тракційних вправ, що призводять до зниження тону м'язів в зоні С<sub>3</sub>- Th<sub>8</sub>, істотно знижує негативну дію вестибулярних навантажень на рівень фізичної працездатності спортсменів.

**Єфремова В. А., Варенюк І. М., Макаренко О. М.****ОСОБЛИВОСТІ ПОЯВИ ДЕСТРУКТИВНИХ ЗМІН У КЛІТИННИХ УТВОРЕННЯХ  
ЦЕРЕБРОКОРТЕКСУ ССАВЦІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГОСТРОГО  
АУТОГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ**

*Кафедра цитології, гістології та біології розвитку  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
пр. Глушкова, 2, м. Київ, Україна  
e-mail: 5\_verochka@mail.ru*

Гострий інсульт вважається однією з основних причин смертності населення не лише високо-розвинених європейських країн. Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), ін-

сульт за цим показником посідає третє місце, поступаючись лише кардіоваскулярним та онкологічним захворюванням. При геморагічному інсульті (ГІ) виникають порушення та наслідки, що є надзвичайно тяжкими. Про це свідчить, наприклад, висока смертність (у 50-60% хворих із ГІ) та розвиток повторного інсульту (у 20% хворих) протягом першого півріччя після розвитку ГІ (Виленьський Б.С., 2002; Данацко В.В., 2003).

Результати попередніх досліджень свідчать, що при моделюванні гострого ГІ спостерігається розвиток нейроморфологічних порушень: поява перицелюлярних та периваскулярних набряків; зморщування окремих груп нейронів із одночасною гіпертрофією інших; варикозних розширень; валлерівської дегенерації (різний ступінь деструкції мієліну в оболонках нервів) (Савосько С.І. та співавт., 2010).

Метою нашого дослідження стало вивчення особливостей розвитку дегенеративно-деструктивних змін у цереброкортексі головного мозку статевозрілих кішок при експериментальному відтворенні гострого аутогеморагічного інсульту.

Досліди проведені на 20 статевозрілих кішках (11 самцях і 9 самках) масою 1,85-3,2 кг, у яких в умовах тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг/кг, внутрішньоочеревинно) моделювали гострий ГІ із використанням стереотоксичного методу (Косіцин М.С. і співавт., 2002). Фронтальні зрізи сенсо-моторної ділянки кори великих півкуль головного мозку тварин фарбували гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім або парарозаніліном і вивчали у світлооптичному мікроскопі Zeiss PrimoStar (Німеччина). Морфометричну оцінку даних здійснювали з використанням цифрової камери Tucsen TCA 5.0 при загальному збільшенні 400х. Статобробку отриманих даних проводили із використанням паке-ту програми Statistika.

Отримані результати нервової тканини при гострому ГІ свідчать про розвиток різких змін у нейронах, та у гліальних клітинах, що можуть набувати дистрофічного характеру. Спостерігається зростання осміофілії структур цитоплазми та ядра, гіпертрофія пірамідних нейронів третього ( $S_{кл} = 64.977,0$  мкм) та п'ятого ( $S_{кл} = 132.3020$  мкм) шарів цереброкортексу. Було встановлено, що характерним проявом деструктивних змін нервової тканини при відтворенні гострого ГІ слід вважати розвиток сателітозу. Це проявляється у збільшенні нейрогліального індексу (НГІ) до 1.1 у третьому та 1.75 у п'ятому шарі цереброкортексу на 10-й день моделювання цереброваскулярної патології. Одночасно з цим зростає і кількість астроцитів, які контактують із капілярами, відзначається гіпертрофія, зокрема, ядер і відростків цих клітин.

Таким чином, при моделювання ГІ у кішок було встановлено, що на фоні різних метаболічних порушень спостерігається розвиток суттєвих патоморфологічних змін у нервовій тканині внаслідок формування гематоми. При цьому відмічається розвиток численних набряків, явища сателітозу, апоптозу і некрозу нейронів, що супроводжується різноманітними функціональними порушеннями системної діяльності мозку. Необхідно підкреслити, що при ГІ порушення візуалізуються як у нейронах і гліюцитах, так і в системі нейрон-гліальних взаємовідносин. Подальше і поглиблене вивчення цього аспекту проблеми матиме значення і для розробки засобів ефективного лікування гострого періоду захворювання, постінсультних ускладнень та наслідків гострої недостатності мозкового кровообігу.

### **Черетаєв І., Катюшина О.**

#### **ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ ТА АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТ І ЇХНІХ СОЛЕЙ НА ЧАС СИНАПТИЧНОЇ ЗАТРИМКИ В ПІДГЛОТКОВИХ ГАНГЛІЯХ ВІНОГРАДНОГО СЛИМАКА *HELIX ALBESCENS* ROSSM**

*Таврійський національний університет імені В.І. Вернадського  
пр. Акад. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, Україна  
e-mail: 5612178@ukr.net*

З'ясування особливостей дії різних фармакологічних речовин на нервову систему є актуальним завданням сучасної нейрофізіології. У попередніх дослідженнях нами показано, що саліцилова (СаК)

й ацетилсаліцилова кислоти (АК) та їх солі – саліцилати кобальту (СК) й цинку (СЦ) та ацетилсаліцилати кобальту (АСК) й цинку (АСЦ) мають нейротропну дію на електричні потенціали соматичних нервових клітин (Коренюк, 2005; Коренюк та ін., 2010). Але досі невідомо, як діють ці сполуки на час синаптичної передачі сигналів між нейронами.

Дослідження проводили на нейронах ППа2 та неідентифікованих нейронах вісцерального ганглію (ВГ). Підглоткове нервово-кільце виноградного слимака (*Helix albescens* Rossm) відокремлювали від тіла, фіксували в експериментальній камері, видаляли його зовнішні оболонки. Внутрішньоклітинне відведення потенціалів здійснювали за стандартною методикою (Коренюк, 2005). Прямокутними деполяризуючими імпульсами електричного струму, що мав надпорогове значення (частота 1 с<sup>-1</sup>, струм від 0.5 до 3.0 нА), проводили внутрішньоклітинне подразнення пресинаптичних нейронів. Аналізували тривалість від початку подразнення до початку виникнення в постсинаптичному нейроні збуджувального постсинаптичного потенціалу – латентний період (ЛП) синаптичної передачі. АК, СаК, СК, СЦ, АСК, АСЦ розводили розчином Рінгера для холоднокровних до концентрації 10<sup>-3</sup> М. Вірогідність результатів оцінювали за допомогою критерію Вілкоксона.

СаК та АК (p<0,01) збільшували час синаптичної затримки в усіх досліджених нейронах (як ППа2, так і ВГ). Одним з пояснень ефектів цих речовин може бути те, що під впливом СаК та АК в постсинаптичних нервових клітинах виникає гіперполяризація мембрани, яка, можливо, створюється за рахунок посилення вихідних хлорних й калієвих іонних струмів та ускладнює розвиток збуджувальних постсинаптичних потенціалів.

СК, СЦ, АСК, АСЦ чинили полегшувальну дію на час синаптичної передачі сигналів: у більшості досліджених нейронів ЛП відповіді зменшувався (p<0,05), а у деяких спостерігалася тільки тенденція до зниження ЛП. Слід зазначити, що в деяких постсинаптичних клітинах ВГ та ППа2 експозиція розчинів СК, СЦ, АСК, АСЦ викликала дестабілізацію мембранного потенціалу. Раніше було показано, що така реакція обумовлена тим, що ці речовини впливають на систему внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, а саме змінюють їх концентрацію. Підвищення в нейроплазмі клітини концентрації цАМФ спричиняє хвилю деполяризації мембрани, а цГМФ – гіперполяризації (Коренюк, 2005). Ми припускаємо, що зміна ЛП відповіді при дії СК, СЦ, АСК, АСЦ відбувається саме під впливом цАМФ та цГМФ.

Таким чином, результати нашого дослідження свідчать, що СаК й АК неспецифічно пригнічують синаптичну передачу сигналів між нейронами гангліїв виноградного слимака, а СК, СЦ, АСК, АСЦ, навпаки, полегшують синаптичну передачу. Зміни ЛП синаптичної передачі пов'язані з опосередкованим впливом саліцилатів та ацетилсаліцилатів на постсинаптичні механізми, що забезпечуються системою циклічних нуклеотидів.



## АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК / INDEX

- Абдулахад К. Ф. 358  
Авскін Я. 88  
Алексєєва І. В. 300  
Алунгулес Г. 38  
Андрієнко В. 228  
Андрійчук О. М. 272  
Андрос А. 257  
Андрющенко О. 248, 261  
Антоненко Л. О. 149, 166  
Арнауга О. 203  
Арсеній Н. 39  
Артамонова Г. Б. 359  
Афанасьєва І. Ф. 384  
Афанасьєва К. 173  
Бабаєва Г. Г. 306, 360  
Бабкіна М. М. 295, 299  
Бабушок О. 177  
Бавол А. В. 147  
Байляк М. 267  
Бакун В. 310  
Баланда О. 177, 178  
Бальвас К. 178  
Барабан Т. В. 144  
Баранов В. 311, 324, 326  
Барська М. Л. 287  
Басараб І. 51, 74  
Бачинський А. 40  
Бачинський С. Ю. 380  
Бачуріна А. С. 361  
Бевзо В. В. 78  
Безносюк С. 311  
Бено Ю. 6  
Берегова Т. В. 358, 368, 369, 372  
Берник О. 69  
Бешлей С. 326  
Бєлоцька А. 179  
Биковець Х. 90  
Бичкова С. 351, 353, 354, 355, 356  
Бичков М. 356  
Білець І. В. 130  
Білий О. І. 8  
Білий Р. О. 32, 288  
Білім Ю. 180  
Білявська Л. 260  
Бобак Я. П. 286  
Бобровська А. В. 362  
Бова Д. 89  
Богатирьова О. О. 306  
Боднар І. В. 111  
Боднар Л. С. 111  
Бойко І. 176, 311, 316, 323  
Бойко М. С. 363  
Бойко Н. 124, 236  
Бойко С. 342  
Бондаренко О. В. 364  
Бондар О. 182  
Бондарчук А. В. 127  
Борис Й. 312  
Боровик О. 249  
Бородай В. 255  
Борсукевич Б. 230, 232, 241, 245, 246  
Бразалук О. З. 62  
Бродяк І. 24, 25, 27, 33  
Броннікова Л. І. 130  
Буга Н. 151  
Буньо Л. В. 228, 314  
Бура М. В. 8, 10  
Бурда В. 23, 24  
Бурлова-Васильєва Н. К. 45  
Бурхан А. 250  
Бухтіяров А. 248, 261  
Буцяк А. 112  
Бучацька М. 336  
Бучковська І. 41, 55, 62  
Варениця О. 243  
Варенюк І. М. 398  
Василів О. 247  
Васильченко О. В. 295, 299, 300  
Васянович І. 325  
Вашук С. 324, 326  
Великий М. М. 59  
Великопольська О. 357  
Величко О. 313, 316, 317  
Венгер А. 346  
Венцковська О. А. 377  
Вєрбова І. 243  
Виджак О. 281  
Винарчик В. 184  
Винничук С. 77  
Вихрева М. 173  
Вітушинська М. 113  
Воейков А. І. 281

Войтенко Л. В. 314  
Войтович Н. 36  
Волинська С. 258  
Волощук О. М. 38, 39, 40  
Воробйова Л. І. 156  
Вусатюк У. В. 78  
В'ялих Ю. 371  
Гавданович Ю. 313  
Галенова Т. І. 46  
Гальчишак Л. 25  
Генега А. 10  
Герасим'юк Н. 93  
Глов'як А. 367  
Глодан С. 267  
Глуценко Д. 367  
Гнатишин З. 82  
Гнатущ А. Р. 30  
Гнатущ С. 247  
Гнеп Н. 47  
Говоруха Т. М. 364  
Говсеєв Д. 281  
Гоголь С. В. 54  
Голишкін Д. 369  
Головань А. 260  
Головей О. 389  
Головинська Ю. Ю. 358, 368  
Головчак Н. П. 9, 10  
Гололобов Б. 389  
Голубева М. 183  
Голуб Н. 114  
Голуб О. 114  
Гончар М. А. 120, 121  
Гончарова К. 383  
Гончарук О. М. 147  
Горбатюк О. 115  
Горбач О. І. 276  
Горда А. 48  
Горон М. 315  
Гороховський Є. Ю. 370  
Горюнова І. 253  
Господарик А. 142  
Грабовська С. 351  
Грабовська І. 94  
Грачова М. А. 156  
Грегірчак Н. М. 268  
Грень Т. П. 121  
Гренюх В. П. 392  
Григорович В. 330  
Гриценко Н. 249, 254  
Громико О. 112, 115  
Грохольська О. 26  
Губеня О. В. 57  
Губська М. 183  
Гудзь С. 228, 229, 234, 239, 244  
Гудіна С. 397  
Гузик М. М. 59  
Гуменюк Р. В. 286  
Гураль С. В. 233  
Гурч О. 184  
Гут Р. 346  
Дармостук М. С. 45  
Дацюк Л. 29, 35  
Дворщенко К. 69  
Дебелий Я. 210  
Демиденко К. В. 146, 155  
Деніс Є. 381  
Деркач Є. А. 49, 61, 70  
Джура Н. 315, 318, 322, 343  
Дика М. 6  
Дильова О. 23, 24  
Діденко Г. В. 278, 281  
Длябога Ю. 46  
Дмитрієв Л. С. 365  
Довган І. 8  
Довгий Р. 251  
Досенко В. 393  
Доценко О. І. 14  
Древаль К. Г. 131  
Дрель В. Р. 30  
Дрозд П. 167  
Дудок К. П. 32  
Євтушевська Л. 332  
Євтушенко М. Є. 17  
Єрмак Ю. Л. 11  
Єфремова В. А. 398  
Жалейко І. О. 301  
Жиленко В. В. 80  
Жолобок О. 20  
Жук В. 349  
Жук І. 348  
Жукова Д. 283  
Жукова Я. 175  
Жураківська С. 109  
Жураховська Д. І. 146, 155, 157  
Журенко О. 390, 395  
Заболотна А. 347

Завидовський Б. І. 379  
Загородна І. 246  
Зажицька М. 173  
Заїченко Н. 226  
Зайцев О. С. 144  
Закутня Х. 37  
Залевадна В. 108  
Залєток С. П. 80  
Замай О. 204  
Замотасєв О. М. 300  
Запухляк О. С. 361  
Захандревич О. 175  
Звїр Г. 232, 236, 237, 243  
Здіорук М. 25, 33  
Зинь А. Р. 10  
Зінченко М. О. 147  
Злацький І. 205  
Зубик Ю. А. 284  
Іванова І. 393  
Іванова Т. 50  
Іванов О. Ю. 49, 390  
Ілленко В. 193  
Ільєнко І. 166  
Іномістова М. 133  
Іонкіна Н. 133  
Іродов Д. М. 167  
Кавулич Я. 316  
Каземірська М. 97  
Калачнюк Г. 51  
Калачнюк Л. 74  
Калачнюк М. 51  
Калінін І. 66  
Кальченко А. А. 157  
Канюка О. 34  
Капустян Л. 281  
Карабан Г. М. 162, 262  
Катєринчук О. М. 158  
Катюшина О. 391, 399  
Качмар М. 357  
Кваско О. 335  
Квятківська І. 262  
Кєца О. 63, 77  
Киричук Є. О. 374  
Киселєв Д. О. 127  
Кисельов Д. 143, 170  
Кисельов Д. О. 173  
Клевета Г. 28, 36  
Клєчак І. Р. 149  
Климишин Д. О. 120, 121  
Климишин Н. 31, 35  
Клим І. 230, 241, 245, 246  
Климнюк Г. 133  
Климчук І. 60  
Климчук Ю. Ю. 54  
Клюваденко А. А. 154  
Кнауб А. 56  
Кобилецька М. 176, 311, 316, 320, 323  
Коваленко О. А. 99, 364  
Ковальова В. А. 68, 346  
Ковальчик Марія 316  
Ковальчик Марта 317  
Ковальчук Ю. 213  
Кожем'якіна С. 371  
Кожухова Н. 346  
Кожушна О. 55  
Козюк Л. 258  
Кокар Н. 98  
Колєсник О. 296  
Колєсников С. В. 185  
Колісник Я. 233, 238, 239  
Коломієць Ю. 151, 160, 332, 341  
Компанєць Т. 264  
Конон А. Д. 130, 145, 249, 254, 275  
Конопельнюк В. В. 54, 68  
Констатїнова Г. О. 167  
Копильчук Г. 41, 55, 62  
Коріновська О. М. 256  
Коробова О. 27  
Король Ц. 175  
Коротєєва Н. В. 162  
Коротєєва Г. 269  
Косик О. 343  
Костїна В. Г. 299  
Коструба А. 20  
Костюк О. В. 62  
Косян А. 343  
Кохан Г. 29  
Кошкіна І. 257  
Кравченко В. І. 386  
Кравчук М. В. 30  
Крамар С. 352  
Красильщикова С. І. 144  
Кривєнда А. 89  
Крисюк І. 56  
Круподьорова Т. 50  
Кубайчук К. І. 57

Кузнєцов А. О. 284  
Кузьменко О. П. 248, 261, 278, 281  
Кулачковський О. 245  
Кулик М. А. 231  
Кумскова А. 160  
Кунда-Пронь І. 161  
Кундєєв М. 259  
Курбатова І. 213  
Курліщук Ю. В. 286  
Курова А. 260  
Курчій В. 337  
Кухарський В. 369  
Куцоконь Н. 344  
Кучеренко М. І. 372  
Кушкевич І. 235, 240, 247  
Кушнір А. 214  
Лабудзинський Д. О. 59  
Лавренюк Л. 232  
Лазарук Н. 60  
Лазоренко О. 384  
Лапоша О. 179  
Левенко Б. 344  
Левицька Л. 234  
Левчик Н. 100, 344  
Левчук С. 373  
Легка Л. 117  
Линів Л. С. 287  
Литвин В. В. 233  
Ліманська Н. В. 162, 262  
Лісютін Г. 248, 261  
Лободюк Ю. Ю. 162, 262  
Лужна М. 188  
Луцишин Н. 82  
Лучко К. М. 135  
Лушак О. В. 367, 378  
Лушак Ю. 335  
Люта М. 23, 24  
Маєвська А. 178  
Макаренко М. 281  
Макаренко О. М. 398  
Макарчук М. Ю. 364  
Макогоначук М. Р. 61  
Максимович В. 319  
Маленька У. 320  
Малієнко В. 153  
Маліщук І. 336  
Маловічко О. 189  
Малоїд М. 353  
Мальцева А. С. 362  
Мандзинець С. М. 8, 10  
Манько Б. О. 357, 392  
Манько В. В. 357, 392  
Маренков О. 214, 215  
Марищак Н. 62  
Марінцова Н. 10  
Марків О. 238, 239  
Марченко О. 178, 200  
Маслак Г. С. 62  
Матвєєва Н. 271, 328, 335, 339  
Матвєєва О. 337  
Машейко І. В. 62  
Мащак І. 234  
Мегалінська Г. 50, 253, 258, 380, 384  
Мелікян С. 27  
Мельникова Н. М. 49, 61, 70  
Мерлич А. Г. 162  
Метрусенко О. Г. 152, 327  
Микитин Т. 217  
Мирон О. 31  
Мирончук В. 235  
Михальченко В. Г. 57  
Мицик Л. 183  
Мінченко Д. О. 57  
Мінченко О. Г. 57  
Міщанюк Н. В. 190  
Мороз О. 230, 232, 235, 237, 241, 243, 245, 246  
Морозова Н. 396  
Моцар О. В. 295  
Мроць О. 354  
Мудрак Т. 264  
Навроцька Д. О. 164  
Назаренко Є. 371  
Насирова Г. 175  
Нацевич В. 265  
Начичко В. 83  
Нежигай Л. М. 136  
Неміш В. 63  
Невар Н. 102  
Німець О. Я. 120, 121  
Німилович М. 165, 266  
Новіков В. 10  
Новохацька Т. 393  
Оберемок В. В. 144  
Оверченко В. 138, 167, 169, 330, 340  
Оверченко О. 138, 330  
Оверчук М. 32

Огородник Ю. 166  
Огороднійчук Ю. О. 137  
Окунев О. В. 167  
Олексинська О. О. 287  
Онуфрієнко О. В. 363  
Османова С. 391  
Остапів Д. 357  
Остапів Р. 357  
Остапченко Л. 69  
Остапчук Ю. 236  
Осташ Б. О. 123  
Остроух І. 192  
Остудімов А. 324  
Павликівський І. 267  
Павлик С. 133  
Павлишин О. С. 208  
Павлович О. С. 374  
Павлюк Н. 103  
Паливода О. Г. 167  
Пальчиковська Л. І. 295, 299, 300  
Пампура М. 218  
Панас І. 321  
Панов В. 339  
Панчишин В. 322  
Панчук Р. Р. 112, 117, 285  
Паренюк О. 193  
Парілова О. 75  
Паук І. І. 32  
Пацула О. 310, 312, 319, 325  
Переверзева Г. 122  
Перегудова О. 269  
Передерій Ю. І. 268  
Перерва Є. С. 194  
Перетятко Т. 228, 229, 234, 239, 244  
Перетятко Ю. 31  
Петрачкова Т. А. 139  
Петренко О. 167  
Петрович І. 321  
Петров І. В. 270  
Петрук Н. 66  
Пивоваренко В. Г. 300  
Пирог Т. П. 130, 145, 249, 254, 259, 262, 273, 275  
Пірогов М. 81  
Платонов М. О. 300  
Подурець А. 283  
Пожидаєва Г. 14  
Поліщук В. 142  
Постоєнко О. 202  
Потебня Г. П. 278  
Похоленко Я. О. 167  
Починок Т. 84  
Прибисько І. Ю. 375  
Приймак О. 195  
Притула І. 271  
Приходько С. 182, 257  
Прокопів А. 85  
Проніна О. В. 139  
Присяннікова І. 90  
Пугач О. В. 272  
Пустошило Д. 394  
Рабик М. В. 123  
Радіонов Д. 161  
Ракша Н. Г. 46  
Рассомагіна М. П. 386  
Рзаєва Е. М. 17  
Рибак М. Ю. 299  
Рибицька А. 272  
Рибка К. 225  
Рибченко Ж. І. 15, 253  
Рибчинська М. 341  
Ричок О. 340  
Рій О. 176  
Рогоза Л. А. 306  
Рогуля А. 206  
Романко Д. 16  
Романюк Г. 220  
Романюк О. 315, 318  
Ромашев С. 250  
Росаловський В. П. 32  
Рубель Х. 237  
Руднева Т. 265  
Ружицька О. 347  
Русенюк Ю. 323  
Рушковський С. Р. 139  
Рябцева А. 124, 236  
Рясний В. М. 67  
Сабадашка М. 33  
Савицька А. 209  
Савченко О. А. 46  
Савчук М. 43, 44  
Савчук О. М. 45, 46, 54, 68, 72, 273  
Сакало В. 337  
Самаруха І. А. 21, 22, 180  
Самоніна Г. Є. 372  
Санагурський Д. І. 8, 9, 10  
Сахарчук О. 34

Сачок О. 206  
Свергун Н. 133  
Свистунова І. В. 190  
Свідрак К. 86  
Світін Р. 224  
Сембрак Н. 228  
Семилетова О. 342  
Семочко О. М. 8  
Семчук Л. 250  
Сенечин Н. 343  
Сенів О. 125  
Сеньків Ю. 124  
Сергєєва Ж. Ю. 162, 262  
Серебряков В. 210  
Середницька К. Р. 54, 68  
Сєдих М. М. 376  
Серебрєнніков Б. 197  
Серик С. 189  
Сибірна Н. О. 23, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 287  
Сиволап Ю. 296  
Сидорик Л. 281  
Сидор Р. І. 276  
Ситнік Ю. А. 277  
Сізіх Л. М. 144  
Скалка В. В. 72  
Скачкова О. В. 276  
Скварко К. 6  
Скиба І. 241  
Скок Т. 222  
Скотаренко М. 240  
Скочиляс Н. 238, 239  
Скочко А. Б. 275  
Скрипець Х. 324  
Смірнов О. 343  
Снітинський В. 142  
Соловйов А. 393  
Сорока Р. 344  
Сорока Т. 198  
Сорокіна Д. 396  
Сосновський Є. 85  
Софілканич А. 259, 262  
Срога М. 74  
Стадник І. 126  
Старанко У. 29, 35  
Стародуб М. Ф. 137, 277  
Стасик О. В. 122, 286, 287  
Стельмашук Н. 223  
Степанчук І. 199  
Стецик Р. 184  
Стецишин Ю. 20  
Стойка Р. 142  
Страшко С. 380  
Сусло Т. 200  
Суханова К. 397  
Сухорукова В. 367  
Табурець О. В. 75  
Тавровська І. А. 278, 281  
Тагунова Є. 201  
Тарабріна Н. Ю. 398  
Таран М. 171  
Таширєв О. 271  
Тєраз С. 238, 239  
Тєрек О. 310, 311, 315, 318, 321  
Тєрпиляк О. 126  
Тимків Ю. 98  
Типлинська К. В. 76, 373  
Тишкін С. 393  
Тищенко О. 337  
Тишук Н. 202  
Тішина А. 225  
Ткачук Н. 192  
Ткачук О. О. 76  
Тодосійчук Т. 112  
Токарчук К. 75  
Томін А. 32, 288  
Томчук В. 71  
Торгало Є. О. 75  
Трохимчук О. 28  
Тупицька О. 16, 209, 213  
Удовиченко В. 142  
Удовиченко К. 142  
Уженков О. 36  
Українець С. В. 173  
Улицька Н. 355  
Усатенко В. 162, 262  
Успенський І. Г. 279  
Фалалєєва Т. 368, 369, 372  
Фєдиняк М. Л. 207  
Фєдірко Н. 352  
Фєдєнєнко О. 214, 215  
Фєдорєнко В. О. 112, 115, 120, 121, 123  
Фєдорєвич А. 23, 24, 32  
Фєдорчук О. Ю. 374  
Фєрєнєвич Я. П. 8  
Фєрєнц І. 24

Фецко З. 324  
Фещук А. 230  
Філь М. Р. 112  
Філяк Є. 34  
Фролова Н. 211  
Халахурда Д. В. 162  
Халімова О. І. 380  
Харина Л. 27  
Харіна А. 272  
Харченко М. М. 375  
Ходаченко О. 257  
Хоменко А. В. 53  
Хоменко Є. 255  
Хом'як Д. 254  
Хохла М. 28, 36  
Хохлов О. 296  
Храновська Н. 133, 276  
Худик О. 228  
Цап О. 247  
Цвіліховський В. 179  
Цирульник А. 142  
Цирюк О. І. 358  
Цудзевич Б. 66  
Чайка О. В. 152, 229, 327  
Чайка Я. 28, 36  
Чайковська А. М. 120  
Чапкевич С. 328  
Чебан Л. 336  
Чеботар Г. О. 139  
Чеботар С. 296  
Чекаліна Н. 380  
Чень О. І. 287  
Чепієвський Я. 153  
Черетаєв І. 391, 399  
Черник Я. 113, 114, 125  
Чернишенко В. О. 42  
Чеченева Т. М. 136, 164  
Чиж М. О. 306, 360  
Чопей М. 173  
Чорнобров О. Ю. 154  
Чудайкін Е. 204  
Чумак В. В. 285  
Чумаченко І. 43, 44  
Шабельнік О. 397  
Шаванова К. 170, 171  
Шайда О. 133  
Шевченко А. Є. 68  
Шевченко Т. П. 265, 284  
Шевчик Л. 318  
Шевчук Т. 221  
Шелемех О. 9  
Шелест Д. В. 68, 69  
Шелифіст А. 336  
Шепельова І. А. 49, 61, 70  
Шепета Ю. Б. 139  
Шиманський І. О. 59  
Шишка Р. 267  
Шкаволяк А. В. 32  
Шкандіна Т. 32, 288  
Шкільна І. 35  
Шликов С. Г. 17  
Шляхтіна Є. 124  
Шмараков І. 41, 47, 60  
Шоляк К. 239  
Шосталь М. 71  
Шпак Е. Г. 281  
Шпак Є. Г. 278  
Шуваєва Г. 26  
Шульга В. 167  
Щербак Д. 169  
Щербина А. І. 70, 395  
Щетиніна Г. С. 274  
Щурська К. О. 21, 22  
Юринець Х. 245  
Юркевич І. 378  
Юрченко Д. 182  
Юсипович Ю. 346  
Яворський І. П. 207, 208  
Якименко І. 347  
Якимчук Г. 244  
Яковенко В. 211  
Яковенко Л. 281  
Яковецька О. 367  
Яковлева Л. 203  
Ямборко Н. 283  
Янків О. 356  
Янко В. 308  
Янковський Д. С. 358  
Янович Л. 218, 221

Abramowski D. 326  
Abushova A. 248  
Afanasieva K. 301  
Aliieva O. 148, 163  
Anan'ina T. V. 292  
Antoszewska E. 150  
Arluison V. 152  
Artemov G. N. 288  
Auziņa A. 151  
Badalyan O. 128  
Bak A. 178, 196  
Barkevich I. 134  
Barska M. 23  
Barykina N. V. 289  
Bednarczyk-Cwynar B. 307  
Belokrylova D. 129  
Bidziński K. 212  
Bieniek K. 86  
Bogdziewicz M. 181  
Boiko N. 40  
Bonarek P. 65, 291  
Bonik M. 298  
Borbulyak I. Z. 387  
Borzyszkowska J. 128  
Boss L. 302  
Bowie A. 282  
Brutāne K. 91, 104  
Butters T. 32  
Bykowski J. 191  
Cech G. M. 152  
Chairullina R. 64  
Chamera K. 52  
Chen O. 23  
Chen W. 95, 329  
Chernyk Ya. 119, 124  
Chopej M. 301  
Churuksaeva O. 297  
Ciechanowski M. 227  
Ciuba K. 52  
Cnota M. 66  
Csabai J. 90, 102  
Czajor K. 303  
Deineko E. V. 295  
Dorota P. 302  
Dugan O. M. 382  
Dulak J. 307  
Durkalec-Michalski K. 366  
Dyukalova M. 290  
Dziedzicka-Wasylewska M. 65, 66, 291  
Einor D. 132  
Elbakidze T. 252, 256  
Eliashvili T. 278  
Evarte-Bundere G. 92, 104  
Evarts-Bunders P. 92, 104  
Falfushynska H. 40, 71  
Faramarzi M. 252  
Feden'ko Kh. 389  
Fedorenko V. 116, 118  
Fiedor L. 334  
Fischbach K.-F. 119  
Floryszak-Wieczorek J. 326, 330  
Formela M. 330  
Galkin O. Yu. 382  
Gasanova S. 248  
Georgieva S. G. 304  
Gnatyshyna L. 40, 71  
Golubitsa A. 129  
Górecki A. 65  
Gospodaryov D. 389  
Grauda D. 151  
Gren T. 116  
Grochowalska R. 187  
Grzywnowicz K. 52, 73, 79, 86, 345  
Grzywnowicz M. K. 73  
Gudz' S. 233  
Gurskiy D. Y. 304  
Gyrecki A. 291  
Gyrka A. 291  
Hadwiczak M. 185  
Halimona J. 263  
Hnatush S. 243  
Horbay R. O. 7  
Hosseini S. H. 219  
Hrubsy Y. 118  
Ievdokimenko K. S. 133  
Ilichev A. 290  
Iwińska K. 212  
Jafaryan H. A. 252  
Jaiani E. 252, 256  
Jakubas D. 185, 186  
Jakubiec Z. 212  
Jamska K. 212



Janelidze N. 256, 278  
Jankevica L. 263  
Jankowska-Jarek M. 212  
Janowicz J. 331  
Janus J. 326  
Jarzb B. 294  
Jasinska A. 95, 96, 105, 106, 107  
Jeszka J. 366  
Jzwiak A. 105, 106, 107  
Jzwiak W. 333  
Jura J. 174  
Juszczak M. 305  
Jyzkowicz A. 307  
Kalnina I. 18  
Kanarsky J. 291  
Karklins J. 97  
Karpenko V. 168  
Kashchak N. I. 7  
Kastorna A. P. 12  
Kaszlikowska A. 52  
Kedracka-Krok S. 66  
Kirilova E. 18  
Kirilov G. 18  
Kiselev D. 291  
Kislik G. 134  
Kisurina-Evgenjeva O. P. 299  
Kizilova E. 129  
Kliza K. 174  
Knaflewski M. 329  
Koberidze T. 252  
Kokashvili T. 252, 256, 278  
Kokhanenko A. A. 292  
Kopylova O. I. 159  
Kopytova D. V. 304  
Kordjazi Z. 252  
Kosevich I. 216  
Kosobokova E. 140  
Kosorukov V. 140  
Kostenko S. 119  
Koziura A. 212  
Krasnov A. N. 304  
Krol K. 338  
Krol S. 292, 303  
Kruczek M. 333  
Krygowska-Wajs A. 174  
Kryszak A. 87  
Kryszak J. 87  
Kucharczyk M. 334  
Kucherenko M. 124  
Kud J. 73, 79, 293  
Kuklin A. 294  
Kulaszewicz I. 186  
Kuske J. 79  
Kutsenko O. K. 12  
Kuzmina J. L. 304, 306  
Kuznetsova K. 147  
Kuznieatsova E. I. 58  
Kedzierska B. 302  
Lashkhi N. 278  
Lavrikova E. Y. 159  
Leszczycski P. 305  
Levytska O. 233  
Limanskaya L. A. 13  
Li Z. 329  
Loboda A. 307  
Lopatniuk M. 118  
Lukanus K. 187  
Lukaszka K. 101  
Lyniv L. 23  
Machnicka B. 298  
Majkowski M. 298  
Makogon N. 294  
Maksymov L. 162  
Malienko V. 162  
Mandy T. 90  
Marrone A. 124  
Matiytsiv N. 119  
Matselyukh O. 265  
Matveeva N. 129  
Mayorova T. 216  
Mazur O. 168  
Mech-Nowak A. 338  
Meissner J. 298  
Menzhun V. 148, 163  
Metla Z. 263  
Mielcarz B. 330  
Mikelsone A. 151  
Milczarek G. 326  
Miran D. 96  
Mitaishvili N. 190  
Mitka J. 101  
Mohylyak I. 119

Morkunas I. 330  
Mrozik K. 191  
Mursalimov S. R. 295  
Nabirochkina E. N. 304  
Nagy Z. 90, 102  
Napierala M. 191  
Narauskaite G. 218  
Natroshvili G. 190  
Naumenko O. 280  
Nidialkova N. 265  
Nikitina E. 297  
Nikitin A. G. 159  
Nikolaichik Y. 128  
Nikolenko J. V. 304  
Nodzhak I. 23  
Nosikov V. V. 159  
Nowacka-Chiari E. 388  
Nurgaleeva E. 64  
Obolenskaya M. 294  
Ogrodnik M. 385  
Olczak M. 308  
Olech M. 65  
Oleszczuk S. 73  
Onishchenko G. E. 299  
Osiecka A. 192, 202  
Osiecka K. 191  
Ostash B. 116  
Paduch R. 293  
Panov V. 306  
Patimar R. 219, 252  
Petelis K. 218  
Piankova O. 168  
Pilichowski S. 219  
Pirog A. 66  
Plachno B. 110  
Politycka B. 333  
Porchkhidze K. 252  
Przybyla Cz. 191  
Ptaszek K. 385  
Rachmatullina J. 64  
Rashal I. 151  
Reder A. 298  
Rekowska E. 178, 196  
Rishko V. 124  
Rodin D. 172  
Rojczyk E. 307  
Romanceviča N. 104  
Rozhok A. I. 133  
Rutkowska-Nowacka P. 52, 86  
Rychlik L. 181  
Rzeski W. 305  
Savitskaya M. A. 299  
Semak I. V. 58  
Seskena R. 263  
Shamekhi Ranjbar Kh. 219  
Shcherbata H. 124  
Shidlovskii Y. V. 304, 306  
Shuldyk O. 71  
Siwulski M. 96  
Skrypnik K. 140  
Sliwa P. 79  
Smiech M. 73  
Sobczyk K. 86  
Sobiech L. 104  
Sobieralski K. 96  
Sofronova Yu. 172  
Sorochnyńska K. I. 387  
Sosicka P. 308  
Sosnovska O. 242  
Stack J. 282  
Stasyk O. 23  
Stefaniuk D. 345  
Stegniy V. N. 288, 292  
Stoika R. S. 7  
Strugała P. 52, 86  
Strychalska A. 87  
Suliburska J. 366  
Sultanova A. 64  
Swiderski A. 101, 333, 338  
Sybirna N. 23  
Szalewska-Paiasz A. 152  
Tediashvili M. 190, 252, 256, 278  
Tkachenko N. 172  
Tokovenko B. 294  
Tóth A. 102  
Tratsiakova V. 141  
Trelka T. 105, 106, 107  
Trusova V. M. 12, 18  
Tsertsvadze G. 278  
Tskhvediani A. 278  
Tsyplik O. 116  
Turta O. 71

Urazova L. 297  
Vashutina K. 280  
Vasyliv O. 243  
Vihreva M. 301  
Vorobyeva N. E. 304  
Vus K. O. 18  
Wegrzyn G. 152  
Wojciechowska E. 105, 106, 107  
Wojczulanis-Jakubas K. 185, 186  
Wrobel A. 192, 202  
Wrobel J. 79  
Wyszynski R. 282  
Wegrzyn G. 302  
Wyjtowicz E. 174  
Yamaleeva O. 64  
Yisifova M. 248  
Yudintsev A. V. 12, 19  
Zapart A. 212, 227  
Zaprutko L. 307  
Zatsepina O. V. 289  
Zawada Z. 219  
Zaworska A. 329  
Zazhytska M. 301  
Zdunek P. 52  
Zhelezova A. 129  
Zwolak R. 181, 192, 202  
Zyburt M. 388  
Żytkowicz M. 110

Наукове видання

**Молодь і поступ біології**

Збірник тез

VII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів  
5-8 квітня 2011 року, м. Львів

**Редакційна колегія**

Хамар І. С., Матійців Н. П., Забуранний Н. В., Рабик М., Ципік О. В., Свідрак К. В., Зинь А.,  
Хохла М., Ференц І. В., Рогуля А. С., Мацях Н. І., Бойко І. В., Буньо Л. В., Василів О. М.

**Редактор** Сідлович Л. І.

**Комп'ютерна верстка** Демчук В. Л.

**Відповідальний за випуск** Матійців Н. П.

Scientific publication

**Youth and Progress of Biology**

abstracts book

of the VI international scientific conference for students and PhD students  
April 5-8, 2011, Lviv

**Editorial board**

Hamar I. S., Matiytsiv N. P., Zaboranniy N. V., Rabyk M., Tsypik O. V., Svidrak K. V., Zyn' A.,  
Khohla M., Ferents I. V., Rogulya A. S., Matsyah N. I., Boyko I. V., Bun'o L. V., Vasylyiv O. M.

**Editor** Sidlovych L. I.

**Page proof** Demchuk V. L.

**Responsible for publication** Matiytsiv N. P.

Підписано до друку . . . 2011. Формат 70x100/16. Папір офсетний. Друк офсетний. Умови, друк. арк.  
Обл.-вид. арк. Тираж 330 прим. зам.

Видавництво "Сполом"

79008 Львів, вул. Краківська, 9