

БІОЛОГІЧНІ СИСТЕМИ

НАУКОВИЙ ВІСНИК
ЧЕРНІВЕЦЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ

БІОЛОГІЯ

Рік заснування 1996

Том 6
Випуск 1

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

Чернівці
Видавництво Чернівецького університету
2014

Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – Т. 6, Вип. 1. – Чернівці: Чернівецький національний університет, 2014. – 96 с.

Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological System). – Vol. 6, Is. 1. – Chernivtsy: Chernivtsy National University, 2014. – 96 p.

У випуску висвітлено проблеми біохімії, молекулярної генетики, біотехнології, екології, ботаніки, збереження біоти і біоресурсів, ґрунтознавства, над якими працюють науковці Чернівецького національного університету та інших наукових установ і вузів України.

The articles in the journal highlight actual problems of biochemistry, molecular genetics, biotechnology, ecology, protection of biodiversity and acclimation, soil sciences, which are studied by the scientists of Chernivtsy National University and other universities and research institutes of Ukraine.

*Друкується за ухвалою вченої ради
Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича*

Редакційна колегія:

Головний редактор **М.М. Марченко**
Заступники головного редактора:
С.С. Костишин, Р.А. Волков

Editorial Board:

Editor-in-Chief: **M.M. Marchenko**
Deputy Editors:
S.S. Kostyshyn, R.A. Volkov

І.П. Григорюк, Ю.М. Дмитрук, Г.П.Копильчук
С.С. Руденко, І.І. Чорней

I.P. Hryhoryuk, Y.M. Dmytruk, G.P. Kopylchuk
S.S. Rudenko, I.I. Chorney

Редакційна рада:

В.С. Акатов (Росія)
В.С. Бленер (США)
В. Гемлебен (Німеччина)
В.А. Кунах
М. Я. Співак
П.О. Мельник
І.Ф. Мещишен
В.М. Решетников (Білорусь)
С. Скіба (Польща)
Я. Собоцка (Словаччина)
О. Б. Стрельцов (Росія)
Л. Фаргаїш (Румунія)
М.М. Федорончук

Editorial Council:

V.S. Akatov (Russia)
W.S. Blaner (USA)
V. Hemleben (Germany)
V.A. Kunakh
N. Ya. Spivak
P.O. Melnyk
I.F. Meschyshen
V.M. Reshetnikov (Bilorusia)
S. Skiba (Poland)
J. Sobotska (Slovakia)
O.B. Streltsov (Russia)
L. Fartais (Romania)
M.M. Fedoronchuk

Відповідальні секретарі:
В.В. Буджак, І.О. Шмарак

Responsible Secretaries:
V.V. Budzhak, I.O. Shmarakov

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації
Міністерства Юстиції України серія КВ № 15752-4224Р від 12.10.2009

Загальнодержавне видання
Збірник входить до переліку наукових видань ВАК України

Адреса редколегії:

Інститут біології, хімії та біоресурсів ЧНУ
вул. Лесі Українки, 25
м. Чернівці, Україна, 58012

Adress for correspondence:

Institute of Biology, Chemistry and Natural Resources
Lesia Ukrainka Str., 25
Chernivtsy, Ukraine, 58012

www.bio.chnu.edu.ua/vb
E-mail: vb@chnu.edu.ua



UDC 577.112.7

EXPRESSION OF PROTEIN PHOSPHATASE DUSP GENES IN SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE OF OBESE MEN WITH NORMAL AND IMPAIRED GLUCOSE TOLERANCE

Y. M. BASHTA¹, D. O. MINCHENKO^{1,2}, O. O. RATUSHNA¹,
O. V. KOVALEVSKA¹, O. H. MINCHENKO^{1,*}

¹Department of Molecular Biology, Palladin Institute of Biochemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

²Department of Pediatrics, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine;

* e-mail: ominchenko@yahoo.com

We studied the expression of genes encodes the family of DUSP protein phosphatases in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes of two groups of obese men: with normal and impaired glucose tolerance as compared to control group (lean men). It was shown that the expression level of DUSP1, DUSP4, DUSP6, DUSP22, and PTEN genes is decreased both in subcutaneous adipose tissue and in isolated adipocytes of obese men with normal glucose tolerance as compared to control group. Magnitude of obesity-mediated changes in expression levels of these genes was gene specific and more robust in the case of protein phosphatase DUSP4. In the group of obese men with glucose intolerance the level of DUSP1, DUSP4, DUSP6, and DUSP22 gene expressions in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes was also decreased as compared to control group, but was significantly higher than in obese patients with normal glucose tolerance. Results of this study provide evidence that the expression of protein phosphatase family DUSP and PTEN genes is decreases in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes of obese men with normal glucose tolerance and these changes possibly associated with developing of obesity and metabolic abnormalities. However, impaired glucose tolerance in obesity is associated with up-regulation of DUSP1, DUSP4, DUSP6, and DUSP22 gene expressions.

Key words: mRNA expression, DUSP1, DUSP4, DUSP6, DUSP22, PTEN, subcutaneous adipose tissue, adipocytes, obesity, glucose intolerance.

Introduction. The obesity and its metabolic complications are the most profound public health problems and associated with dysregulation of basic metabolic processes, including cell proliferation and sensitivity to insulin action (Bray and Young, 2009; Huang et al., 2011; Kovac et al., 2009; Scott et al., 2008). In obese individuals adipose tissue is at the center of metabolic complications and increased body weight. Moreover, obesity as well as metabolic syndrome results from tight interactions between genes and environmental factors. Several molecular and cellular studies have demonstrated relationships between the development of metabolic abnormalities and the disruption of circadian rhythms through dysregulation of circadian and numerous other gene expressions, including genes encoding protein kinases and protein phosphatases for phosphorylation and dephosphorylation of different regulatory factors (Green et al., 2008; Ramsey et al., 2007; Ando et al., 2011; Shimba et al., 2011; Duong et al., 2011; Lombardi et al., 2012; Shaw et al., 2009; Ozcan et al., 2004).

Protein phosphatases regulate a wide array of different physiological events, including cellular

growth and proliferation, mitochondrial function and biogenesis, and activity of factors that have been linked to insulin resistance, obesity and its metabolic complications (Ruderman et al., 2013; Wang and Kaufman, 2012). Cell cycle progression is a key player in the cell proliferation and is very precisely controlled by a multitude of enzymatic reactions among which protein dephosphorylation, carried out by a family of dual specificity phosphatases (DUSP), plays an important role (Song et al., 2012; Groschl et al., 2013). The family of these protein phosphatases inactivates their target kinases by dephosphorylating both the phosphoserine/threonine and phosphotyrosine residues, controlling its activity during the meiotic cell cycle, especially kinases, which are tightly associated with cellular proliferation (Casteel et al., 2010; Cagnol et al., 2013; Degl'Innocenti et al., 2013; Piya et al., 2013; Li et al., 2010).

Thus, expression of the MAP kinase phosphatase DUSP4 is associated with increased cell proliferation (Groschl et al., 2013). Moreover, protein phosphatase DUSP1 is essential for the prevention of apoptosis induced by deoxynivalenol

in the epithelial cell line HepG2 (Casteel et al., 2010). It is interesting that DUSP6, as a novel transcriptional target of TP53, regulates TP53-mediated apoptosis by modulating expression levels of BCL2 family proteins (Piya et al., 2013). This protein phosphatase is overexpressed in thyroid carcinoma and contributes to neoplastic properties of thyroid cancer cells (Degl'Innocenti et al., 2013). Recently was shown that activation of the MEK/ERK signaling pathway promotes expression of dual-specificity phosphatase 4 resulting in nuclear ERK1/2 inhibition (Cagnol et al., 2013).

Moreover, JNK pathway-associated phosphatase (dual specificity phosphatase 22 also known as mitogen-activated protein kinase phosphatase X) activates the JNK signaling pathway by dephosphorylation of stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase (SAPK/JNK) as well as focal adhesion kinase and suppresses cell migration (Li et al., 2010). Tumor suppressor gene *PTEN* (phosphatase and tensin homolog) represents dual-specificity protein phosphatase and phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase. It contains a tensin like domain as well as a catalytic domain similar to that of the dual specificity protein tyrosine phosphatases. Unlike most of the protein tyrosine phosphatases, PTEN preferentially dephosphorylates phosphoinositide substrates and is involved in the regulation of the cell cycle, preventing cells from growing and dividing too rapidly as well as controls insulin signaling and glucose homeostasis (Kechagioglou et al., 2014; Dean et al., 2014). It was also shown that effect of PTEN mutations is an apparently divergent: increased risks of obesity and cancer but a decreased risk of type 2 diabetes (Hodakoski et al., 2014; Pal et al., 2012).

It is possible that identification of the mechanisms of metabolic abnormalities in obesity and its complications at molecular and cellular levels will be useful for better understanding the developing of obesity and associated with obesity metabolic complications. However, a detailed molecular mechanism of the involvement of DUSP protein phosphatase regulatory networks in the development of obesity and its metabolic complications are not clear yet and remains to be determined.

Because the function of some protein phosphatases is closely linked to metabolic homeostasis and these enzymes can modulate the intracellular signaling network and lead to development of obesity and its metabolic complications (insulin resistance and glucose intolerance), the main goal of this work was to study the role of the expressions of DUSP protein phosphatase genes in subcutaneous adipose tissue of

obese individuals for evaluation of its possible significance to development of human obesity and glucose intolerance.

Material and Methods. The 18 male subjects participate in this study. They were divided into three equal groups (6 men in each group): lean individuals as control and patients with obesity and with or without glucose intolerance. Subjects studied were recruited from the patients' cohort at Institute of Experimental Endocrinology Slovak Academy of Sciences. All participants gave written informed consent and the studies were approved by the local research ethics committees of Institute of Experimental Endocrinology.

Clinical characteristics of the study participants were previously described (Ratushna O.O. et al., 2012). The lean (control) participants were individuals with mean age 45 ± 8 years and mean body mass index (BMI) 23 ± 1.4 kg/m². The obese participants with normal glucose tolerance as well as the patients with glucose intolerance were individuals with mean age (45 ± 8 and 44 ± 7 years, correspondingly) and mean BMI (32 ± 1.4 and 34 ± 1.4 kg/m², correspondingly). Thus, BMI, which is a main criteria of obesity, in these last two groups of patients was significantly higher (+39 and +48 %, correspondingly; $P < 0.05$) as compared to the group of control individuals. Moreover, obese men with normal glucose tolerance have significantly lower insulin sensitivity index (-35 %; $P < 0.05$). In obese individuals with impaired glucose tolerance, versus obese subjects with normal glucose tolerance, the 2h OGTT (oral glucose tolerance test) and fasting insulin level were significantly increased (+47 and +62 %, correspondingly; $P < 0.05$). At the same time, insulin sensitivity index was decreased almost two fold; $P < 0.05$. Thus, a group of obese patients with impaired glucose tolerance has insulin resistance.

RNasy Lipid Tissue Mini Kit (QIAGEN, Germany) was used for RNA extraction from subcutaneous adipose tissue or isolated adipocytes of lean and obese individuals with normal or impaired glucose tolerance according to manufacturer's protocol. Adipocytes were isolated from subcutaneous adipose tissue as described (Considine et al., 1997).

The expression levels of genes related to regulation of an angiogenesis (*DUSP1*, *DUSP4*, *DUSP6*, and *DUSP22*) were measured in subcutaneous fat tissue by real-time quantitative polymerase chain reaction of complementary DNA (cDNA). QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Germany) was used for cDNA synthesis. The 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems), Absolute QPCR SYBRGreen Mix (Thermo Scientific, UK) and pair of primers specific

for each studied gene (Sigma, USA) were used for quantitative polymerase chain reaction.

For investigation of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP1 (dual specificity phosphatase 1), also known as MKP2 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 2), gene expression we used next forward and reverse primers: (5'-ctgccttgatcaacgtctca-3') and (5'-accctctccagcattctt-3'). The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 850-869 and 1009-990 of human DUSP1 cDNA (GenBank accession number NM_004417). The size of amplified fragment is 160 bp.

The amplification of DUSP4 (dual specificity phosphatase 4) also known as MKP2 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 2) cDNA was performed using forward primer (5'-aggcggctatgagaggttt-3') and reverse primer (5'-cactgccgagtagaggaag-3'). These oligonucleotides correspond to sequences 904-923 and 1094-1075 of human DUSP4 cDNA (GenBank accession number NM_005923). The size of amplified fragment is 191 bp.

For amplification of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP6 (dual specificity phosphatase 6), known as mitogen-activated protein kinase phosphatase 3 (MKP3) cDNA we used forward (5'-ccgcttactctgtctcg-3') and reverse (5'-tgtgcgacgactcgatagc-3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 310-329 and 628-609 of human DUSP6 cDNA (GenBank accession number NM_001946). The size of amplified fragment is 319 bp.

The amplification of DUSP22 (dual specificity phosphatase 22), known as mitogen-activated protein kinase phosphatase X (MKPX) and JNK-stimulatory phosphatase-1 (JSP1), cDNA was performed using forward (5'-tcctctccctgtaacatgc-3') and reverse (5'-gctgggatgcacaggtattt-3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 366-385 and 603-584 of human DUSP22 cDNA (GenBank accession number NM_020185). The size of amplified fragment is 238 bp.

For amplification of PTEN (phosphatase and tensin homolog), known as dual-specificity protein phosphatase and phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase PTEN, cDNA we used forward (5'-accaggaccagaggaaacct-3' and reverse (5'-gctagcctctggatttgacg-3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 1871-1890 and 2111-2092 of human PTEN cDNA (GenBank accession number NM_000314). The size of amplified fragment is 241 bp.

The amplification of beta-actin (ACTB) cDNA was performed using forward - 5'-ggacttcgagcaagagatgg-3' and reverse - 5'-agcactgtgtggcgtacag-3' primers. These primers

nucleotide sequences correspond to 747-766 and 980-961 of human ACTB cDNA (GenBank accession number NM_001101). The size of amplified fragment is 234 bp. The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The primers were received from "Sigma" (USA).

The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The amplified DNA fragments were analyzed on a 2 % agarose gel and that visualized by 5x Slight DNA Stain (EUROMEDEA). An analysis of quantitative PCR was performed using special computer program "Differential expression calculator".

Statistical analyses were performed according to Student's *t*-test using OriginPro 7.5 software. All values are expressed as mean \pm SEM from six independent experiments; $P < 0.05$ was considered as significant difference.

Results and Discussion. The expression of genes encodes several dual specificity protein phosphatases was studied in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of two groups of obese men (with normal and impaired glucose tolerance) and control group (lean individuals) for estimation of its possible significance in the development of obesity and metabolic complications, including glucose intolerance. As shown in fig. 1, the expression level of mRNA of dual specificity protein phosphatase DUSP1, also known as MKP1 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 1), in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance is decreased (-28 %, $P < 0.05$) as compared to control group, but in adipocytes, isolated from this tissue, these changes were stronger (more than two fold, $P < 0.05$). At the same time, in the group of obese individuals with glucose intolerance the level of protein phosphatase DUSP1 gene expressions in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes was significantly higher than in obese patients with normal glucose tolerance (+17 and +20 %, correspondingly; $P < 0.05$).

Investigation of the expression of protein phosphatase DUSP4, also known as MKP2 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 2), clearly demonstrates that in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance this protein phosphatase mRNA expression level is decreased (close to three fold, $P < 0.05$) as compared to control group (Fig. 2). Moreover, in adipocytes, isolated from this adipose tissue, more robust changes were observed in the expression level of DUSP4 mRNA (four fold, $P < 0.05$). As shown in Fig. 2, both in subcutaneous adipose tissue and in isolated adipocytes we found an increased level of this protein phosphatase mRNA (+18 and +36 %, correspondingly; $P < 0.05$).

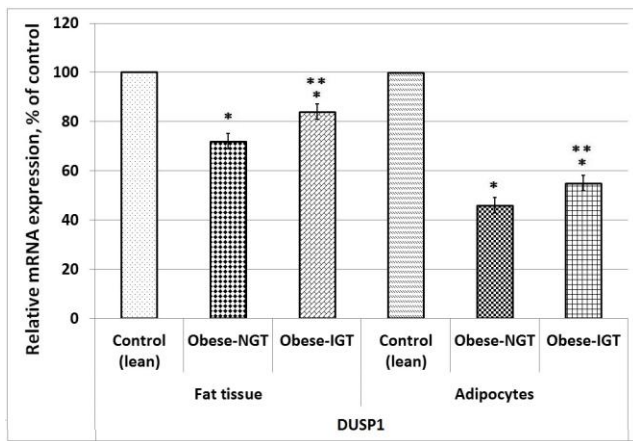


Fig. 1. The expression level of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP1 (dual specificity phosphatase 1), also known as MKP1 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 1), mRNA in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of lean men (control) and obese individuals with and without impaired glucose tolerance (IGT).

The values of DUSP1 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals; ** - P < 0.05 vs group with obesity and normal glucose tolerance test (NGT).

The expression level of genes, encoded the dual specificity protein phosphatases DUSP6 and DUSP22, also known as MKP3 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 3) and MKPX (mitogen-activated protein kinase phosphatase X), correspondingly, is also decreased with similar magnitude both in subcutaneous adipose tissue and in adipocytes, isolated from this tissue, of obese individuals with normal glucose tolerance as compared to the group of men without obesity: -40 and -27 % for DUSP6 and DUSP22 genes in adipose tissue and -48 and -26 % for DUSP6 and DUSP22 genes in adipocytes, correspondingly; P < 0.05 (Fig. 3 and 4). At the same time, in obese men with impaired glucose tolerance the level of these two gene expressions is also increased in subcutaneous adipose tissue (+20 and +15 % for DUSP6 and DUSP22 genes, correspondingly; P < 0.05) and in adipocytes, isolated from adipose tissue (+42 and +22 % for DUSP6 and DUSP22 genes, correspondingly; P < 0.05).

It was shown that the expression level of gene, encoded the dual-specificity protein phosphatase and phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase PTEN (phosphatase and tensin homolog), is also decreased both in subcutaneous adipose tissue (-30 %; P < 0.05) and in isolated adipocytes (-35 %; P < 0.05) of obese individuals with normal glucose tolerance as compared to the group of control men (Fig. 5).

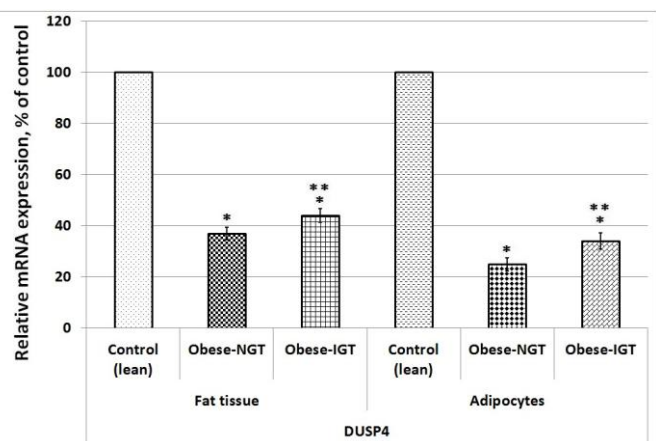


Fig. 2. The expression level of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP4 (dual specificity phosphatase 4), also known as MKP2 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 2), mRNA in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of lean men (control) and obese individuals with and without impaired glucose tolerance (IGT).

The values of DUSP4 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals; ** - P < 0.05 vs group with obesity and normal glucose tolerance test (NGT).

Moreover, magnitude of obesity-mediated changes in the expression levels of PTEN gene was similar to that of DUSP1, DUSP6, and DUSP22 genes and more robust only in the case of DUSP4 gene. At the same time, in the group of obese individuals with impaired glucose tolerance the expression level of PTEN gene was also decreased in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes as compared to control group, but did not changed in statistically significant manner as compared to obese patients with normal glucose tolerance (Fig. 5).

Protein phosphatases as well as protein kinases play an important role in different diseases associated with proliferative processes, including obesity and its metabolic complications, the most profound public health problems (Huang et al., 2011; Scott et al., 2008; Green et al., 2008; Ando et al., 2011). We investigated adipose tissue because in obese individuals this tissue is at the center of increased body weight and metabolic complications and shown that expression level of several dual specificity protein phosphatases is decreased in subcutaneous adipose tissue of obese individuals. These protein phosphatases regulate a cellular growth and proliferation, activity of regulatory factors that have been linked to insulin resistance, obesity and its metabolic complications (Ruderman et al., 2013; Wang and Kaufman, 2012).

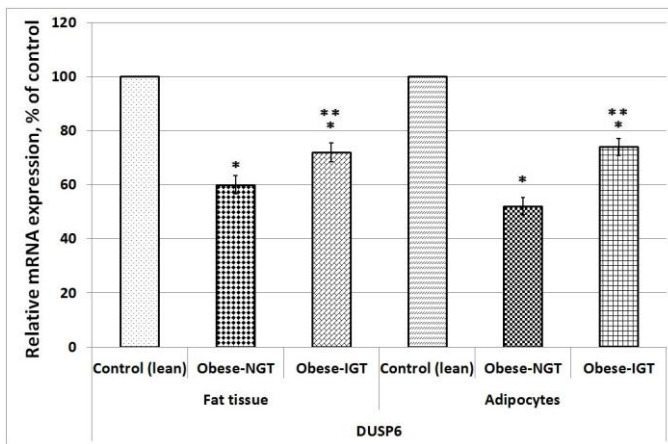


Fig. 3. The expression level of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP6 (dual specificity phosphatase 6), also known as MKP3 (mitogen-activated protein kinase phosphatase 3), mRNA in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of lean men (control) and obese individuals with and without impaired glucose tolerance (IGT).

The values of DUSP6 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals; ** - P < 0.05 vs group with obesity and normal glucose tolerance test (NGT).

It is possible that decreased expression of DUSP1 and DUSP4 protein phosphatases has relation to development of obesity because it is a key player in the regulation of cell proliferation through protein dephosphorylation, because these protein phosphatases inactivates their target kinases by dephosphorylating both the phosphoserine/threonine and phosphotyrosine residues, controlling its activity during the meiotic cell cycle, especially kinases, which are tightly associated with cellular proliferation (Song et al., 2012; Groschl et al., 2013; Casteel et al., 2010; Cagnol et al., 2013; Degl'Innocenti et al., 2013; Piya et al., 2013; Li et al., 2010).

Moreover, the decreased expression of protein phosphatase DUSP4 in subcutaneous adipose tissue of obese individuals possibly contributes to adipose tissue growth, because recently was shown that increased expression of dual specificity phosphatase 4 resulting in nuclear ERK1/2 inhibition (Cagnol et al., 2013). Thus, our results concerning decreased expression of protein phosphatase DUSP4 in subcutaneous adipose tissue of obese individuals should result in nuclear ERK1/2 activation. It is interesting to note that protein phosphatase DUSP6 may participate in adipocyte proliferation in obesity through regulation of TP53-mediated apoptosis and changing the expression levels of BCL2 family proteins, because DUSP6 is a transcriptional target

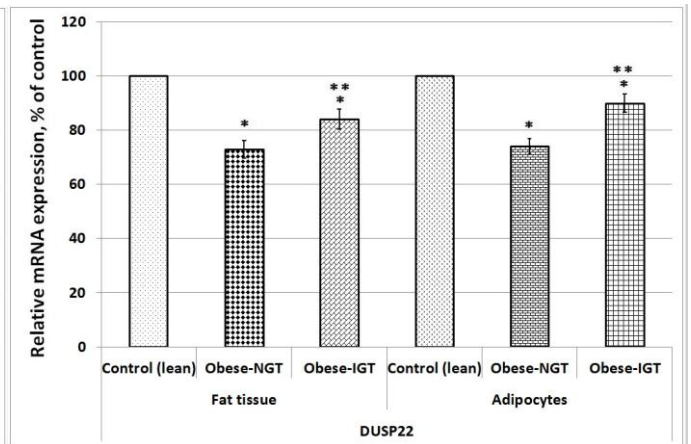


Fig. 4. The expression level of serine/threonine specific protein phosphatase DUSP22 (dual specificity phosphatase 22), also known as MKPX (mitogen-activated protein kinase phosphatase X) or JNK-stimulatory phosphatase-1 (JSP1), mRNA in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of lean men (control) and obese individuals with and without impaired glucose tolerance (IGT).

The values of DUSP22 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals; ** - P < 0.05 vs group with obesity and normal glucose tolerance test (NGT).

of tumor suppressor TP53 (Piya et al., 2013). Moreover, we have shown that the expression level of dual specificity phosphatase 22 is also decreased in subcutaneous adipose tissue of obese individuals and possibly induces cell migration, because this protein phosphatase activates the JNK signaling pathway by dephosphorylation of stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase and suppresses cell migration (Li et al., 2010).

We have also shown that developing of glucose intolerance in obese individuals usually leads to slight but statistically significant increase of expression level of different dual specificity protein phosphatase genes in subcutaneous adipose tissue of obese individuals. It is possible that these changes in DUSP gene expressions are connected to the development of insulin resistance and metabolic complications, including glucose intolerance, but functional significance of this increased expression of DUSP genes is not clear yet and warrants further investigation.

Investigation of the expression of tumor suppressor gene *PTEN*, which represents two enzymatic activities: dual specificity protein phosphatase and phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase, we have shown suppression of its expression in subcutaneous adipose tissue of obese individuals.

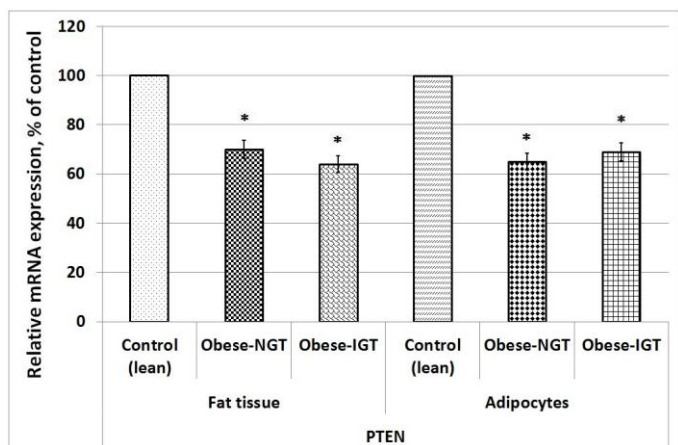


Fig. 5. The expression level of tumor suppressor *PTEN* (phosphatase and tensin homolog), also known as dual-specificity protein phosphatase and phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase *PTEN*, mRNA in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of lean men (control) and obese individuals with and without impaired glucose tolerance (IGT).

The values of *PTEN* mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); $n = 6$; * - $P < 0.05$ vs group of control individuals.

These changes in *PTEN* gene expression can also contribute to developing of obesity, because unlike most of the protein tyrosine phosphatases, *PTEN* preferentially dephosphorylates phosphoinositide substrates and is involved in the regulation of the cell cycle, preventing cells from growing and dividing too rapidly as well as controls insulin signaling and glucose homeostasis (Kechagioglou et al., 2014; Dean et al., 2014). With our results is consistent data that effect of *PTEN* mutations is an apparently divergent: increased risks of obesity and cancer but a decreased risk of type 2 diabetes (Hodakoski et al., 2014; Pal et al., 2012).

It is possible that our results clarifies some molecular mechanisms of adipose tissue growth in obesity and will be useful for better understanding the developing of obesity and associated with obesity metabolic complications, because protein phosphatases is closely linked to metabolic homeostasis, can modulate the intracellular signaling network and leads to development of obesity as well as its metabolic complications such as insulin resistance and glucose intolerance.

Results of this study provide evidence that the expression of protein phosphatase family *DUSP* and *PTEN* genes is decreases in subcutaneous adipose tissue and adipocytes, isolated from this tissue, of obese individuals with normal glucose tolerance; however, impaired glucose tolerance in obese men is associated with up-regulation of *DUSP1*, *DUSP4*, *DUSP6*, and *DUSP22* gene expressions.

Conclusions. 1. It was shown that the expression level of *DUSP1*, *DUSP4*, *DUSP6*, *DUSP22*, and *PTEN* genes is decreased both in subcutaneous adipose tissue and in isolated adipocytes of obese men with normal glucose tolerance as compared to control group.

2. In the group of obese men with glucose intolerance the level of *DUSP1*, *DUSP4*, *DUSP6*, and *DUSP22* gene expressions in subcutaneous adipose tissue and isolated adipocytes was also decreased as compared to control group, but was significantly higher than in obese patients with normal glucose tolerance.

3. Impaired glucose tolerance in obese individuals is associated with up-regulation of *DUSP1*, *DUSP4*, *DUSP6*, and *DUSP22* gene expressions.

References:

- Ando H., Kumazaki M., Motosugi Y., Ushijima K., Maekawa T., Ishikawa E., Fujimura A. Impairment of peripheral circadian clocks precedes metabolic abnormalities in ob/ob mice // *Endocrinology*. – 2011. – 152. – P. 1347–1354.
- Bray M.S., Young M.E. The role of cell-specific circadian clocks in metabolism and disease // *Obes. Rev.* – 2009. – 10, Suppl 2. – P. 6–13.
- Cagnol S., Rivard N. Oncogenic KRAS and BRAF activation of the MEK/ERK signaling pathway promotes expression of dual-specificity phosphatase 4 (*DUSP4/MKP2*) resulting in nuclear ERK1/2 inhibition // *Oncogene*. – 2013. – 32, N 5. – P. 564 – 576.
- Casteel M., Nielsen C., Kothlow S., Dietrich R., Martlbauer E. Impact of *DUSP1* on the apoptotic potential of deoxynivalenol in the epithelial cell line HepG2 // *Toxicol. Lett.* – 2010. – 199, N 1. – P. 43 – 50.
- Considine R.V., Nyce M.R., Kolaczynski J.W., Zhang P.L., Ohannesian J.P., Moore J.H. Jr., Fox J.W., Caro J.F. Dexamethasone stimulates leptin release from human adipocytes: unexpected inhibition by insulin // *J. Cell. Biochem.* – 1997. – 65. – P. 254-258.
- Dean S.J., Perks C.M., Holly J.M., Bhoo-Pathy N., Looi L.M., Mohammed N.A., Mun K.S., Teo S.H., Koobotse M.O., Yip C.H., Rhodes A. Loss of *PTEN* expression is associated with IGF1R expression, younger age, and late stage in triple-negative breast cancer // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2014. – 141, N 3. – P. 323 – 333.
- Degl'Innocenti D., Romeo P., Tarantino E., Sensi M., Cassinelli G., Catalano V., Lanzi C., Perrone F., Pilotti S., Seregini E., Pierotti M.A., Greco A., Borrello M.G. *DUSP6/MKP3* is overexpressed in papillary and poorly differentiated thyroid carcinoma and contributes to neoplastic properties of thyroid cancer cells // *Endocr. Relat. Cancer*. – 2013. – 20, N 1. – P. 23 – 37.
- Duong H.A., Robles M.S., Knutti D., Weitz C.J. A molecular mechanism for circadian clock negative feedback // *Science*. – 2011. – 332. – P. 1436–1439.
- Green C.B., Takahashi J.S., Bass J. The meter of metabolism // *Cell*. – 2008. – 134. – P. 728-742.
- Groschl B., Bettstetter M., Giedl C., Woenckhaus M., Edmonston T., Hofstadter F., Dietmaier W. Expression of the MAP kinase phosphatase *DUSP4* is associated with

- microsatellite instability in colorectal cancer (CRC) and causes increased cell proliferation // *Int. J. Cancer.* – 2013. – 132, N 7. – P. 1537 – 1546.
11. Hodakoski C., Hopkins B.D., Barrows D., Mense S.M., Keniry M., Anderson K.E., Kern P.A., Hawkins P.T., Stephens L.R., Parsons R. Regulation of PTEN inhibition by the pleckstrin homology domain of P-REX2 during insulin signaling and glucose homeostasis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2014. – 111, N 1. – P. 155 – 160.
12. Huang W, Ramsey KM, Marcheva B, Bass J. Circadian rhythms, sleep, and metabolism // *J. Clin. Invest.* – 2011. – 121. – P. 2133 – 2141.
13. Kechagioglou P., Papi R.M., Provatopoulou X., Kalogera E., Papadimitriou E., Grigoropoulos P., Nonni A., Zografos G., Kyriakidis D.A., Gounaris A. Tumor suppressor PTEN in breast cancer: heterozygosity, mutations and protein expression // *Anticancer Res.* – 2014. – 34, N 3. – P. 1387 – 1400.
14. Kovac J., Husse J., Oster H. A time to fast, a time to feast: the crosstalk between metabolism and the circadian clock // *Mol. Cells.* – 2009. – 282. – P. 75–80.
15. Li J.P., Fu Y.N., Chen Y.R., Tan T.H. JNK pathway-associated phosphatase dephosphorylates focal adhesion kinase and suppresses cell migration. *J. Biol. Chem.* – 2010. – 285, N 8. – P. 5472 – 5478.
16. Lombardi A., Ulianich L., Treglia A.S., Nigro C., Parrillo L., Lofrumento D.D., Nicolardi G., Garbi C., Beguinot F., Miele C., Di Jeso B. Increased hexosamine biosynthetic pathway flux dedifferentiates INS-1E cells and murine islets by an extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2-mediated signal transmission pathway // *Diabetologia.* – 2012. – 55. – P. 141–153.
17. Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E., Lee A.H., Iwakoshi N.N., Ozdelen E., Tuncman G., Gorgun C., Glimcher L.H., Hotamisligil G.S. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes // *Science.* – 2004. – 306. – P. 457–461.
18. Pal A., Barber T.M., Van de Bunt M., Rudge S.A., Zhang Q., Lachlan K.L., Cooper N.S., Linden H., Levy J.C., Wakelam M.J., Walker L., Karpe F., Gloyne A.L. PTEN mutations as a cause of constitutive insulin sensitivity and obesity // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – 367, N 11. – P. 1002 – 1111.
19. Piya S., Kim J.Y., Bae J., Seol D.W., Moon A.R., Kim T.H. DUSP6 is a novel transcriptional target of p53 and regulates p53-mediated apoptosis by modulating expression levels of Bcl-2 family proteins. *FEBS Lett.* – 2012. – 586, N 23. – P. 4233 – 4240.
20. Ramsey K.M., Marcheva B., Kohsaka A., Bass J. The clock work of metabolism // *Annu. Rev. Nutr.* – 2007. – 27. – P. 219–240.
21. Ratushna O.O., Minchenko D.O., Danilovskiy S.V., Klimes I., Minchenko O.H. Expression of anti-angiogenic genes in subcutaneous adipose tissue of the obese individuals with pre-diabetes and type 2 diabetes // *Studia Biologica.* – 2012. – 6, N 2. – P. 17 – 32.
22. Ruderman N.B., Carling D., Prentki M., Cacicedo J.M. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome // *J. Clin. Invest.* – 2013. – 123, N 7. – P. 2764 – 2772.
23. Scott E.M., Carter A.M., Grant P.J. Association between polymorphisms in the clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man Clock polymorphisms and obesity // *Int. J. Obesity.* – 2008. – 32. – P. 658–662.
24. Shaw R.J. LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth // *Acta Physiol. (Oxf).* – 2009. – 196. – P. 65–80.
25. Shimba S., Ogawa T., Hitosugi S., Ichihashi Y., Nakadaira Y., Kobayashi M., Tezuka M., Kosuge Y., Ishige K., Ito Y., Komiyama K., Okamatsu-Ogura Y., Kimura K., Saito M. Deficient of a clock gene, brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), induces dyslipidemia and ectopic fat formation // *PLoS One.* – 2011. – 6. – P. e25231.
26. Song B., Liu X.S., Liu X. Polo-like kinase 1 (Plk1): an unexpected player in DNA replication // *Cell Div.* – 2012. – 7. – P. 3.
27. Wang S., Kaufman R.J. The impact of the unfolded protein response on human disease // *J. Cell. Biol.* – 2012. – 197. – P. 857–867.

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ ПРОТЕЇНФОСФАТАЗ У ПІДШКІРНІЙ ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ У ЧОЛОВІКІВ З ОЖИРІННЯМ ТА НОРМАЛЬНОЮ АБО ПОРУШЕНОЮ ТОЛЕРАНТНІСТЮ ДО ГЛЮКОЗИ

Ю. М. Башта, Д. О. Мінченко, О. О. Ратушна, О. В. Ковалевська, О. Г. Мінченко

Проведено вивчення експресії генів, що кодують протеїнфосфатази родини DUSP у підшкірній жировій тканині та ізольованих адіпоцитах двох груп чоловіків з ожирінням: з нормальною і порушеною толерантністю до глюкози у порівнянні з контрольною групою осіб без ознак ожиріння. Встановлено, що рівень експресії генів DUSP1, DUSP4, DUSP6 та DUSP 22 знижується як у підшкірній жировій тканині чоловіків, так і в ізольованих із неї адіпоцитах, за умов ожиріння і нормальної толерантності до глюкози у порівнянні з контрольною групою чоловіків, причому величина обумовлених ожирінням змін в рівні експресії генів є гено-специфічною і виражена більшою мірою для гена протеїнфосфатази DUSP4. За умов ожиріння, ускладненого порушеною толерантністю до глюкози, рівень експресії генів DUSP1, DUSP4, DUSP6 та DUSP22 у підшкірній жировій тканині та ізольованих адіпоцитах був також зниженим у порівнянні з контрольною групою, але був більшим від значень рівня експресії цих генів, виявлених у групі чоловіків з ожирінням і нормальною толерантністю до глюкози. Результати даної роботи вказують на те, що у підшкірній жировій тканині та ізольованих адіпоцитах чоловіків з ожирінням пригнічується експресія генів протеїнфосфатаз родини DUSP та PTEN і, ймовірно, ці зміни пов'язані з розвитком ожиріння та метаболічних порушень. Разом з тим, з порушенням толерантності до глюкози асоціюється підвищення рівня експресії лише генів DUSP1, DUSP4, DUSP6 та DUSP22.

Ключові слова: експресія мРНК, DUSP1, DUSP4, DUSP6, DUSP22, PTEN, підшкірна жирова тканина, адіпоцити, ожиріння, порушена толерантність до глюкози.

Одержано редколегією 10.01.2014

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ СИНТЕЗУ ТА КОН'ЮГАЦІЇ ГЛУТАТІОНУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ НИЗЬКОПРОТЕЇНОВОГО РАЦІОНУ ТА ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. БУЧКОВСЬКА, Н. Л. БОРЩОВЕЦЬКА,
Н. В. ЧОПИК

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

У роботі досліджено активність ензимів синтезу та кон'югації глутатіону в гепатоцитах тварин за умов аліментарної депривації протеїну та гострого парацетамол-індукованого ураження печінки. З метою дослідження особливостей функціонування даних ензимів за умов аліментарної депривації протеїну дослідних тварин протягом 28 днів утримували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні. Гострий токсичний гепатит моделювали шляхом введення щурам *per os* парацетамолу з розрахунку 1250 мг/кг (0,5 LD₅₀) маси тварини у вигляді суспензії 2% розчину крохмалю протягом 2 діб. Встановлено, що перебування тварин на низькопротеїновому раціоні супроводжується зниженням γ -глутаміліцистеїнсинтезної активності в гепатоцитах в 1,3 рази порівняно з показниками контролю. Аналогічна тенденція змін динаміки досліджуваної ензиматичної активності відмічалась і в групі тварин, яким моделювали гостре ураження печінки. Однак, за умов перебування тварин на низькопротеїновому раціоні з одночасним введенням токсичних доз парацетамолу в гепатоцитах зафіксовано найнижчі значення активності ензиму синтезу глутатіону – γ -глутаміліцистеїнсинтезази порівняно з контролем. Щодо рівня глутатіон-S-трансферазної активності в гепатоцитах тварин, які зазнавали білкової недостатності, нами встановлено зниження даного показника порівняно з контролем в 9 разів. Водночас введення токсичних доз ацетамінофену також супроводжувалось достовірним зниженням активності GSH порівняно з показниками контролю. Слід відмітити, що визначальним фактором в даному випадку незалежно від умов раціону є саме гостре медикаментозне ураження клітин печінки, оскільки показники глутатіонтрансферазної активності в групі тварин, яким вводили парацетамол на фоні розвитку білкової недостатності та під час моделювання токсичного гепатиту за умов повноцінного харчування достовірно не відрізнялися. Зі зниженням активності глутатіон-S-трансферази в гепатоцитах усіх дослідних груп щурів відбувається достовірне зниження вмісту відновленого глутатіону. Результати досліджень засвідчують, що за умов аліментарної депривації протеїну рівень GSH виявився нижчим значень контролю в 1,4 рази. Водночас введення токсичних доз ацетамінофену супроводжувалось зниженням вмісту відновленого глутатіону в 1,6 рази порівняно з показниками контрольної групи тварин. Таким чином синергічна дія двох несприятливих факторів – білкової недостатності та медикаментозного ураження печінки – супроводжувалась зниженням в клітинах печінки активності ключового ензиму процесів кон'югації глутатіон-S-трансферази з одночасним зменшенням вмісту відновленого глутатіону.

Ключові слова: глутатіон, γ -глутаміліцистеїнсинтезаза, глутатіон-S-трансфераза, низькопротеїнова дієта, гостре ураження печінки

Вступ. Аліментарні порушення обміну протеїнів, пов'язані з недостатністю, одноманітністю, дефіцитом або домінуванням окремих амінокислот, відіграють важливу роль у формуванні різних патологій та визначають особливості їх перебігу (Тимофеева и др., 2004; Громова, 2006). Відомо, що за умов тривалої білкової недостатності різко порушується біосинтез білків у різних органах, зокрема у печінці (Баскакова, 2007). Досить часто нераціональне харчування, дисбаланс вітамінів та амінокислот призводять до розвитку гострих чи хронічних поліетіологічних запальних захворювань печінки (Vetter et al., 2010). Окрім того, причиною розвитку гострих токсичних уражень печінки може бути застосування

високих доз терапевтичних лікарських засобів, зокрема парацетамолу (James et al., 2003).

Гепатотоксичні властивості парацетамолу реалізуються шляхом утворення активних кисневих метаболітів, надмірне утворення яких супроводжується розвитком ендогенної інтоксикації (Пентюк и др., 2001). Тому особливо важливим вважається з'ясування ролі протекторних механізмів організму, які могли б захистити його від дії стресорів. Відомо, що кооперативна робота ензимів антиоксидантної глутатіонової системи виступає важливим чинником підтримання концентрації вільних радикалів.

Глутатіон-S-трансфераза (GST, КФ 2.5.1.18) – багатofункціональний ензим, що бере участь в процесах детоксикації ксенобіотиків та ендоген-

них токсичних речовин, зв'язуванні та транспорті гідрофобних молекул, зберіганні оксиду нітрогену, модуляції внутрішньоклітинної передачі сигналу через взаємодію ензиму з кіназами та адаптерними протеїнами сигнальних шляхів (Кулинский и др., 2009). За рахунок відновленого глутатіону (GSH) ензим здійснює пряму регенерацію ліпопероксидів у мембранах, знижуючи наслідки оксидативного стресу та ендогенної інтоксикації. Кон'югація з глутатіоном токсичних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та окислювальної модифікації білків (ОМБ) сприяє їх виведенню із організму.

Експериментальними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере участь в механізмах регуляції проліферації та апоптозу, які залучені в патогенез хронічних захворювань печінки (Sherratt et al., 2002, Сервецький та ін., 2009).

Метою роботи було дослідити активність ензимів синтезу та кон'югації глутатіону в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого парацетамол-індукованого ураження печінки.

Об'єкт і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах віком 2,5-3 місяці та масою 90-100 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварин утримували у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води. Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу парного харчування (Mashiko et al., 2007).

Моделювання гострого ураження печінки здійснювали шляхом введення *per os* дослідним тваринам парацетамолу з розрахунку 1250 мг/кг (0,5 LD₅₀) маси тварини у вигляді суспензії в 2% розчині крохмального гелю один раз на день протягом 2 діб (Стефанов, 2001, Покотило та ін., 2009).

Дослідні тварини були поділені на групи:

1 – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К) (Reeves et al., 1993);

2 – тварини, які протягом 4 тижнів до початку експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР) (Reeves et al., 1993);

3 – тварини, яким викликали гостре ураження печінки(Г);

4 – тварини, яким після утримання на низькопротеїновому раціоні, моделювали парацетамол-індуковане ураження печінки (НПР+П).

Цервікальну дислокацію дослідних тварин під легким ефірним наркозом проводили на 28 добу експерименту.

Виділення гепатоцитів проводили неферментативним методом (Неменова, 1972, Петренко и др., 1991). Тканини печінки спочатку перфузували розчином Хенкса (37°C) без EDTA шляхом введення через *V. portae* для видалення крові із судин, а потім з додаванням 2 мМ EDTA для ослаблення міжклітинних контактів внаслідок видалення іонів Ca²⁺. Відперфузовану печінку перетирали з подальшим центрифугуванням при 100 г протягом 10 хв. Отриманий осад двічі відмивали. Гепатоцити ресуспендували до концентрації 2-3•10⁷ кл/мл та підраховували в камері Горяєва шляхом зафарбовування в 0,2% трипановому синьому. Життєздатність клітин становила 94%±2%. У подальших дослідженнях гепатоцити вносили в пробу в кількості 3•10⁶ клітин.

γ-Глутамілцистеїнсинтетазну активність (γ-ГЦС, КФ 6.3.2.2,) визначали за утворенням неорганічного фосфору (P_i) в реакційній суміші, що містила 0,01 М L-глутамат, 0,01 М L-амінобутират, 0,02 М MgCl₂, 0,005М Na-АТФ, 0,2 М трис-НCl, рН 8,2 (Orlowski et al., 1971). Реакцію зупиняли додаванням 10% розчину ТХО. Кількість неорганічного фосфору в надосадовій рідині визначали методом Фіске-Суббароу (Fiske et al., 1925). Концентрацію P_i в пробі розраховували за калібрувальною кривою, використовуючи розчин КН₂РO₄ (500 мкг/мл).

Глутатіон-S-трансферазну активність реєстрували шляхом ензиматичного утворення глутатіон-S-2,4-динітробензолу в реакції відновлення глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом (ХДНБ) (Власова и др., 1990). Активність GST розраховували з використанням молярного коефіцієнта світлопоглинання глутатіон-S-2,4-динітробензолу 9,6 мМ⁻¹·см⁻¹ та виражали в мкмоль продукту, утвореного за 1 хв на 1 мг протеїну (Мартинчик и др., 1986).

Вміст відновленого глутатіону визначали за здатністю його тіолових груп при взаємодії з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою утворювати забарвлену сполуку – тіо-2-нітробензойну кислоту (Путилина, 1982).

Концентрацію протеїну визначали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Вірогідною вважали різницю при *P* ≤ 0,05.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що в гепатоцитах щурів,

які перебували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження γ -глутамілцистеїнсинтетазної активності в 1,3 рази порівняно з контрольною групою тварин (рис. 1). Відомо, що γ -ГЦС каталізує першу АТР-залежну стадію синтезу глутатіону з цистеїну та глутамату. За даними літератури (Shepherd et al., 2000, Scharf et al., 2003) ця стадія є лімітуючою, оскільки визначається активністю даного ензиму. Регуляція γ -ГЦС відбувається двома шляхами: конкурентним інгібуванням глутатіоном по типу зворотного зв'язку, що являється алостеричним та залучає GSH у зв'язування з глутаматним сайтом ензиму або доступністю цистеїну, фізіологічна концентрація якого в клітинах в 2 порядки нижча, ніж глутамату (Кулинский и др., 2009). Вірогідно, за умов аліментарної депривації протеїну зниження активності γ -глутамілцистеїнсинтетази пов'язане саме зі зменшення вмісту цистеїну, який надходить внаслідок розпаду екзогенного білка, а в печінці, в основному,

утворюється із метіоніну шляхом трасульфування (Stipanuk et al., 2006, Пентюк та ін., 2003).

Аналогічна тенденція зниження активності γ -ГЦС спостерігається в клітинах печінки тварин, яким вводили токсичні дози парацетамолу. Слід відмітити, що в гепатоцитах щурів за умов моделювання гострого медикаментозного ураження печінки на фоні низькопротеїнової дієти, нами зареєстровано найнижчі значення досліджуваної ензиматичної активності, які виявилися в 2 рази меншими порівняно з показниками контролю (рис. 1). За даними літератури (Shepherd et al., 2000, Пентюк и др., 2001, Покотило та ін., 2009) реалізація токсичності парацетамолу характеризується надмірним утворенням активних форм кисню та оксиду азоту, що призводить до розвитку оксидативного стресу. Окрім того, відомо, що внаслідок виникнення неспецифічних стресових реакцій відбувається фосфорилування важкої субодиниці ензиму γ -ГЦС та зниження її активності (Кулинский и др., 2009).

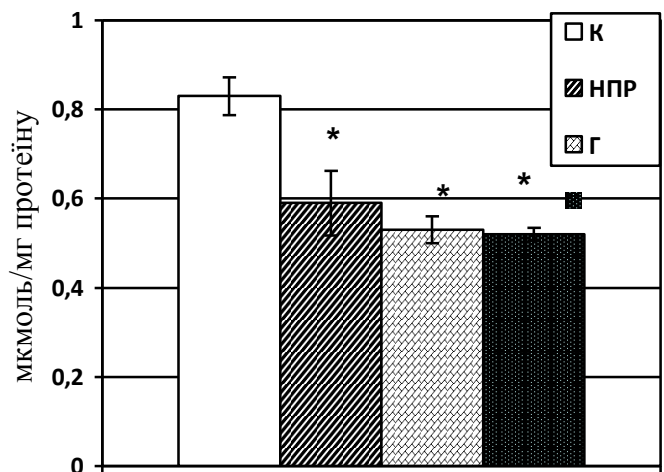
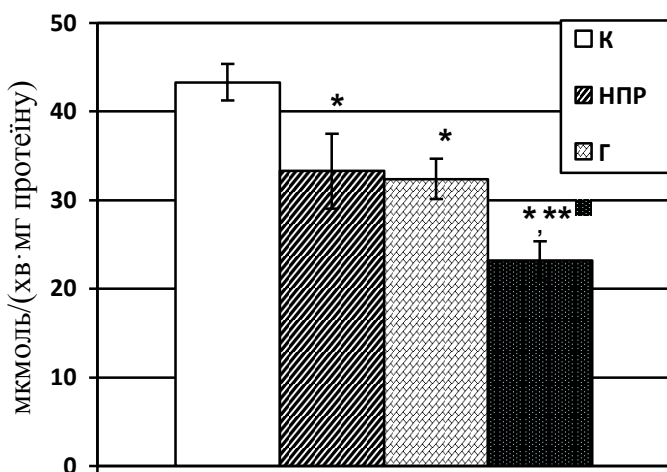


Рис. 1. γ -Глутамілцистеїнсинтетазна активність в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Fig. 1. γ - Glutamyl cysteine synthase activity in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Примітка (тут і надалі): К – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами; НПР – тварини, які протягом 4 тижнів до початку експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну); Г – тварини, яким викликали гостре ураження печінки; НПР+Г – тварини, яким після утримання на низькопротеїновому раціоні, моделювали парацетамол-індуковане ураження печінки; * – статистично достовірна різниця порівняно з показниками контролю, $P \leq 0,05$; ** – статистично достовірна різниця порівняно з показниками тварин, яким вводили парацетамол, $P \leq 0,05$.

Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Fig. 2. The level of reduced glutathione in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Note (hereinafter): K - animals that were kept on a semisynthetic diet balanced in all nutrients; НПР - animals that received a semisynthetic low-protein diet (1 /3 of the conventional rules of the daily requirement of protein) are within 4 weeks before the experiment; Г - animals, which caused acute liver injury; НПР+Г - animals, which modeled acetaminophen-induced liver injury after receiving low-protein diet.

* - Statistically significant difference compared to control values, $P \leq 0,05$; ** - Statistically significant difference compared to animals which were acetaminophen administered, $P \leq 0,05$.

Не виключено, що зниження γ -глутамілцистеїнсинтетазної активності в гепатоцитах щурів за умов аліментарної депривації протеїну та парацетамол-індукованого ураження печінки призводитиме до зменшення кількості відновленого глутатіону. Так, результати досліджень засвідчили достовірне зменшення вмісту GSH в усіх дослідних групах тварин порівняно з показниками контролю (рис. 2). Можна припустити, що за умов аліментарної депривації протеїну зниження рівня відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів зумовлено не лише зниженням активності γ -глутамілцистеїнсинтетази, а й недостатністю попередників-амінокислот. Загальновідомо, що сам глутатіон може виступати резервом цистеїну, а кількість вільного цистеїну є одним з лімітуючих факторів синтезу даного трипептиду *de novo* (Dickinson et al., 2002, Townsend et al., 2003). Тому, ймовірно, за умов білкової недостатності зменшення вмісту GSH пов'язано з його частковим розпадом задля вилучення амінокислот, з подальшим їх використанням для синтезу тканинних білків. З іншого боку, зниження вмісту глутатіону в клітинах печінки тварин за умов аліментарної депривації протеїну може ініціювати розвиток оксидативного стресу та поглиблювати процеси пероксидації ліпідів та білків (Сервецький та ін., 2009).

Відомо, що в печінці парацетамол метаболізується з утворенням активного метаболіту *N*-ацетил-*p*-бензохіноніміну. Кон'югація його з глутатіоном сприяє перетворенню даного метаболіта в меркаптурову кислоту, що екскретується нирками. Однак введення дослідним тваринам токсичних доз парацетамолу супроводжується зниженням рівня GSH в печінці, що, вірогідно, обумовлено формуванням ковалентних зв'язків між цистеїном глутатіону та *N*-ацетил-*p*-бензохінонаміном. Коли запаси глутатіону виснажуються, метаболіти парацетамолу арилюють нуклеофільні макромолекули, необхідні для життєдіяльності гепатоцитів, викликаючи таким чином некроз клітин печінки (James et al., 2003). Водночас зменшення рівня відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів за умов гострого медикаментозного гепатозу може бути зумовлено його інактивацією внаслідок парацетамолової гепатотоксичності (Пентюк и др., 2001).

В організмі глутатіон може використовуватись як косубстрат глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази (Коржов и др., 2007, Кулинский и др., 2009). Нами встановлено, що в групі тварин, які утримувались на низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження активності глутатіон-*S*-трансферази в 9 разів порівняно з показниками контрольної групи тварин (рис. 3).

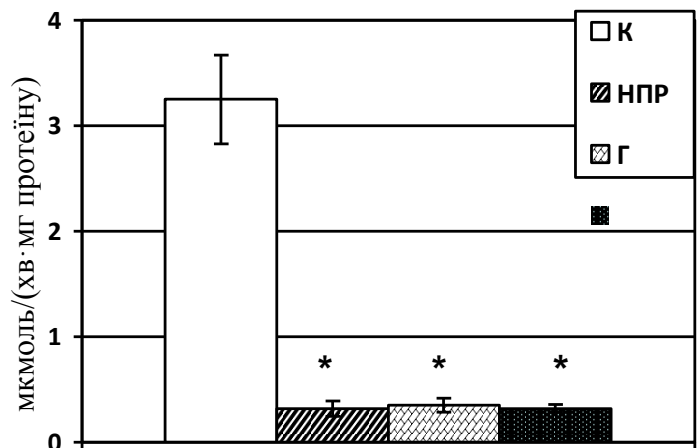


Рис.3. Глутатіон-*S*-трансферазна активність в гепатоцитах щурів за умов низькопротеїнового раціону та гострого ураження печінки

Рис. 3. Glutathione-*s*-transferase activity in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury

Ймовірно, причиною зниження глутатіонтрансферазної активності за умов аліментарної депривації протеїну може бути недостатність амінокислот, в тому числі й незамінних, для синтезу поліпептидних ланцюгів ензиму (Sherratt et al., 2002, Нікітченко та ін., 2008). З іншого боку, пригнічення активності глутатіонтрансферази може відбуватися внаслідок порушення структурно-функціональної цілісності ензиму, викликаного підвищеним вмістом ендотоксинів за умов метаболічних порушень білкового обміну.

Аналогічна тенденція змін досліджуваної ензиматичної активності відмічається й за умов введення токсичних доз парацетамолу (рис. 3). Вірогідно, зниження GST-активності при передозуванні парацетамолом буде призводити до порушення процесів кон'югації, внаслідок чого *N*-ацетил-*p*-бензохінонімін виявлятиме пошкоджуючий ефект (James et al., 2003, Пентюк и др., 2001).

Висновки. Таким чином за умов аліментарної депривації протеїну та гострого ураження печінки відбувається зниження γ -глутамілцистеїнсинтетазної та глутатіон-*S*-трансферазної активностей з одночасним зменшенням вмісту відновленого глутатіону.

Список літератури:

1. Баскакова Д.В. Белковая недостаточность // Consilium provisorum Ukraina. – 2007. – № 3. – С. 24-32.
2. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов

- эритроцитов при хронических заболеваниях у детей // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 19-21.
3. Громова Л.В. Влияние белкового голодания на гидrolитические и транспортные характеристики тонкой кишки крыс в условиях хронического опыта // Росс. физиол. журн. – 2006. – Т. 92, № 10. – С. 1239-1249.
 4. Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и защиты // Журн. АМН Украины. – 2007. – Т. 13, №1. – С. 3-19.
 5. Кулинский В.И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255-277.
 6. Мартинчик А.Н., Бондарев Г.И. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в печени крыс в зависимости от восстановленного глутатиона // Вопр. мед. химии. – 1986. – Т. 32, № 2. – С. 39-43.
 7. Неменова Ю.М. Методы лабораторных клинических исследований. – М.: Медицина, 1972. – 424 с.
 8. Нікітченко Ю.В., Падалко В. І., Ткаченко В. М. та ін. Активність глутатіонзалежної антиоксидантної системи печінки і крові щурів залежно від γ -опромінення та раціону харчування // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 3-9.
 9. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражения печени ксенобиотиками // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 2. – С. 8-14.
 10. Пентюк О. О., Луцук М. Б., Андрушко І. І. та ін. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75. - № 1. – С. 5-17.
 11. Петренко А.Ю., Сукач А.Н., Росляков А. Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активность // Биохимия. – 1991. – Т.56, вып. 9. – С. 1647-1650.
 12. Покотило О.С., Коваль М.І. Ліпідний статус плазми крові щурів різного віку при експериментальному парацетамоловому гепатиті та його корекція // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2009. – Т. 2, № 46. – С. 10-15.
 13. Путилина Ф. Е. Опеределение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Мет. биохим. исслед. – Л.: Изд-во Ленинград. у-та. – 1982. – С. 183-185.
 14. Сервецький К.Л., Чабан Т. В., Солтик С. М. Оцінка інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів і активності ферментів глутатіонової редокс-системи при токсичному гепатиті у щурів // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, № 3. – С. 146-149.
 15. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. – Київ: Авіцен, 2001. – 527 с.
 16. Vemeur C., Desjardins P., Roger F. Role of Nutrition in the Management of Hepatic Encephalopathy in End-Stage Liver Failure // Journal of Nutrition and Metabolism. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1-12
 17. Dickinson D.A., Forman H.J. Cellular glutathione and thiols metabolism // Biochemical Pharmacology. – 2002. – Vol.64. – P. 1019-1026.
 18. Fiske C.H., Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus // J. Biol. Chem. – 1925. – Vol. 66. – P. 375-400.
 19. James L.P., Mayeux P.R., Hinson J.A. Acetaminophen-induced hepatotoxicity // Drug metabolism and disposition. – 2003. – Vol. 31, № 12. – P. 1499-1506.
 20. Lowry O.H., Rosenbrougn N.I., Farr A.L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent, // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol.193. – P. 265-275.
 21. Mashiko S., Ishihara A., Iwaasa H. et al. Pair-Feeding Study Reveals That a Y5 Antagonist Causes Weight Loss in Diet-Induced Obese Mice by Modulating Food Intake and Energy Expenditure // Molecular pharmacology. – 2007. – Vol. 71, № 2. – P. 602-608.
 22. Orłowski M., Meister A. Partial Reactions Catalyzed by γ -Glutamylcysteine Synthetase and Evidence for an Activated Glutamate Intermediate // The Journal of Biological Chemistry – 1971. – Vol. 246, № 23. – P. 7095-7105.
 23. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet // The journal of nutrition. – 1993. – № 5. – P. 1939-1951.
 24. Scharf G., Prustomersky S., Knasmüller S. et al. Enhancement of Glutathione and γ -Glutamylcysteine Synthetase, the Rate Limiting Enzyme of Glutathione Synthesis, by Chemoprotective Plant-Derived Food and Beverage Components in the Human Hepatoma Cell Line HepG2 // Nutrition and Cancer. – 2003. – Vol. 45, № 1. – P. 74-83.
 25. Shepherd G.A., Manson M.M., Ball W.L. et al. Regulation of rat glutamate-cysteine ligase (γ -glutamylcysteine synthetase) subunits by chemopreventive agents and in aflatoxin B1-induced preneoplasia // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 21, № 10. – P. 1827-1834.
 26. Sherratt P., Hayes J. Glutathione-S-transferases // Enzyme Systems that Metabolise Drugs and other Xenobiotics. – 2002. – 566 p.
 27. Stipanuk M. H., Dominy J. E., Lee J. I., Coloso R. M. Mammalian cysteine metabolism: new insight into regulation of cysteine metabolism // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136, № 6. – P. 1652-1659.
 28. Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2003. – Vol.57/ - P. 145-155.

THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE SYNTHESIS AND CONJUGATION ENZYMES IN RAT HEPATOCYTES UNDER CONDITIONS OF LOW-PROTEIN DIET AND ACUTE LIVER INJURY

G. P. Kopylchuk, I. M. Buchkovska, N. L. Borschovetska, N. V. Chopyk

The activity of enzymes of glutathione synthesis and conjugation were studied in rat hepatocytes under conditions of protein nutritional deprivation and acute acetaminophen -induced liver injury. Experimental animals were kept at a semisynthetic low-protein diet for 28 days to study the features of functioning of enzymes under conditions of protein nutritional deprivation. Acute toxic hepatitis modeled by acetaminophen administration per os at the rate of 1250 mg / kg (0,5 LD₅₀) of the rats in the form of a suspension of 2% starch solution for 2 days. A significant decrease in to glutathione synthesis enzyme activity – γ -glutamyl cysteine synthase by 1.3 times compared to control group values was determined in hepatocytes under conditions of low-protein diet. A similar trend changes the dynamics of the studied enzymatic activity was observed in the rat group which modeled acute liver injury. However, the least values of the glutathione synthesis enzyme activity compared to control group values were fixed in rat hepatocytes hepatocytes under conditions of low-protein diet while and acetaminophen administration in toxic doses. We found decrease in to glutathione-S-transferase activity by 9 times compared to control group values in rat hepatocytes under conditions of protein deficiency. However, the acetaminophen administration in toxic doses is also accompanied by a significant decrease in the GST activity compared to control group values. As indicators glutathione-S- transferase activity was not significantly different in the rat group wich were acetaminophen administered on the background of protein deficiency and during the modeling of toxic hepatitis in conditions of nutrition, it should be noted that the acute liver cells injury is a determining factor in this case, regardless of the diet. A significant decrease in to level of reduced glutathione was determined in all experimental groups of rat hepatocytes takes place with a decrease in the glutathione-S-transferase activity. The research results indicate that level GSH was lower in 1.4 times than the control value under conditions of protein nutritional deprivation. At the same time the acetaminophen administration in toxic doses was associated with a decreased level of reduced glutathione in 1.6 times compared to control group values. However, synergistic effect of two negative factors - protein deficiency and drug - induced liver iniury were accompanied with a decrease in glutathione-S- transferase activity as well as with the decreased level of reduced glutathione in liver cells.

Keywords: glutathione, γ -glutamylcysteine synthetase, glutathione S-transferase, low-protein diet, acute liver injury

Одержано редколегією 15.02.2014

АКТИВАЦІЙНА ДІЯ СОРБОВАНОГО ПЛАЗМІНУ. МОДЕЛЮВАННЯ *IN VITRO*

С. В. ВЕРЬОВКА¹, Н. Г. РАКША², О. М. САВЧУК²

¹Державна установа «Інститут отоларингології ім. О. С. Коломійченка НАМН України»
03680, Київ, вул. Зоологічна, 3

²Навчально-науковий центр «Інститут біології»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка
01601, Київ, вул. Володимирська, 64/13
e-mail: nkudina@ukr.net

*Одним з основних факторів розвитку запальних та онкологічних процесів є надмірна активаційна дія плазміну - ключового ферменту фібринолітичної ланки системи крові. Така значна активація обумовлена зв'язуванням плазміногену не лише з поверхнею фібринової сітки, а й з поверхнею судин, зокрема, з дипольними парами амінокислотних залишків, які є структурними аналогами лігандів лізин-зв'язуючих ділянок плазміногену і експонуються на зовнішній бік клітинних мембран при їх взаємодії з білковими та пептидними продуктами ендогенної інтоксикації. Досліджено активаційну дію специфічно сорбованого на лізин-агарозному носіїві плазміну по відношенню до розчинного протромбіну плазми крові. Показано розвиток значної тромбін-подібної амідолітичної активності, яка не пригнічується наявним в системі антитромбіном III. Одержані результати свідчать про здатність сорбованого лізин-зв'язуючими ділянками плазміну до протеолітичного ушкодження та нефункціональної активації розчинних білків крові. Обговорюються механізми формування подібної активації *in vivo* та її можлива роль за розвитку патологічних станів, зокрема, синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові.*

Ключові слова: плазмін, тромбін, ДВЗ-синдром.

Вступ. Ферментативний гідроліз білків становить невід'ємну складову процесів обміну речовин – молекулярної основи життя. Відомо понад п'ятсот протеїназ, які різняться за будовою активного центру, направленістю дії та локалізацією в компартментах організму (Puente, Lopez-Otin, 2004). Окрім деградації відпрацьованих, денатурованих та харчових білків, протеолітичні ферменти опосередковують активаційні процеси за рахунок високовибіркового розщеплення так званих активаційних зв'язків в проформах найрізноманітніших білків. Нерідко проактивована молекула також виявляє активаційні властивості, що призводить до формування складних та розгалужених активаційних каскадів. При цьому надмірна протеолітична активність та активаційна здатність обмежується блокуванням ферментів відповідними високоспецифічними білковими інгібіторами. Сформований таким чином протеолітично-інгібіторний баланс забезпечує належне функціонування незлічених систем організму. Однак за різних патологічних станів відбувається істотний зсув балансу в бік надмірного протеолізу з подальшим розвитком комплексних порушень на молекулярному та тканинному рівнях. Зокрема, надмірна активація протеолізу є невід'ємною рисою запальних процесів найрізноманітнішої етіології (Lindstedt et al., 2004) та визнається одним з провідних чинників канцеро-

генезу (Kassenbrock et al., 2010). При цьому на особливу увагу заслуговують ферменти системи гемостазу, задіяні в різноманітних фізіологічних та патофізіологічних процесах, що виходять далеко за межі забезпечення нормального кровообігу (Волков и др., 2005). Так, надмірна активаційна дія ключового ферменту фібринолітичної системи крові плазміну (Пм, КФ 3.4.21.7) визнається одним з основних чинників розвитку запальних та онкологічних процесів (Mc Intyre J., Matrisian L., 2003). Зумовлена вона здатністю проферменту плазміну – плазміногену (Пг) та його тканинного активатора (т-ПА, КФ 3.4.21.68) до нефункціонального зв'язування зі структурами, утвореними білковими компонентами ендогенної інтоксикації під впливом клітинних мембран. Закономірності взаємодії клітинних мембран зі структурно-незбалансованими білками та пептидами призводять до формування на зовнішній поверхні клітин дипольних пар амінокислотних залишків, що розпізнаються та ефективно зв'язуються лізин-зв'язуючими ділянками циркулюючих в кров'яному руслі Пг та тПА з подальшим розвитком нефункціональних активаційних та протеолітичних процесів (Verevka, Grinenko, 2011). За фізіологічних умов подібне зв'язування відбувається на поверхні фібринової сітки, призводить до перетворення Пг в Пм та послідовного розщеплення фібрину (Фн), під час

якого Пм за допомогою специфічних ділянок міжмолекулярної взаємодії мігрує по поверхні Фн з розщепленням останнього на відносно великі розчинні фрагменти. Натомість, активація Пг на поверхні судин може призвести до нефункціональної активації та протеолітичного ушкодження найрізноманітніших білків крові. Відомо, що сорбція плазміну на Фн захищає його від інактивації нативним інгібітором – α_2 -антиплазміном (Волков и др., 2005). Видається за доцільне перевірити, чи здатен сорбований Пм до активації розчинних білків. Чи не найбільший інтерес при цьому становить питання про можливість активації сорбованим плазміном протромбіну – проформи ключового ферменту зсідаючої ланки системи гемостазу тромбіну (КФ 3.4.21.5). Тому метою даної роботи було експериментально перевірити можливість активації протромбіну плазми крові плазміном, специфічно зв'язаним лізин-зв'язуючими ділянками з нерозчинним лізин-агарозним носієм.

Матеріали та методи дослідження. Плазміноген людини отримували з цитратної плазми крові за стандартним методом афінної хроматографії на лізин-агарозі (Deutsch, Mertz, 1970). Активацію Пг в Пм здійснювали відповідно до стандартної методики з використанням стрептокінази, ковалентно іммобілізованої на активованій BrCN-агарозі (Wiman, Wallen, 1973). Специфічну сорбцію Пм на лізин-агарозі проводили наступним чином: розчин Пм (2,5 мг/мл) за умови постійного перемішування на шейкері інкубували впродовж 5 хв при 20°C з суспензією лізин-агарози в 0,05 М трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містив 0,2 М NaCl. Після інкубації лізин-агарозу з сорбованим плазміном поміщали в хроматографічну колонку, яку послідовно промивали 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4 та 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4, що містив 0,2 М NaCl. Для дослідження процесу активації протромбіну використовували цитратну плазму крові людини, відтестовану за параметрами тромбінового, протромбінового часу та активованого часткового тромбoplastинного часу, при цьому значення вказаних показників зберігалися в межах, характерних для нормального функціонування гемостатичного каскаду. З метою одержання плазми, збідненої на Пг, її пропускали через колонку з лізин-агарозою, урівноважену 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4, що містив 0,2 М NaCl. Перевірку повноти очищення плазми від Пг проводили за стандартним методом визначення амідолітичної активності з використанням хромогенного субстрату S₂₂₅₁ після активації плазміногену стрептокіназою (Fareed et al., 1983). Для визначення активаційної дії специфічно сорбованого на лізин-агарозі Пм, плазму, позбавлену Пг інкубува-

ли з лізин-агарозою з сорбованим Пм при 37°C впродовж 15 хв. Після закінчення інкубації агарозу осаджували шляхом центрифугування при 10 000g, 15 хв та відбирали надосадову рідину. Для оцінки активаційної дії сорбованого на лізин-агарозі Пм в лунку мікропланшету послідовно вносили 0,05 М трис-НСІ буфер, рН 7,4, 3 мМ хромогенний субстрат тромбіну S₂₂₃₈ та досліджували плазму (Fareed et al., 1983). Реєстрацію поглинання вивільнення п-нітроаніліну проводили в двоххвильовому режимі за довжини хвиль 405 та 492 нм на спектрофотометрі для мікропланшет Biotek (*Bio-Tek Instruments*, США). Як контроль використовували плазму, одержану за аналогічною процедурою з лізин-агарозою, що не містила Пм. Математичну обробку даних проводили з використанням комп'ютерної програми *Origin 7.0*. Достовірність різниці показників оцінювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Як впливає з даних, наведених на рис. 1, застосована процедура очистки плазми від плазміногену є достатньо ефективною, лишаячи в розчині лише його слідові кількості. Разом з тим видно, що за тривалої інкубації розвивається певна амідолітична активність стосовно хромогенного субстрату S₂₂₅₁. Практично повна відсутність плазмін-подібної амідолітичної активності впродовж перших 15 хвилин інкубації та її поступове наростання з часом можна пояснити розвитком молекулярних змін *ex vivo*, що хоч і створюють певні ускладнення за клінічної діагностики, однак за належного вивчення можуть слугувати джерелом цінної інформації щодо притаманних патологічним процесам молекулярних порушень (Liotta, Petricoin, 2006).

На рис. 2 наведено показники тромбін-подібної амідолітичної активності позбавленої власного Пг плазми крові після інкубації з лізин-агарозою, що містила попередньо сорбований Пм. У порівнянні з контролем спостерігається розвиток значної тромбін-подібної амідолітичної активності. Характерно, що як і у випадку остаточної плазмін-подібної амідолітичної активності (рис. 1), гідроліз хромогенного субстрату S₂₂₃₈ відбувається незважаючи на присутність достатніх кількостей білкових інгібіторів плазміну та тромбіну.

Відомо, що розвиток запальних та онкологічних процесів супроводжується зростанням тромбін-подібної амідолітичної активності не зважаючи на цілком достатній рівень інгібітору тромбіну – антитромбіну III (Верьовка и др., 2012). Подібне явище може бути пояснено за рахунок утворення протеолітично ушкоджених похідних тромбіну, які виявляються за багатьох патологічних процесів (Chen, Dorling, 2009).

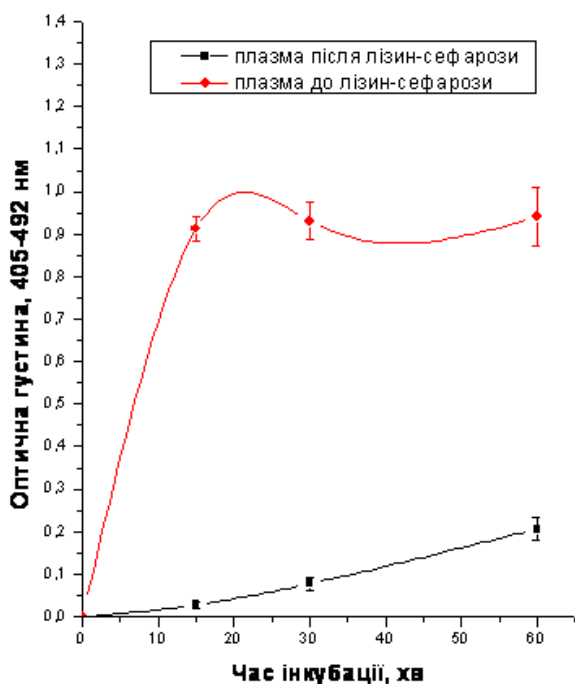


Рис. 1. Плазмин-подібна амідолітична активність у плазмі крові людини
 Fig. 1. Plasmin-like amidolytic activity in human plasma

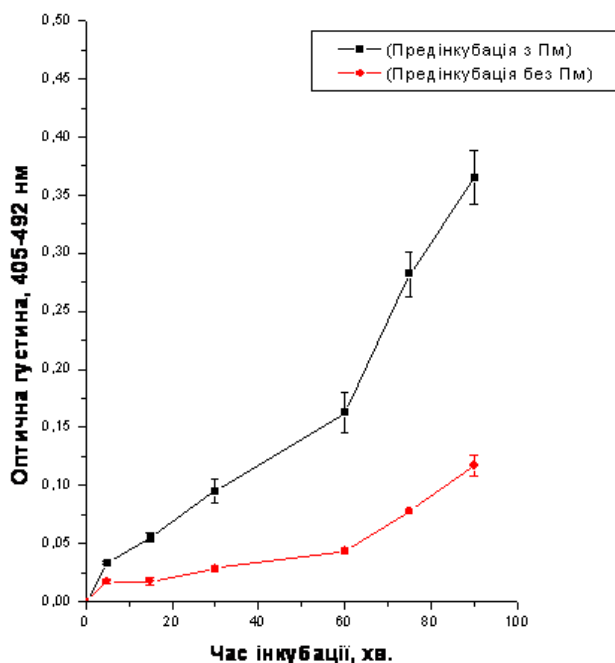


Рис. 2. Тромбін-подібна амідолітична активність у плазмі крові людини
 Fig. 2. Thrombin-like amidolytic activity in human plasma

Отже, наведені дані однозначно свідчать про здатність сорбованого лізин-зв'язуючими ділянками Пм до ефективної протеолітичної активації та ушкодження розчинних білків крові.

Варто зазначити, що виявлений нами ефект може мати безпосереднє відношення до такого ускладнення гемостазу, як дисеміноване внутрішньосудинне зідання крові (ДВЗ-синдром). Як відомо, ДВЗ-синдром спостерігається за багатьох захворювань, що супроводжуються розвитком ендогенної інтоксикації (Rak et al., 2006). Білкові та пептидні компоненти ендогенної інтоксикації розподіляються між тканинами та рідинами організму, сорбуються на клітинних мембранах ендотелію. Закономірності взаємодії розбалансованих пептидних структур з асиметричним подвійним фосфоліпідним шаром клітинних мембран забезпечують експозицію на зовнішньому боці мембрани взаємно компенсованих пар амінокислотних залишків – структурних аналогів лігандів лізин-зв'язуючих ділянок Пг. Сорбція Пг та його активація до Пм може призводити до нефункціональної активації проферментів та протеолітичного ушкодження розчинних білків (Verevka, Grinenko, 2011). Згідно з нашими даними, протеолітична дія сорбованого Пм забезпечує не лише активацію протромбіну в тромбін, але й його протеолітичне ушкодження, що виключає або істотно обмежує його інгібування присутнім в плазмі антитромбіном III.

Якою мірою подібні процеси розповсюджуються на інші розчинні білки крові, зокрема, на фібрин, наскільки ефективно розщеплюється утворений за участі протеолітично ушкодженого фібриногену фібриновий згусток? Розв'язання даних питань може пролити світло на причини утворення стабільного фібринового згустку за ДВЗ-синдрому (Standeven et al., 2005). З тих же міркувань заслуговує на увагу й така властивість клітинних мембран, як здатність до пошарової β -агрегації сорбованих білків (Verevka, 2013). У випадку тромбоутворення це створює передумови для формування “прикордонного шару” фібрину, структура якого відзначається підвищеною опірністю до фібринолізу (Savchuk et al., 2009). Варто підкреслити, що з огляду на геометричні причини вплив всіх цих факторів зростає зі зменшенням розміру судин, оскільки визначається співвідношенням периметру судини до його площини ($2\pi R/\pi R^2 = 2/R$). Не менш важливою обставиною є зменшення швидкості потоку зі зменшенням просвіту судини. Тобто фізичні властивості саме мікросудин забезпечують формування своєрідної “камерності” з розвитком процесів, для більших судин нехарактерних.

Висновки. Таким чином, наведені дані свідчать про здатність сорбованого лізин-зв'язуючими ділянками плазміну до протеолітичного ушкодження та активації розчинних білків крові. Обговорюються функціональні наслідки

подібного явища, зокрема, його можлива участь в розвитку ДВЗ-синдрому.

Список літератури.

1. Chen D., Dorling A. Critical roles for thrombin in acute and chronic inflammation // J. Thromb. Haemost. – 2009. – Vol. 7 (Suppl. 1). – P.122-126.
2. Contact denaturation of proteins and the problem of biocompatibility of implants / In: Molecular pathology of proteins / Savchuk A.N., Zinchenko D.A., Zabolotny D.I.– NY: Nova science Publishers, 2009. – P.159-168.
3. Deutsch D., Mertz E. Plasminogen: purification from human plasma by affinity chromatography // Science. – 1970. – V. 170, № 3962. – P. 1095-1096.
4. Fareed J., Messmore H., Walenga J., Bermes E. Diagnostic efficacy of newer synthetic-substrates methods for assessing coagulation variables: a critical overview // Clin. Chem. – 1983. – Vol. 29, № 2. – P.225-236.
5. Kassenbrock K., Zlaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of tumor microenvironment // Cell. - 2010. – Vol. 141, № 2. – P. 52-67.
6. Lindstedt K.A., Leskinen M. J., Kovanen P. T. Proteolysis of the pericellular matrix. A novel element determining cell survival and death in the pathogenesis of plaque erosion and rupture // Arterioscler. Thromb Vasc. Biol. - 2004. - Vol. 24. - P. 1350-1358.
7. Liotta L., Petricoin E. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold // J. Clin. Invest. – 2006. – Vol. 116, № 1. – P.26-30.
8. McIntyre J., Matrisian L. Molecular imaging of proteolytic activity in cancer // J. Cell. Biochem. - 2003. – Vol. 90, № 6. – P.1087-1097.
9. Parametabolic β -Aggregation of proteins: familiar mechanisms with diverse sequels / In: Advances in Medicine and Biology / Verevka S.V. – NY: Nova Science Publishers, 2013, Vol. 72. – P 29-48.
10. Pseudo-functional interactions of plasminogen: molecular mechanisms and pathologic appearance / in: Advances in Medicine and Biology / Verevka S., Grinenko T. – NY: Nova Science Publishers, 2011, Vol. 34. – P.35-62.
11. Puente X., Lopez-Otin C. Genomic analysis of rat proteases and protease inhibitors // Genome Res. – 2004. – Vol.14, № 4. – P.609-622.
12. Rak J., Yu J., Luyendyk J., Mackman N. Oncogenes, trousseau syndrome, and cancer-related changes in the coagulome of mice and humans // Cancer Res. - 2006. – Vol. 66, № 22. – P.10643–10646.
13. Standeven K., Ariens R., Grant P. The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function // Blood Rev. – 2005. – Vol. 19. – P.275-288.
14. Wiman B., Wallen P. Activation of human plasminogen by an insoluble derivative of urokinase. Structural changes of plasminogen in course of activation to plasmin and demonstration of a possible intermediate compound // Eur. J. Biochem. – 1973. – Vol. 36, № 1. – P.25-31.
15. Показники гемостатичної системи для оцінки перебігу захворювання на рак верхніх дихальних шляхів: Методичні рекомендації (27.11/183.11) / Верьовка С.В., Голобородько О.П., Кизим О.Й., Клись Ю.Г. - Київ, 2012 - 20 с.
16. Современные представления о системе гемостаза / Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н. Київ: Наукова думка, 2005 - 296 с.

ACTIVATION EFFECT OF THE SORBED PLASMIN. MODELLING *IN VITRO*

S. V. Verevka, N. G. Raksha, A. N. Savchuk

One of the major factors of cancer and inflammatory processes development is excessive activation action of plasmin - a key enzyme of the fibrinolytic system. Such significant activation was caused not only physiological plasminogen binding on the fibrin mesh surface but also pathological-mediated interaction of plasminogen with dipole pairs of amino acid residues on the vessels surface. These amino acid pairs are structural analogues of ligands for lysine-binding sites of plasminogen. Their exposition on external side of cell membranes is result of interaction of protein and peptide products of endogenous intoxication with membranes phospholipids. Activation action of plasmin specifically sorbed on lysine-agarose state against soluble plasma prothrombin had been studied. The development of significant amidolytic thrombin-like activity that was insensitive to antithrombin III inhibition was noted. The obtained results show the ability of sorbed plasmin to proteolytic damage and non-functional activation of soluble proteins of blood. Mechanisms of formation of such activation in vivo and its possible role in the development of various pathologic states, particularly at disseminated intravascular coagulation were discussed.

Key words: plasmin, thrombin, disseminated intravascular coagulation.

Одержано редколлегією 15.12.2013

АКТИВНІСТЬ NAD^+ -ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ ЦИКЛУ КРЕБСА ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ ПРОТЕЇНУ

О. М. ВОЛОЩУК, Г. П. КОПИЛЬЧУК, О. М. КОМІНКО

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

Робота присвячена вивченню ізоцитратдегідрогеназної, α -кетоглутаратдегідрогеназної, малатдегідрогеназної реакцій циклу Кребса та співвідношенню $NAD^+/NADH$ у мітохондріальній фракції печінки щурів за умов аліментарної депривації протеїну. Дослідження проведені на білих безпородних щурах масою 90 – 100 г, віком 2 – 2,5 місяці, поділених в залежності від кількості білка у раціоні на 2 групи: I група – щури, які перебували на повноцінному напівсинтетичному раціоні, збалансованому за усіма нутрієнтами; II група – щури, які перебували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні. Визначення активності NAD^+ -залежних дегідрогеназ циклу Кребса проводили спектрофотометрично. Ферментативну активність NAD^+ -залежної ізоцитратдегідрогенази реєстрували за накопиченням $NADH$ при перетворенні ізоцитрату до α -кетоглутарату, активність NAD^+ -залежної малатдегідрогенази – за накопиченням $NADH$ при окисненні малату при $\lambda=340$ нм. Активність NAD^+ -залежної α -кетоглутаратдегідрогенази визначали спектрофотометрично за інтенсивністю окиснення α -кетоглутарату при $\lambda=417$ нм. Визначення ферментативних активностей проводили у мітохондріальній фракції печінки щурів, отриманій методом диференційного центрифугування. Встановлено, що у тварин, які утримувались за умов аліментарної депривації протеїну, не спостерігається достовірних змін ізоцитратдегідрогеназної та малатдегідрогеназної активностей порівняно із показниками контрольної групи тварин. Водночас у мітохондріальній фракції печінки дослідних тварин α -кетоглутаратдегідрогеназна активність знижується у 2,2 рази. Окрім того, показано, що за даних експериментальних умов спостерігається тенденція до підвищення співвідношення $NAD^+/NADH$, що є важливим показником енергетичного стану клітини та ключовим регулятором енергетичного метаболізму, оскільки визначає швидкість і напрям реакцій енергозабезпечення та контролює функціонування загальних метаболічних шляхів у клітині. Співвідношення між окисленою та відновленою формами нікотинамідних коферментів ($NAD^+/NADH$) визначали за константою рівноваги малатдегідрогеназної реакції. Наслідком встановлених змін, ймовірно, буде порушення надходження субстратів для I комплексу електронотранспортного ланцюга мітохондрій. Зроблено висновок, що виражене гальмування α -кетоглутаратдегідрогеназної активності та підвищення співвідношення $NAD^+/NADH$ у мітохондріальній фракції печінки щурів за умов аліментарної депривації протеїну свідчить про порушення постачання інтермедіатів для роботи дихального ланцюга мітохондрій, та може розглядатися як один із механізмів дисбалансу роботи системи біотрансформації енергії у мітохондріях за умов недостатності білка у раціоні.

Ключові слова: печінка, ізоцитратдегідрогеназа, малатдегідрогеназа, α -кетоглутаратдегідрогеназа, співвідношення $NAD^+/NADH$, аліментарна депривація протеїну

Вступ. За умов обмеженого надходження білків та енергії метаболічна адаптація спрямована на забезпечення органів та тканин організму енергією і структурними субстратами за рахунок утилізації власних запасів, що супроводжується розвитком стану гіперкатаболізму (Антонов и др., 2006, Харченко и др., 2012). Синдром гіперкатаболізму характеризується різким збільшенням потреби у донаторах енергії та пластичному матеріалі, результатом чого є переважання катаболічного типу реакцій перетворення основних макромолекул організму (Дундаров, Майоров, 2009). Загальна реакція організму за умов білкового голодування зводиться до поетапного відключення ряду енергозалежних процесів, спрямованого на мобілізацію наявних енергетичних ресурсів для виконання життєво важливих функцій

(Кашуров и др., 2010). Цей стан лежить в основі численних функціональних та метаболічних порушень, проте послідовність біохімічних реакцій, які визначають розвиток та реалізацію енергетичного дисбалансу в організмі за умов нестачі протеїну в раціоні, залишається відкритим питанням та потребує детального вивчення. З одного боку, визначальними у порушенні функціонування системи біотрансформації енергії можуть бути зміни на рівні структурно-функціональної організації ферментативних комплексів дихального ланцюга мітохондрій, а з іншого – дефіцит субстратів окислення. Тому метою нашої роботи було визначення активності NAD^+ -залежних ферментів циклу Кребса – ізоцитратдегідрогенази, α -кетоглутарат-дегідрогенази та малатдегідрогенази і співвідношення $NAD^+/NADH$ у мітохонд-

ріальній фракції печінки щурів за умов аліментарної депривації протеїну.

Матеріали і методи. Дослідження проводились на білих безпородних щурах масою 90 – 100 г, віком 2 – 2,5 місяці. Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог міжнародної конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей. Модель дослідження передбачала поділ тварин на групи: I група – щурі, які перебували на повноцінному напівсинтетичному раціоні (К); II група – щурі, які перебували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні (НПР) (Reeves, 1993). Нормування добового раціону здійснювали з урахуванням принципу парного харчування. Тривалість експерименту становила 28 днів. Цервікальну дислокацію тварин проводили під легким ефірним наркозом.

Мітохондріальну фракцію з гомогенату печінки отримували методом диференційного центрифугування (Максимчук та ін., 2010). Визначення активності дегідрогеназ циклу Кребса у мітохондріальній фракції проводили спектрофотометрично. Активність NAD^+ -залежної ізоцитратдегідрогенази реєстрували за накопиченням НАДН при перетворенні ізоцитрату до α -кетоглутарату (Андреєшева и др., 2006), а активність NAD^+ -залежної малатдегідрогенази – за накопиченням $NADH$ при окисленні малату (Cetica, 2003) при $\lambda=340$ нм. Активність NAD^+ -залежної α -кетоглутаратдегідрогенази визначали спектрофотометрично за інтенсивністю окиснення α -кетоглутарату при $\lambda=417$ нм та виражали у нмоль/хв·мг білка (Kiss, 2013). Вміст білка визначали за методом Лоурі (Lowry, 1951). Співвідношення між окисленою та відновленою формами нікотинамідних коферментів ($NAD^+/NADH$)

визначали за константою рівноваги малатдегідрогеназної реакції (Jang, 2012).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи t-критерій Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності між групами при $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення. Результати проведених досліджень показали, що у тварин, які утримувались за умов аліментарної депривації протеїну, не спостерігається достовірних змін ізоцитратдегідрогеназної та малатдегідрогеназної активностей порівняно із показниками контрольної групи тварин (рис. 1, 2). Враховуючи, що ізоцитратдегідрогеназна реакція є лімітуючою у циклі Кребса (Chang et al., 2011), то підтримання досліджуваної ферментативної активності на рівні контролю за умов білкової недостатності, імовірно, відображає збереження функціональної активності основного метаболічного шляху клітини за даних експериментальних умов. Водночас підтримання активності мітохондріальної малатдегідрогенази, що каталізує термінальну реакцію циклу Кребса (Shi, 2008), на рівні значень контролю, може бути пов'язано з посиленням надходженням у мітохондрії із цитозолю малату за участі малат-аспартатного шунта або фумарату із орнітинового циклу. Водночас у мітохондріальній фракції печінки дослідних тварин α -кетоглутаратдегідрогеназна активність знижується у 2,2 рази (рис. 3). Зниження α -кетоглутаратдегідрогеназної активності за умов аліментарної депривації протеїну, з одного боку, може бути пов'язане із посиленням потоком α -кетоглутарату на використання у метаболічних шляхах перетворення амінокислот (McCammon et al., 2003).

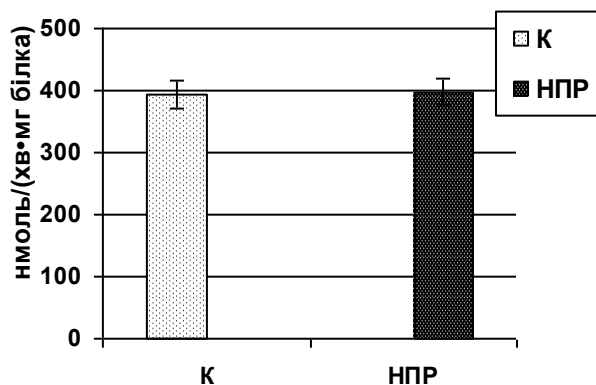


Рис. 1. Ізоцитратдегідрогеназна активність за умов аліментарної депривації протеїну.

Fig. 1. Isocitrate dehydrogenase activity under conditions of nutritional deprivation of protein.

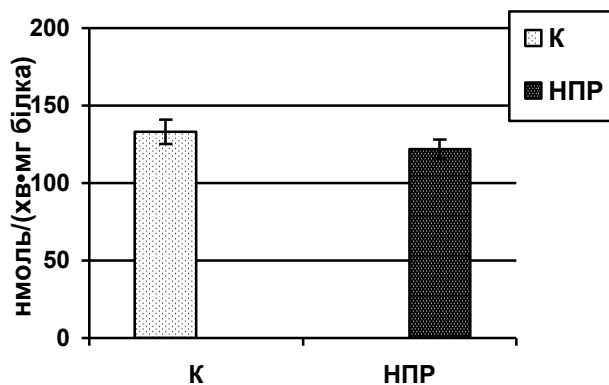


Рис. 2. Малатдегідрогеназна активність за умов аліментарної депривації протеїну.

Fig. 2. Malate dehydrogenase activity under conditions of nutritional deprivation of protein.

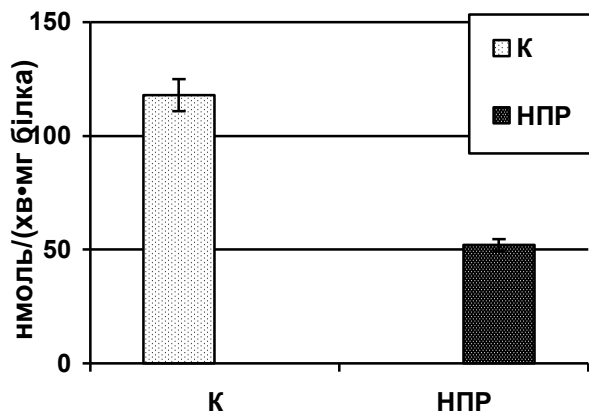


Рис. 3. α -Кетоглутаратдегідрогеназна активність за умов аліментарної депривації протеїну.
Fig. 3. α -Ketoglutarate dehydrogenase activity under conditions of nutritional deprivation of protein.

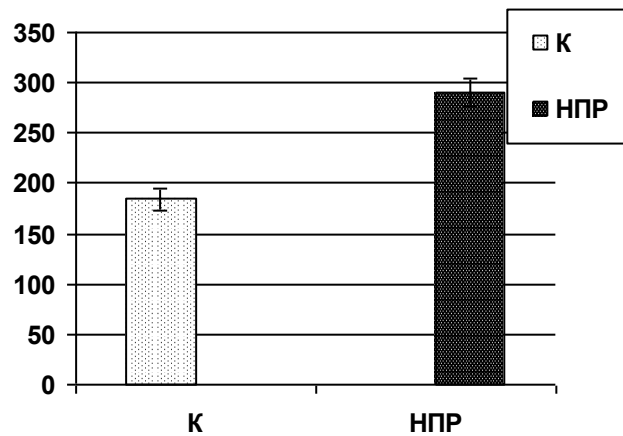


Рис. 4. Співвідношення $NAD^+/NADH$ за умов аліментарної депривації протеїну.
Fig. 4. $NAD^+/NADH$ ratio under conditions of nutritional deprivation of protein.

З іншого боку, зниження досліджуваної ферментативної активності може бути зумовлене порушеннями функціональної активності безпосередньо α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу, оскільки відомо (Starkov et al., 2004), що цей ферментний комплекс є продуцентом активних форм кисню і сам може інактивуватися за їх дії.

Враховуючи, що продуктом ізоцитратдегідрогеназної, α -кетоглутаратдегідрогеназної та малатдегідрогеназної реакцій є $NADH$, біологічна роль якого полягає у постачанні протонів та електронів для роботи дихального ланцюга мітохондрій, то надалі актуальним було визначення співвідношення $NAD^+/NADH$ у мітохондріях, що є важливим показником енергетичного стану клітини та ключовим регулятором енергетичного метаболізму, оскільки визначає швидкість і напрям реакцій енергозабезпечення та контролює функціонування загальних метаболічних шляхів у клітині (Stein, Imai, 2012). Зміна співвідношення окислених та відновлених форм нікотинамідних коферментів пов'язана з порушеннями окисно-відновних реакцій у циклі трикарбонових кислот і спряженого з ним окисного фосфорилування, та є патогенетичною основою ряду патологічних станів (Третьякова, 2003).

Результати наших досліджень показали, що за умов аліментарної депривації протеїну спостерігається тенденція до підвищення співвідношення $NAD^+/NADH$ (рис. 4). Встановлений факт вказує на підвищення рівня NAD^+ або зниження вмісту $NADH$ у мітохондріях печінки за умов недостатності білка у раціоні. Наслідком встановлених змін, ймовірно, буде порушення надходження субстратів для I комплексу електронотранспортного ланцюга мітохондрій.

Висновки. Отже, за умов аліментарної депривації протеїну не спостерігається достовірних змін ізоцитратдегідрогеназної та малатдегідрогеназної активностей на фоні гальмування α -кетоглутаратдегідрогеназної активності. Водночас спостерігається тенденція до підвищення співвідношення $NAD^+/NADH$, що, імовірно, свідчить про порушення постачання інтермедіатів для роботи дихального ланцюга мітохондрій, та може розглядатися як один із механізмів порушення роботи системи біотрансформації енергії у мітохондріях за умов аліментарної депривації протеїну.

Список літератури:

1. Cetica P. Involvement of enzymes of amino acid metabolism and tricarboxylic acid cycle in bovine oocyte maturation *in vitro* / P. Cetica, L. Pintos, G. Dalvit et al. // *Reproduction*. – 2003. – № 126. – P. 753 – 763.
2. Chang C.-M. The role of isocitrate dehydrogenase mutations in glioma brain tumors / C.-M. Chang, K. Xu, H.-K. Shu // *Molecular targets of SNC tumors*. – 2011. – № 12. – P. 413 – 436.
3. Jang S.-Y. Nicotinamide-induced mitophagy: an event mediated by high $NAD^+/NADH$ ratio and SIRT1 activation / S.-Y. Jang, H.T. Kang, E.S. Hwang // *J. Biol. Chem.* – 2012. – № 9. – P. 1 – 22.
4. Kiss G. The negative impact of α -ketoglutarate dehydrogenase complex deficiency on matrix substrate-level phosphorylation / G. Kiss, C. Konrad, J. Doczi // *The FASEB Journal*. – 2013. – Vol. 27. – P. 1 – 15.
5. Lowri O.H. Protein measurement With Folin phenol reagent / O.H. Lowri, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 123, № 1. – P. 265 – 273.
6. McCammon M.T. Global transcription analysis of Krebs tricarboxylic acid cycle mutants reveals an alternating pattern of expression and effects on hypoxic and oxidative genes / M.T. McCammon, Ch.B. Epstein, B. Przybyla-Zawislak et al. // *Molecular biology of the cell*. – 2003. – Vol. 12. – P. 958 – 972.
7. Reeves P.G. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet / P.G. Reeves, F.H.

- Nielsen, G.C. Fahey // J. Nutr. – 1993. – № 5. – P. 1939 – 1951.
8. Shi Q. Novel functions of the α -ketoglutarate dehydrogenase complex may mediate diverse oxidant-induced changes in mitochondrial enzymes associated with Alzheimer's disease / Q. Shi, H. Xu, W.A. Kleinman et al. // Molecular Basis of Disease. – 2008. – № 4. – P. 1 – 32.
 9. Starkov A.A. Mitochondrial α -Ketoglutarate dehydrogenase complex generates reactive oxygen species / A.A. Starkov, G. Fiscum, Ch. Chinopoulos et al. // Journal of Neuroscience. – 2004. – № 24 (36). – P. 7769 – 7778.
 10. Stein L.R. The dynamic regulation of NAD metabolism in mitochondria / L.R. Stein, S.-I. Imai // Trends Endocrinol Metab. – 2012. – № 23 (9). – P. 420 – 428.
 11. Андреещева Е.М. Интенсивность свободнорадикального окисления и каталитические свойства NAD^+ -изоцитратдегидрогеназы в печени крыс в норме и при токсическом гепатите / Е.М. Андреещева, Т.Н. Попова, В.Г. Артюхов и др. // Биомед. хим. – 2006. – Т. 52, вып. 6. – С. 153 – 160.
 12. Антонов А.Р. Особенности течения катаболического синдрома у лиц с пониженной массой тела на фоне функционального питания / А.Р. Антонов, Е.Ю. Баталова, Я.Б. Новоселов и др. // Биомед. журн. – 2006. – Т. 7. № 2. – С. 427 – 434.
 13. Дундаров З.А. Основные проблемы проведения нутритивной поддержки у пациентов в критических состояниях / З.А. Дундаров, В.М. Майоров // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 2. – С. 119 – 129.
 14. Кашуро В.А. Некоторые механизмы нарушения биоэнергетики и оптимизация подходов к их фармакотерапии / В.А. Кашуро, В.Б. Долго-Сабуров, В.А. Башарин и др. // Биомед. журн. – 2010. – Т. 11. – С. 611 – 634.
 15. Лапешин П.В. Состояние активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови и в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого у больных немелкоклеточным раком легкого / П.В. Лапешин, А.А. Савченко, Ю.А. Дыхно и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – № 3 (15). – С. 48 – 53.
 16. Максимчук Ю.З. Повреждение митохондрий печени крыс при интоксикации тетрахлоретаном. Эффекты мелатонина / Ю.З. Максимчук, И.К. Дремза, Е.А. Лапшина // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27, № 3. – С. 262 – 271.
 17. Третьякова О.С. Энергетический обмен в гипоксически поврежденном миокарде у новорожденных / О.С. Третьякова // Украинський медичний часопис. – 2003. – № 5 (37). – С. 109 – 116.
 18. Харченко Н.В. Оптимизация парентерального питания больных в послеоперационный период / Н.В. Харченко, Г.А. Анохина, В.В. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. – 2012. – № 4 (66). – С. 76 – 79.

THE ACTIVITY OF KREBS CYCLE NAD^+ -DEPENDENT DEHYDROGENASES UNDER CONDITIONS OF PROTEIN ALIMENTARY DEPRIVATION

O. M. Voloshchuk, G. P. Kopylchuk, O. M. Kominko

The work is devoted to study of the isocitrate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase and malate dehydrogenase reactions of the Krebs cycle and the $NAD^+/NADH$ ratio in the mitochondrial fraction of the rats' liver under the conditions of the alimentary deprivation of protein. Research was carried out on non-linear white rats in weight 90-100 g, at the age 2-2.5 months, divided into 2 groups according to quantity of the protein in a ration: I group – rats maintained on the full value semisynthetic ration, balanced by all nutrients; II group rats maintained on the low-protein semisynthetic ration. Activity of the NAD^+ -dependent dehydrogenases of the Krebs cycle was determined spectrophotometrically. Enzymatic activity of the NAD^+ -dependent isocitrate dehydrogenase was measured by the accumulation of NADH during the converting of isocitrate to α -ketoglutarate, NAD^+ -dependent malate dehydrogenase - by the accumulation of NADH during the oxidation of malate at $\lambda=340$ nm. Activity of NAD^+ -dependent α -ketoglutarate dehydrogenase was determined spectrophotometrically by the intensity of the oxidation of α -ketoglutarate at $\lambda=417$ nm. Determination of the enzymatic activities was carried out in the mitochondrial fraction of the rats' liver, received by the differential centrifugation method. It is estimated that in animals, maintained under the conditions of the alimentary deprivation of protein, the significant changes of isocitrate dehydrogenase and malate dehydrogenase activities aren't observed comparing to control group. At the same time α -ketoglutarate dehydrogenase activity in the mitochondrial fraction of rats' liver decreases by 2.2 times. Moreover, it is indicated that under the given experimental conditions the tendency to increase of the $NAD^+/NADH$ ratio is seen, being the important index of the energetic state of cell and key regulator of the energetic metabolism, because it determines the rate and direction of the energy supply reactions and controls the functioning of the general metabolic pathways in the cell. Ratio between oxidized and reduced forms of the nicotinamide coenzymes ($NAD^+/NADH$) was determined by the equilibrium constant of the malate dehydrogenase reaction. The result of the observed changes, probably, will be the disturbance of the supply of substrates for I complex of the electron transport chain of mitochondria. The conclusion is made that significant inhibition of the α -ketoglutarate dehydrogenase activity and increase of the $NAD^+/NADH$ ratio in the mitochondrial fraction of the rats' liver under the conditions of the alimentary deprivation of protein evidences the disturbances of the intermediates supply for the respiratory chain of mitochondria, and can be considered as one of the mechanisms of imbalance in the functioning of the energy biotransformation system in mitochondria under the conditions of the deficiency of protein in ration.

Key words: liver, isocitrate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase, malate dehydrogenase, the $NAD^+/NADH$ ratio, alimentary deprivation of protein

Одержано редколлегією 20.02.2014

ЗАСТОСУВАННЯ КАРОТИНСИНТЕЗУЮЧИХ ДРІЖДЖІВ *RHODOTORULA GLUTINIS* ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ *SIMOCERPHALUS VETULUS* (MÜLLER, 1776) У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

О. В. КУШНІРИК, М. М. МАРЧЕНКО, О. І. ХУДИЙ, Л. М. ВАСІНА,
Л. В. ХУДА, О. М. КАВУЛЯ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012
e-mail: khudij@email.ua*

Використання живих кормів на початкових етапах постембріонального розвитку риб позитивно впливає на виживаність мальків та їх ростові процеси. Зоопланктон, який зазвичай використовують у якості живого корму, не здатний до синтезу каротиноїдів, а лише до їх накопичення. У зв'язку з цим, актуальним є питання щодо розробки технології прижиттєвого насичення кормових організмів каротиноїдами. Промисловими продуцентами каротиноїдів можуть виступати різні групи організмів, зокрема водорості роду *Haematococcus* та дріжджі родів *Rhodospiridium*, *Rhodotorula* і *Phaffia*. Враховуючи те, що для вирощування лабораторних культур планктонних ракоподібних традиційно використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, доцільним у біотехнології культивування зоопланктону є застосування дріжджів, але здатних до каротиногенезу. Одним із таких видів є *Rhodotorula glutinis*. При оцінці якісного складу каротиноїдів *R. glutinis* були застосовані різні системи розчинників у наступних комбінаціях: ацетон-бензол-петролейний ефір-гексан (10:10:3:10), бензол-ацетон-хлороформ (5:5:4), гексан-бензол (9:1) та хлороформ. Їх використання дозволило зафіксувати наявність однієї хроматографічної зони, яка відповідає β -каротину. При використанні іншої системи розчинників – гексан-бензол (29:1) – вдалося ідентифікувати три пігментні смуги, що відповідали β -каротину та специфічним для цього роду дріжджів каротиноїдам, присутність яких була підтверджена спектрофотометричними дослідженнями. При дослідженні впливу ретинолу ацетату, натрію ацетату та пероксиду водню на біосинтетичну здатність *R. glutinis* відмічено стимулюючу дію сполук на каротиногенез, при чому максимальні зміни проявлялись при використанні пероксиду водню. Встановлено, що застосування *R. glutinis* у якості кормового субстрату дозволяє збільшити у живих кормах вміст каротиноїдів майже у 2 рази, а також супроводжується підвищенням вмісту загальних протеїнів та зниженням частки загальних ліпідів. Варто відмітити, що заміна дріжджів *S. cerevisiae* на каротинсинтезуючі достовірно не відобразилася на динаміці наростання культури *S. vetulus*. Аналіз фізико-хімічних показників культурального середовища засвідчив незначні коливання вмісту розчиненого кисню та стабільніші показники рН, окисно-відновного потенціалу, електропровідності та загальної мінералізації при вирощуванні *S. vetulus* на *R. glutinis*. Це зумовлює можливість скорочення кількості операцій контролю якості культивуваного середовища, що дозволяє істотно спростити технологію насичення зоопланктону каротиноїдами мікробного походження.

Ключові слова: культивування, *Simocерphalus vetulus*, дріжджі, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, каротиноїди.

Вступ. Живі корми є важливим та необхідним компонентом у раціоні молоді риб для їх нормального розвитку при переході на екзогенне харчування (Bogut et al., 2010; Lavens, Sorgeloos, 1996). Використання живих кормів на початкових етапах постембріонального розвитку риб стимулює роботу шлунково-кишкового тракту, що позитивно впливає на виживаність мальків та їх ростові процеси (Биологически активные..., 2009; Блага та ін., 2008).

Важливу роль для росту та розвитку риб відіграють каротиноїди. Завдяки вітамін А-прекурсорній дії, а також антиоксидантному, антимутагенному та УФ-протекторному ефекту, вони володіють високою біологічною цінністю (Carotenoids..., 2009; Stahl, Sies, 2005). Також зна-

чною є роль каротиноїдів у процесах статевого дозрівання та стимуляції розвитку ікри. Нездатність риб до синтезу в організмі цих пігментів *de novo* спричиняє необхідність включення каротиноїдів до їх раціону.

Відомо, що зоопланктон, який зазвичай використовують у якості живого корму, також не здатний до синтезу каротиноїдів, а лише до їх накопичення. У зв'язку з цим, актуальним є питання щодо розробки технології його насичення цими сполуками. Промисловими продуцентами каротиноїдів можуть виступати різні групи організмів, зокрема водорості роду *Haematococcus* та дріжджі родів *Rhodospiridium*, *Rhodotorula* і *Phaffia* (Frengova, Beshkova, 2009; Moline, 2012). Враховуючи те, що для вирощування лаборатор-

них культур планктонних ракоподібних традиційно використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, доцільним у біотехнології культивування зоопланктону є застосування дріжджів, але здатних до каротиногенезу. Перспективність використання каротинсинтезуючих дріжджів як кормового субстрату для зоопланктону пов'язана з мікробіологічним шляхом отримання каротиноїдів, що є економічно доцільнішим (Mata-Gómez et al., 2014; Latha et al., 2005).

Процес біосинтезу каротиноїдів мікроорганізмами значною мірою залежить від складу поживного середовища (El-Banna et al., 2012). Тому, кількісний та якісний склад каротиноїдів можна корегувати шляхом додавання в середовище культивування попередників отриманого продукту, індукторів або стимуляторів (Liu, 2006; Chanchay, 2012).

Відповідно, метою нашого дослідження було встановлення ефективності культивування зоопланктону за умов використання як кормового субстрату каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis*.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на культурі *Simoccephalus vetulus* (Müller, 1776) (Cladocera). Культивування дафній здійснювали згідно загальноприйнятих методик (Біотехнологія культивування..., 1999) в ємностях об'ємом 0,5 л за 16-годинного фотоперіоду та температури $22 \pm 1^\circ\text{C}$ в умовах кліматичної кімнати.

В якості харчового субстрату для зоопланктону використовували водні суспензії двох видів дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae* та *Rhodotorula glutinis*), стандартизовані за кількістю клітин 24×10^6 на 1 л живильного середовища. Підрахунок кількості клітин здійснювали з використанням камери Горяєва під біокулярним мікроскопом MicroMed XS-3300. Попередньо проведеними дослідженнями була визначена оптимальна тривалість пасажування, що становила 28 діб, з інтервалом внесення суспензії дріжджів 56 годин.

Дріжджі *R. glutinis* культивували на рідкому живильному середовищі глибинним способом. Культивування посівного матеріалу тривало 48 годин, а основна ферментація – 5 діб при $t=28^\circ\text{C}$ на шейкері ЛАБ-ПУ-01 (160 об./хв). Для стимулювання біосинтетичної активності нижчих грибів використовували: ретинолу ацетат, натрію ацетат, пероксид водню. Після деструкції дріжджових клітин на УЗДН-2Т та екстракції пігментів, здійснювали їх кількісне визначення спектрофотометричним методом (Fregova, 1994).

Визначення фракційного складу каротиноїдів проводили методом тонкошарової хроматографії у тонкому шарі сорбенту на пластинках "Silufol – UV – 254" (Чехія) з використанням різних систем

розчинників: ацетон-бензол-петролейний ефір-гексан (10:10:3:10), бензол-ацетон-хлороформ (5:5:4), гексан-бензол (29:1), гексан-бензол (9:1) та хлороформ (Чечета и др., 2008).

Визначення вмісту загальних протеїнів, загальних ліпідів та каротиноїдів у *S. vetulus* здійснювали згідно загальноприйнятих методик та обраховували на 1 г сухої речовини (Біохімія гідробіонтів..., 2009; Zooplankton methodology..., 2000; Продукты пищевые..., 2011).

Протягом періоду культивування визначали динаміку основних фізико-хімічних показників середовища. Рівень рН та ОВП фіксували за допомогою іономіру 1-160 МИ з використанням відповідних селективних електродів. Визначення електропровідності та загальної мінералізації середовища культивування проводили із застосуванням кондуктометра SX-650 «ULab». Контроль вмісту розчинного кисню проводили потенціометричним методом із застосуванням киснеміру PDO-607.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення *Microsoft Excel*. Відмінності результатів, що обговорюються в роботі, вірогідні при рівні достовірності $p \leq 0,05$ за критерієм Стьюдента. На рисунках представлені типові хроматограми.

Результати й обговорення. При оцінці якісного складу каротиноїдів дріжджів *R. glutinis* були застосовані різні системи розчинників. Використання більшості з них дозволило зафіксувати наявність однієї хроматографічної зони, ідентифікованої як такої, що належить β -каротину.

При використанні системи розчинників гексан-бензол (29:1) відмічено появу трьох пігментних смуг: жовто-оранжевого кольору (R_f 0,56), що свідчить про наявність β -каротину, жовто-рожевого (R_f 0,43) та червоно-оранжевого кольору (R_f 0,37). Останні вказують на можливу появу специфічних для *Rhodotorula* пігментів (рис. 1).

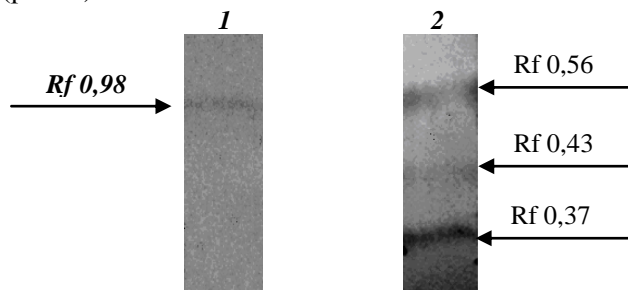


Рис. 1. Хроматографічний розподіл каротиноїдів *Rhodotorula glutinis*

Примітка: 1) хлороформ; 2) гексан-бензол (29:1).

Fig. 1. The chromatographic distribution of *Rhodotorula glutinis* carotenoids

Note: 1) chloroform; 2) hexane-benzene (29:1).

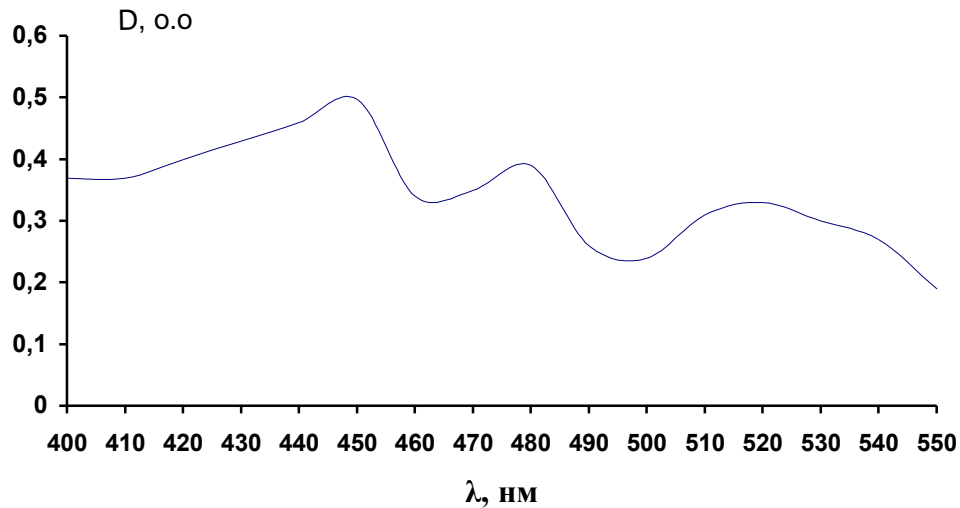


Рис. 2. Спектральна характеристика каротиноїдних пігментів *Rhodotorula glutinis*

Fig. 2. The spectral characteristic of carotenoid pigments of *Rhodotorula glutinis*

Результати хроматографічного аналізу були підтверджені спектрофотометричними дослідженнями у діапазоні 400-550 нм (Britton, 2004). Так, був зафіксований максимум поглинання при $\lambda = 450$ нм, характерний для β -каротину, інший пік (при $\lambda = 480$ нм) – притаманний торуліну. Зареєстрований третій максимум поглинання у діапазоні 510-520 нм дозволяє підтвердити наявність торулародину (рис. 2).

Для оцінки біосинтетичної здатності штамів-продуцентів біологічно активних речовин застосовують не лише їх якісну характеристику, а й кількісну. При визначенні вмісту загальних каротиноїдів та їх окремих фракцій зафіксований рівень каротиноїдів у клітинах *R. glutinis* 65 мкг/г сухої речовини, з яких на β -каротин припадає 52 мкг/г сухої речовини.

При дослідженні впливу ретинолу, ацетату натрію та пероксиду водню на біосинтетичну здатність *R. glutinis* відмічено стимулюючу дію усіх використаних сполук на каротиногенез, причому максимальні зміни проявлялись за використання пероксиду водню. Даний окислюючий агент викликав збільшення загального вмісту каротиноїдів у 2,3 рази, β -каротину – у 2,5 рази, торуліну – 1,7, торулародину – у 2 рази.

За умов додавання ацетату натрію зареєстровано зростання сумарного вмісту каротиноїдів, проте не виявлено значних змін у кількості червоних пігментів (торуліну, торулародину), цінних у промисловому відношенні та характерних саме для даного роду дріжджів. Використання даної сполуки, очевидно, доцільне у випадку направлено синтезу дріжджами *Rhodotorula* β -каротину. Найменшою мірою стимулюючий вплив на синтез пігментів проявляв ретинолу ацетат.

Попередній аналіз вмісту каротиноїдів у *R. glutinis* дозволяє передбачити їх використання як джерела каротиноїдів для *S. vetulus*. Так, використання *R. glutinis* як альтернативного харчового субстрату замість *S. cerevisiae* забезпечило збільшення вмісту загальних каротиноїдів майже в 2 рази та зміну відносної кількості інших нутрієнтів у організмі *S. vetulus* (табл. 1).

Показано, що зростання вмісту каротиноїдів може супроводжуватись стимулюванням транскрипційної активності мРНК (Ben-Dor et al., 2005), що, імовірно, може зумовлювати встановлене нами підвищення загальних протеїнів у дафній при вигодовуванні каротинсинтезуючими дріжджами. Поряд з цим, частка загальних ліпідів на фоні підвищення вмісту каротиноїдів скоротилася майже на 65%. Відомо, що споживання каротиноїдів може призводити до пригнічення диференціації адипоцитів із клітин-попередників (Tourniaire et al., 2009).

Табл. 1.

Нутрієнтний склад *S. vetulus* при використанні в якості харчового субстрату *S. cerevisiae* та *R. glutinis*

Табл. 1.

The nutritional composition of *S. vetulus* while using as a food substrate *S. cerevisiae* and *R. glutinis*

Нутрієнтний склад	Харчовий субстрат	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
Каротиноїди, мкг/г	148,2 ± 23,63	355,6 ± 25,66
Протеїни, мг/г	501,7 ± 43,79	861,3 ± 79,01
Ліпіди, мг/г	179,3 ± 5,27	114,5 ± 13,40

Примітка: Усі відмінності є достовірними при $p \leq 0,05$.
Note: All differences are significant at $p \leq 0,05$.

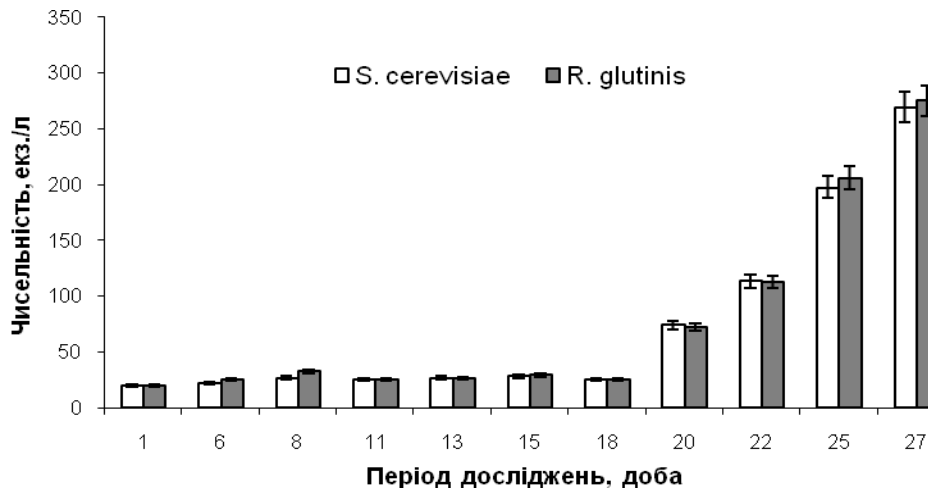


Рис. 3. Динаміка кількості особин *S. vetulus* у монокультурі при вирощуванні з використанням дріжджів *S. cerevisiae* та *R. glutinis*

Fig. 3. The dynamics of *S. vetulus* individuals' amount in monoculture during the growth while using the yeast *S. cerevisiae* and *R. glutinis*

Корекція нутрієнтного складу кормових організмів може супроводжуватись зниженням показників темпів росту культури. За результатами проведених досліджень заміна дріжджів *S. cerevisiae* на каротинсинтезуючі як харчового субстрату не призвела до пригнічення культури

S. vetulus (рис. 3). Позитивним також є те, що вигодовування дафній каротинсинтезуючими дріжджами не призводить до істотних змін основних фізико-хімічних показників культивацийного середовища у порівнянні з контрольною групою, вирощеною на *S. cerevisiae* (рис. 4).

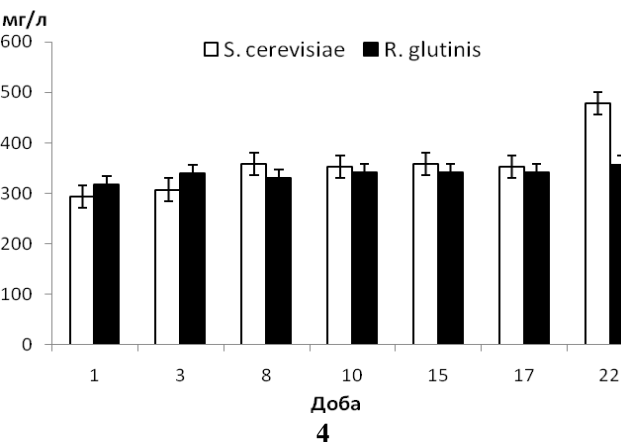
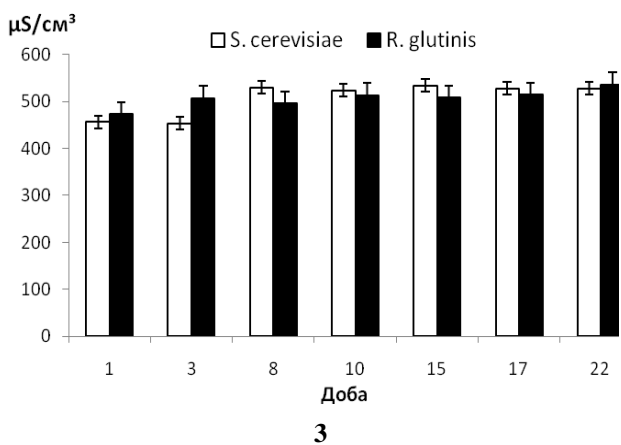
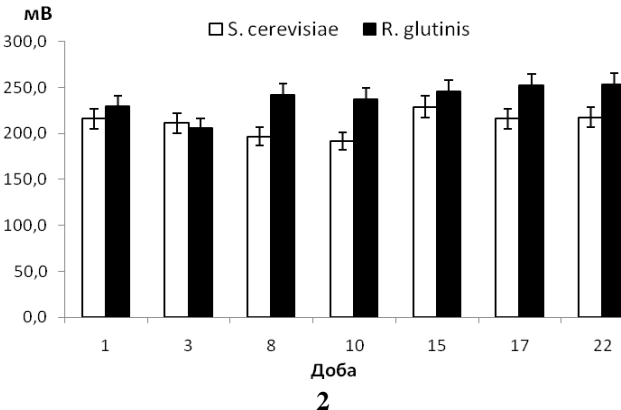
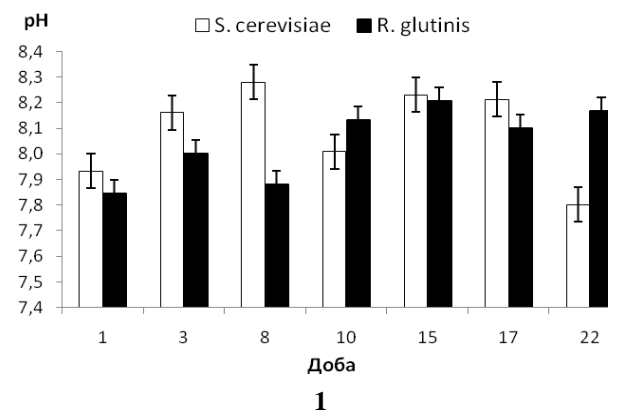


Рис. 4. Динаміка фізико-хімічних показників культурального середовища під час культивування *S. vetulus* при використанні дріжджів *S. cerevisiae* та *R. glutinis*

Fig. 4. The dynamics of physicochemical parameters of the culture medium during cultivation of *S. vetulus* while using the yeast *S. cerevisiae* and *R. glutinis*

Примітка: 1) рН; 2) ОВП (мВ); 3) електропровідність (µS/cm³); 4) загальна мінералізація (мг/л).

Note: 1) pH; 2) redox potential (mV); 3) conductivity (µS/cm³); 4) total mineralization (mg/l).

Так, протягом всього періоду культивування вміст розчиненого кисню залишався у межах 5,0-6,5 мг/л. Стабільнішими виявилися показники рН, електропровідності та загальної мінералізації при вирощуванні *S. vetulus* на *R. glutinis*. Це зумовлює можливість скорочення кількості операцій контролю якості культиваційного середовища, що дозволяє істотно спростити технологію насичення зоопланктону каротиноїдами мікробіологічного походження.

Висновки. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *R. glutinis* у якості кормового субстрату для *S. vetulus* дозволяє збагатити живі корми каротиноїдами майже у 2 рази, що може підвищити їх харчову цінність для личинок риб. Окрім того, використання *R. glutinis* забезпечує подібний приріст монокультури, як і в дослідках з використанням *S. cerevisiae*, однак в меншій мірі спричиняє зміну фізико-хімічних показників середовища культивування.

Список літератури:

1. Біохімія гідробіонтів / [Л.П. Вогнівенко, М.Ю. Свтушенко, М.В. Шевряков та ін.]. – Херсон: Олді-плюс, 2009. – 536 с.
2. Биологически активные вещества пресноводных ракообразных: способы получения и перспективы применения / Мукатова М.Д., Привезенцев А.В., Боева Т.В., Юнес А.М. // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. – 2009. – №2. – С. 109–113.
3. Биотехнология культивирования гидробионтов / Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Сиренко Л.А., Соломатина В.Д. – К.: Институт гидробиологии НАН Украины, 1999. – 243 с.
4. Блага О.М. Жирнокислотний склад природних і штучних кормів ставів / О.М. Блага, М.М. Цап, Й.Ф. Рівіс // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. – 2008. – Вип. 9, №3. – С. 11–20.
5. Продукты пищевые функциональные. Метод определения каротиноидов: ГОСТ Р 54058-2010. – М.: Стандартинформ, 2011. – 8 с.
6. Чечета О.В. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента / О.В. Чечета, Е.В. Сафонова, А.И. Сливкин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, Вып. 2. – С. 320–326.
7. Ben-Dor A. Carotenoids activate the antioxidant response element transcription system / [A. Ben-Dor, M. Steiner, L. Gheber et al.] // Mol. Cancer. Ther. – 2005. – 4 (1). – P. 177–186.
8. Bogut I. Nutritional value of planktonic cladoceran *Daphnia magna* for common carp (*Cyprinus carpio*) fry feeding / I. Bogut, Z. Adameck et al. // Ribalstvo. – 2010. – 68 (1). – P. 2–12.
9. Britton G. Carotenoids: Handbook / G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander. – Springer, 2004. – 647 p.
10. Carotenoids: physical, chemical, and biological functions and properties / Edit. John T. Landrum. – CRC Press, 2009. – 568 p.
11. Chanchay N. Optimal conditions for carotenoid production and antioxidation characteristics by *Rhodotorula rubra* / N. Chanchay, S. Sirisansanuyarul, C. Chaiyasut, N. Poosaran // World academy of science, engineering and technology. – 2012. Vol. 68. – P. 8–29.
12. El-Banna A.A. Some factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* / Amr A. El-Banna, Amal M. Abd El-Razek, Ahmed R. El-Mahdy // Food and Nutrition Sciences. – 2012. – Vol. 3, №1. – P. 64–71.
13. Frengova G. Formation of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in whey ultrafiltrate / G. Frengova, E. Simova, K. Pavlova, D. Beshkova, D. Grigorova // Biotechnology and Bioengineering. – 1994. – Vol.44. – P. 888–894.
14. Frengova G.I. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance / G.I. Frengova, D.M. Beshkova // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 36. – P. 163–180.
15. Latha B.V. Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source / B.V. Latha, K. Jeevaratnam, H.S. Murali, K.S. Manja // Indian Journal of Biotechnology. – 2005. – Vol. 4. – P. 353–357.
16. Lavens P. Manual on the production and use of live food for aquaculture / P. Lavens, P. Sorgeloos. – Rome, FAO Fisheries Technical Paper, 1996. – 295 p.
17. Liu Y.S. Hydrogen peroxide induced astaxanthin biosynthesis and catalase activity in *Xanthophyllomyces dendrorhous* / Y.S. Liu, J.Y. Wu // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – Vol.73. – P.663–668.
18. Mata-Gómez L.C. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview / L.C. Mata-Gómez, J.C. Montañez, A. Méndez-Zavala et al. // Microbial Cell Factories. – 2014. – №13. – P. 12–23.
19. Moline M. Production of torularhodin, torulene, and β -carotene by *Rhodotorula* yeasts / Moline M, Libkind D., van Broock M. // Methods Mol. Biol. – 2012. – Vol. 898. – P.275–283.
20. Stahl W. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids / W. Stahl, H. Sies // Biochimica et Biophysica Acta. – 2005. – Vol. 1740, №2. – P. 101–107.
21. Tourniaire F. β -Carotene conversion products and their effects on adipose tissue / [F. Tourniaire, E. Gouranton, J. von Lintig et al.] // Genes Nutr. – 2009. – №4. – P. 179–187.
22. Zooplankton methodology manual / Harris R.P., Wiebe P.H., Lenz J., Skjoldal H.R. et al. – London: Academic Press, 2000. – 684 p.

THE APPLICATION OF YEAST *RHODOTORULA GLUTINIS* FOR CULTIVATION OF *SIMOCEPHALUS VETULUS* (MÜLLER, 1776) UNDER THE LABORATORY CONDITIONS

O. V. Kushniryk, M. M. Marchenko, O. I. Khudyi, L. M. Vasina, L. V. Khuda,
O. M. Kavulya

The usage of live feeds on the early stages of fish post-embryonic development has a positive effect on the fry survival and growth processes. Zooplankton which commonly used as live food is not able to synthesize such important groups of substances for normal development of animal organism as carotenoids, but only to their accumulation. In this regard, the important issue is the development of technology in vivo saturation of forage organisms by carotenoids. The different groups of organisms, including algae of the genus Haematococcus and yeast of genera Rhodosporidium, Rhodotorula and Phaffia, can serve as industrial producers of carotenoids. Given that for growing laboratory cultures of planktonic crustaceans the yeast Saccharomyces cerevisiae is traditionally used, the appropriate trend in the biotechnology of zooplankton cultivation is application of yeast, but capable of carotenogenesis. One of such species is Rhodotorula glutinis. In assessing the qualitative composition of carotenoids in R. glutinis it was used a variety of solvents in the following combinations: acetone-benzene- petroleum ether-hexane (10:10:3:10), benzene-acetone-chloroform (5:5:4), hexane-benzene (9:1) and chloroform. Their use has allowed to detect the presence of one chromatographic zone – β -carotene. When using an another system of solvents – hexane-benzene (29:1) – it was made able to identify three pigmented bands, corresponding β -, γ -carotene and xanthophylls torulin and torularodyn whose presence was confirmed by spectrophotometric studies. In the study of retinol, sodium acetate and hydrogen peroxide influence on the biosynthetic ability of R. glutinis it was observed the catalytic effect of compounds on the carotenogenesis, with maximum changes shown when using hydrogen peroxide. It was established that the usage of R. glutinis as feed substrate causes an increase the carotenoid content in live feeds almost 2 times, and is accompanied by an increase in total protein content and a decrease in the share of total lipids. It should be noted that the replacement of the yeast S. cerevisiae to carotene-productional yeast do not significantly impacts on the growth dynamics of the culture S. vetulus. Analysis of physical and chemical characteristics of the culture medium showed minor fluctuations of dissolved oxygen and stable pH, redox potential, conductivity and total mineralization when growing S. vetulus on R. glutinis. This leads to the possibility of reducing the number of operations by control the quality of cultural medium, what can significantly simplify the technology of zooplankton saturation by carotenoids of microbiological origin.

Keywords: cultivation, Simocephalus vetulus, yeast, Rhodotorula glutinis, Saccharomyces serevisiae, carotenoids.

Одержано редколлегією 10.03.2014

ACUTE L-GLUTAMINE DEPRIVATION AFFECTS THE EXPRESSION OF G6PD, GPI, TKT, TALDO1, PGLS AND RPIA GENES IN U87 GLIOMA CELLS: EFFECT OF ERN1 KNOCKDOWN

I. A. GARMASH¹, D. O. MINCHENKO^{1,2}, D. O. KOMPANIETS¹,
A. O. KULINICH¹, O. V. KOVALEVSKA¹, O. H. MINCHENKO^{1,*}

¹Department of Molecular Biology, Palladin Institute of Biochemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

²Department of Pediatrics, National Bogomolets Medical University, Kyiv, Ukraine;

* e-mail: ominchenko@yahoo.com

Pentose-phosphate cycle of glucose metabolism plays an important role in malignant tumor growth, including glioma. We have studied the expression level of mRNA of basic enzymes of this cycle (G6PD, TKT, TALDO1, PGLS and RPIA) as well as glucose-6-phosphate isomerase (GPI) in U87 glioma cells with knockdown of ERN1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1), the major sensor and signaling enzyme of endoplasmic reticulum stress, upon glutamine deprivation in the growing medium. It was shown that suppression of ERN1 signaling enzyme function leads to significant decrease of the level of TALDO1 and PGLS gene expressions in glioma cells, but the expression level of GPI gene is increased. At the same time, the expression level of other genes of pentose-phosphate cycle enzymes did not change significantly at this experimental condition. It was also shown that upon glutamine deprivation condition the expression level of G6PD and GPI genes is increased and decreased, correspondingly, but other pentose-phosphate cycle genes does not changed significantly in glioma cells. Moreover, the changes in the expression level of these genes upon glutamine deprivation is clearly dependent upon ERN1 signaling enzyme function. Thus, these results demonstrate that suppression of ERN1 signaling enzyme function in glioma cells affects the expression level of three studied genes only and that glutamine deprivation condition induces variable changes in the expression of most investigated genes but preferentially in glioma cells with ERN1 knockdown.

Key words: gene expression, ERN1 knockdown, G6PD, TKT, TALDO1, PGLS, RPIA, GPI, glutamine deprivation, U87 glioma cells

Introduction. Pentose phosphate pathway of glucose metabolism plays an important role in the regulation of various processes both in normal and pathological conditions, especially in glioma growth, and depends of endoplasmic reticulum stress, which is obligate component of cancer growth (Hetz et al., 2013; Moenner et al., 2007; Minchenko et al., 2013). Malignant gliomas are highly aggressive tumors and are characterized by marked angiogenesis and extensive tumor cell invasion into the normal brain parenchyma. Previously was shown that blockade of ERN1-mediated signaling pathway of endoplasmic reticulum stress leads to suppression of cell proliferation and tumor growth through changing in the expression level of genes, which responsible for control of glycolysis, cell cycle, apoptosis, angiogenesis and many other processes (Auf et al., 2010, 2013; Drogat et al., 2007; Minchenko et al., 2010, 2012a, 2012b, 2012c, 2014; Pluquet et al., 2013). Nutrient deprivation condition is also an important factor of cancer growth and participates in the induction of endoplasmic reticulum stress (Bi et al., 2005; Drogat et al., 2007).

The endoplasmic reticulum is a key organelle in the cellular response to ischemia, hypoxia, and some chemicals which activate a complex set of signaling pathways named the unfolded protein response. The endoplasmic reticulum stress is associated with accumulation of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum and controls both neovascularization and proliferation processes (Moenner et al., 2007; Zhang and Kaufman, 2004). This adaptive unfolded protein response is activated upon the accumulation of misfolded proteins in the endoplasmic reticulum and is mediated by three endoplasmic reticulum-resident sensors named ERN1/IRE1 (Endoplasmic Reticulum to Nucleus signaling 1 / Inositol Requiring Enzyme-1), PERK (PRK-like ER kinase), and ATF6 (Activating Transcription Factor 6); however, ERN1 is the dominant sensor (Aragon et al., 209; Bi et al., 2005; Fels et al., 2006; Korennykh et al., 2009). Activation of the unfolded protein response tends to limit the de novo entry of proteins in to the endoplasmic reticulum and facilitate both the endoplasmic reticulum protein folding and its degradation to adapt cells for survival or, alternatively, to enter cell

death programs through endoplasmic reticulum-associated machineries (Aragon et al., 2009; Moenner et al., 2007; Zhang and Kaufman, 2004). As such, it participates in the early cellular response to the accumulation of misfolded proteins in the lumen of the endoplasmic reticulum, occurring under both physiological and pathological situations (Moenner et al., 2007; Zhang and Kaufman, 2004).

The signaling enzyme ERN1 is bifunctional and has two distinct catalytic domains: a serine/threonine kinase and an endoribonuclease. Both domains are contributed to ERN1 signaling (Moenner et al., 2007; Zhang and Kaufman, 2004). The ERN1-associated protein kinase autophosphorylates and dimerizes this enzyme in the endoplasmic reticulum membrane, leading to the activation of its endoribonuclease domain. It is possible that ERN1-associated protein kinase has some additional functions (Bakalets et al., 2013; Garmash et al., 2013). Endoribonuclease activity is responsible for degradation of a specific subset of mRNA and initiation of the pre-XBP1 (X-box binding protein 1) mRNA splicing (Acosta-Alvear et al., 2007; Hollien et al., 2009; Romero-Ramirez et al., 2004). Mature XBP1 mRNA splice variant (XBP1s) encodes a transcription factor that stimulates the expression more than five hundreds of unfolded protein response-specific genes (Acosta-Alvear et al., 2007). Moreover, XBP1s has several additional functions, especially in the regulation of glucose homeostasis. Thus, the p38 MAP kinase phosphorylates the spliced form of XBP1 and enhances its nuclear migration. Zhou et al. (2011) shown that XBP1s interacts with the FOXO1 (Forkhead box O1) transcription factor and directs it toward proteasome-mediated degradation. Moreover, the regulatory subunits of phosphatidylinositol 3-kinase interact with XBP1 and also increase its nuclear translocation (Lee et al., 2011). At the same time, it was shown that an ERN1 kinase inhibitor activates the ERN1 endoribonuclease to confer cytoprotection against endoplasmic reticulum stress. It is possible that this activation of the ERN1 endoribonuclease is a result of its interaction with other sensor-signalling systems of endoplasmic reticulum stress.

Recently, there has been a renewed interest in the role of the pentose phosphate pathway in cancer (Du et al., 2013; Tsouko et al., 2014). This metabolic pathway is advantageous for rapidly growing cells because it provides nucleotide precursors and helps regenerate the reducing agent NADPH, which can contribute to reactive oxygen species (ROS) scavenging. Pentose phosphate pathway genes, such as *G6PD* (glucose-6-phosphate dehydrogenase), *TKT* (transketolase), *TALDO1* (transaldolase 1), *PGLS* (6-phosphoglucolactonase) та *RPIA* (ribose-5-phosphate isomerase), as well as *DPI* (glucose

phosphate isomerase) gene play an important role in malignant tumor growth. These genes encode enzymes related to pentose formations, which are needed for nucleic acids synthesis and intensification of cell proliferation.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase is the rate-limiting enzyme of the pentose phosphate pathway and is involved in apoptosis as well as angiogenesis (Hu et al., 2013; Samland et al., 2009; Stanton et al., 2012; Zhang et al., 2014). Moreover, G6PD may regulate apoptosis and expression of cell cycle-related proteins through phosphorylation of transcription factors STAT3 and STAT5, thus mediating formation and growth of malignant cells (Hu et al., 2013). It is interesting to note that TAp73, a structural homologue of the pre-eminent tumor suppressor TP53, enhances the pentose phosphate pathway and supports cell proliferation through glucose-6-phosphate dehydrogenase, which has a critical role of in TAp73-mediated cell proliferation (Du et al., 2013; Jiang et al., 2013). Recent data indicates that the transcription factor NRF2 is responsible for regulating *G6PD* and *TKT* gene expressions and oncogenes can realize its effect via stabilization or degradation of the transcription factor (Shelton and Jaiswal, 2013).

Transaldolase is a key enzyme of the nonoxidative pentose phosphate pathway providing ribose-5-phosphate for nucleic acid synthesis and NADPH for lipid biosynthesis (Basu et al., 2011; Samland and Sprenger, 2009). This enzyme is involved in mitochondrial homeostasis, Ca(2+) fluxing, oxidative stress, apoptosis, multiple sclerosis, and cancer (Berry, 2008; Qian et al., 2008; Samland et al., 2009).

Phosphoglucose isomerase (PGI) is a multifunctional enzyme that functions in glucose metabolism as a glycolytic enzyme catalyzing an interconversion between glucose and fructose inside the cell, while it acts as cytokine outside the cell, with properties that include autocrine motility factor (AMF)-regulating tumor cell motility. AMF/PGI mediates epithelial and mesenchymal phenotype conversions in breast cancer and its overexpression induces epithelial-to-mesenchymal transition with enhanced malignancy (Funasaka et al., 2009; Niinaka et al., 2010). Recent studies have revealed that silencing of AMF/PGI resulted in mesenchymal-to-epithelial transition of human lung fibrosarcoma cells and breast cancer cells with reduced malignancy. It was shown that overexpression of AMF/PGI significantly contributes to the aggressive phenotype of human colon cancer, but downregulation of its expression and subsequent abrogation of AMF/PGI secretion, which resulted in morphologic change with reduced growth, motility, and invasion (Niinaka et al., 2010; Tsutsumi et al., 2009).

Phosphoglucose isomerase also regulates endoplasmic reticulum stress and cell death through control of endoplasmic reticulum calcium release as well as promotes cell survival by the pAKT survival pathway (Fu et al., 2011). Its receptor, AMFR, is an E3 ubiquitin ligase implicated in endoplasmic reticulum-associated protein degradation (Fairbank et al., 2009). Moreover, AMF/PGI also protects against tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis (Fu et al., 2011). Furthermore, HER2 expression and AMF/PGI secretion were inversely related in breast carcinoma cells. Thus, AMF/PGI may contribute to HER2-mediated breast cancer progression (Kho et al., 2013).

The main goal of this study was investigation the role of the expression of pentose phosphate pathway genes (*G6PD*, *TKT*, *TALDO1*, *PGLS*, and *RPIA*) as well as glycolytic enzyme gene (*GPI*), those protein products participate in the regulation of cell proliferation, in glioma U87 cells with ERN1 knockdown and its regulation upon glutamine deprivation and to study the contribution of endoplasmic reticulum stress sensor ERN1 to fine tune their expression.

Materials and Methods. The U87 glioma cell line was obtained from ATCC (USA) and grown in high glucose (4.5 g/l) Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium (DMEM; Gibco, Invitrogen, USA) supplemented with glutamine (2 mM), 10% fetal bovine serum (Equitech-Bio, Inc., USA), penicillin (100 units/ml; Gibco) and streptomycin (0.1 mg/ml; Gibco) at 37°C in a 5% CO₂ incubator. In this work we used two sublines of this glioma cell line. One subline was obtained by selection of stable transfected clones with overexpression of vector (pcDNA3.1), which was used for creation of dominant-negative constructs (dnERN1). This untreated subline of glioma cells (control glioma cells) was used as control 1 in the study of effects of glutamine deprivation condition on the expression level of *G6PD*, *GPI*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS*, and *RPIA* genes. Second subline was obtained by selection of stable transfected clones with overexpression of dnERN1 construct and has suppressed both protein kinase and endoribonuclease activities of ERN1 signaling enzyme. These cells were obtained from prof. M. Moenner (France) (Drogat et al., 2007; Auf et al., 2010). The expression level of *G6PD*, *GPI*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS*, and *RPIA* genes in these cells was compared with cells, transfected by vector (control 1). Moreover, glioma cells with blockade of ERN1 signaling enzyme function was also used as control 2 for investigation the effect of glutamine deprivation condition on the expression level of studied genes under blockade ERN1 function. Glutamine deprivation condition was created by

changing the complete Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium on the medium without glutamine and culture plates were exposed to this condition for 16 hrs.

The suppression level of ERN1 both enzymatic activity in glioma cells that over express a dominant-negative construct of endoplasmic reticulum–nuclei-1 (dnERN1) was previously shown by analysis of the expression of XBP1 alternative splice variant (XBP1s), a key transcription factor in ERN1 signaling, and phosphorylated isoform ERN1 using cells treated by tunicamycin (0.01 mg/ml during 2 hours) (Minchenko et al., 2014).

Total RNA was extracted from glioma cells according to manufacturer protocols (Invitrogen, USA). RNA pellets were washed with 75 % ethanol and dissolved in nuclease-free water. For additional purification RNA samples were precipitated with 95 % ethanol and re-dissolved again in nuclease-free water. For synthesis of complementary DNA (cDNA) was used QuaniTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Germany).

The expression levels of *G6PD*, *GPI*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS*, and *RPIA* mRNA were measured in glioma cell line U87 and its sublines (clone 1C5) by real-time quantitative polymerase chain reaction of cDNA using „Mx 3000P QPCR” (Stratagene, USA) and SYBRGreen Mix (AB gene, Great Britain). Polymerase chain reaction was performed in triplicate. For amplification of GPI (glucose-6-phosphate isomerase) cDNA we used forward (5'–cgccaaccaactctattgt –3' and reverse (5'–ggtagaagcgtcgtgagagg –3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 1554 – 1573 and 1766 – 1747 of human GPI cDNA (GenBank accession number NM_000175). The size of amplified fragment is 213 bp.

For amplification of G6PD (glucose-6-phosphate dehydrogenase) we were used forward (5'–gaggccgtgtaccaagat –3' and reverse (5'–taccaaggccgtactgtc –3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 1430 – 1439 and 1644 – 1625 of human G6PD cDNA (GenBank accession number NM_000402). The size of amplified fragment is 215 bp.

The amplification of TALDO1 (transaldolase 1) cDNA for real time RCR analysis was performed using two oligonucleotides primers: forward – 5'–ggctgtgacttctccat –3' and reverse – 5'–ctcagggatgcgctactttc –3'. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 795 – 814 and 1076 – 1057 of human TALDO1 cDNA (GenBank accession number NM_006755). The size of amplified fragment is 282 bp.

For amplification of TKT (transketolase) cDNA we used forward (5'–gacaacctgtggccattct –3' and reverse (5'–tctgctcagccatgtttttg –3') primers. The

nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 1530 – 1549 and 1834 – 1815 of human CCN2 cDNA (GenBank accession number NM_001901). The size of amplified fragment is 283 bp.

The amplification of PGLS (6-phosphogluconolactonase), also known as 6-phosphogluconolactone to 6-phosphogluconate (6PGL) cDNA for real time RCR analysis was performed using two oligonucleotides primers: forward – 5'– ctgctcactcttccagacc –3' and reverse (5'– tccagttgccacaagatga –3'). The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 515 – 534 and 665 – 646 cDNA of human PGLS (GenBank accession number NM_012088). The size of amplified fragment is 151 bp.

For amplification of RPIA (5-phosphate isomerase A) cDNA we used forward (5'– agtgcctgggaattggaagtg –3' and reverse (5'– cgatcacgatgaagcgacta –3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 335 – 354 and 627 – 608 of human RPIA cDNA (GenBank accession number NM_144563). The size of amplified fragment is 293 bp.

The amplification of beta-actin (ACTB) cDNA was performed using forward - 5'– ggacttcgagcaagagatgg –3' and reverse - 5'– agcactgtgtggcgtacag –3' primers. These primers nucleotide sequences correspond to 747 – 766 and 980 – 961 of human ACTB cDNA (GenBank accession number NM_001101). The size of amplified fragment is 234 bp. The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The primers were received from "Sigma-Aldrich" (USA).

An analysis of quantitative PCR was performed using special computer program "Differential expression calculator" and statistical analysis using program OriginPro 7.5. The values of G6PD, GPI, TALDO1, TKT, PGLS and RPIA mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA and represent as percent of control (100 %). All values are expressed as $M \pm m$ from triplicate measurements performed in 4 independent experiments.

Results and Discussion. ERN1 modulates effect of glutamine deprivation condition on the expression of pentose phosphate genes in glioma cells. To test the effect of ERN1 on expression levels of glucose-6-phosphate dehydrogenase gene, we used the U87 glioma cells line, which constitutively expresses dominant-negative mutant of ERN1, the major component of endoplasmic reticulum stress signaling. Expression of this dnERN1 mutant was shown to have an inhibitory

effect on ribonuclease and kinase activity of endogenous ERN1 (Minchenko et al., 2012c). Fig. 1 demonstrates that inhibition of ERN1 gene function in U87 glioma cells does not change significantly the expression level of *G6PD* gene, the rate-limiting enzyme of the pentose phosphate pathway.

To test whether ERN1 modulates expression of *G6PD* gene during acute L-glutamine deprivation condition, control glioma cells and cells harboring dnERN1 were cultured in the medium with L-glutamine (regular growing medium) and without L-glutamine (glutamine free medium) and expression level of *G6PD* gene was analyzed by qPCR. We found that expression levels of *G6PD* gene is significantly increased (+24 %) under acute L-glutamine deprivation condition in control glioma cells (stable transfected by vector), but did not change significantly in cells expressing dnERN1 (stably transfected with dnERN1) (Fig. 1). We therefore concluded that ERN1 down-regulation eliminates effect of acute L-glutamine deprivation condition on *G6PD* gene expression in glioma cells. It is possible that this effect of L-glutamine deprivation on the expression level of *G6PD* gene is realized through ERN1-mediated pathway of endoplasmic reticulum stress in U87 glioma cells. Moreover, nutrient deprivation condition is necessary component of tumor growth and induction of glucose-6-phosphate dehydrogenase, the rate-limiting enzyme of the pentose phosphate pathway, can be responsible for cancer growth through the activation of nucleotide precursor synthesis and regeneration the reducing agent NADPH (Hu et al., 2013; Samland et al., 2009; Stanton et al, 2012; Zhang et al., 2014). At the same time, inhibition of ERN1 signaling enzyme function eliminate an induction of *G6PD* gene expression, which correlate with suppressed glioma cell proliferation (Auf et al., 2013).

As shown in Fig. 2, the level of *TKT* gene expression does also not change significantly in glioma cells expressing dnERN1 as compared to control glioma cells. No significant changes in the expression level of this gene were also found under L-glutamine deprivation condition in control glioma cells (stable transfected by vector). At the same time, acute L-glutamine glutamine deprivation condition leads to significant upregulation of *TKT* gene expression level in U87 glioma cells with ERN1 knockdown (Fig. 2). It is possible that ERN1 down-regulation induces effect of acute L-glutamine deprivation condition on *TKT* gene expression in U87 glioma cells and that this effect of L-glutamine deprivation is negatively realized through ERN1-mediated pathway of endoplasmic reticulum stress in these cells.

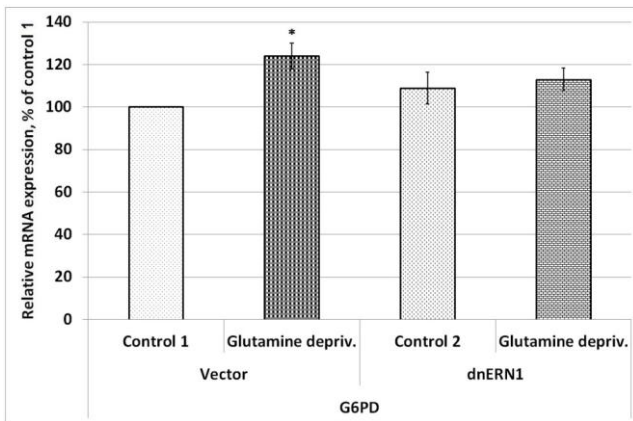


Fig. 1. Effect of glutamine deprivation on the expression level of G6PD (glucose-6-phosphate dehydrogenase) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of G6PD mRNA expression levels were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

Note: in Fig. 1 – 6 the changes in the expression of different mRNA in both types of glioma cells were compared to control 1 (Vector, 100 %); n = 4; * – P < 0,05 as compared to control 1, ** – P < 0,05 as compared with control 2 (dnERN1).

Fig. 3 demonstrates that inhibition of ERN1 gene function in U87 glioma cells affects the expression of transaldolase gene, where the expression of this gene is decreased (-35 %) at this experimental condition as compared to control glioma cells, transfected by pcDNA3.1 vector. Analysis of mRNA expression of TALDO1 gene has shown that acute L-glutamine glutamine deprivation condition does not affect this gene expression in control glioma cells in statistically significant manner, while cells harboring dnERN1 show slight but statistically significant

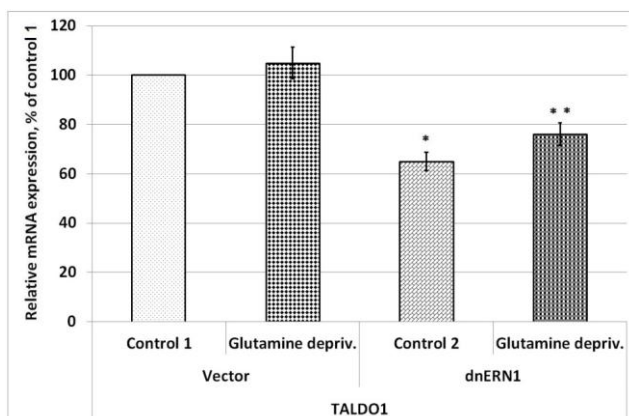


Fig. 3. Effect of glutamine deprivation on the expression level of TALDO1 (transaldolase) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of TALDO1 mRNA expression level were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

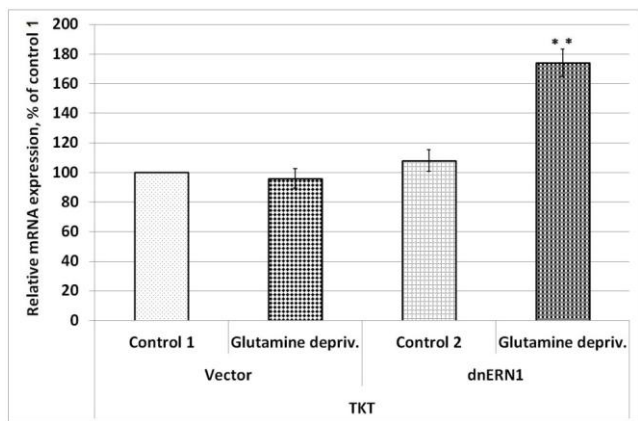


Fig. 2. Effect of glutamine deprivation on the expression level of TKT (transketolase) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of TKT mRNA expression level were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

increase (+17 %) in the expression of TALDO1 gene during this experimental condition (Fig. 3). These results demonstrate that effect of acute L-glutamine deprivation on the expression level of TALDO1 gene is also depended on endoplasmic reticulum stress mediated through ERN1 signaling pathway in U87 glioma cells.

As shown in Fig. 4, the level of PGLS gene expression is slightly but statistically significant decreased (-22 %) in glioma cells expressing dnERN1 as compared to control glioma cells.

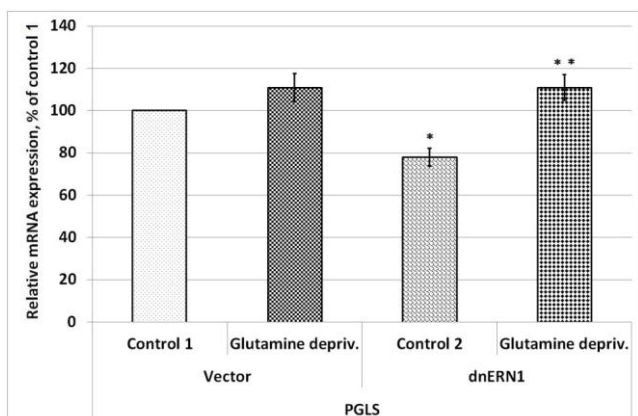


Fig. 4. Effect of glutamine deprivation on the expression level of PGLS (6-phosphogluconolactonase) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of PGLS mRNA expression level were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

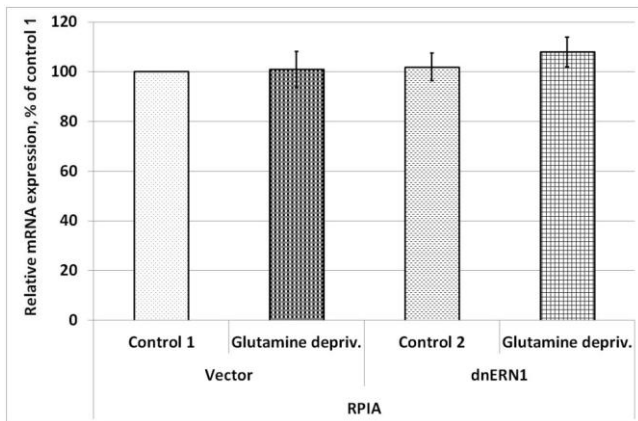


Fig. 5. Effect of glutamine deprivation on the expression level of RPIA (5-phosphate isomerase A) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of RPIA mRNA expression level were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

At the same time, no significant changes in the expression level of this gene were also found under L-glutamine deprivation condition in control glioma cells (stable transfected by vector). However, acute L-glutamine glutamine deprivation condition leads to significant upregulation of *PGLS* gene expression level (+42 %) in U87 glioma cells with ERN1 knockdown (Fig. 4). It is possible that ERN1 knockdown induces effect of acute L-glutamine deprivation on *PGLS* gene expression in U87 glioma cells and that ERN1-mediated pathway of endoplasmic reticulum stress protects glioma cells of glutamine deprivation.

We also demonstrate that inhibition of ERN1 gene function in U87 glioma cells does not affect the expression level of 5-phosphate isomerase A gene as compared to control glioma cells (Fig. 5). Moreover, the level of *RPIA* gene expression was resistant to acute L-glutamine deprivation condition both in control and ERN1 knockdown glioma cells.

Thus, results of this study demonstrate that acute L-glutamine deprivation condition affects the expression of *G6PD* gene only in control glioma cells and *TKT*, *TALDO1*, and *PGLS* genes in ERN1 knockdown glioma cells and that inhibition of ERN1 signaling enzyme function modifies expression level of studied pentose phosphate pathway genes at this experimental condition. Moreover, inhibition of ERN1 signaling enzyme function leads to down-regulation of two pentose phosphate pathway genes (*TALDO1* and *PGLS*) and these changes can contribute to the suppression of glioma cell proliferation, which was shown previously (Auf et al., 2010, 2013; Minchenko et al., 2014). This data correlates to dysregulation of the expression of

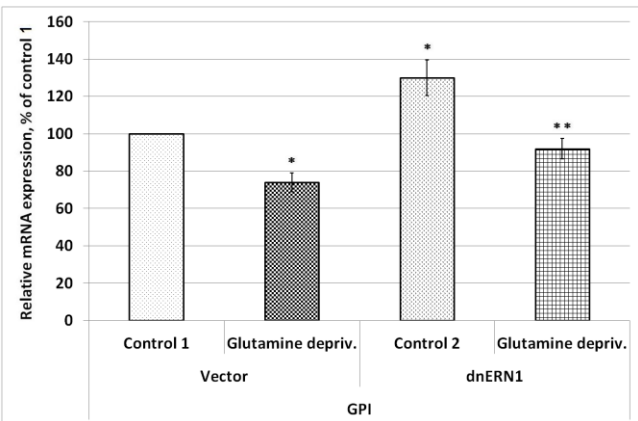


Fig. 6. Effect of glutamine deprivation on the expression level of GPI (glucose-6-phosphate isomerase) mRNA in U87 glioma cells stable transfected by dominant-negative construct of ERN1 in pcDNA3.1 vector (dnERN1) as compared to the cells transfected by vector pcDNA3.1 (Control), measured by quantitative polymerase chain reaction. The values of GPI mRNA expression level were normalized to the expression of beta-actin mRNA.

different genes of phosphoribosyl pyrophosphate synthetase in glioma cells with inhibition of ERN1 signaling enzyme function as well as to changes in these gene expressions under acute L-glutamine deprivation condition (Minchenko et al., 2013).

Expression of glycolytic enzyme gene glucose-6-phosphate isomerase in ERN1 knockdown glioma cells under glutamine deprivation condition. Fig. 6 demonstrates that inhibition of ERN1 signaling enzyme function in U87 glioma cells significantly increases (+30 %) the expression level of glucose-6-phosphate isomerase gene, a multifunctional enzyme that functions in glucose metabolism as a glycolytic enzyme catalyzing an interconversion between glucose and fructose inside the cell, while it acts as cytokine outside the cell, with properties that include autocrine motility factor regulating tumor cell motility.

To test whether ERN1 modulates expression of *GPI* gene during acute L-glutamine deprivation condition, control glioma cells and cells harboring dnERN1 were cultured in the medium with L-glutamine and without L-glutamine. We found that expression levels of *GPI* gene is decreased under acute L-glutamine deprivation condition in statistically significant manner both in control and ERN1 knockdown glioma cells (-26 and -30 %, correspondingly) (Fig. 6). We therefore concluded that ERN1 down-regulation does not change significantly the effect of acute L-glutamine deprivation condition on *GPI* gene expression in U87 glioma cells. It is possible that this effect of L-glutamine deprivation on the expression level of *G6PD* gene in these cells is not realized through

endoplasmic reticulum stress signaling pathway mediated by ERN.

Phosphoglucose isomerase as a multifunctional enzyme promotes cell migration in an autocrine manner in various tumor cells (Niinaka et al., 2010; Tsutsumi et al., 2009) can contribute to enhanced metastasis of glioma cells with ERN1 knockdown (Drogat et al., 2007; Auf et al., 2013). It is also possible that increased expression of *GPI* gene in glioma cells with blockade of ERN1 signaling enzyme function can modulate the endoplasmic reticulum stress as well as cell death through control of endoplasmic reticulum calcium release and protects cells against endoplasmic reticulum stress (Fu et al., 2011). Phosphoglucose isomerase can also participate in endoplasmic reticulum stress through its receptor, AMFR, which is an E3 ubiquitin ligase implicated in endoplasmic reticulum-associated protein degradation (Fairbank et al., 2009).

Thus, results of this investigation clearly demonstrate that inhibition of ERN1 signaling enzyme function affects the expression level of *GPI*, *TALDO1*, and *PGLS* genes and that acute L-glutamine deprivation condition changes the expression level of *G6PD* and *GPI* genes in control glioma cells and that ERN1 knockdown modifies the effect of glutamine deprivation on *G6PD*, *TKT*, *TALDO1*, and *PGLS* gene expressions. However, detailed molecular mechanisms of participation the pentose phosphate pathway genes as well as glycolytic enzyme gene *GPI* in suppression of tumor growth from ERN1 knockdown glioma cells warrants further study.

Conclusions.

1. It was shown that the expression level of *TALDO1* and *PGLS* genes is decreased in ERN1 knockdown U87 glioma cells, but *GPI* gene is increased.

2. Glutamine deprivation condition does not affect the expression level of *TALDO1*, *TKT*, *RPIA*, and *PGLS* genes, but increases *G6PD* and decreases *GPI* gene expressions in control glioma cells.

3. The changes in the expression level of *TALDO1*, *TKT*, *G6PD*, and *PGLS* genes upon glutamine deprivation is clearly dependent upon ERN1 signaling enzyme function.

4. Results of this study clearly demonstrated that suppression of ERN1 signaling enzyme function in glioma cells affects the expression level of *GPI*, *TALDO1*, and *PGLS* genes and that glutamine deprivation condition induces variable changes in the expression of most investigated genes but preferentially in glioma cells with ERN1 knockdown.

References:

1. Acosta-Alvear D., Zhou Y., Blais A., Tsikitis M., Lents N.H., Arias C., Lennon C.J., Kluger Y.,

- Dynlacht D.D. XBP1 controls diverse cell type- and condition-specific transcriptional regulatory networks // *Molecular Cell*. – 2007. – 27. – P. 53 – 66.
2. Aragón T., van Anken E., Pincus D., Serafimova I.M., Korennykh A.V., Rubio C.A., Walter P. Messenger RNA targeting to endoplasmic reticulum stress signalling sites. // *Nature*. – 2009. – 457, N 7230. – P. 736 – 740.
3. Auf G., Jabouille A., Delugin M., Guérit S., Pineau R., North S., Platonova N., Maitre M., Favereaux A., Seno M., Bikfalvi A., Minchenko D., Minchenko O., Moenner M. High epiregulin expression in human U87 glioma cells relies on IRE1 and promotes autocrine growth through EGF receptor. // *BMC Cancer*. – 2013. – 13, N 1. – P. 597.
4. Auf G., Jabouille A., Guérit S., Pineau R., Delugin M., Bouchecareilh M., Favereaux A., Maitre M., Gaiser T., von Deimling A., Czabanka M., Vajkoczy P., Chevet E., Bikfalvi A., Moenner M. A shift from an angiogenic to invasive phenotype induced in malignant glioma by inhibition of the unfolded protein response sensor IRE1. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. – 107, N 35. – P. 1555 – 15558.
5. Bakalets T., Minchenko D., Danilovskyi S., Minchenko O. Expression of protein kinase PLK family genes in U87 glioma cell line with suppressed function of ERN1 signaling enzyme of endoplasmic reticulum stress. // *Visnyk Taras Shevchenko Kyiv National University. Biology*. – 2013. – 63. – P. 7 – 13.
6. Basu R., Barosa C., Basu A, Pattan V, Saad A, Jones J, Rizza R. Transaldolase exchange and its effects on measurements of gluconeogenesis in humans. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2011. – 300, N 2. – P. E296-E303.
7. Berry G.T. The unexplored potential of the pentose phosphate pathway in health and disease. // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2008. – 31, N 6. – P. 661.
8. Bi M., Naczki C., Koritzinsky M., Fels D., Blais J., Hu N., Harding H., Novoa I., Varia M., Raleigh J., Scheuner D., Kaufman R.J., Bell J., Ron D., Wouters B.G., Koumenis C. ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth. // *EMBO J.* – 2005. – 24, N 19. – P. 3470 – 34815.
9. Drogat B., Auguste P., Nguyen D.T., Bouchecareilh M., Pineau R., Nalbantoglu J., Kaufman R.J., Chevet E., Bikfalvi A., Moenner M. IRE1 signaling is essential for ischemia-induced vascular endothelial growth factor-A expression and contributes to angiogenesis and tumor growth in vivo. // *Cancer Res.* – 2007. – 67. – P. 6700 – 6707.
10. Du W., Jiang P., Mancuso A., Stonestrom A., Brewer M.D., Minn A.J., Mak T.W., Wu M., Yang X. TAp73 enhances the pentose phosphate pathway and supports cell proliferation. // *Nat. Cell Biol.* – 2013. – 15, N 8. – P. 991 – 1000.
11. Fairbank M., St-Pierre P., Nabi I.R. The complex biology of autocrine motility factor/phosphoglucose

- isomerase (AMF/PGI) and its receptor, the gp78/AMFR E3 ubiquitin ligase. *Mol. Biosyst.* – 2009. – 5, N 8. – P. 793 – 801.
12. Fels D.R., Koumenis C. The PERK/eIF2 α /ATF4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth. // *Cancer Biology & Therapy.* – 2006. – 5, N 7. – P. 723 – 728.
 13. Fu M., Li L., Albrecht T., Johnson J.D., Kojic L.D., Nabi I.R. Autocrine motility factor/phosphoglucose isomerase regulates ER stress and cell death through control of ER calcium release. // *Cell Death Differ.* – 2011. – 18, N 6. – P. 1057 – 1070.
 14. Funasaka T., Hogan V., Raz A. Phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor mediates epithelial and mesenchymal phenotype conversions in breast cancer. // *Cancer Res.* – 2009. – 69, N 13. – P. 5349 – 5356.
 15. Garmash I., Kompaniets D., Hubenia O., Minchenko D. Effect of hypoxia and glucose or glutamine deprivation on the expression of enolase and aldolase genes in glioma U87 cell line with suppressed function of ERN1 signaling enzyme. // *Visnyk Taras Shevchenko Kyiv National Univ. Problems of the Regulation of Physiological Functions.* – 2013. – 16. – P. 5 – 9.
 16. Hetz C., Chevet E., Harding H.P. Targeting the unfolded protein response in disease. // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2013. – 12, N 9. – P. 703 – 719.
 17. Hollien J., Lin J.H., Li H., Stevens N., Walter P., Weissman J. S. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. // *J. Cell. Biol.* – 2009. – 186, N 3. – P. 323 – 331.
 18. Hu T., Zhang C., Tang Q., Su Y., Li B., Chen L., Zhang Z., Cai T., Zhu Y. Variant G6PD levels promote tumor cell proliferation or apoptosis via the STAT3/5 pathway in the human melanoma xenograft mouse model. *BMC Cancer.* 2013; 13: 251.
 19. Kho D.H., Nangia-Makker P., Balan V., Hogan V., Tait L., Wang Y., Raz A. Autocrine motility factor promotes HER2 cleavage and signaling in breast cancer cells. // *Cancer Res.* – 2013. – 73, N 4. – P. 1411 – 1419.
 20. Jiang P., Du W., Yang X. A critical role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in TAp73-mediated cell proliferation. // *Cell Cycle.* – 2013. – 12, N 24. – P. 3720 – 3726.
 21. Korennykh A.V., Egea P.F., Korostelev A.A., Finer-Moore J., Zhang C., Shokat K.M., Stroud R.M., Walter P. The unfolded protein response signals through high-order assembly of Ire1. // *Nature.* – 2009. – 457, N 7230. – P. 687 – 693.
 22. Lee J., Sun C., Zhou Y., Lee J., Gokalp D., Herrema H., Park S.W., Davis R.J., Ozcan U. p38 MAPK-mediated regulation of Xbp1s is crucial for glucose homeostasis. // *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 10. – P. 1251 – 1260.
 23. Minchenko D.O., Garmash I.A., Bashta Y.M., Kustkova G.S., Zalesna Y.D., Bikfalvi A., Minchenko O.H. ERN1 dependent expression of phosphoribosyl pyrophosphate synthetase genes in U87 glioma cells: effect of glucose or glutamine deprivation. // *Int. J. Genomic Med.* – 2013. – 1, N 1. – P. 104 (1 – 5).
 24. Minchenko D., Hubenya O., Terletsky B., Kuznetsova A., Moenner M., Minchenko O. Blockade of the endoplasmic reticulum stress sensor inositol requiring enzyme-1 changes the expression of cyclin and growth arrest-specific genes in glioma cells. // *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska.* – 2010. – 23, N 3. – P. 179 – 184.
 25. Minchenko D.O., Karbovskiy L.L., Danilovskiy S.V., Kharkova A.P., Minchenko O.H. Expression of casein kinase genes in glioma cell line U87: effect of hypoxia and glucose or glutamine deprivation. // *Nat. Sci.* – 2012a. – 4, N 1. – P. 38 – 46.
 26. Minchenko D.O., Karbovskiy L.L., Danilovskiy S.V., Moenner M., Minchenko O.H. Effect of hypoxia and glutamine or glucose deprivation on the expression of retinoblastoma and retinoblastoma-related genes in ERN1 knockdown glioma U87 cell line. // *Am. J. Mol. Biol.* – 2012b. – 2, N 1. – P. 21 – 31.
 27. Minchenko O.H., Kubaichuk K.I., Minchenko D.O., Kovalevska O.V., Kulinich A.O., Lypova N.M. Molecular mechanisms of ERN1-mediated angiogenesis. *Int. J. Physiol. Pathophysiol.* – 2014. – 5, N 1. – P. 1 – 22.
 28. Minchenko D.O., Kubajchuk K.I., Ratushna O.O., Komisarenko S.V., Minchenko O.H. The effect of hypoxia and ischemic condition on the expression of VEGF genes in glioma U87 cells is dependent from ERN1 knockdown. // *Adv. Biol. Chem.* – 2012c. – 2, N 2. – P. 198 – 206.
 29. Moenner M., Pluquet O., Bouche-careilh M., Chevet E. Integrated endoplasmic reticulum stress responses in cancer. // *Cancer Res.* 2007. – 67, N 22. – P. 10631 – 10634.
 30. Niinaka Y., Harada K., Fujimuro M., Oda M., Haga A., Hosoki M., Uzawa N., Arai N., Yamaguchi S., Yamashiro M., Raz A. Silencing of autocrine motility factor induces mesenchymal-to-epithelial transition and suppression of osteosarcoma pulmonary metastasis. *Cancer Res.* 2010; 70(22): 9483-9493.
 31. Pan S., World C.J., Kovacs C.J., Berk B.C. Glucose 6-phosphate dehydrogenase is regulated through c-Src-mediated tyrosine phosphorylation in endothelial cells. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – 29, N 6. – P. 895 – 901.
 32. Pluquet O., Dejeans N., Bouche-careilh M., Lhomond S., Pineau R., Higa A., Delugin M., Combe C., Lorient S., Cubel G., Dugot-Senat N., Vital A., Loiseau H., Gosline S.J., Taouji S., Hallett M., Sarkaria J.N., Anderson K., Wu W., Rodriguez F.J., Rosenbaum J., Saltel F., Fernandez-Zapico M.E., Chevet E. Posttranscriptional regulation of PER1 underlies the oncogenic function of IRE α . // *Cancer Res.* – 2013. – 73, N 15. – P. 4732 – 4743.
 33. Qian Y., Banerjee S., Grossman C.E., Amidon W., Nagy G., Barcza M., Niland B., Karp D.R., Middleton F.A., Banki K., Perl A. Transaldolase deficiency influences the pentose phosphate

- pathway, mitochondrial homeostasis and apoptosis signal processing. // *Biochem. J.* 2008; 415(1): 123-134.
34. Romero-Ramirez L., Cao H., Nelson D., Hammond E., Lee A.H., Yoshida H., Mori K., Glimcher L.H., Denko N.C., Giaccia A.J., Le Q.-T., Koong A.C. XBP1 is essential for survival under hypoxic conditions and is required for tumor growth. // *Cancer Res.* – 2004. – 64, N 17. – P. 5943 – 5947.
 35. Samland A.K., Sprenger G.A. Transaldolase: from biochemistry to human disease. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2009. – 41, N 7. – P. 1482 – 1494.
 36. Shelton P., Jaiswal A.K. The transcription factor NF-E2-related factor 2 (Nrf2): a protooncogene? *FASEB J.* 2013; 27(2): 414-423.
 37. Stanton R.C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. // *IUBMB Life.* – 2012. – 64, N 5. – P. 362 – 369.
 38. Tsutsumi S., Fukasawa T., Yamauchi H., Kato T., Kigure W., Morita H., Asao T., Kuwano H. Phosphoglucose isomerase enhances colorectal cancer metastasis. // *Int. J. Oncol.* – 2009. – 35, N 5. – P. 1117 – 1121.
 39. Wamelink M.M., Struys E.A., Jakobs C. The biochemistry, metabolism and inherited defects of the pentose phosphate pathway: a review. // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2008. – 31, N 6. – P. 703 – 717.
 40. Zhang K., Kaufman R.J. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. // *Neurology.* – 2006. – 66, N 2 (Suppl 1). S102 – S109.
 41. Zhou Y., Lee J., Reno C.M., Sun C., Park S.W., Chung J., Lee J., Fisher S.J., White M.F., Biddinger S.B., Ozcan U. Regulation of glucose homeostasis through a XBP-1-FoxO1 interaction. // *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 3. – P. 356 – 365.

ГОСТРИЙ ДЕФІЦИТ ГЛУТАМІНУ ЗМІНЮЄ ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ ПЕНТОЗО-ФОСФАТНОГО ШЛЯХУ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87: ЕФЕКТ ВИКЛЮЧЕННЯ ERN1

Гармаш Я. А., Мінченко Д. О., Компанієць Д. О., Кулініч А. О., Ковалевська О. В., Мінченко О. Г.

Пентозо-фосфатний цикл метаболізму глюкози відіграє важливу роль у рості злоякісних пухлин. Нами проведено вивчення експресії мРНК основних ензимів цього циклу (G6PD, TKT, TALDO1, PGLS та RPIA) а також глюкозо-6-фосфатізомерази (GPI) у клітинах гліоми лінії U87 з пригніченою функцією ERN1 (сигналювання від ендоплазматичного ретикулуму до ядра-1), основного сенсорно-сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулуму, в залежності від рівня глутаміну у середовищі вирощування клітин. Встановлено, що за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 рівень експресії генів TALDO1 та PGLS у клітинах гліоми істотно знижувався, а гена GPI збільшувався. В той же час, рівень експресії генів інших ензимів пентозо-фосфатного циклу при цьому істотно не змінювався. Також показано, що рівень експресії генів G6PD та GPI підвищується і знижується, відповідно, у клітинах гліоми за умов дефіциту глутаміну, а генів інших ензимів пентозо-фосфатного циклу при цьому істотно не змінювався. Більше того, виявлені зміни в експресії досліджених генів за умов дефіциту глутаміну залежали від функції сигнального ензиму ERN1. Таким чином, результати даної роботи вказують на те, що у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 змінюється рівень експресії лише трьох досліджених генів і що за умов дефіциту глутаміну у середовищі вирощування клітин гліоми по-різному змінюється рівень експресії більшості досліджених генів, але ці зміни виявлялися переважно у клітинах за умов виключення ERN1.

Ключові слова: експресія генів, блокада ERN1, G6PD, TKT, TALDO1, PGLS, RPIA, GPI, дефіцит глутаміну, клітини гліоми лінії U87.

Одержано редколегією 10.06.2014

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ЛУЖНОГО ОПІКУ І ТА ІІ-ГО СТУПЕНЮ СТРАВОХОДУ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

Я. Б. РАЄЦЬКА, Т. В. ІЩУК, О. І. ДЖУС, О. М. САВЧУК, Л. І. ОСТАПЧЕНКО

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
Кафедра біохімії, 03127 Київ, Україна, пр-т Глушкова 2/12
e-mail: raetska@ya.ru

Екзогенні отруєння лугами займають провідне місце в структурі гострих отруєнь, що прямо зв'язано з наявністю великої кількості порівняно доступних технічних і побутових агресивних рідин, синтезованих у результаті науково-технічного прогресу людства. Випадковий або навмисний прийом їдких речовин є важливою соціальною і медичною проблемою через довготривалі ускладнення, включаючи кровотечу, перфорацію, системні ускладнення (ниркова недостатність, порушення функції печінки), звуження стравоходу, свищі, рубці, обструкцію та рак шлунка. Серед постраждалих переважно діти віком від 1 до 8 років. На сьогодні існує ряд експериментальних моделей хімічних опіків стравоходу, але вони є недостатньо коректними для проведення досліджень, оскільки при їх створенні застосовуються хімічні речовини, які, самі по собі, впливають на ряд біохімічних показників, зумовлюючи похибку в результатах. В експерименті на щурах нами відтворено модель лужного опіку стравоходу І та ІІ-го ступеню, яка супроводжувалась відповідними морфологічними ураженнями слизової оболонки стравоходу. Дослідженні показники: рівень загального білка, альбуміну, сечовини, іонів калію, креатиніну, АСТ, АЛТ, які є основними біохімічними показниками сироватки крові, за якими можна охарактеризувати функціональний стан організму та оцінити ступінь метаболічних порушень за умов досліджуваної патології. За умов моделювання ЛОС І-го ступеню – рівень досліджуваних біохімічних показників (загального білка, альбуміну, сечовини, креатиніну) найбільше змінювався на 7-му добу досліджень, після моделювання ЛОС ІІ-го – на 1-шу добу. Активність АСТ та АЛТ за умов моделювання ЛОС І-го ступеню найбільше зростала на 7-му добу експерименту, щодо моделі ЛОС ІІ-го ступеню активність вище згаданих ферментів була найвищою на 1-шу добу. Отримані результати ще раз підтверджують, що змодельований стан є адекватною моделлю лужного опіку стравоходу І, ІІ-го ступеню у дітей віком від 1-го до 8-ми років. Даний підхід може бути використаний у дослідженні біохімічних та імунологічних механізмів патогенезу хімічного опіку стравоходу І, ІІ-го ступеню на тваринах.

Ключові слова: лужний опік стравоходу, біохімічні показники.

Вступ. Екзогенні отруєння лугами займають провідне місце в структурі гострих отруєнь (Доржиев и др., 2012; Разумовский и др., 2011). Серед постраждалих переважно діти - 75%, віком від 1 до 8 років (Доржиев и др., 2012; Ивашкин, Трухманов, 2000). Глибина опіку стравоходу залежить від концентрації хімічної речовини, її природи, кількості та часу контакту зі слизовою оболонкою. Існує ряд патологій та ускладнень в патогенезі опіків стравоходу: гіпоксія тканин (Сапожникова, 1978; Mattos, 2006), набряк гортані, токсичний шок, кровотеча, некроз стінки стравоходу або шлунка, медіастеніт і формування рубцевого стенозу (Сапожникова, 1978; Dakshesh N. Parikh. et al., 2009; Mattos et al, 2006), гастроэзофагеальний рефлюкс (Салахов, 2007; Mutaf et al., 1996), порушення моторики (Волков и др., 2005), кандидоз (Черноусов и др., 1998), малігнізація у віддаленому періоді (Ziegler et al., 2003) та інші. Отже, опікова хвороба є важливою проблемою, яка потребує негайного вирішення.

На сьогодні існує ряд експериментальних моделей хімічних опіків стравоходу (Bustamantel

et al., 2013; Ekingen et al., 2005; Guven et al., 2008; Осакс et al., 2006), але вони є недостатньо коректними для проведення досліджень, оскільки при їх створенні застосовуються хімічні речовини, які, самі по собі, впливають на ряд біохімічних показників, зумовлюючи похибку в результатах. Крім того для наших досліджень принциповим було розробити модель опіку, яка б відповідала тій, що є характерною для дітей від 1 до 8 років. Традиційно при створенні моделі опіку стравоходу використовують статевозрілих щурів, що за віком, як правило, відповідають дорослій людині (Гелашвили, 2008).

Для відтворення лужного опіку стравоходу (ЛОС) нами було обрано розчин NaOH, оскільки більшість отруйних речовин, які викликають хімічні ушкодження стравоходу у дітей, є луговмісні (елементи живлення, миючі засоби, речовини для очистки).

Метою нашої роботи було створення адекватної експериментальної моделі ЛОС І та ІІ-го ступеню, які можна застосовувати для широкого спектру досліджень особливостей

опікового патогенезу в першу чергу у дітей віком від 1-го до 8-ми років.

Матеріали і методи. У досліджах використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (1-місячних) масою 90-110 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тваринам експериментально моделювали опік стравоходу розчином 10% та 20% NaOH: у стравохід вводили зонд з запаяним торцем і отвором на відстані 2 мм від нього. Зонд вводили на глибину 4,0 см від верхніх різців щура. Після цього через зонд повільно вводили 0,1 та 0,2 мл розчину 10% NaOH та 20% NaOH. Контрольним щурам одноразово перорально вводили 0,1 та 0,2 мл води для ін'єкцій (Раєцька та ін., 2013).

Дослідження стану слизової оболонки стравоходу проводили на 1, 3 та 7-му добу після введення розчину лугу. Вибір термінів дослідження обумовлений розвитком патоморфологічних процесів за хімічних опіків стравоходу (Ванцянь, Тошаків, 1971). Наприкінці експерименту тварин умертвляли методом дислокації шийних хребців. Отриманий стравохід розрізали поздовжньо, промивали холодним фізіологічним розчином. Для морфологічного дослідження використовували шматочки стравоходу довжиною близько 1,5 см. Їх фіксували в розчині 12% формаліну і заливали в парафін. Депарафіновані зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксилін-еозином за Ван Гізоном. Дослідження стану слизової стравоходу проводилося візуальним методом. Макроскопічно за допомогою лупи при яскравому освітленні визначали кількість і площу деструкцій.

Біохімічні показники визначали в сироватці крові, яку отримували центрифугуванням крові при 2000g 40 хв. У нашому дослідженні використовували біохімічний аналізатор Humalyser 3000. Визначення вмісту загального білка проводилося з використанням набору для колориметричного фотометричного визначення концентрації загального білка біуретовим методом. Визначення рівня альбуміну проводилося з використанням набору для колориметричного визначення концентрації альбуміну з використанням бромкрезолового зеленого. Визначення рівня іонів K^+ проводилося з використанням набору для фотометричного турбідиметричного визначення концентрації іонів K^+ . Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ) проводилося з використанням набору для колориметричного визначення АЛТ. Визначення активності аспартатамінотрансферази (АСТ) проводилося з

використанням набору для колориметричного визначення АСТ.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми *Excel*. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Ст'юдента (t). При цьому достовірними вважались різниці $P < 0,05$.

Результати та обговорення. Відомо, що луги пошкоджують слиз і білкову субстанцію клітин, омилюють жири, утворюючи лужні альбуміни, розпушують і розм'якшують тканини, які стають більш доступними для проникнення речовин у глибші шари стравоходу. Луги залишають глибокі опіки в стравоході, у той час як шлунок страждає менше, ніж при отруєнні кислотами, у зв'язку з частковою нейтралізацією лугу шлунковим соком (Лужников, 2007). Показано, що 10% та 20% NaOH проникає в тканини і призводить до значних уражень слизової стравоходу (рис. 1. А, Б, В, Г). Виявлено набряк, гіперемію, пошкодження поверхневих шарів епітелію, крововиливи в підслизовий шар.

Мікрофотографія слизової стравоходу (рис.2, А) демонструє ураження тканин стравоходу щурів за умов експериментального моделювання ЛОС 10% NaOH: десквамативний езофагіт, гіперемія, набряк, підвищена ранимість слизової оболонки. На мікрофотографії (рис.2, Б) показано ураження тканин стравоходу щурів за умов експериментального моделювання ЛОС 20% NaOH: фібринозний, ерозивний езофагіт (пошкодження слизової та підслизового шару) виражений набряк. Порівняння виявлених уражень та досліджень стану слизової оболонки стравоходу дітей з опіком I та II-го ступеню показало відповідність експериментальних моделей (за Терновский, 1963, і за Ванцянь, Тошаків, 1991).

Як відомо, опік стравоходу супроводжується тривалими порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів та систем (Лужников, 2007). Тому одним з основних діагностичних критеріїв тяжкості ЛОС є визначення біохімічних показників. Нами були обрані такі показники, як рівень загального білка, альбуміну, сечовини, іонів калію, креатиніну, АСТ, АЛТ, що є основними біохімічними показниками сироватки крові, за якими можна охарактеризувати функціональний стан організму та оцінити ступінь метаболічних порушень за умов досліджуваної патології.

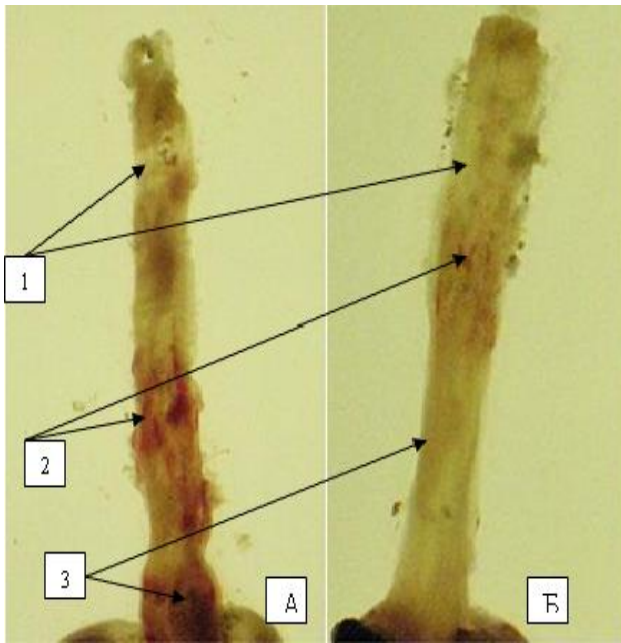


Рис. 1. Макрофотографія слизової оболонки стравоходу щурів при експериментальному моделюванні лужного опіку стравоходу 10% NaOH (А- 1 доба, Б - 7 доба) та 20% NaOH (В- 1 доба, Г - 7 доба).

Примітка: 1 – пошкодження поверхневих шарів епітелію; 2 – крововиливи; 3 – набряк.

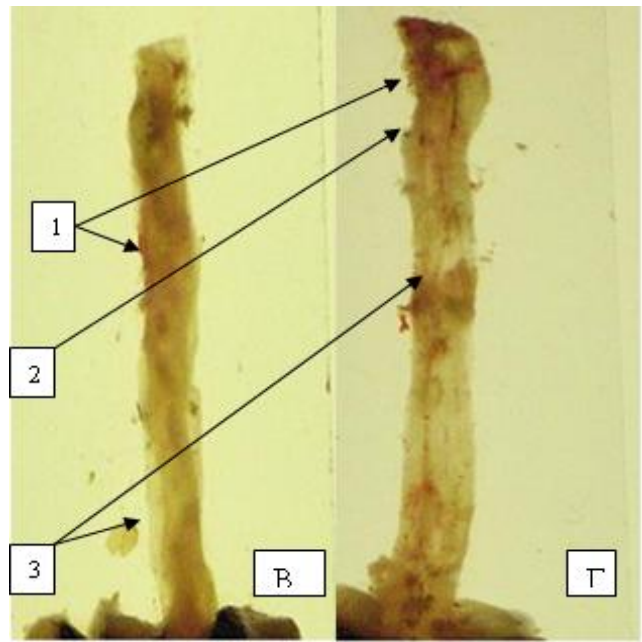


Fig. 1. Macrophotography of the rats esophageal mucosa after experimental simulation of an alkali burn with 10% NaOH (A– 1st day, Б – 7th day) and 20% NaOH (B– 1st day, Г–7th day).

Note: 1- damage to the superficial layers of the epithelium; 2 – hemorrhages; 3 – edema.

Нами було визначено концентрацію загального білка в сироватці крові щурів з ЛОС (10% NaOH) стравоходу, в ході дослідження були отримані наступні дані, які подані в таблиці 1. Встановлено, що експериментальний опік стравоходу 10% NaOH призводить до значних змін вмісту загального білка. На 1, 3 і 7 добу

спостережень його вміст поступово знижувався, відповідно, в 1,2, 1,5 та в 1,6 разів, порівняно з контрольними значеннями.

Показано, що на 3 і 7 добу відбувається поступове зниження вмісту альбуміну, відповідно, в 1,7 і 2,1 разів порівняно з контрольними значеннями.

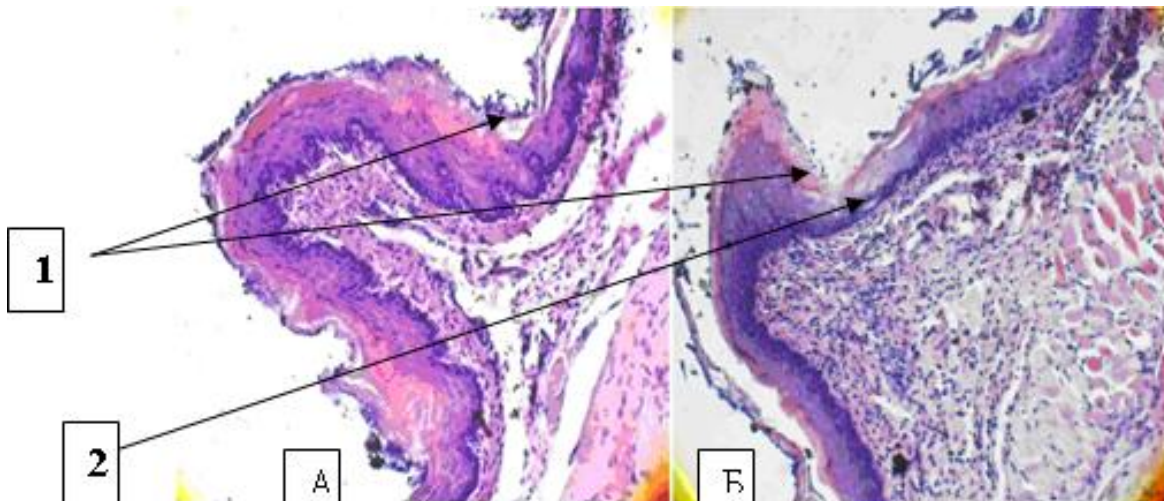


Рис. 2. Мікрофотографія слизової оболонки стравоходу щурів за умов експериментального моделювання лужного опіку стравоходу 10% NaOH (А) та 20% NaOH (Б).

Примітка: 1- пошкодження слизової, 2 - пошкодження підслизового шару.

Fig. 2. The micrograph of the rat esophageal mucosa after experimental simulation of an alkali burn with 10% NaOH (A) and 20% NaOH (Б).

Note: 1- damage to the mucosa, 2 - damage to the submucosa.

Отже, має місце гіпопротеїнемія, яка виникає переважно за рахунок зменшення кількості альбумінів.

У клінічній лабораторній діагностиці велику роль відіграє визначення вмісту кінцевих продуктів обміну білка, які прийнято розглядати як систему залишкового азоту. Майже половина компонентів цієї системи припадає на сечовину. У клініці показник рівня сечовини має вирішальне значення для діагностики захворювань нирок. За умов ЛОС 10% NaOH ми спостерігали підвищення: на 1, 3 та 7 добу рівень сечовини в 1,3, 1,9 та 2,1 рази, відповідно, що може свідчити про розвиток важкого патологічного процесу.

Нами було визначено рівень креатиніну в сироватці крові піддослідних тварин. В ході дослідження були отримані дані (табл. 1), які свідчать про те, що експериментальний опік стравоходу в період 1, 3 і 7 доби призводить до значних змін рівня креатиніну, який, зазвичай, використовується як маркер токсичного впливу на організм та може вказувати на ниркову недостатність. Експериментальний опік стравоходу зумовлював підвищення рівня креатиніну в сироватці крові в період всього терміну дослідження, на 1, 3 та 7 добу в 1,5, 2,1 та 2,3 рази, порівняно з контрольними значеннями, що відповідає літературним даним. Отже, опікова хвороба характеризується гострою

інтоксикацією, порушенням в організмі водно-сольового обміну, що часто призводить до ураження нирок (Ванцян, Тошаків, 1971; Гонський та ін., 2001; Лужников, 2007).

Дослідження рівня іонів K^+ в сироватці крові щурів з ЛОС 10% NaOH дозволило встановити його підвищення 1,4, 2,4, 2,9 рази в усі терміни.

Вивчення динаміки активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів при моделюванні опіку стравоходу показало, що активність АЛТ підвищувалась у 2,5, 2 і в 1,5 рази, активність АСТ зростала у 1,5, 1,3, 1,2 рази, відповідно, на 1, 3, 7 добу експерименту. Встановлені зміни основних печінкових трансфераз за умов моделювання ЛОС 10% NaOH вказують на суттєві порушення функціонування різних органів, що може бути підтвердженням формування стійкого стану опіку стравоходу I-го ступеню у дослідних тварин.

Отже, за умов моделювання ЛОС I-го ступеню – рівень досліджуваних біохімічних показників (загального білка, альбуміну, сечовини, креатиніну) змінювався найбільшою мірою на 7-му добу досліджень. Активність АСТ та АЛТ за умов моделювання ЛОС I-го ступеню найбільше зростала на 7-му добу експерименту.

Також нами було визначено концентрацію загального білка в сироватці крові щурів з ЛОС (20% NaOH), в ході дослідження були отримані наступні дані, які подані в таблиці 1.

Табл.1. Біохімічні параметри сироватки крові щурів за умов експериментального моделювання лужного опіку стравоходу 10% та 20% NaOH ($M \pm m$, $n=10$)

Tab. 1. Biochemical parameters in blood serum of rats under experimental modeling of an alkali esophagus burn with 10% and 20% NaOH ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Контроль	ЛОС, 10% NaOH			ЛОС NaOH 20%		
		1 доба	3 доба	7 доба	1 доба	3 доба	7 доба
Загальний білок, (г/л)	65,01±0,1	51,02±2,1*	44,8±2,1*	41,2±1,0*	43,1±1,9*	50,7±2,1*	52,3±1,2*
Альбумін, (г/л)	37,5±0,12	21,9±1,6*	20,9±2,4*	18,3±1,3*	20,01±0,9*	21,9±1,02*	23,6±1,12*
Сечовина, (ммоль/л)	8,8±0,2	12,2±1,23	18,3±1,01*	20,7±1,3*	21,4±1,12*	20,7±1,2*	17,1±0,7*
Креатинін, (мкмоль/л)	88,0±0,1	130,8±4,2*	140,6±5,02*	178,8±3,98*	153,9±3,01*	153,6±1,1*	145,01±2,1*
K^+ , (ммоль/л)	5,0±0,1	5,7±0,1*	11,8±1,01*	14,6±0,9*	13,8±1,1*	13,4±1,2*	8,0±0,5*
АЛТ, од/л	27,7±0,1	68,31±1,03*	70,99±1,11*	78,12±1,33*	86,5±1,87*	77,98±1,22*	71,1±2,2*
АСТ, од/л	55,5±0,13	61,3±1,2*	62,12±0,9*	67,1±1,7*	79,7±3,3	71,6±1,47*	70,1±2,3*

Примітка: * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю.

Встановлено, що експериментальний опік стравоходу 20% NaOH призводить до значних змін вмісту загального білка. На 1, 3 і 7 добу спостережень його вміст знижувався, відповідно, в 1,5, 1,3 та в 1,2 рази, порівняно з контрольними значеннями. Показано, що на 1,3,7 добу відбувається зниження вмісту альбуміну, відповідно, в 1,8, 1,6 і 1,5 разів порівняно з контрольними значеннями. За умов ЛОС 20% NaOH ми спостерігали підвищення: на 1, 3 та 7 добу рівень сечовини в 2,4, 2,3 та 1,9 рази, відповідно. ЛОС 20% NaOH зумовлював підвищення рівня креатиніну в сироватці крові в період всього терміну дослідження, на 1, 3 та 7 добу в 1,73, 1,72 та 1,63 рази, порівняно з контрольними значеннями. Дослідження рівня іонів K^+ в сироватці крові щурів з ЛОС дозволило встановити його підвищення 2,72, 2,71, 1,56 рази в усі терміни. Вивчення динаміки активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів при моделюванні опіку стравоходу показало, що активність АЛТ підвищувалась у 3,1, 2,8 і в 2,6 рази, активність АСТ зростала у 1,4, 1,3, 1,2 рази, відповідно, на 1, 3, 7 добу експерименту. Таким чином, за умов моделювання ЛОС II-го ступеню – рівень досліджуваних біохімічних показників (загального білка, альбуміну, сечовини, креатиніну) змінювався найбільшою мірою вже на 1-шу добу досліджень. Активність АСТ та АЛТ за умов лужного опіку II-го ступеню найбільше зростала на 1-шу добу експерименту.

Висновки. Отже, за допомогою 10% NaOH та 20% NaOH нами було відтворено модель ЛОС I,II-го ступеню, яка супроводжувалась відповідними морфологічними ураженнями слизової оболонки стравоходу та змінами основних біохімічних показників. Отримані результати дозволяють стверджувати, що змодельований стани є адекватною моделлю ЛОС I та II-го ступеню у дітей віком від 1-го до 8-ми років. Даний підхід може бути використаний у дослідженні біохімічних та імунологічних механізмів патогенезу хімічного опіку стравоходу I,II-го ступеню на тваринах.

Список літератури:

1. Ванцян Э.Н., Тошаков Р.А. Лечение ожогов и рубцовых сужений пищевода. – М.: 1971. – 260 с.
2. Волков С.В., Ермолаев А.С., Лужников Е.А. Химические ожоги пищевода и желудка. – М.: Медпрактика-М., 2005. – 119 с.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 736 с.
4. Гелашвили О. А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы. // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. – Т. 22 № 4. – С. 125–126.
5. Доржиев Б.Д., Тыхенова М.Л., Пунсуков К.Д. Экспериментальная модель химического ожога пищевода и желудка современными агрессивными химическими агентами. // Бюлетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – 86, № 4. – С.46
6. Ивашкин В. Т., Трухманов А. С. Болезни пищевода. — М.: Триада-Х, 2000. – 179 с.
7. Лужников Е. А.. Клиническая токсикология : учебник / - 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1994. – 255 с.
8. Разумовский А.Ю., Обыденнова Р.В., Куликова Н.В., и др.. Эволюция взглядов на хирургическое лечение детей с химическими ожогами пищевода.// Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.– 2011. –№1. – С.51-59.
9. Салахов Э.С. Лечение химических ожогов пищевода у детей. Дисс. ... канд. мед. наук. – СПб., 2007. С. 3-4.
10. Сапожникова М.А. Химические ожоги пищевода и их отдаленные исходы при различных методах лечения: Дисс. ...д-ра мед. наук. – М., 1978. – 31 с.
11. Черноусов А.Ф., Адрианов В.А., Домрачев С.А. и др. Выбор метода эзофагопластики при доброкачественных заболеваниях пищевода.//Анналы хирургии. – 1998. –№ 1. – С. 48–50.
12. Расьцька Я.Б., Іщук Т.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Відтворення експериментальної моделі хімічного опіку стравоходу у щурів I-го ступеню.// Медична хімія. – 2013. –Т.15(56) – С. 116-120.
13. Bustamante T. F., et al. The use of mitomycin C in caustic esophagitis in rats.// Acta Cirúrgica Brasileira. – 2013. – V. 28 (2) – P.136-141
14. Dakshesh N. Parikh, David C.G. Crabbe, Alexander W. Auldist et al. Pediatric Thoracic Surgery. Rothenberg: London Limited. 2009. – 601p.
15. Ekingen G. et al. Effect of the prostacyclin derivate iloprost in experimental caustic esophageal burn.// Pediatr Surg Int. – 2005. – V.21– P.441–444
16. Guven A. et al. The efficacy of ozone therapy in experimental caustic esophageal burn.// Journal of Pediatric Surgery. – 2008. –V. 43, (9).– P.1679–1684.
17. Ocak A. et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NaOH-induced esophageal burns in rats.// International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. – 2006. – V. 70,(10).– P. 1731–1739.
18. Mattos G.M., Lopes D.D., Mamede R.C. et al. Effects of time of contact and concentration of caustic agent on the injuries. //Laryngoscope. – 2006. Vol. 116. № 3. –P. 456–460.
19. Mutaf O. The treatment of corrosive esophageal strictures by long-term stenting. // J. Pediatr. Surg. – 1996. –Vol. 31, № 5.–P. 681–685.
20. Ziegler M.M., Azizkhan R.G., Weber T.R. Operative pediatric surgery. New York: McGraw-Hill., 2003. P. 341–345.

EXPERIMENTAL MODELING OF 1ST AND 2ND DEGREES ALKALI ESOPHAGUS BURN IN IMMATURE RATS

Ya.B. Raetska, T.V. Ischuk, O.I. Dzhus, O.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko

Exogenous poisoning with alkalis takes the leading position among causes of acute poisoning. There are many pathologies and complications following an alkali esophageal burns: swelling of the larynx, toxic shock syndrome, necrosis of esophageal and stomach tissue, dysmotility, scar stricture, esophageal deformations, corrosive esophagitis, gastroesophageal reflux, malignization in a remote period and others. Esophageal burns as a result of accidental swallowing of caustic material are seen frequently in children ages 1 to 8 years. Today there are a number of experimental models of an alkali esophagus burns (AEB) which require the use of chemicals for their creation where, in itself, they affect the certain biochemical parameters, which complicates the interpretation and analysis of the experimental results. The comparison of the detected lesions and researches of status of the esophageal mucosa of children with 1st and 2nd degree burns specified the experimental model conformity. Therefore, one of the major diagnostic criteria of the AEB severity is to determine biochemical parameters. We selected the following indicators as the level of total protein, albumin, urea, potassium ions, creatinine, AST, ALT, which are the main biochemical parameters of blood serum. Thus, we have reproduced the model of the 1st and 2nd degree an alkali esophageal burns using 10% and 20% NaOH which was accompanied by corresponding morphological lesions of esophageal mucosa and changes in basic biochemical parameters. This approach may be used in the study of biochemical and immunological mechanisms of pathogenesis of the 1st and 2nd degree an alkali esophageal burns of on animals.

Key words: alkali burn, esophagus, biochemical parameters

Одержано редколлегією 23.03.2014



УДК 597.556.15 (282.243.7.05)(477.74)

ЖИВЛЕННЯ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО *CARASSIUS GIBELIO* В ПРИДУНАЙСЬКИХ ОЗЕРАХ ЯЛПУГ І КУГУРЛУЙ

М. П. ЗАМОРОВА¹, В. В. ЗАМОРОВ²

¹Біотехнологічний науково-навчальний центр,

²Кафедра гідробіології та загальної екології

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

65082, м. Одеса, вул. Дворянська, 2,

e-mail: hydrobiologia@mail.ru, bio@onu.edu.ua;

Придунайські озера – найбільший озерний комплекс України. Озеро Ялпуг саме велике серед них. Його площа близько 149 км², а об'єм – близько 387 млн. м³. На півдні Ялпуг з'єднується з озером Кугурлуй широким протокою в пересипу, фактично утворюючи єдину озерну систему. Зв'язок Ялпуга з Дунаєм здійснюється через озеро Кугурлуй, а також безпосередньо через протоку. Озеро Кугурлуй має майже в два рази меншу площу (82 км²) і більш ніж в чотири рази об'єм (82 млн. м³). З Дунаєм озеро Кугурлуй з'єднується двома каналами і протокою. Ці озера мають значний рибогосподарський потенціал, який зараз повністю не реалізовано. В результаті будівництва системи дамб в другій половині ХХ сторіччя зв'язок озер з Дунаєм помітно зменшився. Це призвело до перебудови екосистем озер і вплинуло на їх рибопродуктивність. Зараз карась сріблястий *Carassius gibelio* є численним представником іхтіофауни придунайських озер, він займає друге місце в промислі після товстолобика білого *Hypophthalmichthys molitrix*. За останні десять років середня величина уловів карася сріблястого в озерному комплексі Ялпуг-Кугурлуй дорівнює 200,6 тони за рік. В озерах Ялпуг і Кугурлуй у 2011 році в живленні карася сріблястого знайдено організми зообентосу і планктону (38 таксонів), які належать до 4 типів, 7 класів, 17 рядів і 23 родин. В раціоні риб за масою найбільш важливими були дрейсена *Dreissena polymorpha*, молюски родини *Cardiidae*, а також представники планктону – гіллястовусі ракоподібні (*Cladocera*). Згідно величин індексу відносної значимості дрейсена домінувала в їжі карася в озері Ялпуг протягом всього року. Влітку і восени також важливими були молюски родини *Cardiidae*. Серед ракоподібних в обох озерах в раціоні риб, майже завжди, перше місце займали гіллястовусі ракоподібні. В усі сезони року в озерному комплексі карась сріблястий активно споживав дрейсену. Літом в Ялпузі його улюбленим кормом можна вважати амфіпод і червоногих молюсків родини *Cardiidae*. В Кугурлуї карась також активно вживав різноногих ракоподібних (*Amphipoda*).

Ключові слова: *Carassius gibelio*, придунайські озера, живлення.

Вступ. Придунайські озера – найбільший озерний комплекс України. Площа самих великих з них – Кагула, Ялпуга, Кугурлуя, Котлабуха і Китая становить близько 450 км², а їх об'єм – більш 800 млн. м³ (Джуртубаєв, Джуртубаєв и др., 2012). Ці озера мають значний рибогосподарський потенціал, який зараз повністю не реалізовано. В результаті будівництва системи дамб в другій половині ХХ сторіччя зв'язок озер з Дунаєм помітно зменшився. Це призвело до перебудови екосистем озер і вплинуло на їх рибопродуктивність.

Карась сріблястий *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) важливий в господарському відношенні промисловий вид. Його біоценотична роль у водоймах достатньо велика. Завдяки своїй високій стійкості до коливань факторів навколишнього середовища він зустрічається в

більшості водойм України (Мовчан, Смірнов, 1983).

До 60-х років минулого сторіччя в придунайських озерах численним був аборигенний вид – карась золотий *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758). Починаючи з 70-х років карась сріблястий став одним з головних об'єктів розведення в ставкових господарствах Придунав'я, він почав домінувати в промислових уловах над карасем золотим (Шекк, 2001). Зараз карась сріблястий є численним представником іхтіофауни придунайських озер, він займає друге місце в промислі після товстолобика білого *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844). За останні десять років середня величина уловів карася сріблястого в озерному комплексі Ялпуг-Кугурлуй дорівнює 200,6 тони за рік. Біологія цього виду риб вивчена досить досконало, зокрема, досліджена

вікова, розмірно-масова структура його популяцій, живлення, т.д. Однак, екологічна ситуація у водоймах, у тому числі і в придунайських озерах, постійно змінюється, в першу чергу під антропогенним впливом. Тому, незважаючи на тривалий період вивчення іхтіофауни цих водойм, залишається актуальним продовження досліджень промислових видів риб озер. Значення таких досліджень зросло в останні роки на багатьох водоймах у зв'язку з підвищенням впливу на них рибогосподарської діяльності спеціалізованих підприємств. Подібна ситуація, зокрема, складається і на більш великих за площею придунайських озерах – Ялпуг і Кугурлуй. У зв'язку з цим, метою роботи було вивчити живлення карася сріблястого в озерному комплексі Ялпуг-Кугурлуй.

Об'єкт і методи. Матеріал для цього дослідження зібрано співробітниками кафедри гідробіології та загальної екології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (ОНУ) на придунайських озерах Ялпуг і Кугурлуй протягом трьох сезонів у 2011 році. Рибу ловили неводом і зябровими сітками.

Повний біологічний аналіз риб і вивчення їх живлення здійснювали за загальноприйнятими іхтіологічними методиками (Правдин, 1966; Методическое..., 1974). У ході аналізу виміряли стандартну довжину (см), масу тіла (г), встановлювали стать риби, її вік.

За час досліджень проаналізовано 114 харчових грудок карася-сріблястого. Таксономічну належність кормових об'єктів визначали за монографією (Определитель пресноводных..., 1977).

Для аналізу матеріалу використовували такі індекси:

Індекс таксономічної подібності (ІТП)

$$\text{ІТП} = \frac{H_C}{(H_A + H_B) - H_C} \cdot 100\%,$$

де H_A – кількість таксонів кормових об'єктів в раціоні однієї риби;

H_B – кількість таксонів кормових об'єктів в раціоні іншої риби;

H_C – кількість однакових таксонів кормових об'єктів в раціонах риб, яких порівнювали.

Індекс харчової подібності (ІХП), яким є сума мінімальних величин відновленої маси (%) однакових об'єктів харчування в раціонах риб, що порівнювались.

Індекс відносної значимості (ІВЗ):

$$\text{ІВЗ} = (d + n) \cdot f,$$

де d – відновлена маса об'єкту живлення (% від загальної відновленої маси всіх харчових об'єктів в раціоні риби);

n – кількість об'єкту живлення (% від загальної кількості всіх кормових об'єктів в раціоні риби);

f – частота зустрічальності харчових грудок з об'єктом живлення (% від загальної кількості досліджених харчових грудок).

Індекс вибірковості (ІВ):

$$\text{ІВ} = \frac{d}{b},$$

де d – відновлена маса організму у харчовій грудці, %;

b – маса організму в гідробіологічній пробі, %.

Величини біомаси представників макрозообентосу озер, які отримані із публікацій співробітників кафедри гідробіології та загальної екології ОНУ (Джуртубаєв, Заморов и др., 2012).

Автори щиро вдячні молодшому науковому співробітнику Ю. М. Джуртубаєву за надану допомогу в визначенні таксономічної належності об'єктів живлення карася сріблястого.

Результати та їх обговорення. Ялпуг – найбільше озеро України. Його площа близько 149 км², довжина – 38 км, середня глибина – 2,6 м, об'єм – близько 387 млн. м³ (Швебс, Ігошин, 2003). На півдні Ялпуг з'єднується з озером Кугурлуй широким протокою в пересипу, що розділяє ці два озера, фактично утворюючи єдину озерну систему. Зв'язок Ялпуга з Дунаєм здійснюється через озеро Кугурлуй, а також безпосередньо з річкою через протоку Велика Репіда. Домінуючий ґрунт – тонкий шар сірого мулу, що займає близько 50 % площі дна озера. Є ділянки мулистопіщаних ґрунтів з домішкою черепашнику, мулисті, галькові ґрунти (Марковский, 1955; Оливари, 1961).

Площа озера Кугурлуй близько 82 км², довжина – 20 км, середня глибина – 1,0 м, об'єм – близько 82 млн. м³ (Швебс, Ігошин, 2003). З Дунаєм озеро Кугурлуй з'єднується каналами Скунда і «105-й км», а також протокою Велика Репіда. Практично все дно озера вкрите мулом (Оливари, 1961).

Для трофологічного аналізу було відібрано однакову кількість риб різної статі, віком від двох до чотирьох років. Стандартна довжина самців коливалась від 15,5 см до 28,1 см (середня величина – 20,4 см), маса особин змінювалась від 130 г до 532 г (середня величина – 298,6 г). Розмір самок дорівнював 12,5 – 30,0 см (20,9 см), маса була 139 – 740 г (322,4 г).

В озерах Ялпуг і Кугурлуй за всі сезони 2011 року в живленні карася сріблястого знайдено організми зообентосу і планктону, які належать до чотирьох типів (*Nemathelminthes*, *Annelida*, *Mollusca*, *Arthropoda*), семи класів (*Nematoda*, *Oligochaeta*, *Hirudinea*, *Gastropoda*, *Bivalvia*,

Crustacea, Insecta), 17 рядів (*Mesogastropoda*, *Archaeogastropoda*, *Basommatophora*, *Pyramidelloida*, *Caenogastropoda*, *Eulamellibranchia*, *Cyclopoida*, *Cladocera*, *Ostracoda*, *Amphipoda*, *Mysidacea*, *Isopoda*, *Odonata*, *Heteroptera*, *Coleoptera*, *Plecoptera*, *Diptera*) і 23 родин (*Glossiphoniidae*, *Piscicolidae*, *Hydrobiidae*, *Viviparidae*, *Bithyniidae*, *Neritidae*, *Lymnaeidae*, *Planorbidae*, *Valvatidae*, *Melanopsidae*, *Cardiidae*, *Dreissenidae*, *Corophiidae*, *Gammaridae*, *Mysidae*, *Asellidae*, *Coenagrionidae*, *Calopterygidae*, *Libellulidae*, *Aeschnidae*, *Notonectidae*, *Dytiscidae*, *Chironomidae*).

Більшість представників класів *Nematoda*, *Oligochaeta*, *Crustacea*, *Insecta* були дуже перетравлені, тому вони часто ідентифікувались до достатньо високої систематичної групи – ряду або родини. До роду чи виду, в основному, визначали моллюсків і членистоногих. Представники цих двох типів тварин мали найбільшу кількість визначених таксонів організмів із раціону карася – 14 і 18 відповідно. До виду були визначені: п'явки – *Glossiphonia heteroclita*, *Piscicola geometra*; червононогі моллюски – *Theodoxus fluviatilis*, *Lymnaea*

palustris, *Lymnaea peregra*, *Lymnaea glabra*, *Lymnaea ovate*, *Planorbis planorbis*, *Melanopsis esperi*; двостулкові моллюски – *Dreissena polymorpha*; різноногі ракоподібні – *Gammarus pulex*; рівноногі ракоподібні – *Asellus aquaticus*, комахи – *Agrion splendens* і *Notonecta glauca*.

Найбільшу кількість таксонів кормових організмів в харчових грудках риб визначено весною – по 27 у кожному озері. В Ялпузі самий вузький харчовий спектр карася мав в літку (16), що пов'язано, в першу чергу, з високою швидкістю перетравлення їжі в кишечнику риб у цей сезон. Влітку в його раціоні кількість таксонів моллюсків (7) була не меншою ніж в інші сезони року. В той же час таксономічних груп червив, ракоподібних і комах в харчових грудках карася було знайдено на 40% менше ніж весною і восени. Тому харчовий спектр риб, що жилися влітку значно відрізнявся від їх раціону весною (ІХП – 37,9%) і восени (ІХП – 16,7%). Для двох останніх вказаних сезонів якісний склад живлення карася співпадав майже на половину (ІХП – 48,3%). Весною величина індексу таксономічної подібності була максимальною (67,9%) при порівнянні живлення риб із різних водойм (табл. 1).

Табл. 1.

Частота зустрічальності кормових об'єктів (%) в живленні карася сріблястого в озерах Ялпуз і Кугурлуй за сезонами у 2011 р.

Tab. 1.

Frequency of dietary items (%) of Prussian carp in the Yalpuh and Kugurluy Lakes in different seasons of 2011

Об'єкт живлення	Ялпуз			Кугурлуй
	Весна	Літо	Осінь	Весна
Nematoda	11,1	19,4	14,3	40,9
Oligochaeta	26,2	39,7	57,1	27,3
Hirudinea	20,0	–	14,3	18,8
Hydrobiidae	–	1,3	–	–
Viviparidae	–	5,1	–	–
Bithyniidae	–	5,1	–	–
Neritidae	10,0	6,4	–	–
Lymnaeidae	10,0	–	9,5	9,1
Planorbidae	5,0	–	–	5,9
Valvatidae	10,0	7,7	–	–
Melanopsidae	5,0	–	–	5,9
Cardiidae	7,1	20,5	45,5	9,1
Dreissenidae	14,3	25,6	45,5	13,6
Cyclopoida	16,7	5,1	–	13,6
Cladocera	42,9	25,6	57,1	40,9
Ostracoda	27,7	19,4	14,3	54,5
Amphipoda	7,1	32,1	–	4,6
Mysidacea	20,0	–	9,5	21,2
Isopoda	5,0	–	14,3	9,1
Odonata	4,5	2,6	–	5,9
Heteroptera	–	–	14,3	24,2
Coleoptera	5,0	8,9	–	12,5
Plecoptera	–	6,4	–	–
Chironomidae	16,6	12,8	14,3	24,6

Табл. 2.
Відносні величини кількості кормових об'єктів (%)
в живленні карася сріблястого в озерах Ялпуг і
Кугурлуй за сезонами у 2011 р.

Об'єкт живлення	Ялпуг			Кугурлуй
	Весна	Літо	Осінь	Весна
Nematoda	3,2	1,4	0,1	4,4
Oligochaeta	1,4	2,3	0,3	2,3
Hirudinea	0,3	–	0,6	1,2
Hydrobiidae	–	0,1	–	–
Viviparidae	–	0,6	–	–
Bithyniidae	–	0,6	–	–
Neritidae	1,3	0,8	–	–
Lymnaeidae	0,3	–	0,3	0,9
Planorbidae	0,1	–	–	0,2
Valvatidae	1,8	0,6	–	–
Melanopsidae	0,9	–	–	0,2
Cardiidae	2,3	21,0	33,9	3,9
Dreissenidae	13,1	25,1	56,2	0,7
Cyclopoida	1,7	0,3	–	2,5
Cladocera	6,2	4,4	4,0	8,4
Ostracoda	50,6	16,8	0,7	56,3
Amphipoda	2,1	23,5	–	4,7
Mysidacea	0,7	–	0,9	6,7
Isopoda	0,2	–	0,7	1,4
Odonata	0,1	0,1	–	0,2
Heteroptera	–	–	1,3	4,2
Coleoptera	0,2	0,5	–	0,5
Plecoptera	–	0,2	–	–
Chironomidae	0,7	1,8	1,0	1,2

Tab. 2.
Relative means of number of dietary items (%) of
Prussian carp in the Yalpuh and Kugurluy Lakes in
different seasons of 2011

При вивченні кількісних показників окремого об'єкту живлення проведено порівняльний аналіз харчових спектрів самців і самок карася. Для цього використовували середні величини індексів таксономічної і харчової подібності особин різної статі в цілому для обох озер. Величини цих двох показників дорівнювали – 72,5% і 78,4% відповідно. Враховуючи значну подібність якісного та кількісного складу раціонів самців і самок дослідженого виду, подальше вивчення динаміки його харчової поведінки проводили без урахування статі особин.

За частотою зустрічальності окремих груп кормових організмів в раціоні карася протягом всього року в обох озерах серед планктону домінували гіллястовусі ракоподібні (*Cladocera*); серед бентосних форм перше місце займали малощетинкові черви (*Oligochaeta*), потім ракоподібні ряду *Ostracoda*. Весною риби часто вживали п'явок (*Hirudinea*), ракоподібних ряду *Mysidacea* і личинок комарів дзвінців (*Chironomidae*); в літку – різноногих ракоподібних (*Amphipoda*), дрейсену *Dreissena polymorpha* і моллюсків родини кардіїд

(*Cardiidae*). Останні кормові організми також часто зустрічались восени (табл. 1).

Найбільшою кількістю організмів в раціоні карася в обох озерах були представлені ракоподібні ряду *Ostracoda* (табл. 2). За цим показником дрейсена домінувала в їжі риб тільки в Ялпузі. Крім неї важливими також були кардіїди, а влітку ще і амфіподи. В Кугурлуй весною серед бентосних форм велику чисельність в харчових грудках карася мали ще і мізиди.

Найбільш важливим кількісним показником в живленні будь-якого виду тварин є маса спожитого кормового компоненту. Для проведення аналізу за цим показником, використовували відносну величину відновленої маси харчового об'єкта в раціоні риб.

В живленні карася сріблястого в озерах Ялпуг і Кугурлуй за масою найбільш важливими були дрейсена, моллюски родини *Cardiidae*, а також представники планктону – гіллястовусі ракоподібні. Можна вважати, що для карася за цим показником важливим кормовим об'єктом протягом всього року є дрейсена, влітку – моллюски родини *Cardiidae*, весною і літом – дафнії (табл. 3).

Табл. 3
Відносні величини відновленої маси кормових об'єктів (%) в живленні карася сріблястого в озерах Ялпуг і Кугурлуй за сезонами у 2011 р.

Tab. 3.
Relative means of restores mass of dietary items (%) of Prissian carp in the Yalpuh and Kugurluy Lakes in different seasons of 2011

Об'єкт живлення	Ялпуг			Кугурлуй
	Весна	Літо	Осінь	Весна
Nematoda	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Oligochaeta	0,14	0,08	<0,01	0,3
Hirudinea	0,7	–	0,2	2,9
Hydrobiidae	–	<0,01	–	–
Viviparidae	–	1,2	–	–
Bithyniidae	–	0,4	–	–
Neritidae	0,5	0,1	–	–
Lymnaeidae	2,1	–	0,4	9,2
Planorbidae	0,04	–	–	0,1
Valvatidae	0,4	0,04	–	–
Melanopsidae	0,5	–	–	0,2
Cardiidae	18,9	56,8	53,3	39,3
Dreissenidae	53,6	34,0	42,2	3,5
Cyclopoida	2,8	0,2	–	5,2
Cladocera	12,6	3,0	1,6	21,0
Ostracoda	5,2	0,6	0,01	7,0
Amphipoda	0,4	1,6	–	1,2
Mysidacea	0,1	–	0,03	1,3
Isopoda	0,02	–	0,02	0,2
Odonata	0,4	0,2	–	1,3
Heteroptera	–	–	0,07	1,4
Coleoptera	1,4	1,4	–	5,8
Plecoptera	–	0,1	–	–
Chironomidae	0,14	0,12	0,04	0,3

Для визначення ступеня подібності живлення риб, використовують індекс харчової подібності, який базується на відносних величинах маси кормових компонентів в раціонах риб, що порівнюються. Використовуючи цей показник можна оцінити на скільки важливими були кормові організми, які зустрічались в раціонах риб в різні сезони року.

В озерах Ялпуг і Кугурлуй, незалежно від сезону, головною їжею карася сріблястого була дрейсена і молюски родини *Cardiidae*. Ці кормові об'єкти суттєво впливали на величину харчової подібності карася при порівнянні його живлення в різні періоди року: весна – літо (ІХП – 63,8%), літо – осінь (ІХП – 89,3%), весна – осінь (ІХП – 66,8%). Найменша харчова подібність була весною у риб із різних озер, тому що карась в Ялпузі інтенсивно живився дрейсеною і мало вживав кардіід, в Кугурлуй була обернена ситуація при використанні рибами корму.

Інтегрованим показником важливості окремого об'єкту живлення в раціоні риб є індекс відносної значимості (ІВЗ, %), який об'єднує в собі всі кількісні характеристики

кормових організмів. Дрейсена домінувала в їжі карася сріблястого в озері Ялпуг протягом всього року (табл. 4). Влітку і восени також важливими були молюски родини *Cardiidae*. Серед ракоподібних в обох озерах в раціоні риб, майже завжди, перше місце займали остракоди і гіллястовусі. Літом в Ялпузі при зменшенні цих організмів в живленні карася, їх місце займали різноногі раки. При невеликих величинах ІВЗ представників рядів *Cladocera* і *Ostracoda* в харчових грудках риб, в їх раціоні зростало значення двостулкових молюсків.

Важливо також враховувати, якому корму риба надає перевагу при активному пошуку їжі. Для цього використовують індекс вибірковості, який вказує на здатність риби споживати кормові компоненти в іншій пропорції, ніж вони є у навколишньому середовищі. При його розрахунку необхідні дані з величин біомаси організмів бентосу в озерах, які були взяті з публікації співробітників кафедри гідробіології та загальної екології ОНУ (Джуртубаєв, Заморов і др., 2012).

Табл. 4
Величини індексу відносної значимості (%)
кормових об'єктів в живленні карася сріблястого в
озерах Ялпуг і Кугурлуй за сезонами у 2011 р.

Tab. 4.
Index of relative importance (%) of dietary items of
Prissian carp in the Yalpuh and Kugurluy Lakes in
different seasons of 2011.

Об'єкт живлення	Ялпуг			Кугурлуй
	Весна	Літо	Осінь	Весна
Nematoda	35,5	27,2	1,4	180,0
Oligochaeta	40,3	94,5	17,5	70,9
Hirudinea	20,0	–	11,4	77,1
Hydrobiidae	–	1,7	–	–
Viviparidae	–	9,2	–	–
Bithyniidae	–	5,1	–	–
Neritidae	18,0	5,7	–	–
Lymnaeidae	24,0	–	10,0	189,9
Planorbidae	0,7	–	–	1,8
Valvatidae	22,0	4,9	–	–
Melanopsidae	7,0	–	–	2,4
Cardiidae	150,5	1594,0	3967,0	393,1
Dreissenidae	953,8	1512,0	4477,0	57,1
Cyclopoida	75,2	2,6	–	104,7
Cladocera	806,5	189,4	319,8	1202,0
Ostracoda	1546,0	337,6	10,2	3449,8
Amphipoda	17,8	805,7	–	27,1
Mysidacea	16,0	–	8,8	169,6
Isopoda	1,1	–	10,3	14,6
Odonata	2,2	0,8	–	8,8
Heteroptera	–	–	19,6	135,5
Coleoptera	8,0	16,9	–	78,8
Plecoptera	–	1,9	–	–
Chironomidae	13,9	24,6	14,9	36,9

В усі сезони року в обох озерах карась сріблястий активно споживав дрейсену (табл. 5). Літом в Ялпузі його улюбленим кормом можна вважати амфіпод і черевоногих молюсків. В Кугурлуй карась також активно вживав різноногих ракоподібних.

Враховуючи вище зазначене, приходимо до висновку, що в придунайських озерах Ялпуг і Кугурлуй спектр живлення карася сріблястого достатньо широкий, до складу якого входять організми із 38 таксонів, що, в цілому,

підтверджує дані джерел літератури про харчову пластичність дослідженого виду (Набережний, Вальковская и др., 1970). Живленню карася сріблястого властива сезонна мінливість: весною – в його раціоні висока значимості гіллястовусих ракоподібних і личинок хірономід; влітку і восени – значна перевага двостулкових молюсків (дрейсени і кардіїд). Таку харчову поведінку карася раніше спостерігали в дельті Дунаю (Spataru, 1966).

Табл. 5
Величини індексу вибірковості кормових організмів
карасем сріблястим в озерах Ялпуг і Кугурлуй за
сезонами у 2011 р.

Tab. 5.
Index of selectivity of dietary items by Prissian carp in
the Yalpuh and Kugurluy Lakes in different seasons of
2011

Групи організмів	Ялпуг			Кугурлуй
	Весна	Літо	Осінь	Весна
Олігохети	0,03	0,04	0,005	0,3
Амфіподи	0,3	1,5	–	3,5
Хірономіди	0,03	0,03	0,03	0,02
Черевоногі молюски	0,6	2,3	–	–
Двостулкові молюски	0,9	1,0	1,1	1,1

Подальше вивчення живлення інших риб-бентофагів озер, а також отримання даних щодо сучасного стану макрозообентосу водойм дадуть можливість підготувати рекомендації по забезпеченню сталого і достатньо високого рівня використання кормової бази промисловими рибами, що надалі сприятиме підвищенню рибопродуктивності придунайських озер.

Висновки.

1. Карась сріблястий в придунайських озерах Ялпуг і Кугурлуй у 2011 році мав достатньо широкий харчовий спектр (38 таксонів), до якого входили організми зообентосу і планктону, які належать до 4 типів, 7 класів, 17 рядів і 23 родин.
2. За масою найбільш важливими в раціоні карася були дрейсена *Dreissena polymorpha*, моллюски родини *Cardiidae*, серед представників планктону – гіллястовусі ракоподібні (*Cladocera*).

Протягом року в обох озерах карась при активному пошуку їжі надавав перевагу дрейсені, літом в Ялпузі – моллюскам родини *Cardiidae*. Амфіподи були його улюбленим кормом літом в озері Ялпуг, весною в озері Кугурлуй.

Список літератури:

1. Джуртубаев М. М., Джуртубаев Ю. М., Заморов В. В. Брюхоногие моллюски придунайских озёр и водотоков Одесской области. – Одесса: Печатный дом, 2012. – 128 с.
2. Джуртубаев М.М., Заморов В.В., Джуртубаев Ю.М. Современное состояние макрозообентоса придунайских озер Одесской области (I) // Гидробиол. журн. – 2012. – Т. 48, № 6. – С. 36-42.

3. Марковский Ю.М. Фауна беспозвоночных низовьев рек Украины, условия её существования и пути использования. 3. Водоемы Килийской дельты Дуная // Из-во АН УССР. – Киев, 1955. – 280 с.
4. Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях // М.: Наука, 1974. – 254 с.
5. Мовчан Ю.В., Смирнов А. И. Фауна України. В 40-а т. Т. 8, Риби. Вип.2. Часть 2.– К.: Наук. думка, 1983. – 360 с.
6. Набережный А.И., Вальковская О.И., Статова М.П. Особенности питания серебряного карася в Дубоссарском водохранилище и Кучурганском лимане // Биологические ресурсы Молдавии. – Кишинев: Изд-во АН МССР. – 1970. – С. 126-133.
7. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Под ред. Л.А. Кутиковой, Я.И. Старобогатова. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – 511 с.
8. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). – М.: Пищевая пром-сть, 1966. – 375 с.
9. Оливари Г. А. Зообентос придунайских водоёмов // Тр. Ин-та гидробиологи АН УССР. – 1961. – Т. 36. – С. 145-165.
10. Швец Г.І., Ігошин М.І. Каталог річок і водойм України. – Одеса: Астропринт, 2003. – 389 с.
11. Шекк П.В. Ретроспективный анализ и современное состояние ихтиофауны и рыбных промыслов дельты Дуная // Вісник Одеськ. нац. ун-ту. – 2003. – Т. 8, вип. 11. Екологія. – С. 55-83.
12. Spataru P. Dinamica nutritiei la caracuda complexul de balti Crapina-Jijila (zona inundabila a Dunarii). – Stud. si cers. Ser. zool. – 1966. – 19, № 3. – P. 231-238.

FEEDING OF COMMON PRUSSIAN CARP *CARASSIUS GIBELIO* IN THE DANUBE LAKES YALPUG AND KUGURLUY

M. P. Zamorova, V. V. Zamorov

*The Danube Lakes form the most lake complex in Ukraine. The Yalpug Lake is the largest lake within the complex. Its area is about 149 km², volume – about 387 million m³. Yalpug connects Kugurluj Lake in the south with a wide canal in the sand-spit, which separates the two lakes. In fact they form a single lake system. The connection of Yalpug with the Danube is possible through Kugurluj Lake as well as directly over the canal Large Rapid. The area of Kugurluj Lake is less twice (82 km²), volume is four times less (82 million m³). Lake Kugurluj is connected with the Danube River by two channels Skunda and the canal Large Rapid. These lakes have significant fisheries potential that is not fully realized. The construction of dams in the second half of the twentieth century led to decreasing of link between lakes and the Danube River. This resulted in reconfiguration of lake ecosystems and their impact on fish productivity. Now Prussian carp *Carassius gibelio* is numerous in the Danube Lake fish fauna, it ranks the second place in the fishery after the Silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. Over the past ten years, the average value of the catches of Prussian carp in the lake complex Yalpug - Kugurluj is 200.6 tones per year. In the Yalpug and Kugurluj Lakes in the diet of Prussian carp zoobenthic and planktonic organisms (38 taxa) belonging to 4 types, 7 classes, 17 orders and 23 genera were found in 2011. In the diet of fish the most important by weight were zebra mussel *Dreissena polymorpha*, mussels from family *Cardiidae*, as well as representatives of plankton – crustaceans (*Cladocera*). According to the values of the index of relative importance zebra mussel *Dreissena* dominated in carp's food in the Yalpug Lake throughout the year. Mollusks from *Cardiidae* genus were also important in summer and autumn. Among the crustaceans in both lakes in the diet of fish *Cladocera* occupied the first place almost always. In all seasons, Prussian carp actively consumed zebra mussel *Dreissena* in the lake complex. Amphipods and gastropods of *Cardiidae* genus can be considered as his favorite food in summer in Yalpug. In Kugurluj carp actively consumed Amphipoda.*

Key words: *Carassius gibelio*, Danube Lakes, feeding.

Одержано редколегією 15.05.2014

ЧИ ВИНИЩУЄ *HARPALUS RUFIPES* (COLEOPTERA, CARABIDAE) БУР'ЯНИ АБО ЦІЛЬОВІ РОСЛИНИ В АГРОЦЕНОЗАХ?

Д. Є. РЕШЕТНЯК

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
факультет біології, екології та медицини, кафедра зоології та екології
Україна, м Дніпропетровськ, пр. Гагаріна, 118, 49000
e-mail: reshetsyak.ufo@yandex.ru

Проаналізовано трофічні уподобання туруну *Harpalus rufipes* (De Geer, 1774) – одного з найважливіших шкідників сільськогосподарських культур. *Harpalus rufipes* – транспалеарктичний полізональний польовий вид, найчисленніший серед турунів агроценозів. Імаго *H. rufipes* – міксофітофаг, який живиться шкідниками сільського господарства, а також шкодить зерновим культурам. *H. rufipes* харчується зерновими, зернобобовими і технічними культурами, лікарськими рослинами та генеративних органами 19 видів дикорослих трав. Чисельність *H. rufipes* в агроценозах знаходиться у прямій залежності від кількості доступного насіння бур'янів. Мета роботи – оцінити рівні споживання імаго *H. rufipes* вегетативних та генеративних органів культурних і бур'янистих рослин в лабораторних умовах. Об'єкт дослідження – трофічні зв'язки туруну *H. rufipes*, (Coleoptera, Carabidae). Відлов усіх імаго *H. rufipes*, що брали участь в експерименті, проводили з використанням ґрунтових пасток Барбера без фіксатора на полях кукурудзи на околицях м. Дніпропетровська в липні 2013 року. Досліджено 122 види культурних і бур'янистих рослин, найпоширеніших на території Дніпропетровської області. Генеративні або вегетативні органи кожного виду рослин окремо пропонувалися 8 екземплярам імаго. Дослід проводили протягом однієї доби. Середня маса жуки в експерименті – $0,0001527 \pm 0,0000378$ кг, середня маса наважки корму – $0,0004803 \pm 0,0000759$ кг. Зважували залишок порції та реєстрували поїдання частин рослин. У результаті експериментів можна виділити 25 видів культурних і 5 видів бур'янів, найбільш вживаних жуком, 10 культурних та 7 видів бур'янів, споживаних половиною загальної кількості особин *H. rufipes*, 5 видів культурних та 7 видів диких рослин, якими імаго майже не харчувалися. Вегетативні та генеративні органи 11 видів культурних і 52 видів бур'янів *H. rufipes* не вживав. Отже, поїдання жуком культурних рослин перевищує споживання бур'янистих в 2,1 рази. Самки, споживаючи більшу кількість корму, показали більший приріст маси, ніж самці. Визначення харчових переваг видів-полифагів – перспективна задача прикладної екології, що дозволяє оцінити вплив популяцій комах на середовище її існування. Хоча *H. rufipes* є важливим ентомофагом та винищувачем насіння бур'янів, у місцях концентрації особин даного виду здатні чинити істотний вплив на посіви різних сільськогосподарських культур, пошкоджуючи генеративні та вегетативні органи рослин, тому що поїдання жуком культурних рослин перевищує споживання бур'янистих у 2,1 рази.

Ключові слова: турун волосистий, агроєкосистема, трофічні зв'язки, зернові, технічні культури, вегетативні та генеративні органи.

Вступ. Протягом усієї еволюції людина нерозривно пов'язана з тваринним світом. Степова зона України піддається багаторічному впливу сільського господарства (Слинько і др., 2008). Агросистема – цілісна екосистема, в якій відбуваються процеси, що протікають у природних екосистемах (Сумароков, 2009). До теперішнього моменту в лабораторних умовах оцінені трофічні уподобання лише небагатьох видів турунів (Curtie et al, 1996; Thiele, 1977). Роль *Harpalus rufipes* (De Geer, 1774) в агроєкосистемах з'ясована недостатньо. Вивчення трофічних зв'язків виду з вегетативними і генеративних органами різних видів рослин має велике господарське і наукове значення для розробки методики загальної оцінки популяції будь-якого виду в агроценозах.

Даний вид становить значний інтерес для оцінки співвідношення його користі і шкоди в агроєкосистемах.

Harpalus rufipes – транспалеарктичний полізональний польовий вид, найчисленніший серед турунів агроценозів. Біологія *H. rufipes* досліджена у природних умовах досить детально (Midtgaard, 1999). Імаго *H. rufipes* – міксофітофаг, який живиться шкідниками сільського господарства, а також шкодить зерновим культурам (Lindroth, 1985).

З літературних джерел (Петрусенко і Петрусенко, 1973) відомо, що *H. rufipes* харчується зерновими, зернобобовими і технічними культурами, лікарськими рослинами та генеративними органами 19 видів дикорослих трав.

Чисельність *H. rufipes* в агроценозах знаходиться у прямій залежності від кількості доступного насіння бур'янів. (Bohan et al., 2011) Щільність *H. rufipes* позитивно корелює зі значеннями спожитого насіння видів *Chenopodium album* L., *Galinsoga ciliata* (Raf.) Blake, *Trifolium pratense* L., *Amaranthus retroflexus* L. і *Setaria glauca* (L.) Beauv. (Gallandt et al., 2005). Жуки в однаковій кількості споживають насіння, що знаходиться і на поверхні, і у товщі ґрунту, за умови, що воно не піддане розкладанню (Martinková et al., 2006). Вплив хижаків на популяції *H. rufipes* в агроєкосистемах збільшує кількість насіння бур'янів, яке потрапляє у ґрунт, на 17 % порівняно із агроценозами, у яких хижацтво другого порядку відсутнє.

Мета даної роботи – оцінити рівні споживання імаго *H. rufipes* вегетативних та генеративних органів культурних і бур'янистих рослин в лабораторних умовах.

Матеріали і методи досліджень. Об'єкт дослідження – трофічні зв'язки туруну *H. rufipes*, (Coleoptera, Carabidae).

Відлов усіх імаго *H. rufipes*, що брали участь в експерименті, проводили з використанням ґрунтових пасток Барбера без фіксатора на полях кукурудзи на околицях м. Дніпропетровська в липні 2013 року. Раціон *H. rufipes* досліджували у лабораторії кафедри зоології та екології

Дніпропетровського національного університету ім. О. Гончара: по 1 екземпляру імаго жука утримували в оптимальних умовах у пластикових контейнерах (0,12 × 0,08 м) при температурі + 22 ... + 28 °С і відносній вологості повітря 38–54 %. У таких же умовах розміщували контрольні наважки насіння, листя та плодів досліджуваних видів диких і культурних рослин, за якими встановлювали відсоток їх висихання. У кожному варіанті досліду використано рівну кількість самців і самок. Досліджено 122 види культурних і бур'янистих рослин, найпоширеніших на території Дніпропетровської області. Генеративні або вегетативні органи кожного виду рослин окремо пропонувалися 8-ми екземплярам імаго. Дослід проводили протягом однієї доби. Зважували імаго та порції корму. Використовували лабораторні аналітичні ваги JD-100 (точність – 1 мг). Середня маса жуків в експерименті – 0,0001527 ± 0,0000378 кг, середня маса наважки корму – 0,0004803 ± 0,0000759 кг. Зважували залишок порції та рестрували поїдання частин рослин. При обговоренні результатів оцінювали відсоток жуків, що споживали той чи інший вид корму.

Результати та їх обговорення. *H. rufipes* воліє споживати вегетативні та генеративні органи культурних, а не бур'янів (табл. 1).

Табл. 1.
Рівні споживання культурних рослин *H. rufipes*

Табл. 1.
Levels of consumption of crops by *H. rufipes*

№	Вид	Родина	Поїдання, %			
			Вегетативні органи	Плоди сухі	Плоди сирі	Плоди пророщені
1.	<i>Medicago sativa</i> L.	<i>Fabaceae</i>	0	-	50	50
2.	<i>Triticum durum</i> L.	<i>Poaceae</i>	-	25	100	100
3.	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	<i>Polygonaceae</i>	-	50	100	100
4.	<i>Secale cereale</i> L.	<i>Poaceae</i>	-	-	75	-
5.	<i>Hordeum vulgare</i> L.	<i>Poaceae</i>	-	-	100	100
6.	<i>Sinapis alba</i> L.	<i>Brassicaceae</i>	-	-	100	100
7.	<i>Vicia faba</i> L.	<i>Fabaceae</i>	-	-	0	0
8.	<i>Lupinus albus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	-	-	0	-
9.	<i>Panicum miliaceum</i> L.	<i>Poaceae</i>	-	-	50	50
10.	<i>Cannabis sativa</i> L.	<i>Cannabaceae</i>	-	-	100	100
11.	<i>Sorghum sudanense</i> (L.) Moench	<i>Poaceae</i>	-	75	100	100
12.	<i>Papaver somniferum</i> L.	<i>Papaveraceae</i>	-	100	-	-
13.	<i>Brassica napus</i> L.	<i>Brassicaceae</i>	-	100	75	75
14.	<i>Helianthus annuus</i> L.	<i>Asteraceae</i>	-	100	-	100
15.	<i>Fragaria ananassa</i> Duch	<i>Rosaceae</i>	0	-	100	-
16.	<i>Capsicum annuum</i> L.	<i>Solanaceae</i>	-	0	50	-
17.	<i>Daucus sativus</i> (Hoffm.) Roehl.	<i>Apiaceae</i>	0	0	0	50
18.	<i>Beta vulgaris</i> L.	<i>Amaranthaceae</i>	0	75	0	100
19.	<i>Cucumis sativus</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>	0	-	100	-
20.	<i>Cucurbita pepo</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>	-	0	100	25

Для генеративних і вегетативних органів диких і бур'янистих видів рослин 100 % рівень поїдання встановлений для насіння фіалки запашної (*Viola odorata* L.), пророщеного насіння шавлії мускатної (*Salvia sclarea* L.), сухого насіння синеголовника польового (*Eryngium campestre* L.), плоскухи звичайної (*Echinochloa crus-galli* (L.)). Споживання вегетативних та генеративних органів більшості досліджених видів бур'янів становить 0.

У результаті експериментів можна виділити 25 видів культурних і 5 видів бур'янів, найбільш вживаних жуком, 10 культурних та 7 видів бур'янів, споживаних половиною загальної кількості особин *H. rufipes*, 5 видів культурних та 7 видів диких рослин, якими імаго майже не харчувалися. Вегетативні та генеративні органи 11 видів культурних і 52 видів бур'янів *H. rufipes* не споживав. Отже, поїдання жуком культурних рослин перевищує споживання бур'янистих в 2,1 рази.

Проведена в ході лабораторних експериментів кількісна оцінка поїдання імаго *H. rufipes* насіння і плодів різних зернових, зернобобових, технічних та плодкових культур підтвердила літературні вказівки (Gallandt et al., 2005) про поїдання генеративних частин усіх досліджених видів рослин.

Нерозмочені пшеничні зерна, насіння гречки, проса споживаються значно гірше, ніж замочене життездатне насіння пшениці, проса і гречки. У лабораторних умовах відзначені значно більш низькі темпи споживання вегетативних частин проростків досліджених зернових культур, ніж пророщеного насіння. У польових умовах падалиця пшениці, гречки, інших зернових, а також плодкових і ягідних культур – значний компонент раціону *H. rufipes* у літньо-осінній період.

Встановлено, що найбільший приріст маси тіла спостерігався у жуків, що споживали пророщені зерна пшениці, гречки, замочене та пророщене насіння буряка, усі типи насіння соняшнику, ріпаку та арахісу, плоди сливи, винограду європейського, огірка, дині, груші, суниці та полуниці. Харчування усіма типами насіння проса, жита, рису, суданського сорго, пророщеною соєю, м'якоттю кавуна, гарбуза, ожини, насінням дині забезпечувало менший приріст маси. При 100 % поїданні насіння гірчиці майже всі особини *H. rufipes* втрачали, а не набирали масу тіла. Такі ж результати отримані і в умовах експериментів з насінням культур, які жук не вживав. У більшості випадків самки, споживаючи більшу кількість корму, показали більший приріст маси, ніж самці.

Шкода, заподіяна імаго *H. rufipes* зерновим культурам, може сильно коливатися у залежності від наявності на поле додаткових джерел рослинного харчування.

Висновки. Визначення харчових переваг видів-полифагів – перспективна задача прикладної екології, що дозволяє оцінити вплив популяцій комах на середовище її існування. Хоча *H. rufipes* є важливим ентомофагом та винищувачем насіння бур'янів, у місцях концентрації особини даного виду здатні чинити істотний вплив на посіви різних сільськогосподарських культур, пошкоджуючи генеративні та вегетативні органи рослин, тому що поїдання жуком культурних рослин перевищує споживання бур'янистих у 2,1 рази.

Список літератури:

1. Петрусенко А.А., Петрусенко С.В. Семейство жуки (Carabidae) // Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. / под. ред. В. Васильева. – Т. 1. – Киев: Урожай, 1973. – 495 с.
2. Слинко В.А., Бригадиренко В.В., Пахомов О.Е. Морфологическая изменчивость *Bembidion varium* (Carabidae, Coleoptera) в условиях антропогенного воздействия // Известия НАН Азербайджана (биологические науки). – 2008. – Т. 64, № 5–6. – С. 200–206.
3. Сумароков А.М. Восстановление биотического потенциала биогеоценозов при уменьшении пестицидной нагрузки. – Донецк: Вебер, 2009. – 193 с.
4. Currie C.R., Spence J. R., Niemela J. Competition, cannibalism and intraguild predation among ground beetles (Coleoptera: Carabidae): A laboratory study // The Coleopterists Bulletin. – 1996. – Vol. 50, No. 2. – P.135–148.
5. Gallandt E.R., Molloy T., Lynch R.P., Drummond F.A. Effect of cover-cropping systems on invertebrate seed predation // Weed Science. – 2005. – Vol. 53, No. 1. – P. 69–76.
6. Lindroth C. H. The Carabidae (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark. – No 1. Brill Academic Pub, 1985. – 497 pp.
7. Martinková Z., Saska P., Honěk A. Consumption of fresh and buried seed by ground beetles (Coleoptera: Carabidae) // European Journal of Entomology. – 2006. – Vol. 103, No. 2. – P. 361–364.
8. Midtgaard F. Is dispersal density-dependent in carabid beetles? A field experiment with *Harpalus rufipes* (Degeer) and *Pterostichus niger* (Schaller) (Col., Carabidae) // Journal of Applied Entomology. – 1999. – Vol. 123, No. 1. – P. 9–12.
9. Bohan D.A., Boursault A., Brooks D.R., Petit S. National-scale regulation of the weed seedbank by carabid predators // Journal of Applied Ecology. – 2011. – Vol. 48. – P. 888–898.
10. Thiele H.U. Carabid beetles in their environments. – Berlin: Springer-Verlag, 1977. – 369 p.

DOES *HARPALUS RUFIPES* (COLEOPTERA, CARABIDAE) EXTERMINATE WEEDY OR TARGET PLANTS OF AGROCENOSSES?

D. E. Reshetnyak

Trophic preferences of ground beetle, Harpalus rufipes (De Geer, 1774) – one of the most important pests of agricultural crops been analyzed. Harpalus rufipes is transpolyzonal field species, the most numerous of ground beetles of agroecosystems. Imago H. rufipes is myxophytofagous, which eating pests of agriculture and harm cereals. H. rufipes fed on grain, legumes and industrial crops, medicinal plants and generative organs of 19 species of wild grasses. The number of H. rufipes in agrocenosis is directly dependent on the number of available weed seeds. The purpose of research is to assess level of consumption of adult H. rufipes of vegetative and generative organs of weeds and cultivated plants in the laboratory. The object of research is trophic links of H. rufipes, (Coleoptera, Carabidae). H. rufipes imagines were collected in July 2013 on the outskirts of Dnipropetrovsk from land cultivated with Hordeum vulgare and maize using pitfall traps. There are studied 122 species of cultivated and weedy plants, which are the most common in the Dnipropetrovsk region. Generative and vegetative organs of each plant species separately offered to 8 imagines of adults. The experiment was carried out within one day. The average mass of beetles in the experiment was $0,0001527 \pm 0,0000378$ kg, the average weight of sample feed was $0,0004803 \pm 0,0000759$ kg. There were weighed portions and recorded eating parts of the plants. Result of the experiments can be identified 25 species of cultivated and five weed species, the most preferred by beetle, 10 cultural and 7 weed species consumed by half of the total number of individuals of H. rufipes, 5 species of cultural and 7 species of wild plants that adults almost no fed. Vegetative and generative organs of 11 species of cultivated and 52 weed species H. rufipes not consumed. Therefore, eating by the beetle of crop plants exceeds consumption weed in 2.1 times. Females consume more feed, showed a greater increase in weight than males. Determining of food preferences of polyphagous species is advanced task of applied ecology to assess the impact of insect populations on the environment of its existence. Although H. rufipes is important entomophagous and weed seeds fighter, in areas of concentration individuals of this species are able to have a significant impact on crops, damaging the generative and vegetative organs of plants, because eating by beetle of crops exceeds weed consumption in 2.1 times.

Keywords: hairy beetle, agroecosystem, trophic links, cereals, technical crops, vegetative and generative organs.

Одержано редколегією 28.10.2014

ІСТОРІЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ІНТРОДУКЦІЇ ВИДІВ РОДУ PITTOSPORUM BANKS EX SOL В УМОВАХ ЗАХИЩЕНОГО ҐРУНТУ КРИВОРІЗЬКОГО БОТАНІЧНОГО САДУ НАН УКРАЇНИ

Л. І. БОЙКО

Криворізький ботанічний сад НАН України
вул. Маршака, 50, м Кривий Ріг, 50089, Україна
e-mail: ludmilaboynko@meta.ua

У статті наведено відомості щодо історії відкриття видів роду *Pittosporum*. Висвітлено результати інтродукційних досліджень даного роду в умовах захищеного ґрунту. Подано опис інтродукованих 9 таксонів: *Pittosporum heterophyllum* Franch, *P. tobira* Ait., *P. tobira* var. *variegatum* Hort., *P. undulatum* Vent., *P. tenuifolium* Gaertn, *P. crassifolium* Soland. ex Putterl., *P. eugenoides* A. Cunn, *P. viridiflorum* Sims, *P. sahnianum* Gowda. Проаналізовано ботаніко-географічне походження та еколого-морфологічні особливості рослин досліджуваного роду. Наведено результати проведеної оцінки успішності інтродукції, які свідчать що всі дослідні види отримали високий показник успішності інтродукції. Дослідження проводились за загальноприйнятими методиками, які використовуються в інтродукції рослин. За результатами фенологічних спостережень встановлено, що види даного роду є екологічними космополітами. Не дивлячись на різку зміну напруженість екологічних параметрів утримання (як в оранжереї, так і в інтер'єрах) рослини здатні циклічно проходити всі фенологічні фази, змінюючи при цьому дати настання та тривалість основних фенологічних фаз. Особливо помітні зміни відмічені по тривалості періоду спокою. Період активного росту пагонів відмічено у I-III та VI-VIII місяцях. Тривалість цього періоду змінюється по роках в діапазоні 78 – 106 днів. Більш тривалий період росту пагонів характерний для видів: *P. crassifolium*, *P. tenuifolium*, *P. heterophyllum*. Проведена низка експериментальних досліджень дає можливість стверджувати, що в межах роду виділяються види, більш вибагливі до рівня освітленості – *P. eugenoides*, *P. tenuifolium*, *P. crassifolium*, *P. undulatum*. Дослідження генеративної фази виявили високий сезонний синхронізм цвітіння у рослин видів *P. undulatum*, *P. tobira*, *P. tobira* v. *variegatum*, *P. heterophyllum*, *P. viridiflorum* та низький у *P. sahnianum*. В результаті інтродукційних досліджень в умовах захищеного ґрунту оранжереї та адаптаційне випробування рослин роду *Pittosporum* в різних типах інтер'єрів Кривбасу показало високу здатність видів роду пристосовуватися до умов техногенно порушеного середовища (викиди пилу, різноманітних газів, підвищений рівень радіації), а також витримувати сухість та низьку температуру повітря. Результати досліджень підтверджують доцільність широкого залучення даного, безперечно перспективного роду, як для поповнення колекційних фондів, так і для використання у фітодизайні.

Ключові слова: інтродукція, рід *Pittosporum*, фенологічні ритми, стійкість, перспективність, фітодизайн.

Вступ. У Криворізькому ботанічному саду (КБС) створена колекція тропічних та субтропічних рослин, що нараховує 975 таксонів, що презентують 95 родин та 312 родів. На основі багаторічних фенологічних спостережень за інтродуцентами був проведений аналіз та характеристика реакції рослин на умови утримання в залежності від систематичної приналежності, походження та форми росту. Такий аналіз дозволяє визначити рівень адаптивних стратегій видів та на основі цих знань визначити принципи мобілізації рослин з метою забезпечення успіху інтродукції тропічних та субтропічних рослин в захищений ґрунт помірної зони. Проведений аналіз адаптаційної здатності колекційних рослин

виявив окремі види з досить високим рівнем пристосування до умов вирощування, що спонукало нас до подальшої наукової роботи по формуванню родових комплексів. Метод родових комплексів, запропонований Ф.М. Русановим (Русанов, 1950, 1954), заснований на вивченні в культурі як найбільшої кількості видів конкретного роду. Метод є дуже вдалим для широкого порівняльного вивчення видів різного географічного походження та екологічної природи. При такому методі інтродукції можна робити дуже глибокі узагальнення з питань систематики, географії, у тому числі генезису флори та філогенії. Знаючи про високу пластичність видів конкретного роду, можливо безпомилково прогнозувати, що вона властива

еволюційно близьким видам. Експериментальні дослідження підтверджують цю думку. Універсальна здатність рослин до пристосування в природних умовах проявляється у високій пластичності при введенні їх в інтер'єри. Виходячи з цього, ми вважаємо, що дослідження родових комплексів є надзвичайно важливим перспективним методом, який дозволить значно розширити асортимент рослин для фітодизайну. Так, впродовж багатьох років нами було проведено спостереження за ростом і розвитком рослин роду *Pittosporum* в умовах оранжерейної культури. Окрім того проведена серія експериментів з дослідження морфологічних особливостей рослин в умовах службового та промислового інтер'єрів, що дало можливість зробити певні висновки, зокрема що характер морфологічних змін може слугувати критерієм адаптації рослин до умов вирощування. Оскільки деякі види роду *Pittosporum* виявили високу пластичність при використанні у фітодизайні, ми вважаємо за необхідне спрямувати роботу на значне розширення видового різноманіття даного роду в колекції та дослідити неспецифічні та специфічні особливості реалізації їх адаптивного потенціалу. До того ж, в доступній нам літературі практично відсутні відомості щодо особливостей ритмів росту та розвитку видів роду *Pittosporum*, а також використання цих рослин для цілей фітодизайну. Зустрічаються лише фрагментарні відомості щодо біологічних особливостей деяких видів роду (Тумак, Паламар 2007; Слюсаренко та інш., 2009; Larsen, 1979; Tranguillini, 1964).

Об'єкт і методи. До дослідження були залучені інтродуценти колекційного фонду КБС, представники роду *Pittosporum*. При створенні колекції тропічних та субтропічних рослин використовували метод родових комплексів Ф.М. Русанова (Русанов, 1950), ботаніко-географічне районування Землі за Разумовським (1980). Систематичні таксони приймалися за А.Л. Тахтаджяном (1987) з врахуванням робіт С.К. Черепанова (1981), життєві форми за біоморфологічною класифікацією О.О.Смирнової (1980). Фенологічні спостереження проводили згідно з "Методикой фенологических наблюдений в ботанических садах СССР" (1990). Оцінка успішності інтродукції за І.П. Горницькою (1999).

Результати та їх обговорення. Рід *Pittosporum* входить до родини Pittosporaceae, порядку Pittosporales класу Magnoliopsida (Тахтаджян А.Л., 1987). Ареал родини Pittosporaceae обмежений тропічними та

частково субтропічними районами східної півкулі. Значна частка видів родини поширена в Австралії: 8 родів є ендеміками цього континенту (включаючи Тасманію). Це вічнозелені рослини, невеликі дерева та кущі. Окремі з деревоподібних видів досягають 20м заввишки. Деякі Pittosporaceae починають свій розвиток як епіфіти – на стовбурах інших дерев. Для всієї родини характерним є наявність в корі, а іноді і в інших частинах рослини, смолоносних каналців. Листки почергові, цілнокраї або злегка зубчасті, шкірясті. Квітки двостатеві, поодинокі або зібрані у щитки на верхівці пагона, або півхвові, дрібні. Пелюстки у представників Pittosporaceae зазвичай зростаються в основі, утворюючи трубку. Запилюються квітки, як правило, перетинчастокрилими, мухами та жуками. Господарськими якістьми Pittosporaceae не вирізняються. Їх деревина не виділяється високою якістю, проте використовується місцевим населенням. Багато видів є цінними декоративними рослинами із запашними квітками. В родині Pittosporaceae найємніший рід *Pittosporum* включає 150 видів. Назва роду походить від грецьких слів pitta – смола та spora – насіння (через смолянисте покриття насінин). Види поширені в різних екологічних умовах - від тропічних дощових лісів до заростей ксерофільних чагарників (Жизнь растений, 1981). В основному це тропічні та субтропічні райони Африки (включаючи острів Мадагаскар), Азії, Нової Зеландії, Австралії (46 видів, 33 з них є ендемічними), Полінезії, Північної Америки, островів Тихого та Індійського океанів (рис.1.).

Вперше представник роду *Pittosporum* став відомим Європейським ботанікам дякуючи знахідці німецького ботаніка Енгельберта Кемпфера під час його тимчасового перебування в Японії (1690-1692). Пізніше він оприлюднив «Amoenitatum exoticarum poëtico-politico-physico-medicae fasciculi V» (Лемго, 1712), де і було подано короткий опис цієї рослини. Проте тривалий час посилянь на цю знахідку невідомо. І лише в 1784 році знову з'являється опис цієї рослини, але як *Evonymus Tobira*. Вперше як *Pittosporum Tobira* вид внесено до списку та описано у 1811 році (Hortus Kewensis, 1811). В цей період в Китаї з'являються повідомлення про знаходження та описи більше десяти видів роду. Ці, та подальші дослідження, підтвердили очевидність того, що саме південний та південно-східний Китай є важливим центром даного роду. Сім видів та один різновид внесено Rehder в Plantae Wilsonianae (1917).

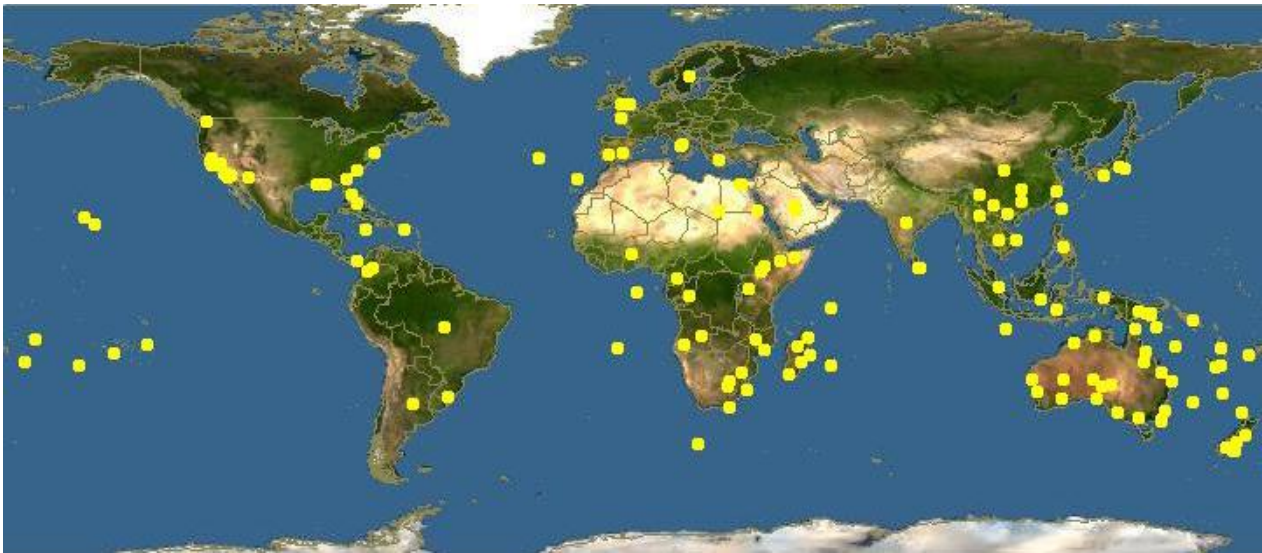


Рис.1. Природне поширення видів роду *Pittosporum*

Fig.1. Natural distribution of the species of genus *Pittosporum*

В Індії більшість видів було відомо з середини XIX сторіччя. Вперше у флорі Індії описано Roxburgh (1824) як *Celastrus*. У цій країні вперше ботаніками визнано рід саме як *Pittosporum* у Prodromus (1834). Конспект *Pittosporum* (1839) описує 36 видів роду. У 1872 році J. D Hooker у *The flora of British India* описав 9 видів. Ще одинадцять видів роду описано та включено в списки De Candolle (1894) (Gowda, 1951).

Хоча багато видів роду відомі в помірній зоні ще з XIX сторіччя (*Pittosporum tobira* Ait. – 1810, *P. viridiflorum* Sims. – 1824, *P. eugenioides* A.Cunn. – 1840, *P. tenuifolium* Banks et Soland. ex Gaertn. – 1788), вони практично не використовуються для цілей фітодизайну. Ще в 1952 році Г.С. Кисельовим було рекомендовано *P. tobira* та *P. coriaceum* Ait. для вирощування в горщиках для озеленення балконів, зимових садів. В наш час *P. tobira* став популярною рослиною у фітодизайнерів деяких країн в якості дерева з шкірястими блискучими листочками, що здатне рости при низькому освітленні та зберігати при цьому високі декоративні якості (Balan, et al 2004; Larsen, 1979; Tranguillini, 1964). У англійських дизайнерів *P. tobira* не користується широкою популярністю в зв'язку з тим, що, по-перше - цвітіння відбувається тільки при високому рівні освітлення і, по-друге – в зимовий період рослини вимагають прохолодного утримання. Нами ж, серед багатьох чагарникових рослин колекції КБС, види роду *Pittosporum* виділені як пластичні декоративні рослини захищеного ґрунту. Спостереження показують, що види роду вирізняються невибагливістю до умов вирощування. Адаптаційне випробування рослин в різних типах інтер'єрів Кривбасу показало

високу здатність видів роду пристосовуватися до техногенно порушеного середовища (викиди пилу, різноманітних газів, підвищений рівень радіації), а також витримувати сухість та низьку температуру повітря. Все це підтверджує доцільність розширення асортименту даного, безперечно перспективного роду, у фітодизайні (Бойко, 2004, 2006, 2007, 2009).

Інтродукція видів роду *Pittosporum* у Криворізькому ботанічному саду розпочата з 1984 року. На сьогодні в колекції КБС проходять інтродукційне випробування 9 таксонів (8 видів та садова форма). Інтродуковані види походять з Новозеландської, Північнокитайської, Японо-Китайської та Східноавстралійської ботаніко-географічних провінцій. За результатами проведеної оцінки успішності інтродукції всі дослідні види отримали високий показник (від 50 до 75 балів: згідно шкали, мінімальний показник успішності інтродукції 40, максимальний – 100 балів (Горницька, 1999).

***P. heterophyllum* Franch** – інтродукований в 1984 році з живця, отриманого з Донецького ботанічного саду (ДБС). Батьківщина – Західний Китай. Зростає в літньозелених лісах, на сухих кам'янистих місцях, в долинах гірських річок на висоті 1000-4000м над рівнем моря (Flora of China..., 8.10. 2012; Chang, H. T. & S. Z. Yan, 1974). В умовах інтродукційного пункту це кущоподібне дерево заввишки 4м, густо вкрите листям. Листки темно-зелені, матові, видовжено-ланцетні. Квітки поодинокі або зібрані в пучки, запахні. Цвітіння відмічаємо в січні-квітні, рясне. Зав'язує насіння. Річний приріст пагонів в умовах оранжереї КБС становить 12-20 см (рис. 2 А).

***P. tobira* (Thunb.) W.T. Aiton** (*Japanese Pittosporum*) – в природі це дерево або густо

розгалужений кущ до 3-6 (9) м заввишки. Листки оберненояйцеподібні, 5-10 (14) см завдовжки та 3-4 см завширшки, глянцеві, темно-зелені, шкірясті, по краях слабо хвилясті. Квітки зібрані у зонтикоподібні або щиткоподібні суцвіття, дрібні 0,8-0,9 см в діаметрі, білі, при відцвітанні жовті, з сильним приємним ароматом. Цвітіння рясне у березні-травні. Плід – коробочка. Зростає на морському узбережжі Японії та Китаю. Поширений також у США (Північна Америка, Гаваї, Аргентина), Італії, Іспанії, Греції (Flora of China..., 8.10. 2012; EOL: Encyclopedia..., 5.06. 2013) (рис.3). У колишньому СРСР в культурі досить часто зустрічається на Чорноморському узбережжі Кавказу; у Південному Криму (від Форосу до Судака); культивується в Баку. В Криму (Нікітський ботанічний сад) в 40-50 річному віці заввишки 3,5-4,5 м. Один з найбільш морозостійких смолосім'яників: у дорослих рослин лише при -12°C на Південному березі Криму спостерігається підмерзання листків та пагонів. Витримує посуху. Достатньо добре мириться з вапняковими ґрунтами. Залучено до інтродукції (живцем) з Донецького ботанічного саду у 1984 році. На сьогодні це густо розгалужене кущоподібне дерево до 3-х метрів заввишки з декоративною плоскою кроною та темними глянцевими листками. Цвітіння відбувається з лютого по червень. Зонтикоподібне суцвіття нараховує 12-16 трубчастих білих з сильним приємним ароматом квіток. Зав'язує насіння, яке дозріває до кінця зими. Річний приріст пагонів становить 7-15 см (рис. 2 Б.).

P. tobira var. variegatum Hort. – залучено до інтродукції в 1984 році живцями з ДБС. Це високодекоративна рослина з глянцевими зеленими листками, вкритими білими плямами. Цвіте з лютого по травень. Квітки кремово-білі, запашні. Річний приріст пагонів становить 4-8 см (рис. 2 В.).

P. undulatum Vent. (в Австралії місцева назва "солодкий пітгоспорум") – зустрічається в прибережних вологих лісах, на схилах гір в Квінсленді, Новому Південному Уельсі, Вікторії (Австралія) (EOL: Encyclopedia..., 10.09.2013) (рис. 2 Г.). У природних місцях зростання це добре розгалужене дерево або кущ, що може бути заввишки до 15 м. Кора гладенька, сіра. Листки блискучі, загострені, з хвилястими краями. Квітки білі, п'ятипелюсткові. Плід кулеподібний, до 1 см в діаметрі, помаранчевий, з'являється через декілька місяців після цвітіння (навесні або на початку літа). Листки містять токсини, що можуть пригнічувати ріст інших рослин. В Австралії поширення за межі свого ареалу спричиняє серйозні проблеми (Cayzer, et al, 2007). Інтродукований в 1987 році з насіння, отриманого

з Таллінна. Кущоподібне дерево до 2-х метрів заввишки. Листки видовжено-ланцетні, по краю хвилясті, темно - зелені. Цвітіння рясне, тривале (лютий-червень). Квітки білі, запашні. Річний приріст пагонів становить 10-15 см.

P. tenuifolium Gaertn. – зростає на морському узбережжі, в гірських лісах, піднімаючись до 900 м над рівнем моря, в Новій Зеландії. Поширений також в південній Австралії (Тасманія, Новий Південний Уельс, Вікторія), США (Каліфорнія) (Hoskings, et al 2007), Бермуди (Varnham, 2009) (EOL: Encyclopedia..., 6.08. 2013) (рис. 2 Д.). В природі це кущ або маленьке дерево заввишки близько 10 м, що добре розповсюджується насінням (птахи).

Залучено до інтродукції з Ірландії (Дублін) насінням в 2000 році. В умовах інтродукційного пункту це дерево до 2-х метрів заввишки. Листки світло-зелені, видовжено - ланцетні, овальні, 5-7 см завдовжки та 3-3,6 см завширшки, матові, з хвилястим краєм. Не квітує. Річний приріст пагонів 17-25 см.

P. crassifolium Soland. ex Putterl. – зустрічається на морському узбережжі, у всіх рівнинних та прибережних лісах, особливо у північній частині Нової Зеландії (EOL: Encyclopedia..., 16.10. 2012) (рис. 2 Е.). В природі це дерево до 5 м заввишки. Має жорсткі темно-сіро-зелені шкірясті листки. Квітки червоно-фіолетові. Цвітіння навесні. З насіння отримують темно-синій барвник. Рослини є джерелом отримання сапонінів. Добре реагують на обрізку. Здатні витримувати сильні вітри та солоні бризки, тому перспективні для висадки на морських узбережжях. Виділяється високою стійкістю до засолених ґрунтів (Utteridge, T.M.A., 2000). Окрім того, мають добре розвинену кореневу систему і можуть використовуватися для закріплення піщаних ґрунтів, дюн тощо. Деревина дуже міцна, використовують для інкрустації. Залучено до інтродукції в 2000 році з насіння, отриманого з Ірландії. Має вигляд дерева до 1,5 метри заввишки, з мутовчато розміщеними пагонами. Листки оберненояйцевидні, завдовжки 7-9 см та 3-4 см завширшки, шкірясті, темно-зелені, нижня поверхня опушена. Квітки дрібні, червоні. Річний приріст пагонів 17-20 см.

P. eugenoides A. Cunn ("lemonwood", "тэрата") – в природі це дерево, заввишки до 12 м, з сильним лимонним ароматом. В жовтні квітує яскравими привабливими квітками. Він зустрічається по всій території Нової Зеландії (ліси, поля, схили балок, на висоті до 600 м над рівнем моря) (EOL: Encyclopedia..., 6.08. 2013) (рис. 2 Є.).



А. *P. heterophyllum* Franch



Б. *P. tobira* (Thunb.) W.T. Aiton



В. *P. tobira* var. *variegatum* Hort.



Г. *P. undulatum* Vent.



Д. *P. tenuifolium* Gaertn



Е. *P. crassifolium* Soland. ex Putterl



Є. *P. eugenioides* A. Cunn



Ж. *P. viridiflorum* Sims



З. *P. sahnianum* Gowda

Рис. 2. Поширення в природі та вигляд в умовах оранжерей інтродукованих видів роду *Pittosporum*

Fig. 2. Distribution in the nature and a state in the conditions of a greenhouse of the introduced species of the genus *Pittosporum*

Залучено до інтродукції в 2000 році з насіння, отриманого з Ірландії. Наразі це дерево до 1,5 метри заввишки. Листки світло-зелені, видовжено-ланцетні, завдовжки 5-8 см та 1,5-2 см завширшки, з хвилястим краєм. Не квітує. Річний приріст пагонів складає 19-20 см.

***P. viridiflorum* Sims (CAPE CHEESEWOOD)** - описаний Вагнером як маленьке дерево заввишки 3-6 м. Кора гладенька. Листки шкірясті завдовжки 6-15 см, завширшки 2,2-4 см, з хвилястим краєм, тупо загостреною верхівкою та заокругленою основою. Черешки листка завдовжки 0,6-1,5 см. Квітки у термінальних щиткоподібних суцвіттях, жовто-зелені. Поширені в Південній Африці, о. Мадагаскар, Гавайські острови, острів Святої Єлени. У Гавайях зазвичай в лісах, на висоті не вище 1000 м над рівнем моря (EOL: Encyclopedia..., 5.06. 2013) (рис. 2 Ж.).

Залучено до інтродукції в 2004 році у вигляді живця, отриманого з ботанічного саду ДГУ (м. 60

Дніпропетровськ). В умовах інтродукційного пункту має вигляд розлогого куща, заввишки 50-80 см. Листкова пластинка завдовжки 4-6 см, 0,6-1,5 см завширшки, суцільна, ланцетовидна, з відтягнутою основою та загостреною верхівкою, темно-зелена. Жилкування перисто-сітчасте, центральна жилка прохідна, добре виражена знизу. Черешок короткий. Цвітіння в грудні - березні. Квітки зеленувато-білі. Річний приріст пагонів 7-18 см.

***P. sahnianum* Gowda** – батьківщина південно-східний Китай. В природі це вічнозелений кущ заввишки 6-8 м, завширшки 4-6 м. Навесні цвіте запашними жовто-білими квітками (Gowda, 1951; Peng Hua, 2001).

Залучено до інтродукційного експерименту в 2004 році з насіння, отриманого з Шанхайського ботанічного саду (Китай). В умовах інтродукційного пункту це куцоподібне дерево заввишки 50 см з мутувато розміщеними пагонами. Листкова пластинка завдовжки 5-7 см

та 1,5-3см завширшки, суцільна, ланцетовидна, з відтягнутою основою та загостреною верхівкою, світло-зелена. Поверхня листка гола, короткі волоски зустрічаються по центральній жилці на абаксіальному боці. Жилкування перисто-сітчасте, центральна жилка прохідна, добре виражена знизу. Черешок короткий, злегка опушений. Цвітіння відбувається у березні-червні. Квітки жовті, запашні. Річний приріст пагонів становить 7-10см (рис.2 3.).

Багаторічний досвід з інтродукції рослин даного роду в умовах температурного стресу в зимовий період і різко змінної тривалості світлового періоду протягом року (від 8 до 16 годин) дозволяє стверджувати про їх високу життєздатність при утриманні в умовах захищеного ґрунту.

Результати проведених фенологічних спостережень показали, що види даного роду є екологічними космополітами. Не дивлячись на різко змінну напруженість екологічних параметрів утримання (як в оранжереї, так і в інтер'єрах) рослини здатні циклічно проходити всі фенологічні фази, змінюючи при цьому дати настання та тривалість основних фенологічних фаз. Особливо помітні зміни відмічаємо по тривалості періоду спокою. Найсуттєвіша різниця тривалості періоду спокою (середні дані за дванадцять років) відмічена у *P. tobira* вона становить 84 дні (мін. 35, макс. 121), *P. tobira v. variegatum* – 88 (36 – 127), *P. heterophyllum* - 72 (30-109). В окремі роки (2007, 2013) у рослин *P. tobira* та *P. heterophyllum* періоду спокою не спостерігали. Менша різниця у тривалості періоду спокою по роках характерна для видів *P. undulatum* – 28 днів (69 – 97), *P. tenuifolium* – 22 (65-87), *P. viridiflorum* – 15 (43 – 58). Як виявилось, саме останнім видам властивий більш стабільний термін настання періоду спокою (коливання в датах до 30 днів). У видів зі значною різницею тривалості періоду спокою (*P. tobira.*, *P. tobira v. variegatum*, *P. heterophyllum*), коливання у датах настання цієї фенологічної фази теж значні (50 – 64 дні). Період активного росту пагонів відмічено у I-III та VI-VIII місяцях. Тривалість цього періоду змінюється по роках в діапазоні 78 – 106 днів. Більш тривалий період росту пагонів характерний для видів: *P. crassifolium*, *P. tenuifolium*, *P. heterophyllum*. Проведена низка експериментальних досліджень дає можливість стверджувати, що в межах роду виділяються види, більш вибагливі до рівня освітленості – *P. eugenioides*, *P. tenuifolium*, *P. crassifolium*, *P. undulatum*.

Плодоношення інтродукованих рослин в більшості випадків вказує на успішність розвитку їх у нових природно - кліматичних

умовах. Регулярне утворення плодів та життєздатного насіння є одним із основних показників акліматизації та відповідно успішності інтродукції. Цвітіння у рослин роду *Pittosporum* припадає на січень – березень, тобто на період, коли обмежена кількість квітучих рослин, особливо з запашними квітками. З 9 наявних в колекції таксонів щорічно цвітуть 6: *P. tobira*, *P. tobira v. variegatum*, *P. heterophyllum*, *P. undulatum*, *P. viridiflorum*, *P. sahnianum*. Рослини *P. crassifolium* квітують не щорічно. Найбільш тривале цвітіння характерне для *P. heterophyllum* - 66 днів (діапазон по роках 38 - 74) та *P. tobira* - 64 дні (діапазон по роках 25 - 71). Найкоротший період цвітіння у *P. undulatum* 22 дні (коливання по роках 8 – 24) та *P. viridiflorum* 12 днів (коливання по роках 6 – 14). За результатами спостережень на тривалість цвітіння значно впливає температурний режим (чим холодніша зима, тим рясніше та триваліше цвітіння). Щодо термінів початку цвітіння, то вони коливаються по роках у різних видів від 13 до 67 днів. Високий сезонний синхронізм цвітіння відмічаємо у рослин видів *P. undulatum*, *P. tobira*, *P. tobira v. variegatum*, *P. heterophyllum*, *P. viridiflorum* (I-II). На противагу рослини *P. sahnianum* характеризується низьким сезонним синхронізмом цвітіння, тобто в різні роки цвітіння рослин цього виду спостерігаємо в різні сезони (II-III або VI).

Квітки у пітоспорумів частіше всього зібрані у щиток або зонтикоподібні суцвіття, тривалість цвітіння яких коливається у різних видів та в різні роки в межах 5 – 18 днів. Колір квіток у різних видів відрізняється – у *P. tobira*, *P. undulatum* – білий, *P. sahnianum*, *P. tobira v. variegatum* – світло – жовтий, *P. heterophyllum.*, *P. viridiflorum* – зеленувато – білий, *P. crassifolium* - червоний. Найбільша квітка у *P. tobira* та *P. sahnianum* (діаметр до 2см). У всіх досліджуваних видів, як правило, найбільша квітка та, яка розкривається першою. У *P. tobira* суцвіття має від 5 до 22 квіток, тоді як плодів зав'язується до 16 штук. У *P. heterophyllum* квіток у суцвітті від 3 до 12, тоді як плодів зав'язується до 7. У *P. sahnianum* з 15 квіток зав'язується один – три плоди, але схожого насіння не утворюється.

То ж, результати багаторічних фенологічних спостережень вказують на те, що всі наявні в колекції види роду досить пластичні, тобто проявляють високу інтродукційну адаптаційну спроможність, про що свідчать зміни сезонного ритму розвитку відповідно до змін умов зростання.

Таким чином, інтродукційне дослідження в умовах захищеного ґрунту оранжереї та

адаптаційне випробування рослин роду *Pittosporum* в різних типах інтер'єрів Кривбасу показало високу здатність видів роду пристосовуватися до умов техногенно порушеного середовища (викиди пилу, різноманітних газів, підвищений рівень радіації), а також витримувати сухість та низьку температуру повітря. Все це підтверджує доцільність широкого залучення даного, безперечно перспективного роду, як для поповнення колекційних фондів, так і для використання у фітодизайні.

Список літератури.

- Бойко Л.І. З досвіду озеленення промислових підприємств Кривбасу //Бюл. Нікіт. бот. саду.- Ялта.- 2004.- №89.- С.10-12.
- Бойко Л.І. Особливості фенології видів роду *Pittosporum* Banks et Soland. ex Gaertn. в умовах захищеного ґрунту //Матеріали міжн. НК "Збереження біорізноманіття тропічних і субтропічних рослин"- Київ, 2009.-С.221-225.
- Бойко Л.І. Морфоструктура пагонової системи видів роду *Pittosporum* Banks et Soland. ex Gaertn. //Вісник Київського нац. універс. ім. Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття.- 2007.-Випуск 12-14.- С.133-135.
- Горницкая И.П., Бойко Л.И., Ткачук Л.П. Интродукция видов рода *Pittosporum* Banks et Soland. ex Gaertn. в защищенный грунт Донецкого и Криворожского ботанических садов НАН Украины //Промышленная ботаника. – Донецк, 2006.- Выпуск 6.- С.66-78.
- Горницкая И.П. Итоги интродукции тропических и субтропических растений в Донецком ботаническом саду НАН Украины. – Донецк "Донбасс", 1999. -т.1 С.304.
- Жизнь растений Цветковые растения, под редакцией акад. АН СССР А.Л. Тахтаджяна, Москва «Просвещение», 1981, т.5(2), 511с.
- Киселев Г.Е. Цветоводство.-М.: Госиздат. Сельхоз. лит. 1952.-972с.
- Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР.- М.: Издв-во АН СССР, 1990.-28с
- Разумовский С.М. Ботанико-географическое районирование Земли как предпосылка успешной интродукции растений. //Интродукция тропических и субтропических растений.-М.: Наука, 1980.-С.10-27.
- Русанов Ф.Н. Новые методы интродукции растений ботанического сада АН УзССР //Бюл. Гл. бот. сада АН СССР, 1950.- Вып.7.-С.27-36.
- Русанов Ф.Н. Основные понятия об интродукции растений и ее некоторых методов //Тр. бот. сада УзССР, 1954.-Вып.4.- С.25-34.
- Слюсаренко О., Ружицька І., Пілюга С., Воробійова А. Особливості насінневого розмноження *Pittosporum undulatum* Vent. у теплицях ботанічного саду Одеського національного університету //Вісник Львівського університету, Серія біологічна, 2004.- Вип. 36. С. 220-223
- Слюсаренко О., Пілюга С., Ружицька І., Азарова Л., Степанова О. Інтродукція *Pittosporum undulatum* Vent. в ботанічному саду ОНУ ім. Мечникова //Вісник Київського національного університету Інтродукція та збереження рослинного різноманіття, 2009.- Вип. 22/24, С.37-38
- Смирнова Е.С. Биоморфологические структуры побеговой системы тропических и субтропических цветковых растений в природе и оранжерейной культуре //Интродукция тропических и субтропических растений.-М.: Наука, 1980.- С.52-91.
- Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. - Л.: Наука, 1987.-439с.
- Тумак Н., Паламар І. Інтродукційні можливості *P. crassifolium* Soland. в умовах захищеного ґрунту //Вісник Київського національного університету ім.Тараса Шевченка Інтродукція та збереження рослинного різноманіття Вип. 15-17, 2007 с.140-142
- Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР.-Л.: Наука, 1981.-510с.
- Balan, Y; Neamtu, M; Enescu, T; Petrescu, G; Negol, M; Duta, M; Dogaru,M; Biodiversity of ornamental plants with potential as indoor plants in Romania. Horticultural science abstracts, vol. 74, 2004.
- Cayzer, L. W., Crisp, M. D., Donaldson, S., 2007. Cheiranthra (Pittosporaceae). Australian Systematic Botany 20, 340—354.
- Chang, H. T. & S. Z. Yan. 1974. A review of the pittosporaceous plants in China. Acta Sci. Nat. Univ. Sunyatseni 1974(2): 30--43. . <http://flora.huh.harvard.edu/china/mss/volume09/Pittosporaceae.PDF>(Дата звернення 8.10.2012)
- EOL: Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/486199/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/486199/overview> (Дата звернення 16.10.2012)
- EOL: : Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/583390/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/583390/overview> (Дата звернення 5.06.2013)
- EOL: Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/482026/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/482026/overview> (Дата звернення 6.08. 2013)
- EOL: Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/583391/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/583391/overview> (Дата звернення 10.09.2013)
- EOL: Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/486203/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/486203/overview> (Дата звернення 5.06.2013)
- EOL: Encyclopedia of life [електронний ресурс] URL: <http://eol.org/pages/5555787/overview> Режим доступу: <http://eol.org/pages/5555787/overview> (Дата звернення 6.08.2013)

27. Flora of China Editorial Committee. 2003. Fl. China 9: 1–496. Science Press & Missouri Botanical Garden Press, Beijing & St. Louis. [електронний ресурс] URL: Режим доступу: <http://www.tropicos.org/Reference/1020302> (Дата звернення 8.10.2012)
28. Gowda, M. 1951. The genus *Pittosporum* in the Sino-Indian Region. *J. Arnold Arbor.* v .XXXII: p.263—343
29. Larsen R. The tolerance of ornamental foliage plants to low light intensities //Swed. J. Arg. Res.-1979.-v.9, n4.-p.169-179.
30. Peng Hua A New Species of *Pittosporum* (*Pittosporaceae*) from China NOVON 11(4): 2001.
31. Tranguillini W. The physiology of plants at high altitudes //Ann. Rev. Plant. Physiol. – 1964.V. 15. – p. 345 – 362.
32. Utteridge, T.M.A. 2000: The subalpine members of *Pittosporum* (*Pittosporaceae*) from Mt Jaya, New Guinea. *Contributions to the Flora of Mt Jaya, II . Kew bulletin*, 55: 699-710.

HISTORY AND PROSPECTS OF AN INTRODUCTION OF SPECIES OF THE PITTOSPORUM BANKS EX SOL GENUS IN THE CONDITIONS OF THE PROTECTED SOIL OF KRYVYI RIG BOTANICAL GARDEN NAS OF UKRAINE

L. I. Boyko

*In article are provided the data on history of opening of species of the genus *Pittosporum*. Are lightened the results the introductional researches of this genus in the conditions of the protected soil. Is submitted the description of 9 introduced taxa: *Pittosporum heterophyllum* Franch, *P. tobira* Ait., *P. tobira* var. *variegatum* Hort., *P. undulatum* Vent., *P. tenuifolium* Gaertn, *P. crassifolium* Soland. ex Putterl., *P. eugenioides* A. Cunn, *P. viridiflorum* Sims, *P. sahnianum* Gowda. Is analysed the botanical-geographical origin and ecological-morphological features of plants of the studied genus. Are given the results of the carried-out assessment of introductions success testifying that all studied species received a high rate of success of introduction. Researches were conducted by standard methods used in a plants introduction. By results of phenological supervision it is established that species of this genus are ecological cosmopolitans. Despite sharply changed intensity of ecological parameters of the maintenance (both in a greenhouse, and in interiors) plants are capable to pass cyclically all phenological phases, changing thus dates of approach and duration of the main phenological phases. Especially noticeable changes are noted on dormant period duration. The period of active growth of sprouts is noted in I-III and VI-VIII months. Duration of this period changes by years in the range of 78-106 days. Longer period of sprouts growth is characteristic for species: *P. crassifolium*, *P. tenuifolium*, *P. heterophyllum*. The carried-out number of experimental studies gives the possibility to claim that within a genus are allocated species, more exacting to illumination level – *P. eugenioides*, *P. tenuifolium*, *P. crassifolium*, *P. undulatum*.*

*Researches of a generative phase revealed high seasonal synchronism of blossoming at plants of species of *P. undulatum*, *P. tobira*, *P. tobira* v. *variegatum*, *P. heterophyllum*, *P. viridiflorum* and low at *P. sahnianum*. As a result the introductional researches in the conditions of the protected soil of a greenhouse and adaptation test of plants of the genus *Pittosporum* in different types of interiors of Krivbass is shown the high ability of species to adapt to conditions of the technogenic-broken environment (emissions of a dust, the various gases, the raised radiation level), and also to maintain dryness and low air temperature. Results of researches confirm expediency of widespread introduction this, undoubtedly, perspective genus, both for replenishment of collection funds, and for use in a phytodesign.*

*Key words: introduction, genus *Pittosporum*, phenological rhythms, stability, prospects, phytodesign*

Одержано редколегією 27.03.2014

ІНТРОДУКЦІЯ РІДКІСНИХ І ЗНИКАЮЧИХ ВИДІВ РОДУ *ASTRAGALUS* L. (FABACEAE) ПРИРОДНОЇ ФЛОРИ УКРАЇНИ: УСПІХИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Ю. С. ПЕРЕГРИМ

Навчально-науковий центр «Інститут біології»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
кафедра ботаніки, просп. Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна.
e-mail: peregrym@mail.ru

Історія інтродукційних досліджень рідкісних і зникаючих видів роду *Astragalus* L. (Fabaceae) природної флори України проаналізовано у статті. Встановлено, що на сьогодні у колекціях ботанічних садів і дендропарків країни зберігається 11 рідкісних і зникаючих видів цього роду (*A. arenarius* L., *A. borysthenticus* Klok., *A. cicer* L., *A. cretophilus* Klov., *A. dasyanthus* Pall., *A. glycyphyllos* L., *A. monspessulanus* L., *A. odessanus* Besser, *A. ponticus* Pall., *A. reduncus* Pall., *A. zingeri* Korsh.), ще 3 види (*A. henningii* (Steven) Boriss., *A. krajinae* Domin, *A. testiculatus* Pall.) були задіяними в інтродукційних дослідженнях, проте випали з колекційного фонду. Найкраще досліджені особливості інтродукції цінних лікарських і кормових культур: *A. cicer*, *A. dasyanthus*, та *A. glycyphyllos*. Виділено 6 видів, що є потенційно перспективними для реінтродукційних, репатріаційних і реставраційних досліджень в країні: *A. cicer*, *A. cretophilus*, *A. dasyanthus*, *A. glycyphyllos*, *A. odessanus* та *A. ponticus*.

Ключові слова: інтродукція, збереження *ex situ*, рідкісні і зникаючі види, *Astragalus* L.

Вступ. Рід *Astragalus* L. (Fabaceae) нараховує близько 2500 – 3000 видів рослин, і є одним з найбільших родів у флорі Світу (Frodin, 2004; The Plant ..., 2013). У природній флорі України рід представлений 54 видами (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999; Перегрим Ю. та ін., 2013), серед яких 21 вид належить до категорії рідкісних і зникаючих рослин: 3 види включені у «Червоний список Міжнародного Союзу охорони природи» (*Astragalus arenarius* L., *A. setosulus* Gontsch., *A. tanaiticus* K. Koch.) (The IUCN ..., 2014), 5 видів з «Європейського Червоного списку» (*A. arenarius*, *A. cicer* L., *A. glycyphyllos* L., *A. setosulus*, *A. tanaiticus*) (European ..., 2011), 2 види – з додатків до Бернської конвенції (*A. setosulus*, *A. tanaiticus*) (Вініченко, 2006), 18 видів з «Червоної книги України» (2009) (*A. arenarius*, *A. borysthenticus* Klok., *A. cretophilus* Klov., *A. dasyanthus* Pall., *A. exscapus* L., *A. glaucus* M. Bieb., *A. henningii* (Steven) Boriss., *A. krajinae* Domin, *A. monspessulanus* L., *A. odessanus* Besser, *A. ponticus* Pall., *A. reduncus* Pall., *A. sareptanus* A. Beck., *A. setosulus*, *A. similis* Boriss., *A. tanaiticus*, *A. testiculatus* Pall., *A. zingeri* Korsh.), а також ще 1 вид (*A. calycinus* M. Bieb.), нині офіційно не охороняється, оскільки тільки нещодавно був виявлений в Україні, але за всіма параметрами заслуговує на включення у нове видання «Червоної книги України» (Перегрим Ю. та ін., 2013). Висока

частка раритетних видів роду в природній флорі України пояснюється тим, що види роду *Astragalus* тривалий час відомі як господарська цінні рослини (Ларин, 1956), а також тим, що місцезростання більшості з цих видів приурочені до степових екосистем, які раніше займали близько 40% території країни, а на сьогодні їх залишилось лише близько 3% (Порівняльна ..., 1998; Korotchenko, Peregrym M., 2012). У такій ситуації надзвичайно актуальним є питання збереження рідкісних видів роду *Astragalus* в Україні *in situ* та *ex situ*.

Нещодавно були узагальнені відомості щодо репрезентативності рідкісних і зникаючих видів рослин на території заповідників і Національних природних парків України (Фіторізноманіття ..., 2012а, 2012б). Згідно до цих даних та інформації з «Червоної книги України» (2009) встановлено, що лише 4 рідкісних і зникаючих види з роду *Astragalus* не представлені на територіях природно-заповідного фонду країни (*A. exscapus*, *A. sareptanus*, *A. zingeri*, *A. calycinus*). Нажаль, стан справ у збереженні видів цієї групи рослин в культурі, тобто колекціях ботанічних садів та дендропарків значно гірше, про що неодноразово прямо чи побічно наголошувалось у вітчизняній літературі (Червона ..., 2009; Перегрим М., 2010; Каталог ..., 2011). Разом з тим, інтродукція рослин, як перший найважливіший крок для подальшого збереження генофонду рослин в культурі має надзвичайно високе значення

(Мельник, 2000; Кузьмин, Горбунов, 2003). У зв'язку з цим нами вирішено підготувати огляд інтродукційних досліджень рідкісних і зникаючих видів роду *Astragalus* природної флори України з метою з'ясування успішності їх інтродукції та подальших перспектив щодо збереження *ex situ* та у культивуванні.

Історія наукового вивчення роду *Astragalus* починається з часу його описання Карлом Ліннеєм (Linnaeus, 1753, 1762). Достовірний час початку культивування видів роду нам не вдалося встановити. Широкомасштабні інтродукційні дослідження видів цього роду розпочались у ХХ сторіччі у різних регіонах планети та продовжуються зараз: Східна Європа (Томилова, 1982; Сафонова, 1983; Горленко и др., 1990; та ін.), Середня Азія (Мустафаев, 1982; Белолипов, 1984; та ін.), Південно-Східний Алтай (Пленник, 1976), Північна Америка (Beath et al., 1939, 1941; Davis, 1973, 1982; Townsend et al., 1990; та ін.) тощо.

Онтогенез видів роду *Astragalus* описаний переважно для азійських видів (Байгозова, 1970; Михайлова, 1972, 1975; Ищенко, 1973; Сикура, Капустян, 2001; та ін.), рідше є описи для видів поширених у Східній Європі: *A. austriacus* Jacq. (Налимова, 2007), *A. danicus* Retz. (Разживина, 2008) та ін. Для рідкісних і зникаючих видів цього роду, які відомі у природній флорі України, особливості життєвого циклу вивчені для 3 видів: *A. cicer* (Разживина, 2008), *A. dasyanthus* (Собко, 1993, 2007), *A. glycyphyllos* (Разживина, 2008).

Інтродукція видів роду *Astragalus* найчастіше проводиться шляхом насінневого розмноження, що пов'язано з особливостями життєвих форм цих рослин. Саме тому з середини ХХ ст. ведеться активна робота з оцінювання насінневої продуктивності та якості насіння багатьох видів роду (Ищенко, 1960; Панкова, Никитин, 1962; Сагалбеков, 1987; Немирова, Мартинов, 2012; та ін). За результатами цих досліджень було встановлено, що більшості видів роду *Astragalus* властива твердонасінність (98,2%), що сприяє утворенню резервного фонду насіння рослин в ґрунті. З метою збільшення схожості насіння такого типу підлягає скарифікації. Крім того, значна увага приділялась вивченню морфологічних особливостей насіння та плодів видів роду *Astragalus* (Дудик, Кондратюк, 1970; Дудик, 1973, 1979). За результатами цих досліджень описана морфологія плодів і насіння 12 рідкісних та зникаючих видів роду природної флори України: *A. arenarius*, *A. borysthenicus*, *A. cicer*, *A. cretophilus*, *A. dasyanthus*, *A. glycyphyllos*, *A. henningii*, *A. krajinae*,

A. odessanus, *A. ponticus*, *A. reduncus*, *A. testiculatus*.

Далі наводимо детальну інформацію щодо репрезентативності рідкісних і зникаючих видів роду *Astragalus* природної флори України у колекціях інтродукційних центрів країни, яка зібрана за результатами опрацювання літературних джерел (Каталог ..., 1988; Каталог ..., 1997; Каталог ..., 2000; Гавриленко та ін., 2003; Каталог ..., 2004; Ботанічний ..., 2007; Кременецький ..., 2007; Каталог ..., 2008; Колекція ... 2008; Каталог ..., 2011; Кучеревський, Шоль, 2014; Рахметов та ін., 2014; Шоль, Кучеревський, 2014; Щербакова та ін., 2014), а також основні результати їх інтродукційних досліджень у нашій країні та на прилеглих територіях.

A. arenarius інтродукований в Україні лише у дендрологічному парку «Юннатський» (м. Київ). У Росії відмічено низьку потенційну насінневу продуктивність виду та мінімальне насінневе відновлення у різних регіонах (Немирова, Мартынов, 2012; Абдушаєва, 2013).

A. borysthenicus зберігається в культурі лише у Дендрологічному парку «Олександрія» НАН України. Інформацію щодо результатів інтродукційних досліджень виду не знайдено.

A. cicer і *A. glycyphyllos* вивчалися досить давно і у різних аспектах, тому види репрезентовані у колекціях більшості ботанічних садів України. Зокрема, перші згадки лікувальних властивостей *A. glycyphyllos*, датовані ХІХ сторіччям (Горницький, 1887; Кудрик, 1992). Пізніше вид був включений до переліку фармакопейних рослин, що сприяло виникненню потреби великих обсягів сировини. Нині надзвичайно активно *A. glycyphyllos* та *A. cicer* вивчаються на території Росії. Одним з основних напрямків інтродукційних досліджень цих видів є оцінка придатності для компробирництва та покращення складу ґрунту. Так в Республіці Комі вивчалась фенологія, динаміка росту та накопичення фітомаси *A. glycyphyllos* і *A. cicer*, також проводились дослідження з визначення зимостійкості, стійкості до екстремальних змін погоди протягом вегетаційного періоду, скоростиглість і рівня визрівання насіння (Холопцева, 2001, 2005). У Новгородській обл. досліджували морфологічні ознаки та успішність акліматизації *A. cicer*, вивчався бобово-ризобіальний апарат виду, за результатами чого відмічено високу активність маленьких бульбочок. (Абдушаєва, 2013). У Пензенській обл. проведені дослідження біологічних особливостей, в тому числі насінневої продуктивності *A. glycyphyllos* та *A. cicer* в культурі, продуктивність їх наземної

біомаси та насіння (Разживина, 2008). У Смоленській обл. дослідження показали, що *A. glycyphyllos* і *A. cicer* є найбільш перспективними видами для інтродукції та реінтродукції, за рахунок їх стійкості до антропогенного навантаження. Висока насіннева продуктивність у *A. glycyphyllos* (від 1198 ± 408 до 874 ± 241 шт./пагін) досягається завдяки великій кількості генеративних пагонів і кількості плодів на одному пагоні, а насіннева продуктивність *A. cicer* (179 ± 37 шт./пагін) є низькою (Мартынов, 2011; Немирова, Мартынов, 2012). Також проведені досліди щодо підвищення ефективності схожості насіння *A. glycyphyllos* (Ильина, 2013).

A. cretophilus. Інтродукований у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України, Донецькому і Криворізькому ботанічних садах НАН України, Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

У Донецькому ботанічному саду *A. cretophilus* був інтродукований дорослими особинами в 70-х роках минулого століття. Приживаність склала 60-80%. Інтродуценти показали себе в культурі високостійкими та такими, що дають одинарний самосів. Фактична насіннева продуктивність особини 22884 ± 1745 насінин, насіннефікація – 43,7%. Результати штучного розмноження посівом насіння власної репродукції весною виявились негативними, а восени – позитивні. Встановлено, що для цього виду характерне саморозселення самосівом. Протягом 1977-1987 рр. насіння *A. cretophilus* визрівало з 17.06 – 10.08 по 29.08 – 26.10., отож довжина фенофази виду складає 73-118 діб. Результати штучного розмноження вегетативним шляхом та вегетативне саморозселення негативні (Кондратюк, Остапко, 1989, 1990).

У Криворізькому ботанічному саду НАН України відмічається нерегулярне плодоношення, поодинокий самосів, але частіше молоді рослини гинуть на ранніх стадіях розвитку та утримуються у культурі не більше 5-ти років (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014).

У Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка досліджено окорінення здерев'янілих живців *A. cretophilus*, особливості введені в асептичну культуру та вегетативного розмноження *in vitro*. Доведено можливість вегетативного розмноження за умов оранжереї та виявлено здатність до кількох типів морфогенезу *in vitro* (Переграм Ю., Голубенко, 2014).

A. dasyanthus є найбільш поширеним серед рідкісних і зникаючих видів роду у колекціях інтродукційних центрів України. У Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України інтродукований у 1970 р. Тут проведено дослідження впливу умов живлення на ріст і розвиток рослин на ритміку їх сезонного розвитку, а також інтенсивність наростання надземної маси за фазами розвитку та продуктивність (Мирза, 1973; Бойченко, Мирза, 1979). В умовах інтродукції щорічно цвіте, плодоносить і утворює життєздатне насіння (Собко, 1993, 2007; Рахметов та ін., 2014).

У Донецькому ботанічному саду НАН України з 1971 р. Відмічено складне збирання плодів (неодночасне досягання і розтріскування), низька насіннева продуктивність та схожість насіння, твердонасінність. Після скарифікації, в результаті якої схожість насіння збільшується до 85% (Птиця, 2008). Проведено дослідження з охоронної інтродукції *A. dasyanthus* та з'ясовано, що цей захід є перспективним за умов відповідності вимог виду і умов місцезростань, де висаджуються рослини. В реінтродукційному розсаднику саду *A. dasyanthus* проходить всі онтогенетичні стадії та дає самосів, і характеризується прискоренням онтогенезу в умовах культури. Має низьку польову схожість як при весняному так і при підзимньому висіві. Встановлено, що насіння *A. dasyanthus* за умови скарифікації перед висівом зберігає схожість протягом двох років, проте схожість насіння падає до 26,5% (Глухов, Птиця, 2008).

У Криворізькому ботанічному саду НАН України з 1980 р. у монокультурі та в штучно створених фітоценозах, де щорічно цвіте, плодоносить, самовідновлюється насінням. Сильно пошкоджується хворобами та шкідниками у зв'язку з чим у культурі недовговічний (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014).

На Дослідній станції лікарських рослин НААН України встановлено, що тривалість життя рослин в умовах культури досягає чотирьох і більше років. Схожість насіння без додаткового обробітку зазвичай не перевищує 9-16%. Сходи з'являються на 16-22 день, фаза розгалуження настає на 33-46 день, бутонізації – на 64-89 день після появи сходів. Період цвітіння становить 28-38 днів, але у однорічних сіянців цвітіння розтягнуте до 92 днів. Дозрівання насіння відкривається неодноразово. Найбільш продуктивний ріст і розвиток надземної маси спостерігається на другий рік вегетації (Губанов, 2013). Також досліджувались

екологічно-безпечні прийоми захисту *A. dasyanthus* від шкідливих організмів за умов регулювання їх розвитку і чисельності. Вивчена ентомофауна *A. dasyanthus*, яка налічує 20 видів олігофагів, підібрані природні популяції ентомофагів, що стримують розвиток попелиць і трипсів, встановлено 5 основних хвороб (борошниста роса, кореневі гнилі, іржа, переноспороз і філостіктоз), що завдають шкоди *A. dasyanthus*. Досліджена ефективність впливу інсектицидів, біологічних препаратів та мікроелементних добрив на *A. dasyanthus*, які збільшують врожайність сирової сировини в 1,5-2 рази і знижують ураженість хворобами на 18-40% (Вивчити ..., 2010; Обґрунтувати ..., 2010).

Крім того *A. dasyanthus* представлений у колекціях Кременецького ботанічного саду, Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Ботанічного саду Сумського педагогічного університету ім. А.С. Макаренка; Ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н. Казаріна, Ботанічного саду Полтавського державного педагогічного університету ім. В.Г. Короленка, Ботанічного саду Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара, Ботанічного саду Херсонського державного університету та Дослідного господарства «Парк «Веселі Боковенькі». У цих та деяких інших установах проведені дослідження тривалості плодоношення та формування насіння *A. dasyanthus*, встановлені оптимальні регулятори росту та перелік мікродобрив для збільшення врожайності насіння виду, визначено видовий склад запилювачів у Лісостепу, а також розроблено рекомендації щодо підвищення ефективності запилення рослин (Колосович, 2003). Проведені досліди по впливу селену на ростову активність *A. dasyanthus* в культурі *in vitro*, які показали зниження індексу росту калусної культури по мірі збільшення концентрації селену в середовищі. (Тайкова, Теплицкая, 2010).

A. henningii був інтродукований у 1985 р. живими рослинами в Криворізький ботанічний сад НАН України, де проходив інтродукційні випробування, квітнув, плодоносив, самосіву не давав, випав протягом п'яти років. Повторна спроба інтродукувати насінням результатів не дала (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014). У 2012 і 2013 рр. намагалися інтродукувати вид дорослими особинами у Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка, проте поки не отримано позитивних результатів.

A. krajnae нині не представлений у колекціях інтродукційних центрів країни, проте у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка була проведена спроба інтродукції виду, яка закінчилась невдало: вид випав у перший-другий рік після посадки. (Стопкань, 1972).

Нами не знайдено літературних даних щодо дослідів з інтродукції *A. monspessulanus*, хоча цей рідкісний вид за останніми даними успішно інтродукований у Нікітському ботанічному саду – Національному науковому центрі НААН України (Каталог ..., 2011). З 2013 р. вирощується у Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Раніше також повідомлялось про наявність виду у колекціях Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України і Ботанічного саду Подільського державного аграрно-технічного університету (м. Кам'янець-Подільський) (Червона ..., 2009).

A. odessanus вирощується у монокультурі та штучних степових фітоценозах Криворізького ботанічного саду НАН України з 1989 р. Квітує, плодоносить, дає самосів, має високу інтродукційну стійкість (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014). У 2013 р. успішно інтродукований у Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка, де проводились дослідження щодо вегетативного розмноження виду *in vitro* (Переґрим Ю., Голубенко, 2014).

A. ponticus. Інтродукований у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України у 1970 р. з насінного матеріалу, отриманого з м. Каунас (Литва). Встановлено, що за умов інтродукції рослини починають раннє відростання у I-II декаді квітня, масово квітнуть у II-III декаді травня і формують насіння в I-II декаді липня, кінець вегетації – III декада листопада. *A. ponticus* стійкий до хвороб і шкідників, характеризується високими показниками насінної продуктивності (лабораторна схожість насіння – до 90,5%). Описані особливості морфометричної мінливості рослин в культурі (Рахметов та ін., 2014).

У Криворізькому ботанічному саду НАН України *A. ponticus* проходить повний цикл розвитку пагонів, квітує, плодоносить, зав'язує схоже насіння, самовідновлюються насінням, формує інтродукційні популяції, та має високу інтродукційну стійкість (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014).

У 1991 р. в Росії були введені технічні умови з нормами сортових та насінневих якостей

A. ponticus та *A. cicer*, згідно з якими вони повинні мати схожість 70%, вологість не більше 10%, не більше 1% насіння бур'янів, та не більше 300 насінин/кг найбільш шкідливих бур'янів. Перераховані найбільш шкідливі бур'яни для даних кормових культур, описані методи визначення насінневих якостей рослин. Визначення схожості насіння *A. ponticus* та *A. cicer* рекомендують проводити при постійній температурі 20°C, рекомендовані строки визначення енергії проростання – 5 діб, а строки визначення схожості – 10 діб. Перед закладкою на пророщування насіння попередньо охолоджується при температурі 3-5°C на протязі 3 діб, а згодом замочується в воді на добу та наколюється (Семена ..., 2009).

A. reduncus культивується в Україні лише у Дендрологічному парку «Асканія-Нова» Біосферного заповідника «Асканія-Нова» ім. Ф. Е. Фальц-Фейна НААН України. Інших відомостей щодо інтродукції виду нами не знайдено, окрім короткого повідомлення проте, що *A. reduncus* у Калмикії відрізняється високою насінневою продуктивністю та стійкістю до збою (Бакташева, 1989).

A. testiculatus охоронявся у монокультурі на степових схилах, відслоненнях у Криворізькому ботанічному саду НАН України з 2003 р. Квітував, плодоносив, однак самосіву не давав. Випав у 2005 р. Інтродукційна цінність низька (Кучеревський, Шоль, 2014; Шоль, Кучеревський, 2014).

A. zingeri інтродукований лише на дослідних ділянках дендрологічного парку Будинку природи м. Севастополя. Проте враховуючи рідкісність виду в межах України, припускаємо, що рослини репрезентують генофонд неукраїнської популяції виду. Інші відомості відсутні.

Решта рідкісних і зникаючих видів роду *Astragalus* природної флори України на сьогодні не репрезентовані у колекціях ботанічних садів і дендропарків країни, а відповідно і в культурі вони не вивчалися.

Висновки. Таким чином, нині в Україні зберігається у колекціях інтродукційних центрів 11 рідкісних і зникаючих видів роду *Astragalus* (*A. arenarius*, *A. borysthenticus*, *A. cicer*, *A. cretophilus*, *A. dasyanthus*, *A. glycyphyllos*, *A. monspessulanus*, *A. odessanus*, *A. ponticus*, *A. reduncus*, *A. zingeri*), ще 3 види (*A. henningii*, *A. krajnae*, *A. testiculatus*) були задіяними в інтродукційних дослідженнях, проте випали з колекційного фонду через деякий час. Це достатньо невисокий показник, оскільки лише близько 52% рідкісних видів роду охоплені охороною в культурі в Україні. Найкраще

досліджені особливості інтродукції цінних лікарських і кормових культур: *A. cicer*, *A. dasyanthus*, та *A. glycyphyllos*, вивчення яких охоплює аналіз важливих біологічних особливостей: онтоморфогенез, довготривалість посівів, насіннева продуктивність, основні хвороби, шкідники, та запилювачі тощо. Тому, необхідно продовжити пошук шляхів для ефективної інтродукції видів та розробки біотехнологій їх розмноження.

Враховуючі рівень репрезентативності видів у колекціях ботанічних садів та дендропарків України, а також успішність вивчення і інтродукції видів, вважаємо, що потенційно перспективними для реінтродукційних, репатріаційних і реставраційних досліджень в країні є 6 видів: *A. cicer*, *A. cretophilus*, *A. dasyanthus*, *A. glycyphyllos*, *A. odessanus* та *A. ponticus*.

Окремо відмічаємо, що отримані відомості можна використати під час підготовки нової редакції «Червоної книги України», оскільки у діючій редакції видання більшість наведених у нашій статті фактів не було враховано.

Список літератури:

1. Абдушаева Я.М. Экологическая оценка и биоресурсный потенциал растений семейства *Fabaceae* Lindl. в условиях ландшафтов Новгородской области / Авторф. дисс. докт. биол. наук: 03.00.08 – экология. – Москва, 2013. – 43 с.
2. Байгозова Г.А. К биологии астрагала малопарного (*Astragalus paucijugus* С.А. Мей.) // Бот. журн. – 1970. – Т.55, № 9. – С. 1282-1289.
3. Бакташева Н.М. Биологические особенности рода *Astragalus* L. флоры Калмыкии // Экология растений полупустынной и степной зоны: Сб. науч. трудов. – Элиста, 1989. – С. 104-113.
4. Белоплипов И.В. Итоги интродукции видов рода астрагал природной флоры Средней Азии в Ташкенте // Интродукция и акклиматизация растений. – Ташкент: Фан, 1984. – Вып. 19. – С. 3-27.
5. Бойченко Е.С., Мирза М.В. Вплив умов живлення на ріст і розвиток астрагалу шерстистоквіткового // Біологічні особливості корисних рослин природної флори в зв'язку з їх інтродукцією на Україні. – К.: Наук. думка, 1978. – С. 81-85.
6. Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна. Каталог рослин // Природно-заповідні території України. Рослинний світ.— Вип. 7. — К.: Фітосоціоцентр, 2007. — 320 с.
7. Вініченко Т.С. Рослини України під охороною Бернської конвенції. — К.: Хімджест, 2006. — 176 с.
8. Вивчити вплив мікроелементних добрив на врожайні та якісні показники сировини астрагалу шерстистоквіткового, чорнушки дамаської, козлятнику лікарського: звіт про НДР (заключний) № Держреєстрації 0107U001920 / НААН України. Ін-т агроєкології і економіки природокористування. Дослідна станція лікарських рослин; кер. Л.А. Глуценко. – Березоточа, 2010 – 22 с.

9. Гавриленко Н.О., Рубцов А.Ф., Слєпченко Л.О. Каталог рослин дендрологічного парку «Асканія-Нова». Довідковий посібник. — Асканія-Нова, 2003. — 116 с.
10. Глухов О.З., Птиця В.В. Реінтродукція раритетних видів флори Південного Сходу України. — Донецьк: Вид-во «Вебер» (Донецька філія), 2008. — 193 с.
11. Горленко С.В., Блинцов А.И., Линкин Л.И., Ярошевич М.И. Болезни и вредители новых видов кормовых культур — Минск: Навука і тэхшка, 1990. — 157 с.
12. Горницкий К.С. Заметки об употреблении в народном быту некоторых дикорастущих и разводимых растений украинской флоры. — Харьков: Унив. тип., 1887. — 220 с.
13. Губанов О.Г. Астрагал шерстистокувітковий — цінна лікарська культура. «Трава життя кременівських вождів» // Сучасні аграрні технології — червень 2013. — № 06 (334). — С. 55-59.
14. Дудик Н.М. Визначник інтродукованих бобоцвітих України за плодами та насінням. — К.: Наук. думка, 1973. — 156 с.
15. Дудик Н.М. Морфология плодов бобоцветных в связи с эволюцией. — К.: Наук. думка, 1979. — 211 с.
16. Дудик Н.М., Кондратюк Е.М. Атлас плодів і насіння родини бобових природної флори УРСР. — К.: Наук. думка, 1970. — 213 с.
17. Ильина В.Н. Перспективы интродукции некоторых видов семейства бобовые в связи с особенностями начальных периодов онтогенеза // Самарский научный вестник. — 2013. — № 3 (4). — С. 44-47.
18. Ищенко Л.Е. Биология прорастания семян астрагалов Колет-Дага и южной части пустыни Кара-Кумы // Изв. АН Туркменской ССР. Сер. «Биологические науки». — Ашхабад, 1960. — № 5. — С. 26-34.
19. Ищенко Л.Е. Жизненные формы астрагалов Туркмении // Бюлл. ГБС АН СССР. — 1973. — Вып. 87. — С. 61-67.
20. Каталог раритетних рослин ботанічних садів і дендропарків України. Довідковий посібник / За ред. А.П. Лебеди — К.: Академперіодика, 2011. — 184 с.
21. Каталог растений Донецкого ботанического сада. Справочное пособие / Под ред. Е.Н. Кондратюка. — Киев: Наук. думка, 1988. — 528 с.
22. Каталог растений Криворожского ботанического сада. Справочное пособие / Под ред. А.Т. Гревцовой.— Киев: Фитосоцицентр, 2000. — 164 с.
23. Каталог растений Центрального ботанического сада им. Н.Н. Гришко. Справочное пособие / Под ред. Н.А. Кохно. — Киев: Наук. думка, 1997. — 437 с.
24. Каталог рослин Ботанічного саду Полтавського державного педагогічного університету ім. В.Г. Короленка / А.С. Дзюбаненко, С.В. Гапон, Л.М. Гомля та ін. — Полтава: ПДПУ, 2004. — 32 с.
25. Каталог рослин Запорізького міського дитячого ботанічного саду / За ред. В.І. Мельника — Запоріжжя, 2008. — 68 с.
26. Колекція рослин Ботанічного саду Дніпропетровського національного університету / В.Ф. Опанасенко, І.О. Зайцева, А.М. Кабар та ін. — Дніпропетровськ: РВВДНУ, 2008. — 224 с.
27. Колосович М.П. Особливості біології цвітіння Астрагалу шерстистокувіткового (*Astragalus dasianthus* Pall.) та шоломниці байкальської (*Scutellaria bacalensis* Geoggi) і підвищення їх насінневої продуктивності в умовах Лісостепу України / Автореферат дисс. канд. с.-г. наук: 06.01.14 — насінництво. — К., 2003. — 20 с.
28. Кондратюк Е.Н., Остапко В.М. Развитие некоторых эндемичных, реликтовых и редких видов флоры юго-востока Украины в условиях первичной культуры // Онтогенез высших цветковых растений. Рекомендации. — К., 1989. — С. 65 — 70.
29. Кондратюк Е.Н., Остапко В.М. Редкие, эндемичные и реликтовые растения юго-востока Украины в природе и культуре. — К.: Наук. думка, 1990. — 152 с.
30. Кременецкий ботанический сад. Каталог рослин / В.Г. Стельмашук, А.М. Лісничук, О.А. Мельничук та ін. — Природно-заповідні території України. Рослинний світ. — Вип. 8. — К.: Фітосоціоцентр, 2007. — 159 с.
31. Кузьмин З.Е., Горбунов Е.Н. Сохранение биоразнообразия растений России *ex situ* // Бюл. Гл. ботан. сада. — 2003. — Вып. 184. — С. 168-173.
32. Кучеревський В.В., Шоль Г.Н. Збереження видів роду *Astragalus* L. (*Fabaceae* Lindl.) у Криворізькому ботанічного саду НАН України. // Інтродукція, збереження та моніторинг рослинного різноманіття: Матер. міжнар. наук. конф. до 175-річчя Ботанічного саду імені акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка (20-24 травня 2014 року, Київ). — К.: ПАЛІВОДА А.В., 2014. — С. 71.
33. Кудрик В.В. Биологические особенности перспективных лекарственных растений семейства бобовых (*Fabaceae* Lindl.) в связи с интродукцией в условиях Волынского полесья / Автореферат дисс. канд. биол. наук: 03.00.05 — ботаника. — К., 1992. — 21 с.
34. Ларин И.В. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР. Ч. III. — М.-Л.: Сельхозгиз, 1956. — С. 420 — 686.
35. Мартынов Н.В. Виды рода *Astragalus* L. в фитоценозах Смоленской области / Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.02.08 — Экология. — М., 2011. — 22 с.
36. Мельник В.И. Редкие виды флоры равнинных лесов Украины. — К.: Фитосоцицентр, 2000. — 212 с.
37. Мирза М.В. Ритмика сезонного развития астрагала шерстистоцветкового (*A. dasyanthus* Pall.) в культуре в ЦРБС ФР УССР // Интродукция растений и зелёное строительство. — К.: Наук. думка, 1973. — С. 100-101.
38. Михайлова Т.Д. Биоморфологические особенности *Astragalus glycyphyllus* L. // Бюлл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. биол. — 1970. — Т. LXXV, 5. — С. 74-81.
39. Михайлова Т.Д. Побегообразование и жизненная форма *Astragalus macropodium* Lipsky // Научн. докл. высшей школы. Сер. Биол. науки. — 1972. — № 6. — С. 49-54.
40. Михайлова Т.Д. Становление жизненных форм некоторых травянистых астрагалов / Автореферат

- дисс. канд. биол. наук: 00.00.05 – ботаника / Моск. гос. пед. ин-т им. В.И. Ленина. – М., 1975. – 23 с.
41. Мустафаев С.М. Дикорастущие бобовые растения — источник кормовых ресурсов. – Л.: Наука, 1982. – 283 с.
42. Налимова Н.В. Астрагал австрийский // Онтогенетический атлас растений. Т. V. / Отв. ред. Л.А. Жукова. – Йошкар-Ола: МарГУ, 2007. – С. 105-109.
43. Немирова Е.С., Мартынов Н.В. О семенной продуктивности некоторых видов астрагалов в условиях Смоленской области // Вестник МГОУ. Сер. «Естественные науки». – М.: Изд-во МГОУ, 2012. – №1. – С. 53-57.
44. Обґрунтувати та розробити екологічно безпечні прийоми захисту череди трироздільної, астрагалу шерстистоквіткового та змієголовнику молдавського від шкідливих організмів за умов регулювання їх розвитку і чисельності: звіт про НДР (заклучний): № Держреєстрації 0107U008156 / НААН України. Ін-т агроєкології і економіки природокористування. Дослідна станція лікарських рослин; кер. Л.А. Глущенко. – Березоточа, 2010 – 39 с.
45. Панкова И.А., Никитин А.А. Строение и всхожесть семян *Astragalus densissimus* Boriss и *Astragalus pileocladus* Freyn et Sint // Раст. сырье. – 1962. – Сер. 5., Ч. 1., Вып. 10. – С. 46-43.
46. Порівняльна оцінка фіторізноманітності заповідних степових екосистем України з метою оптимізації режимів їх охорони / Я.П. Дідух, В.С. Ткаченко, П.Г. Плюта, І.А. Коротченко, Т.В. Фіцайло. під заг. ред. Я.П. Дідуха. – К., 1998. – 75 с.
47. Перегрим М.М. Охорона рідкісних і зникаючих видів флори України ex situ в контексті реалізації глобальної та європейської стратегії збереження рослин. // Укр. ботан. журн. – 2010. – Том 67, №4. – С. 577-586.
48. Перегрим Ю.С., Голубенко А.В. Вегетативне розмноження ex situ *Astragalus cretophilus* Klokov та *Astragalus odessanus* Besser // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Сер. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2014. – 32. – (у друці).
49. Перегрим Ю.С., Брансков О.І., Перегрим М.М. *Astragalus calycinus* M. Vieb. (*Fabaceae*) - новий вид для флори України // Укр. ботан. журн. – 2013. – Т. 70, №5. – С. 642-645.
50. Пленник Р.Я. Морфологическая эволюция бобовых юго-восточного Алтая (на примере родовых комплексов *Astragalus* L. и *Oxytropis* DC.) / Отв. ред. К.Я. Соболевская. – Новосибирск: Наука, 1976. – 215 с.
51. Птица В.В. *Astragalus dasyanthus* Pall. на Південному сході України // Промышленная ботаника. – 2008. – Вып. 8. – С. 98-102.
52. Разживина Т.В. Дикорастущие астрагалы Пензенской области как исходный материал для селекции / Автореферат дисс. канд. с/х. наук: 06.01.05 – селекция и семеноводство / ФГОУ ВПО «Пензенская гос. с/х академия». – Пенза, 2008. – 22 с.
53. Рахметов Д.Б., Стаднійчук Н.О., Ревунова Л.Г., Шиманська О.В., Бондарчук О.П. Рідкісні види рослин флори України в колекції відділу нових культур НБС ім. М.М. Гришка НАН України // Флорологія та фітосозологія – 2014. – № 3-4. – С. 266-275.
54. Сагалбеков У.М. К оценке твердосемянности бобовых трав // Селекция и семеноводство. – 1987 – № 2. – С. 38-40.
55. Сафонова О.Н. Итоги интродукции кормовых бобовых культур в Воронежской области // Труды РАН УрО. Коми научн. центр. Институт биологии. – Сыктывкар, 1993. – С. 140-141.
56. Семена малораспространённых кормовых культур. Сортовые и посевные качества. Технические условия: ГОСТ 28636–90 [Утверждён и введён в действие от 02.08.90. № 2345]. – М.: Межгосударственный стандарт. Стандартинформ, 2009. – 13 с.
57. Сикура И.И., Капустян В.В. Научные основы сохранения ex situ разнообразия растительного мира. – Киев: Фитосоцицентр, 2001. – 192 с.
58. Собко В.Г. Стежинами Червоної книги. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.
59. Собко В.Г. Стежинами Червоної книги. – К.: Урожай, 2007. – 278 с.
60. Стопкань В.В. Інтродукція рослин Українських Карпат // Інтродукція на Україні корисних рослин природної флори СРСР. – К.: Наук. думка, 1972.– С. 69 - 103.
61. Тайкова В.П., Теплицкая Л.М. Влияние селена на ростовые характеристики *Astragalus dasyanthus* (Pall.) в культуре in vitro // Учёные записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер. Биология, Химия. – Симферополь, 2010. – Т. 23 (62), №2. – С. 157-162.
62. Томилова Л.И. Эндемики флоры Урала в ботаническом саду в Свердловске // Бюлл. БС АН СССР. – 1982. – Вып. 126. – С. 25-30.
63. Фіторізноманіття заповідників і національних природних парків України. Ч.1. Біосферні заповідники. Природні заповідники / під ред. В.А. Оніщенко, Т.Л. Андрієнко. – К.: Фітососцієнтер, 2012а. - 406 с.
64. Фіторізноманіття заповідників і національних природних парків України.» Ч.2. Національні природні парки / під ред. В.А. Оніщенко, Т.Л. Андрієнко. – К.: Фітососцієнтер, 2012б. - 580 с.
65. Холопцева Е.С. Эколого-физиологическая характеристика ряда видов астрагалов / Автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.00.12 – физиология растений. – Петрозаводск, 2001. - 25 с.
66. Холопцева Е.С. Интродукция некоторых видов *Astragalus* (*Fabaceae*) в Карелию // Растительные ресурсы. – 2005. – Т. 41, №1. – С. 66-70.
67. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 912 с.
68. Шоль Г.Н., Кучеревський В.В. Охорона видів родини *Fabaceae* Lindl. флори України у колекціях Криворізького ботанічного саду // Флорологія та фітосозологія – 2014. – № 3-4. – С. 282-287.
69. Щербакова О.Ф., Новосад В.В., Крицька Л.І. Збереження раритетних видів зони впливу південно-українського енергокомплексу ex situ та in situ // Флорологія та фітосозологія – 2014. – № 3-4. – С. 235-249.

70. Beath O.A., Gilbert C.S., Eppson H.F. The use of indicator plants in locating seleniferous areas in the western United States. I. General // Amer. J. Bot. – 1939. – 26. – P. 257-269.
71. Beath O.A., Gilbert C.S., Eppson H.F. The use of indicator plants in locating seleniferous areas in the western United States. IV. A progress report // Amer. J. Bot. – 1941. – 28. – P. 887-900.
72. Davis A.M. Nitrogen production by selected Astragalus species // Agronomy J. – 1982. – 74, 3. – P. 454-456.
73. Davis A.M. Protein, crude fiber, tannin, and oxalate concentrations of some introduced Astragalus species // Agronomy J. – 1973. – 65, 4. – P. 613-615.
74. European Red List of Vascular / M. Bilz, S.P. Kell, N. Maxted, R.V. Lansdown. – Luxembourg: Publications Office of European Union, 2011. – 132 p.
75. Frodin D.G. History and concepts of big plant genera // Taxon. – 2004. – 53, (3). – P. 753-776.
76. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. — Электронне джерело: <www.iucnredlist.org> — 1 April 2014.
77. Korotchenko I., Peregrym M. Ukrainian Steppes in the Past, at Present and in the Future // Eurasian Steppes. Ecological Problems and Livelihoods in a Changing World / M.J.A. Werger and M.A. van Staalduinen (eds.). - Springer Dordrecht Heidelberg New York London, 2012. – P. 173 – 196.
78. Linnaeus C. Species plantarum. Ed. 1. Holmiae, 1753. Ed. 2. Holmiae. 1762-1763. 1762. P. 1-784; 1763. P. 785-1684.
79. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist – Kiev, 1999. – xxiii + 346 p.
80. Townsend C.E., Kenno H., Brick M.A. Compatibility of cicer milkvetch in mixtures with cool-season grasses // Agronomy J. — 1990. – 82, 2. – P. 262-256.
81. The Plant List. A working list of all known plant species, 2013. – Електр. джерело: <http://www.theplantlist.org/>

THE INTRODUCTION OF RARE AND ENDANGERED SPECIES OF GENUS ASTRAGALUS L. (FABACEAE) OF NATURAL FLORA OF UKRAINE: PROGRESS AND PROSPECTS

Yu. S. Peregrym

History of introduction studies of rare and endangered species of Astragalus L. (Fabaceae) of Ukrainian natural flora was analyzed in the article. It was found that in collections of botanical gardens and dendrological parks of our country saves 11 rare and endangered species of this genus (A. arenarius L., A. borysthenticus Klok., A. cicer L., A. cretophilus Klokov., A. dasyanthus Pall., A. glycyphyllos L., A. monspessulanus L., A. odessanus Besser, A. ponticus Pall., A. reduncus Pall., A. zingeri Korsh.) today, also 3 other species (A. henningii (Steven) Boriss., A. krajnae Domin, A. testiculatus Pall.) were involved in introduction researches, but they dropped out from the collection fund afterward. Features of the introduction of medicinal and useful plants investigated preferably: A. cicer, A. dasyanthus, and A. glycyphyllos. It was found that 6 species are potentially promising for reintroduction, repatriation and restoration researches in the country: A. cicer, A. cretophilus, A. dasyanthus, A. glycyphyllos, A. odessanus ma A. ponticus.

Key words: introduction, conservation ex situ, rare and endangered species, Astragalus L.

Одержано редколегією 10.05.2014

РІД *ALNUS* MILL. (*BETULACEAE* S.F.GRAY) У ФЛОРИ УКРАЇНИ

І. Г. ОЛЬШАНСЬКИЙ

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України,
e-mail: olshansky1982@ukr.net

Метою роботи було узагальнити існуючі відомості про представників роду *Alnus* Mill. для флористико-таксономічного зведення «Флора України». Обробка базується на матеріалах гербаріїв KW, SIMF та YALT, критичному аналізі літератури та результатах польових експедицій в Закарпатській, Івано-Франківській, Чернівецькій, Рівненській, Київській та Полтавській областях. Проаналізовано основні таксономічні проблеми в роді *Alnus*. За літературними відомостями, загалом рід *Alnus* налічує близько 40 видів, які морфологічно варіабельні, у цьому роді широко поширена гібридизація. Проаналізовані погляди різних авторів на систему роду *Alnus*. Оскільки ознаки за якими описані роди *Duschekia* Opiz (– *Alnaster* Spach) і *Clethropsis* Spach варіабельні або представлені в різних групах, тому показана необхідність широкого розуміння роду *Alnus*. Він включає два підроди (*Alnus* і *Alnobetula* (Ehrh.) Peterman), які розрізняються за фенологією розвитку генеративних органів, ознаками пагонів та бруньок. Представники підроду *Alnobetula* переважно кущі, серцевина пагонів на поперечному перерізі видовжена або лінійно кутаста, бруньки з 3–6 покривними лусками, тичинкові сережки розвиваються восени і зимують голими, маточкові сережки розвиваються весною з бруньки; горішки з плівчастими крилами. Представники підроду *Alnus* переважно є деревами, серцевина пагонів на поперечному перерізі трикутна, бруньки з 2 покривними лусками, тичинкові і маточкові сережки розвиваються восени і зимують голими, горішки безкрилі, з плівчастими або шкірястими крилами. У статті також узагальнено відомості про представників роду *Alnus* (*A. alnobetula* (Ehrh.) K.Koch, *A. glutinosa* (L.) Gaertn. та *A. incana* (L.) Moench) у флорі України. Подано загальну характеристику роду *Alnus* та ключ для визначення видів. Для кожного виду наведено номенклатурну цитування, морфологічний опис та загальні відомості про їх поширення. Для *Alnus glutinosa* наведені форми, які найчастіше трапляються в Україні (*A. glutinosa* f. *microcarpa*, *A. glutinosa* f. *macrocarpa*, *A. glutinosa* f. *laciniata*, *A. glutinosa* f. *imberbis*, *A. glutinosa* f. *pilosa*). З'ясовано, що *A. glutinosa* та *A. incana* іноді гібридизують між собою, наведена інформація про відомі місцезростання їх гібриду – *A. x pubescens* Tausch.

Ключові слова: *Betulaceae*, *Alnus*, флора України

Вступ. Рід *Alnus* Mill. належить до родини *Betulaceae* S.F.Gray. На сьогодні до цієї родини також відносять роди *Betula* L., *Carpinus* L., *Corylus* L., *Ostrya* Scop. і *Ostryopsis* Decne. Рід *Alnus* є базальним в родині (Chen, Manchester & Sun, 1999).

У світовій флорі рід *Alnus* налічує близько 40 видів, які ростуть в різноманітних екологічних умовах і характеризуються морфологічною варіабельністю. З цих причин було описано багато мікровидів, які часто важко відокремити морфологічно (Boratyński, 1981). Крім того, в цьому роді широко поширена гібридизація, що додатково ускладнює його систематику (Gibson & al., 2008; Банаєв, 2010). У дослідників не існує єдиного погляду на систему роду *Alnus*. Одні автори (Koch, 1837; Endlicher, 1842; Regel, 1861, 1865, 1868; Winkler, 1904; Schneider, 1916; Murai, 1964; Furlow, 1979; Chen, Manchester & Sun, 1999) розглядають його широко, а інші – розділяють на три роди – *Alnus* s.str., *Duschekia* Opiz (– *Alnaster* Spach) і *Clethropsis* Spach (Spach, 1841), або ж на *Alnus* s.str., *Duschekia* Opiz і

Cremastogyne (Schneid.) Czerep. (Черепанов, 1955). Дослідниками не було наведено достатніх критеріїв для розмежування цих груп, а тим більше для надання їм такого високого таксономічного рівня як рід, а пропонувані ознаки виявлялися варіабельними або представленими в різних групах (Куприянова, 1958; Храмова, 1996; Банаєв, Шемберг, 2000; Magic, 2006), тому у своїй роботі ми розглядаємо рід *Alnus* в широкому розумінні. Він об'єднує два підроди: *Alnus* і *Alnobetula* (Ehrh.) Peterman (– *Duschekia* Opiz). Підроди розрізняються між собою головним чином за фенологією розвитку генеративних органів, формою серцевини пагонів та кількістю покривних лусок бруньок (Черепанов, 1955). Згідно молекулярно-філогенетичних досліджень підроди *Alnus* і *Alnobetula* є монофілетичними (Chen, Li, 2009).

Представники підроду *Alnobetula* мають такі морфологічні особливості (Черепанов, 1955): це переважно кущі; серцевина пагонів на поперечному перерізі видовжена або лінійнокутаста; бруньки з 3–6 покривними лусками; тичинкові сережки розвиваються

восени і зимують голими, маточкові сережки розвиваються весною з бруньки; горішки з пливчастими крилами. У цій групі існує ряд таксономічних проблем. Зокрема з *A. alnobetula* в різний час було виділено сім самостійних видів, таксономічний статус яких визнається не всіма авторами. Банаєв (2009, 2010) на основі морфологічних та молекулярно-філогенетичних досліджень переконливо показав, що видового статусу заслуговують лише два таксони – поширена в Європі *A. alnobetula* та поширена в Азії та Північній Америці *A. crispa*. Між собою ці види розрізняються розмірами листків та кількістю пар бічних жилок. У флорі України поширений один вид цього підроду – *A. alnobetula*.

Представники підроду *Alnus* мають такі морфологічні особливості (Черепанов, 1955; Костина, 2009): це переважно дерева; серцевина пагонів на поперечному перерізі трикутна; бруньки з 2 покривними лусками; тичинкові і маточкові сережки розвиваються восени і зимують голими; горішки безкрилі, з пливчастими або шкірястими крилами. До критичних таксонів із цієї групи належить *Alnus incana* agg. Окремі автори (Furlow, 1997) розглядають синонімами *A. incana* наступні види: *A. hirsuta* Turcz., *A. tenuifolia* Nutt. та *A. rugosa* (DuRoi) Spreng. У своїй роботі ми приймаємо точку зору Banaev & Adelshin (2009), Банаєв (2010) та притримуємося вузького розуміння обсягу виду в цій групі, тобто перелічені вище види в синоніми *A. incana* не зводимо. Між видами з *Alnus incana* agg. існують відмінності за життєвою формою, забарвленням кори, формою та опушенням листків, а між ареалами цих видів є значні диз'юнкції. Молекулярно-філогенетичні дослідження також підтверджують видову самостійність *A. hirsuta*, *A. tenuifolia* та *A. rugosa* (Банаєв, Адельшин, 2009). У флорі України представлені два види цього підроду – *A. glutinosa* і *A. incana*.

У межах підготовки узагальнюючого флористико-таксономічного зведення «Флора України» нами здійснюється опрацювання родини *Betulaceae*. Метою цієї роботи було узагальнити існуючі відомості про представників роду *Alnus* у флорі України.

Матеріали та методи досліджень. Обробка базується на матеріалах Національного гербарію України – гербарію Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (*KW*), гербарію Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського (*SIMF*) та гербарію Нікітського ботанічного саду – Національного наукового центру НААНУ (*YALT*), критичному аналізу літератури та результатах польових

експедицій в Закарпатській, Івано-Франківській, Чернівецькій, Рівненській, Київській та Полтавській областях. Для кожного виду ми наводимо номенклатурну цитування, морфологічний опис та загальні відомості про поширення. Для *A. glutinosa* вказуємо форми, які найчастіше трапляються в Україні, для інших видів дослідниками (Winkler, 1904; Zapałowicz, 1908; Callier, 1911; та ін.) також описано ряд форм, проте виділення їх для *A. alnobetula* та *A. incana* на території України потребує окремого дослідження, тому наразі ми їх не наводимо.

Конспект роду *Alnus* у флорі України

Genus *Alnus* Mill. 1754, Gard. Dict. Abridg., ed. 4, 1: [51]; Regel, 1861, Monogr. Betulac.: 73; H.Winkler, 1904, in Engler, Pflanzenr. 19 (4, 61): 101; Комаров, 1936, Фл. СССР, 5: 306; Вульф, 1947, Фл. Крыма, 2: 26; Лоначевський, Гринь, 1952, Фл. УРСР, 4: 113; P.W.Ball, 1964, Fl. Europ. 1: 59; F.Yaltirik, 1982, in Davis, Fl. Turk., 7: 691; Цвелев, 2004, Фл. Вост. Европы, 11: 87. – *Duschekia* Opiz, 1839, Okon. Neuigk. Verhandl.: 524. – *Alnaster* Spach, 1841, Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 2, 15: 200.

Тип (лектотип): *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.

Листопадні **кущі** та **дерева**, головним чином, до 20м заввишки, можуть вирости до 40м (наприклад, *A. glutinosa*, *A. cremastogyne* Burkill та *A. rubra* Bong.). **Пагони** гладенькі, голі або слабкоопушені, на поперечному розрізі округлі або трикутні, з багаточисельними дрібними і малочисельними більшими світло-червоними або білуватими сочевичками. **Бруньки** клейкі, з 2–4 покривними лусками. Листкові рубчики різної форми, з трьома слідами судинно-волокнистих пучків. Бруньки косо розміщені над листковим рубчиком. У більшості видів бруньки на ніжках, а в *A. alnobetula*, *A. fruticososa* Rupr. та споріднених з ними видів бруньки сидячі. Листорозміщення почергове. Прилистки дрібні, рано опадають. **Листкові** пластинки еліптичні, округлі, яйцеподібні або обернено яйцеподібні, цілокраї або зубчасті. Жилкування пірчастосітчасте, бічних жилок 4-30 пар. **Квітки** однодомні, роздільностатеві. Тичинкові квітки зібрані в трьохквіткові дихазії, які зближені в сережкоподібні суцвіття. Приквітнички лускаті, в кількості чотирьох, оцвітина з 4 (або менше) сегментів. Тичинок 4, тичинкові нитки вкорочені, пиляки овальні, з паралельними гніздами, без волосків на верхівках. Маточкові квітки зібрані в двоквіткові дихазії, які утворюють циліндричні або витягнуті сережки,

приквітнички яких дерев'яніють і не осипаються після дозрівання. Оцвітина в маточкових квіток відсутня. Зав'язь двогнізда, стовпчики короткі з довгими приймочками. Насінні зачатки по одному в кожному гнізді, антропні. **Горішки** плоскі, крилаті, однонасінні.

Більшість видів роду *Alnus* ростуть у Північній Півкулі, лише окремі види по Андах проникли в Південну Півкулю. У флорі України представлені три види роду *Alnus*: *A. alnobetula*, *A. glutinosa* та *A. incana*, у місцях спільного зростання *A. glutinosa* і *A. incana* іноді трапляється їх гібрид – *A. x pubescens*.

Ключ для визначення видів

1. Бруньки сидячі, загострені, з 3–4 покривними лусками. Квітують одночасно з розвитком листків. Горішки з широким крилом. Куці. В Карпатах 1. *Alnus alnobetula*

– Бруньки на ніжках, на верхівках округлі, з 2 покривними лусками. Квітують до появи листків. Горішки з вузьким крилом. Дерева 2

2. Листки на верхівці з виямкою, зелені, на нижній стороні з борідками волосків в кутах жилок. Бруньки і молоді пагони липкі. Бруньки голі. Кора зрілих дерев темно-бура або чорна, потріскана. Майже по всій території України 3. *Alnus glutinosa*

– Листки на верхівці гострі, сіро-зелені, на нижній стороні опушені. Бруньки і молоді пагони сухі, не липкі. Бруньки опушені. Кора зрілих дерев сіра, гладенька. В Карпатах (часто), та на Лівобережному Поліссі (дуже рідко) 2. *Alnus incana*

1. *Alnus alnobetula* (Ehrh.) K.Koch, 1872, Dendrologie, 2 (1): 625; H.Winkler, 1904, in Engler, Pflanzenr. 19 (4, 61): 105. – *Betula alnobetula* Ehrh. 1783, Gartenkalender, 2: 193. – *Duschekia alnobetula* (Ehrh.) Pouzar, 1982, Cas. Nár. Muz. Rada Prír. 151 (1): 20. – *Alnus viridis* (Chaix) DC. 1805, in Lam. et DC., Fl. Fr., ed. 3, 3: 304; Regel, 1861, Monogr. Betulac.: 76; Лоначевський, Гринь, 1952, Фл. УРСР, 4: 113; P.W.Ball, 1964, Fl. Europ. 1: 59. – *Betula viridis* Chaix, 1786, in Vill., Hist. Pl. Dauph. 1: 374. – *Duschekia viridis* (Chaix) Opiz, 1852, Seznam Rostl. Květ. České: 38; Цвелев, 2004, Фл. Вост. Европы, 11: 86. – *Alnaster viridis* (Chaix) Spach, 1841, Ann. Sci. Nat. (Paris), sér. 2, 15: 201. – *Alnobetula viridis* (Chaix) Schur, 1866, Enum. Pl. Transs.: 614. – Вільха вільхоберезова (Вільха зелена).

Вид описано в Німеччині за культивованими екземплярами.

Тип: не вибрано.

Куці 0,5–2 (4)м заввишки. **Кора** сіра, на молодих пагонах – червоно-бура, однорічні

пагони слабо опушені або із смолистими виділеннями. Бруньки майже сидячі (на вкорочених ніжках), оберненояйцеподібні, загострені, клейкі, вкриті 2–6 лусками. Прилистки зелені, вузькі, до 1,5см завдовжки, рано опадають. **Черешки** 0,3–1,5 (1,8)см завдовжки. **Листкові** пластинки еліптичні або майже округлі, 2–8 (9)см завдовжки, 1–6см завширшки, голі або зісподу по жилках слабо опушені, яйцевидні, на верхівці гострі, по краю нерівнозубчасті. Жилок 5–8 пар. **Тичинкові** сережки кінцеві, рідко є і бічні, сидять по дві і більше, їх оцвітина з чотирьох нерівномірно розвинених зрослих листочків. **Маточкові** суцвіття близько 1,0см завдовжки. **Псевдошишечки** 13–18мм завдовжки, 7–10мм діаметром. **Горішки** жовтувато-бурі або коричневі, округло-еліптичні, 4–6мм діаметром, по краю з півчастим крилом, на верхівці із залишками приймочок. – 2n=28.

Загальний ареал: гори Центральної Європи, Балканський п-в, занесено до Нової Зеландії.

Поширення в Україні: в Карпатах.

Екологічна приуроченість: по високогірних схилах, вздовж струмків в субальпійському поясі.

Примітка. За опушенням листків та пагонів, формою листків, а також за розмірами листків та плодів описано ряд форм (Regel, 1861; Zapalowicz, 1908; Callier, 1911).

2. *Alnus incana* (L.) Moench, 1794, Meth. Pl.: 424; Regel, 1861, Monogr. Betulac.: 94; H.Winkler, 1904, in Engler, Pflanzenr. 19 (4, 61): 120; Комаров, 1936, Фл. СССР, 5: 316; Лоначевський, Гринь, 1952, Фл. УРСР, 4: 116; P.W.Ball, 1964, Fl. Europ. 1: 59; P.W.Ball, 1993, Fl. Europ., ed. 2, 1: 70; Цвелев, 2004, Фл. Вост. Европы, 11: 88. – *Betula alnus* L. var. *incana* L. 1753, Sp. Pl.: 983. – *Alnus lanuginosa* Gilib. 1792, Exerc. Phytol. 2: 404, nom. illeg. – Вільха сіра.

Вид описаний з Європи (за протологом: «in Europa»).

Тип: не вибрано.

Дерева або **куці**, 5–15 (20)м заввишки і до 50см діаметром. **Кора** на стовбурах сіра, гладенька. Молоді гілки опушені, не клейкі. Бруньки яйцеподібні або округло-яйцеподібні, опушені, на ніжках. **Черешки** 1–2 (3)см завдовжки, нещільно або повстистоопушені. **Листкові** пластинки овальні, овально-ланцетні або еліптичні, (3) 4–10 (14)см завдовжки, (2) 3–7 (10)см завширшки, з 5–18 жилками, при основі округлі або невиражено серцевидні, по краю гостродвічіпилчасті, на верхівці – гострі або загострені, рідко – заокруглені або тупуваті, не

клейкі. Молоді листки густо опушені, зрілі – зверху гладенькі або притиснутоопушені, зісподу голі або негусто опушені, по жилках опушені густіше, іноді – сіро-повстисті. **Тичинкові** сережки по 3–5 на кінцевих суцвітті, тичинкові квітки з правильною чотири роздільною оцвітиную і чотирма тичинками, які не перевищують оцвітину і зрослі з частками оцвітини. **Маточкові** сережки по 3–8 (10) на спільному безлистому квітконосі, 1,0–1,5см завдовжки. **Горішки** пласкі, з вузькими шкірястими крилами. – 2n=28.

Загальне поширення: Центральна і Північна Європа, Західна Азія, в горах Південної та Західної Європи.

Поширення в Україні: в Карпатах (часто), на Поліссі та Лісостепу (рідко).

Екологічна приуроченість: на болотах, вздовж річок, струмків, біля доріг, на узліссях, галявинах, луках.

Примітка. За ознаками форми листової пластинки та форми крони описано ряд форм цього виду (Regel, 1861; Callier, 1911; Nylander, 1957).

3. *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. 1791, Fruct. Sem. Pl. 2: 54; Regel, 1861, Monogr. Betulac.: 101; H.Winkler, 1904, in Engler, Pflanzenr. 19 (4, 61): 115; Комаров, 1936, Фл. СССР, 5: 312; Вульф, 1947, Фл. Крыма, 2: 26; Лоначевський, Гринь, 1952, Фл. УРСР, 4: 114; F.Yaltirik, 1982, in Davis, Fl. Turk. 7: 691; P.W.Ball, 1964, Fl. Europ. 1: 59; P.W.Ball, 1993, Fl. Europ. ed. 2, 1: 70; Цвелев, 2004, Фл. Вост. Европы, 11: 88. – *Betula alnus* L. var. *glutinosa* L. 1753, Sp. Pl.: 983. – *Betula glutinosa* (L.) Lam., 1785, Encycl (J.Lamarck et al.): 1 (2): 454. – *Alnus vulgaris* Hill, 1756, Brit. Herb.: 510. – *Alnus nigra* Gilib. 1791, Exerc. Phyt. 2: 401, nom. illeg. – Вільха клейка (Вільха чорна).

Вид описаний з Європи (за протологом: «in Europa»).

Тип: не вибрано.

Дерева до 30–35 (40)м заввишки. **Кора** на стовбурах темно-бура або чорна, з тріщинами. Молоді гілки тригранні, гладенькі, часто клейкі, голі, іноді – з негустим опушенням, червонувато-бурі, з білуватими, жовтуватими або буруватими поперечними сочевичками. Бруньки оберненояйцеподібні або еліптичні, тупі або гоструваті, на ніжках, ніжки клейкі. Прилистки лусковидні, тупі, рано опадаючі. **Черешки** 0,5–3,5 (4,0)см завдовжки. **Листки**, оберненояйцевидні, округлі або еліптичні, при основі ширококлиновидні, по краях цілокраї або дрібнозубчасті, на верхівці округлі, частіше із виямкою на верхівці. Молоді листки клейкі, зрілі

зверху темнозелені, голі, гладенькі, блискучі, зісподу блідіші, по кутках жилок із жовтуватими борідками, іноді опушені блідими волосками між жилками, на листових пластинках є смолисті залозки. Пластинки зрілих листків 3–10см завдовжки, 3–7см завширшки, з 5–8 парами жилок. **Тичинкові** сережки кінцеві, зібрані в кисті по 3–5, повислі, 4–7см завдовжки, на ніжках 0,8–1,2см завдовжки. **Маточкові** сережки зібрані по 3–5, овальні, до 1,5см завдовжки, на ніжках 0,2–1,5см завдовжки. **Псевдошишечки** овальні, 1,2–2,0 (3,5)см завдовжки, на ніжках 0,7–1,2см завдовжки, залишаються після висипання горішків. **Горішки** червонувато-бурі, округлі, стиснуті, 2,0–2,5 (4,0)мм завдовжки, з шкірястим, дуже вузьким непрозорим крилом та залишками приймочок. – 2n=28.

Загальне поширення: Європа, Кавказ, Закавказзя, Західний Сибір, Мала Азія, Північна Африка.

Поширення в Україні: майже по всій території України.

Екологічна приуроченість: на болотах, вздовж річок, струмків, в лісах.

Примітка. *Alnus glutinosa* – морфологічно варіабельний вид. У різний час було описано кілька підвидів (в Україні поширений типовий підвид), багато різновидностей і форм, з яких в Україні найчастіше трапляються такі:

Alnus glutinosa (L.) Gaertn.
f. *microcarpa* (Uechtr.) Callier, 1892, Jahresber. Schles. Ges. 69: 74.

Псевдошишечки 1,0–1,5см завдовжки, до 0,5см діаметром.

Місцезнаходження: іноді трапляється в Карпатах, на Поліссі та в Лісостепу: Закарпатська обл., Свалявський р-н, околиці с. Дусино, 12.07.1946, Н. Косець (KW!), Черкаська обл., околиці м. Корсунь-Шевченківський, 25.05.1927, Н. Підоплічка (KW!), Полтавська обл., Лохвицький р-н, околиці с. Піски, 03.05.2013, І.Г. Ольшанський (KW!), Донецька обл., околиці м. Слов'янськ, 15.06.1959, В.В. Протопопова (KW!), але частіше в південних областях: Одеська обл., Кілійський р-н, 18.09.1980, Д.В. Дубина (KW!), Херсонська обл., околиці м. Цюрупинськ, 22.06.1952, Ф. Гринь (KW!), там же, 07.10.2002, І.І. Мойсієнко (KW!), Херсонська обл., Цюрупинський р-н, околиці с. Раденськ, 22.06.1952, Ф. Гринь (KW!), також усі рослини з Криму можна віднести до цієї форми.

Alnus glutinosa (L.) Gaertn.
f. *macrocarpa* (Requien) H. Winkler, 1904, in
Engler, Pflanzenr. 19 (4, 61): 117.

Псевдошишечки 2,5–3,5 см завдовжки, до
2,0 см діаметром.

Місцезнаходження: Чернігівська обл.,
Менський р-н, 03.10.1932, Ф. Левіна (KW!),
Тернопільська обл., Гусятинський р-н, околиці
м. Копичинці, 27.08.1940, Ф. Гринь (KW!).

Alnus glutinosa (L.) Gaertn.
f. *laciniata* (Ehrh.) Willd. 1796, Berl. Baumz.: 44.

Листкові пластинки на верхівці загострені,
лопатеві, з 5 парами яйцеподібнотрикутних,
гострих, зубчастих лопатей.

Місцезнаходження: Рівненська обл.,
Дубровицький р-н, околиці с. Висоцьк
(Лоначевський, Гринь, 1952).

Alnus glutinosa (L.) Gaertn. f. *imberbis* Bornm.
1888, Bot. Centralbl. 34: 153.

Листки зісподу голі, без борідок з волосків у
кутах жилок.

Місцезнаходження: Полтавська обл., околиці
м. Кобеляки (Лоначевський, Гринь, 1952).

Alnus glutinosa (L.) Gaertn. f. *pilosa* (Brenner)
Callier, 1911, Repert. Spec. Nov. Reg. Vegetab. 10:
231.

Черешки і листки зісподу опушені.

Місцезнаходження: форма широко поширена
в Криму, де у всіх досліджених нами рослин
черешки були густоопушеними.

**4. *Alnus x pubescens* Tausch, 1834, Flora, 17
(2): 520. – *Alnus glutinosa* x *Alnus incana*. – *Alnus*
hybrida Rchb. 1850, Ic. Fl. Germ. 12: t. 630. f. 1292.**

Молоді пагони опушені. Листкові пластинки
на верхівці гострі, округлі або з виямкою (часто
на одній рослині спостерігаються всі типи
листочків), зазвичай опушені по жилках.

Маточкові сережки на коротких ніжках.

Загальне поширення: Європа, Західний Сибір.
В Європі випадки гібридизації *A. glutinosa* та
A. incana трапляються досить часто, а в
Західному Сибіру (на східній межі ареалів
A. glutinosa та *A. incana*) – навпаки, дуже рідко
(Банаев, 2010).

Поширення в Україні: переважно в Карпатах.
Нам відомі лише такі місцезнаходження:
Вінницька обл., Могилів-Подільський р-н,
околиці с. Юрківці, 24.08.1949, Г. Кузнецова
(KW!), Чернівецька обл., Вижицький р-н,
околиці с. Черешенька (власне спостереження),
але ми припускаємо, що цей гібрид трапляється
ширше.

Екологічна приуроченість: вздовж доріг, біля
річок, струмків.

Висновки. У флорі України є три види роду
Alnus: *A. alnobetula*, *A. glutinosa* та *A. incana*.
Також, трапляється гібрид *A. x pubescens* (–
A. glutinosa x *A. incana*). Види роду
морфологічно варіабельні. Так, для *A. glutinosa*
на території України можна виділити принаймні
п'ять форм (*A. glutinosa* f. *microcarpa*, *A. glutinosa*
f. *macrocarpa*, *A. glutinosa* f. *laciniata*, *A. glutinosa*
f. *imberbis*, *A. glutinosa* f. *pilosa*).

Список літератури:

1. Banaev E.V., Adelshin R.V. Structure of *Alnus fruticosa* Rupr. s.l. and its relationships with other taxa of subgenus *Alnobetula* (Ehrhart) Peterman // Contemp. Probl. Ecol. – 2009. – 2 (6). – P. 601–610.
2. Boratyński A. Systematyka i geograficzne rozmieszczenie olsz // Nasze Drzewa Leśne. – 1981. – 8. – S. 35–71.
3. Callier A. Diagnoses formarum novarum generis *Alnus* // Repertorium specierum novarum regni vegetabilis (Feddes Repert.). – 1911. – 10 (248/250). – P. 225–237.
4. Chen Z.D., Li J. Phylogenetics and biogeography of *Alnus* (*Betulaceae*) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA ITS region // Int. Journ. Plant. Sci. – 2004. – 165 (2). – P. 325–335.
5. Chen Z.D., Manchester S.R., Sun H.Y. Phylogeny and evolution of the *Betulaceae* as inferred from DNA sequences, morphology, and paleobotany // Amer. Journ. Botan. – 1999. – 86 (8). – P. 1168–1181.
6. Davis P.H. Flora of Turkey. – Edinburgh: University Press, 1982. – 947p.
7. Fiek E. Resultate der Durchforschung der schlesischen Phanerogamenflora // Jahres-Bericht der Schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur. – 1888. – 65. – S. 309–339.
8. Furlow J.J. Genus *Alnus* // Fl. North Amer. – New York: Oxford Univ. Press. – 1997. – 3. – P. 23–36.
9. Gaertner J. De Fructibus et Seminibus Plantarum. – Tubingae, 1791. – 2. – 320p.
10. Gibson J.P., Rice S.A., Stucke C.M. Comparison of population genetic diversity between a rare, narrowly distributed species and a common, widespread species of *Alnus* (*Betulaceae*) // Amer. Journ. Bot. – 2008. – 95 (5). – P. 588–596.
11. Hylander N. On cut-leaved and small-leaved forms of *Alnus glutinosa* and *A. incana* // Svensk. Botan. Tidskrift. – 1957. – 51 (2). – P. 437–453.
12. King A., Ferris K. Chloroplast DNA phylogeography of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // Molecular Ecology. – 1998. – 7. – P. 1151–1161.
13. Krause-Michalska E., Boratyńska K. European geography of *Alnus incana* leaf variation // Plant Biosystems. – 2013. – 1. – P. 1–10.
14. Magic D. *Alnus* Mill. // Flora Slovenska. – 2006. – 5 (3). – S. 167–179.

15. Olshasnyki I. Distribution of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (*Betulaceae*) in Ukraine // Biodiversity & Nature Conservation in the Middle & Central Asia. 1st International Biological Conference (Ostrava, Czech Republic, 6-8 September 2012). – P. 17–18.
16. Pouzar Z. Nomenclatural Remarks on Some Generic Names of Phanerogams Validly Published by Filip Maximilian Opiz // *Preslia*. – 1964. – **36**. – P. 337–342.
17. Regel E.L. Monographia Betulacearum hucusque cognitarum. – Mosquae, 1861. – 129p.
18. Spach E. Revisio Betulacearum // *Annales des Sciences Naturelles* (Paris). – ser. 2. – **15**. – P. 182–212.
19. Winkler H. *Betulaceae* // *Das Pflanzenreich* / ed. A. Engler, 1904. – **19** (4, 61). – S. 1–149.
20. Zapałowicz H. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. – Kraków, 1908. – **2**. – 311s.
21. Zare H. Amini T. A review of the genus *Alnus* Gaertn. in Iran, new record and new species // *Iran Journ. Bot.* – 2012. – **18** (1). – P. 10–21.
22. Анатоμο-морфологічні дослідження суплідь *Duschekia viridis* (Chaix) Opiz / Кулагіна М.А., Радько О.В., Козира А.Г. // *Modern Phytomorphology*. – 2013. – **4**. – С. 403–408.
23. Архангельский Д.Б. Некоторые палинологические данные о явлении интрогрессивной гибридизации // *Ботан. журн.* – 1962. – **47** (7). – С. 1025–1029.
24. Банаев Е.В. Род *Alnus* Mill. (*Betulaceae*) в Азиатской России: популяционная структура видов и сохранение генофонда. – автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Томск, 2010. – 34с.
25. Банаев Е.В. Фенотипическая изменчивость *Alnus fruticosa* Rupr. s.l. (*Betulaceae*) в Азиатской России // *Растительный мир Азиатской России*. – 2009. – **1** (3). – С. 44–52.
26. Банаев Е.В., Адельшин Р.В. Филогенетический анализ видов секции *Proskeimostemon* Czerep. рода *Alnus* Mill. с использованием межгенного спейсера рибосомальной ДНК // *Проблемы современной дендрологии*. – 2009. – **193**. – С. 539–542.
27. Банаев Е.В., Шемберг М.А. Ольха в Сибири и на Дальнем Востоке России (изменчивость, таксономия, гибридизация). – Новосибирск: Издательство СО РАН, 2000. – 99с.
28. Валетов В.В. Биометрические показатели листьев ольхи черной, произрастающей в различных по увлажнению местообитаниях // *Ботаника* (Минск). – 1984. – **26**. – С. 63–64.
29. Гельтман В.С., Чубанов К.Д. Изменчивость формы листьев искусственных гибридов ольхи серой и ольхи черной // *Ботаника* (Минск). – 1980. – **22**. – С. 137–147.
30. Куприянова Л.А. Палинологические данные к систематике рода *Alnus* s.l. // *Труды БИН АН СССР*. – 1958. – **12**. – С. 167–196.
31. Лоначевський О.О., Гринь Ф.О. Рід *Alnus* // *Флора УРСР*. – 1952. – **4**. – С. 113–117.
32. Ольшанський І.Г. Рослинний покрив гідрологічного заказника місцевого значення «Артополот» (Полтавська обл.) // *Екологія водноболотних угідь і торфовищ (збірник наукових статей)*. – К.: Інтерсервіс. – 2014. – С. 179–181.
33. Храмова Е.Л. Палиноморфология рода *Alnus* (*Betulaceae*) // *Ботан. Журн.* – 1996. – **81** (3). – С. 42–53.
34. Черепанов С.К. Монография рода *Alnus* Mill. s.l.: автореф. дис. канд. биол. наук. – Ленинград, 1954. – 22с.
35. Черепанов С.К. Система рода *Alnus* Mill. s.str. и близких к нему родов // *Ботан. Мат. Гербария БИН АН СССР*. – 1955. – **17**. – С. 90–105.

GENUS *ALNUS* (*BETULACEAE*) IN THE FLORA OF UKRAINE

I. G. Olshanskyi

The aim of this work is information about the genus Alnus Mill. on the flora of Ukraine generalized. Treatment based on herbarian materials, critical analysis of literature and the results of field expeditions in the Transcarpathian, Ivano-Frankivsk, Chernivtsi, Rivne, Kyiv and Poltava regions. Major taxonomic problems in the genus Alnus analyzed. According to the literature information Alnus includes about 40 species. They are morphologically variable. Hybridization is common in this genus. The views of various authors on the system of the genus Alnus analyzed. Signs which describes genera Duschekia Opiz (- Alnaster Spach) and Clethroopsis Spach variable or they are in different groups. So we accept the genus Alnus sensu lato. Genus Alnus s.l. includes two subgenera (Alnus and Alnobetula (Ehrh.) Peterman), which differ in phenology of the generative organs, featured shoots and buds. Subgenus Alnobetula include bush, core shoots in cross section elongated linear or angular, with 3-6 buds blanket scales, stamens develop earrings fall and winter naked pistillate earrings developing buds of spring, hulled nuts with wings. Subgenus Alnus include tree, the core in cross section triangular, kidney blanket with 2 scales, stamens and pistils emerging earrings fall and winter naked, nuts are wingless, with hulled or leathery wings. General characteristics of the genus Alnus are summarized. The key is to determine the type created. Data about Alnus species (A. alnobetula (Ehrh.) K.Koch, A. glutinosa (L.) Gaertn., and A. incana (L.) Moench) in the flora of Ukraine generalized. For each species nomenclature, morphological descriptions and general information about the distribution are showed. Alnus glutinosa forms (A. glutinosa f. microcarpa, A. glutinosa f. macrocarpa, A. glutinosa f. laciniata, A. glutinosa f. imberbis, A. glutinosa f. pilosa) are listed. It was found that A. glutinosa and A. incana sometimes hybridized to each other. Information on known habitat of the hybrid A. x pubescens Tausch. are founded.

Key words: Betulaceae, Alnus, Flora of Ukraine.

Одержано редколегією 28.05.2014

77

КАРТУВАННЯ ВИДІВ АДВЕНТИВНИХ РОСЛИН РОМЕНСЬКО-ПОЛТАВСЬКОГО ГЕОБОТАНІЧНОГО ОКРУГУ

В. В. БУДЖАК¹, Т. С. ДВІРНА²

¹Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Федьковича, 11, м. Чернівці, 58022, budzhakv@gmail.com,

²Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
вул. Терещенківська, 2, м. Київ, Україна, МСП-1, 01601

Спираючись на досвід у розробці сіткових карт як локальних територій, так і окремих регіонів, для території Роменсько-Полтавського геоботанічного округу в системі UTM координат підготовлена сіткова карта з розміром комірки 5 x 5 км, яка узгоджується з сіткою, прийнятою в «Atlas Florae Europaeae». Розроблена карта є основою для узагальнення інформації про поширення адвентивних видів на території досліджень. При розробці карти використовували систему MapInfo – універсальну географічну інформаційну систему, що призначена для збору, зберігання, відображення, редагування й аналізу просторових даних. Для картування видів адвентивної фракції флори Роменсько-Полтавського геоботанічного округу створено окремі шари карти, які зберігаються в електронній базі даних і містить інформацію про наявність виду та кількість його місцезростань в певному квадраті.

Ключові слова: картування, сітковий метод, MapInfo, ГІС-технології, адвентивна фракція флори, Роменсько-Полтавський геоботанічний округ, Україна

Вступ. Наприкінці ХХ – початку ХХІ ст. активно прогресує процес адвентизації флор як України в цілому, так і регіональних, що проявляється передусім у збільшенні кількості видів адвентивних, у т.ч. інвазійних рослин, розширенні спектру їх місцезростань (Протопопова, Мосякін, Шевера, 2002). Внаслідок цього зростає роль досліджень адвентивних фракцій флор на регіональному рівні. Фітоінвазії визнані однією із загроз біорізноманіттю, а одним із аспектів вирішення цієї проблеми, як зазначено у Глобальній Стратегії з проблеми інвазійних неаборигенних видів рослин, є міжнародне співробітництво у цьому напрямку (Global Strategy... , 2001).

Для оцінки просторової та часової змін флори за певний проміжок часу використовують картування, яке набуває міжнародного характеру. У більшості країн Європи воно здійснюється сітковим методом.

За підсумками BSBI Conference on The Study of the Distribution of British plants (1950) було прийнято рішення про необхідність створення Atlas project, в якому використовується сітка 10 × 10 км, BSBI картосхеми також дозволяють відображати записи у масштабі 2 × 2 км (тетрад) (Brathwaite, Walker, 2012).

Atlas of distribution of vascular plants in Poland (ATPOL) є проектом, запропонованим J. Kornaś (1966), для флористичного картування територій Східної та Центральної частин Європи, основою якого є метод картограм. Карта представляє собою розбиту на квадрати 10 × 10 км сітку (так як це було використано для Великої Британії). У

2001 р. після збору та узагальнення матеріалів було опубліковано оновлений атлас (ATPOL), але зі збереженням даної методики. Таке картування дає уявлення про закономірності поширення видів рослин (Zajac, 1978).

The Atlas of the Distribution of Vascular Plants in Finland періодично оновлюється на основі флористичних баз даних і показує сучасний стан поширення у країні місцевих та заносних видів рослин, а також діапазони поширення видів адвентивних рослин. Для картування застосовується сітка по 10 км, яка має умовні кольорові позначення, що вказують частоту трапляння видів (Kurtto A., Lampinen, 1999).

В результаті накопичення флористико-картографічних даних по території Європи було запропоновано створення Atlas florae Europaeae. Картування базується на сітковому методі (50 × 50 км) системи UTM та за межами MGRS зони (Atlas Florae Europaeae, 1972; 2013).

Для картування урбанofлор використовують більш дрібну сітку квадратів. Так, наприклад, флористично-картографічні дослідження м. Лодз (Польща) були проведені на основі сітки квадратами 1 × 1 км (в межах системи ATPOL), яка охоплює всі типи ареалів незалежно від ступеня антропогенної трансформації (Witosławski, 2006). Картограма містить 292 поля, на якій відображено адміністративно-територіальні межі міста, основні залізниці та основні зони міста і відображає характер поширення видів рослин (Falinski, 1990). Така ж система картування – сітка квадратів 1×1 км – використовується майже по всій території

Польщі, що дає можливість оцінити рівень синантропізації (Sudnik-Wójcikowska, 1992; Sudnik-Wójcikowska, Moraczewski, 2007). Дослідження за подібною методикою проведено у містах Швейцарії (Landolt, 1993), Німеччини, де застосовано різні методичні підходи щодо картування, зокрема для м. Білефельд була використана сітка квадратів 500×500 м (Linenbecker, 1988); м. Бохум – 100×100 м (Schulte, 1983; 1985); м. Кельн – 1000×1000 м (Kunick, 1984).

В Україні застосовуються різні методичні підходи картографування (Барбарич, Доброчаєва, Дубовик и др. 1986), у т.ч. сітковий метод запропонований для рідкісних та зникаючих видів рослин і грибів Червоної книги України (Кагало О.О., Сичак Н.М., Данилик, 2003), регіональних списків (Буджак, Чорней, Токарюк, 2009; Коржан, Буджак, Чорней, 2010), урбанолор, зокрема, для картування видів

рослин для м. Харкова створені геоінформаційні шари даних з використанням геодезичної системи координат Пулкова, а умовну сітку квадратів розбито із застосуванням літерно-цифрової шкали (Звягінцева, Сінна, 2012).

Отже, залежно від території та мети картування обирається методика картування, а саме розміри сітки квадратів.

Об'єкт та методи. Об'єктом досліджень є види адвентивної фракції флори Роменсько-Полтавського геоботанічного округу. Поширення видів цієї групи на досліджуваній території нерівномірне. З метою аналізу та розуміння процесу адвентизації, оцінки флористичної насиченості досліджуваного регіону та подальшого моніторингу ми використовуємо сіткову систему картування – 50×50 км системи УТМ з відповідними індексами за системою прийнятою в Atlas Florae Europaeae (1972).

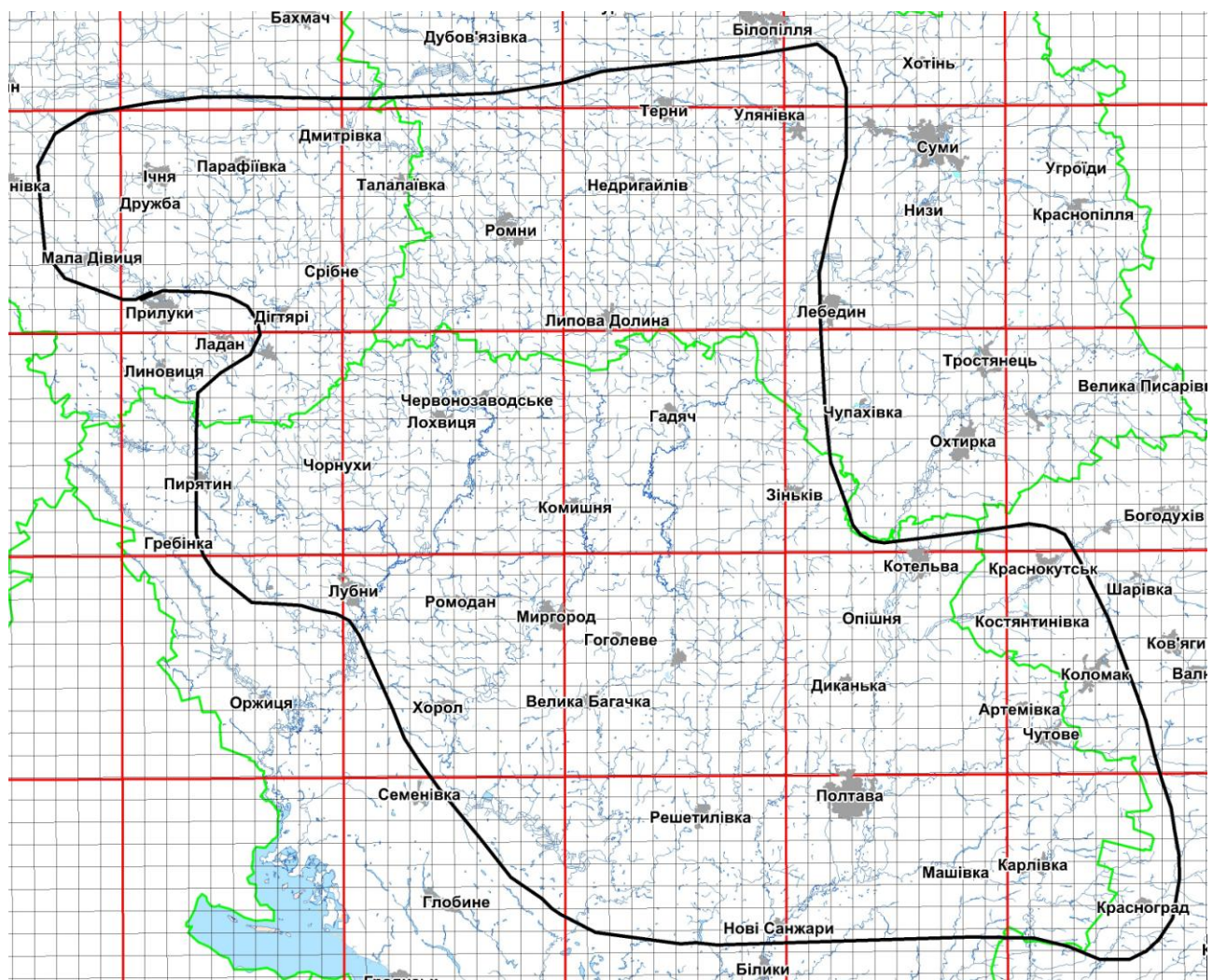


Рис. 1. Сіткова карта території Роменсько-Полтавського геоботанічного округу зі стороною квадрата 5×5 км

Fig. 1. Grid map area Romenskaya-Poltava geobotanic County with a side of a square 5×5 km

Результати досліджень. При створенні карти досліджуваного регіону використані підходи та принципи, покладені в основу розробки карти Чернівців та області (Буджак, Чорней, Токарюк, 2009; Коржан, Буджак, Чорней, 2010). За основу прийняту карту 1: 200000. Територія Роменсько-Полтавського геоботанічного округу потрапляє до 18 квадратів сітки UTM 50 × 50 км (рис. 1). У межах квадрату 50 × 50 км отримуємо 100 квадратів 5 × 5 км. При розробці карти використовували систему MapInfo – універсальну географічну інформаційну систему, що призначена для збору, зберігання, відображення, редагування й аналізу просторових даних (MapInfo Professional... , 2007).

MapInfo поєднує переваги обробки інформації, властиві базам даних (включаючи мову запитів SQL), і наочність карт, схем і графіків. У MapInfo Professional суміщені ефективні засоби аналізу й зображення даних.

Для картування видів адвентивної фракції флори Роменсько-Полтавського геоботанічного

округу створено окремі шари карти, які зберігається в електронній базі даних і містить інформацію про наявність виду та кількість його місцезростань в певному квадраті.

Використання алгоритму створення тематичних карт на основі наявної бази даних дозволяє виявити на території області квадрати з високим видовим насиченням таких видів та своєрідні «білі плями» – квадрати, в яких не зафіксовано жодного виду, що може бути наслідком їх відсутності в цій ділянці, чи відсутності в даному районі детальних флористичних досліджень.

Використовуючи алгоритм створення тематичних карт у середовищі MapInfo, на основі сформованої бази даних можна отримати растрову карту-модель регіону досліджень з добре вираженими осередками локалізації (найбільшою концентрацією) адвентивних видів чи регіонів з найбільшою концентрацією місцезростань конкретного виду, як це відображено на рис. 2 на прикладі *Setaria glauca* (L.) P. Beauv.

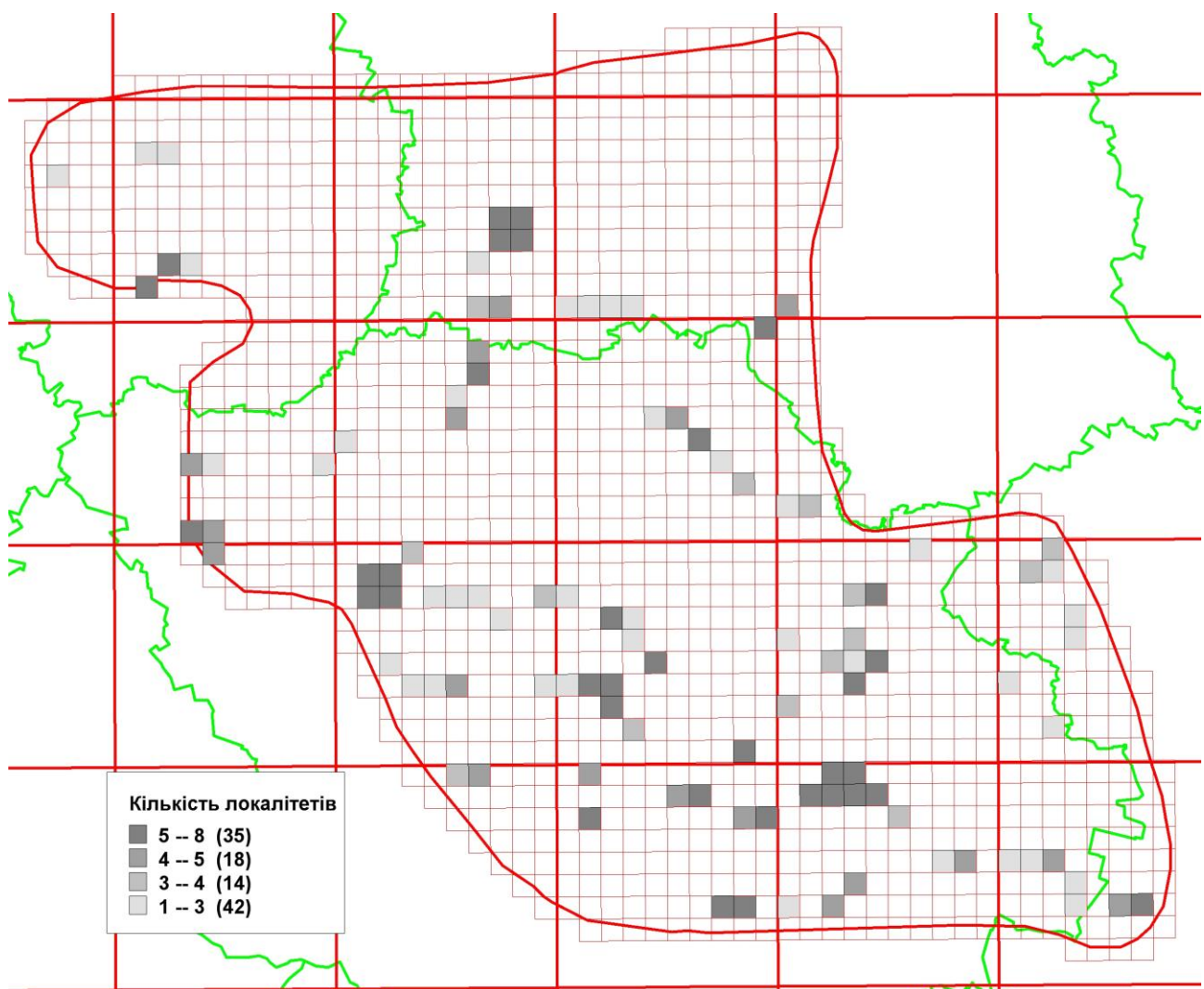


Рис. 2. Поширення та концентрація місцезнаходжень *Setaria glauca* (L.) P. Beauv. на території Роменсько-Полтавського геоботанічного округу

Fig. 2. Distribution and concentration of locations *Setaria glauca* (L.) P. Beauv. in the territory Romenskaya-Poltava geobotanic County

Картографічне оформлення результатів дослідження адвентивної фракції флори Роменсько-Полтавського геоботанічного округу дає можливість з'ясувати сучасний характер розподілу видів, а також працювати з великими об'ємами матеріалів та адаптувати їх до різних баз даних, що, у свою чергу, сприяє їх обміну та порівнянню.

Список літератури:

1. Барбарич А.И., Доброчаева Д.Н., Дубовик О.Н. и др. Хорология флоры Украины. – Киев: Наук. думка, 1986. – 272 с.
2. Буджак В.В., Чорней І.І., Токарюк А.І. До методики картування видів флори (на прикладі Чернівецької області) // Наук. Вісн. Чернівецького ун-ту.: Зб. наук. праць. Біол. – Чернівці: Рута, 2009. – Вип. 455. – С. 168–170.
3. Звягінцева К.О., Сінна І.О. До методики картування видів урбанofлори (на прикладі м. Харкова) // Промышленная ботаника. – 2012. Вип. 12. – С. 96–99.
4. Кагало О.О., Сичак Н.М., Данилик І.М., Скібіцька Н.В., Коротченко І.А. Пропозиція уніфікованої методики ви вчення поширення видів рослин, які включені до Червоної книги України // Роль природно-заповідних територій у підтриманні біорізноманіття (матер. конф., присвяч. 80-річчю Канівського природного заповідника). – Канів, 2003. – С. 108–109.
5. Коржан К.В., Буджак В.В., Чорней І.І. Методика картування видів урбанofлори Чернівців // Наук. Вісн. Чернівецького ун-ту. Біол. (Біологічні системи). – Чернівці: Чернівецький нац. Ун-т, 2010. – Т.2, Вип. 4. – С. 84–85.
6. Протопопова В.В., Мосякін С.Л., Шевера М.В. Фітоінвазії в Україні як загроза біорізноманіттю: сучасний стан і завдання на майбутнє. – К.: Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, 2002. – 32 с.
7. Atlas Florae Europaeae: Distribution of vascular plants in Europe / Ed. J. Jalas, J. Suominen; On the basis of team-work of European botanist.1. Pteridophyta (Psilotaceae to Azollaceae). – Helsinki, 1972. – 121 p.
8. Atlas Florae Europaeae: Distribution of Vascular Plants in Europe / Ed. A. Kurtto, A. Sennikov & R. Lampinen. Vol. 16. Rosaceae (Cydonia to Prunus, excl. Sorbus). – Helsinki, 2013. – 168 p.
9. Brathwaite M., Walker K. 50 Years of Mapping the British and Irish Flora 1962–2012. – London: Botanical Society of the British Isles, 2012. – 56 p.
10. Falinski J. Kartografia geobotaniczna, cz. 1. Zagadnienia ogólne, kartografia florystyczna I fitogeograficzna. Warszawa-Wrocław: Państwowe Przedsiębiorstwo Wydawnictw Kartograficznych im. E. Pamera, 1990. – 284 p.
11. Global Strategy on Invasive Alien Species // Convention of Biological Diversity, SBSTTA Sixth Meeting. – Montreal, 2001. – 52 p.
12. Kunick W. Verbreitungskarten von Wildpflanzen als Bestandteil der Stadtbiotopkartierung, dargestellt am Beispiel Köln // Verh. d. Gesellschaft für Ökologie, 1984. – 12. – P. 269–275.
13. Kurtto A., Lampinen R. Atlas of the distribution of vascular plants in Finland: A digital view of the national floristic database // Acta Bot. Fennica, 1999. – 162. – P. 67–74.
14. Landolt E. Über Pflanzenarten, die sich in den letzten 150 Jahren in der Stadt Zürich stark ausgebreitet haben // Phytocoenologia, 1993. – 23. – P. 651–663.
15. Linenbecker H. Die Verbreitung ausgewählter Wildpflanzen im Stadtgebiet von Bielefeld // Ber. Naturwiss. Verein Bielefeld u. Umgebung, 1988. – 29. – P. 187–217.
16. MapInfo Professional 9.0: Руководство пользователя (полное). – MapInfo Corporation / Troy, New York. – 2007. – 618 с.
17. Schulte W. Zur bio-ökologischen Analyse und Bewertung städtischer Ökosysteme // Erste Ergebnisse aus dem Untersuchungsraum Bochum. Natur und Landschaftskunde, 1983. – 19. – P. 91–98.
18. Schulte W. Modell einer stadtökologischen Raumgliederung auf der Grundlage der Florenanalyse und Florenbewertung // Natur u. Landschaft, 1985. – 60 (3). – P. 103–108.
19. Sudnik-Wójcikowska B. Studies on indices of flora synanthropization // Flora, 1992. – 187 (1-2). – P. 37–50.
20. Sudnik-Wójcikowska B., Moraczewski I.R. Polish urban flora: conclusions drawn from Distribution of Atlas Plants in Poland // Ann. Bot. Fennici, 2007. – 44. – P. 170–180.
21. Witosławski P. Atlas of distribution of vascular plant in Łódź. – Łódź, 2006. – 386 p.
22. Zajac A. Atlas of distribution of vascular plants in Poland (ATPOL) // Taxon, 1978. – 27 (5/6). – P. 481–484.

MAPPING OF ALIEN PLANT SPECIES OF ROMENS-POLTAVA GEOBOTANIC AREA

V. V. Budzhak, T. S. Dvirna

Based on our experience in the development of grid maps of local areas as well as individual regions, a net map sized of 5 x 5 km was designed for the territory of Romensk-Poltava geobotanic area in UTM system of coordinates. The developed map is consistent with the net adopted in «Atlas Florae Europaeae». The developed map is a basis for summarizing the information regarding the spread of alien species in the studied area. During the map development the MapInfo system was used, which is specifically designed for collecting, storing, editing and analyzing the data. For the mapping of alien fraction species of Romensk-Poltava geobotanic area flora, separate layers of maps were designed, stored in an electronic database containing the information on the availability of the type and number of its habitats in a particular square.

Keywords: mapping, net method, MapInfo, GIS technology, flora alien fraction, Romensk-Poltava geobotanic area, Ukraine.

Одержано реколегією 05.05.2014

МІКРОБІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО ЗА РІЗНИХ СПОСОБІВ ОБРОБІТКІВ ҐРУНТУ

Р. П. ВІЛЬНИЙ

*Національний науковий центр «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського»,
лабораторія мікробіології ґрунтів
61024, вул. Чайковська, 4, м. Харків
e-mail: ruslan-vilnyy@ukr.net*

У сучасних умовах аграрного виробництва постає необхідність до переходу на ресурсоощадні екологобезпечні технології, що сприятиме відновленню біорізноманіття, відтворенню родючості ґрунтів, покращенню екологічного стану в цілому. Одним із шляхів вирішення цих питань пропонується зниження механічного навантаження на ґрунт, на основі чого розробляються нові технології. Активність ґрунтової мікробіоти чутливо реагує на зміни антропогенного навантаження і тому може бути використана як додатковий біодіагностичний показник при оцінці екологічного стану ґрунтів. Тому метою наших досліджень було встановлення змін мікробіологічної активності чорнозему типового за різних способів обробітку ґрунту. Мікробіологічну активність розраховували за рівнями активності ферментів (дегідрогеназа, інвертаза) та целюлозорозкладення, нітрифікаційної та амоніфікаційної здатностей ґрунту. На варіантах з мінімалізації обробітку та варіанті з нульовим обробітком спостерігається збільшення дегідрогеназної активності в 1,25; 1,6; 1,4 раз відповідно, в порівнянні з оранкою. В цілому, після збирання урожаю спостерігається зниження дегідрогеназної активності, на всіх варіантах, а на деяких навіть на 51%, порівняно з періодом вегетації культури. Суттєвих коливань інвертазної активності між варіантами обробітку ґрунту не виявлено. Амоніфікаційна здатність у період вегетації рослин проходить найкраще на варіанті культивування. Після періоду активної вегетації рослин рівень амоніфікаційної здатності падає у 1,5-2,0 рази. Найвище значення нітрифікаційної здатності спостерігається в прикореневій зоні на варіанті культивування, на оранці (прикоренева зона) нижче на 16%, на варіантах No-till та дискування на 33% та 48% відповідно. Вивчення інтенсивності розкладення целюлози дає можливість судити про темпи розкладання рослинних залишків, в складі яких зосереджена значна кількість клітковини. Целюлозолітична активність в період вегетації озимого жита характеризується зростанням на варіантах культивування та нульового обробітку. Після збору урожаю озимого жита на всіх варіантах як у прикореневій зоні так і у міжрядді відзначено зростання целюлозолітичної активності чорнозему типового, що пояснюється надходженням рослинних решток до ґрунту. Після збирання урожаю істотної різниці між варіантами не спостерігається. Для характеристики інтенсивності та спрямованості мікробіологічних процесів ґрунту в цілому, розраховано інтегрований показник біологічної активності (ІПБА) за отриманими даними ферментативної активності, амоніфікаційної та нітрифікаційної, целюлозоруйнуючої здатностей ґрунту. За інтегрованим показником біологічної активності найкращим був варіант із застосуванням оранки, децю нижче цей показник на варіанті No-till. За умов використання нульового обробітку різних коливань не відмічено між строками відбору ґрунтових зразків, тому можна говорити про високу активність і стає функціонування ґрунтового мікробіоценозу протягом всього вегетаційного періоду.

Ключові слова: чорнозем типовий, обробіток ґрунту, мікробіологічна активність.

Вступ. Сучасне землекористування в Україні, яке характеризується тривалим, нераціональним, використанням ґрунтів, надмірним механічним обробітком, застосуванням важкої техніки, незначним внесенням мінеральних і органічних добрив, застосуванням пестицидів, недотриманням ґрунтозахисних технологій призвело до суттєвого погіршення властивостей ґрунтів, у тому числі й біологічних. Тому постає необхідність до переходу на ресурсоощадні

екологобезпечні технології, що сприятиме відновленню біорізноманіття, відтворенню родючості ґрунтів, покращенню екологічного стану в цілому.

Одним із шляхів вирішення цих проблем пропонується зниження механічного навантаження на ґрунт, на основі чого розробляються нові технології.

Незважаючи на те, що нульовий обробіток ґрунту досить поширений на значних територіях

Латинської та Північної Америки, Європи, Азії та Африки, а також є накопичений досвід застосування No-Till в «Агросоюзі», залишається невивченою ціла низка питань щодо технологічних аспектів, які потребують науково обґрунтованої відповіді.

Біологічна активність ґрунту є важливою складовою його родючості і виражається у чисельності мікроорганізмів різних еколого – трофічних груп, їх біомаси, рівні активності біологічних процесів синтезу і розкладу (розклад клітковини, ферментативна активність та ін.), у результаті яких складні сполуки перетворюються у форми, доступні для живлення рослин і мікроорганізмів (Ковда В. А., 1975; Кулик А. Ф., 2001).

Активність ґрунтових ферментів може виступати додатковим діагностичним показником ґрунтової родючості, а також в значній мірі відображати інтенсивність антропогенного навантаження на ґрунти (Казеев К.Ш., 2004; Семиколенных А.А., 2001; Даденко Е.В., 2005).

Все вище наведене вказує на актуальність і новизну досліджень щодо закономірностей формування біологічного стану ґрунту за умов застосування технології No-till.

Тому метою роботи було встановлення змін мікробіологічної активності чорнозему типового за різних способів обробітку ґрунту в Лівобережному Лісостепу України.

Об'єкти та методи. Польові дослідження проводились на дослідному полі Харківського національного аграрного університету імені В.В. Докучаєва. Дослід закладений у 2006 році для визначення ефективності технологій обробітку ґрунту різного ступеня інтенсивності при вирощуванні зернових культур у динамічній сівозміні. Схема досліду передбачає застосування таких варіантів обробітку ґрунту як основи технологій:

1. Оранка ПЛН-4-35 на 20-22см (контроль).
2. Дискування ДМТ-4 на 10-12см.
3. Передпосівна культивування КПЕ-3,8 на 6-8 см.
4. Безпосередня сівба Grate plains (No-till).

Загальна площа досліду 1,4 га. Розміщення ділянок в досліді послідовне, повторність триразова. Площа посівної ділянки 800 м², облікової – 500 м²

Встановлення біологічної активності ґрунту та спрямованості мікробіологічних процесів у ґрунті проводили за комплексом показників:

- ґрунтової активності класів ферментів: оксидоредуктаз (дегідрогеназа) та гідролаз (інвертаза) (Карягина Л.А., 1986; Хазиев Ф.Х., 1993);

- амоніфікувальної здатності ґрунту за методом Ваксмана (Мишустин Е.М., Емцев В.Т., 1970);

- нітрифікувальної здатності ґрунту за методом Ваксмана (Теппер Е.З., 1993).

Оцінка змін біологічної активності надається за розрахунковим інтегрованим показником біологічної активності (ШБА) – за методикою на основі розрахунку сумарного біологічного показника за Дж. Ацці (Ацци Дж., 1959; Вальков В.Ф., 1999).

Проби ґрунту відбиралися в період вегетації культури та після збирання урожаю за загальноприйнятими методиками (ДСТУ ISO 10381-6:2001).

Для вирішення поставлених задач у роботі застосовувалися польові, лабораторно-аналітичні, мікробіологічні, біохімічні методи, які проводилися у лабораторії мікробіології ґрунтів ННЦ «ІГА імені О.Н. Соколовського». Опрацювання результатів проводилися статистичними методами досліджень за допомогою програм Excel і STATISTICA 6.0.

Результати досліджень та їх обговорення. У процесі життєдіяльності ґрунтових організмів накопичуються ферменти, які відіграють виключно важливу роль у функціонуванні ґрунту як екосистеми. Завдяки біокаталітичним реакціям за участі ферментів, у ґрунті здійснюються найважливіші процеси перетворення речовин. Різні автори стверджують, що активність ґрунтових ферментів може бути одним із діагностичних показників родючості ґрунтів.

Щоб встановити ензимну активність чорнозему типового було визначено інвертазну та дегідрогеназну активності. Дегідрогенази – ферменти, які беруть участь у процесі дихання, вони відщеплюють водень від субстратів які окислюють. Дегідрогеназа характеризує мікробний пул ґрунту в цілому. На варіантах з мінімалізації обробітку та варіанті з нульовим обробітком спостерігається збільшення дегідрогеназної активності в 1,25; 1,6; 1,4 раз відповідно, в порівнянні з оранкою. В цілому, після збирання урожаю спостерігається зниження дегідрогеназної активності, на всіх варіантах, а на деяких навіть на 51%, порівняно з періодом вегетації культури (рис. 1.), що пояснюється її фізіологічною особливістю – цей фермент найбільш активний на етапах розвитку рослин.

Інвертаза регулює синтез та розпад різних груп вуглеводів. Інвертаза присутня в усіх ґрунтах, є одним із найважливіших ферментів, які характеризують біологічну активність ґрунту.

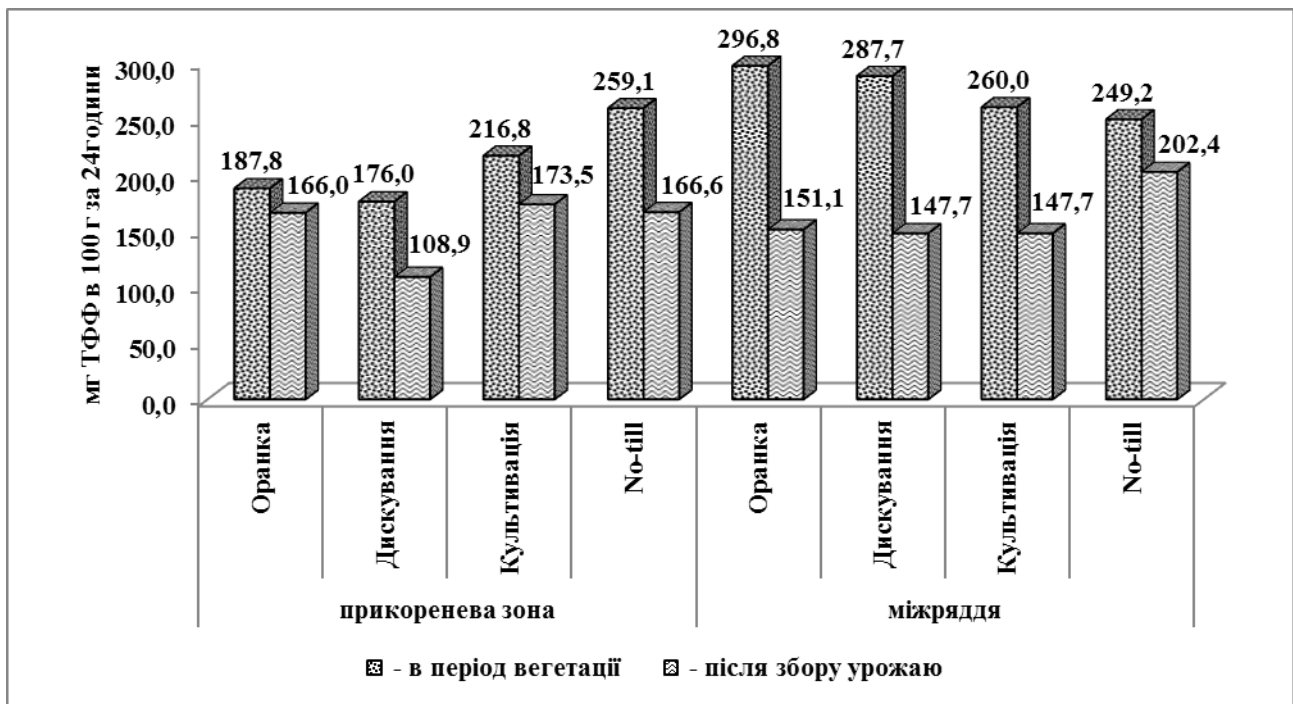


Рис. 1. Рівень дезідрогеназної активності чорнозему типового протягом вегетаційного періоду під впливом різних способів обробки ґрунту

Fig. 1. The level of the dehydrogenase activity of the typical chernozem during the growing season under influence of different tillage methods.

Рівень інвертазної активності в період вегетації за варіантами істотно не відрізнявся, крім варіантів культивачі (прикоренева зона) та No-till (міжряддя), що на 18 та 10% нижче порівняно з іншими варіантами, але це не позначається на розвитку рослин з огляду на те,

що максимальна активність цього ферменту проявляється з надходженням рослинних решток під час збирання урожаю. Тому інвертазна активність зростає після збирання врожаю на усіх варіантах в середньому на 10-15% (рис. 2.). Суттєвих коливань між варіантами не виявлено.

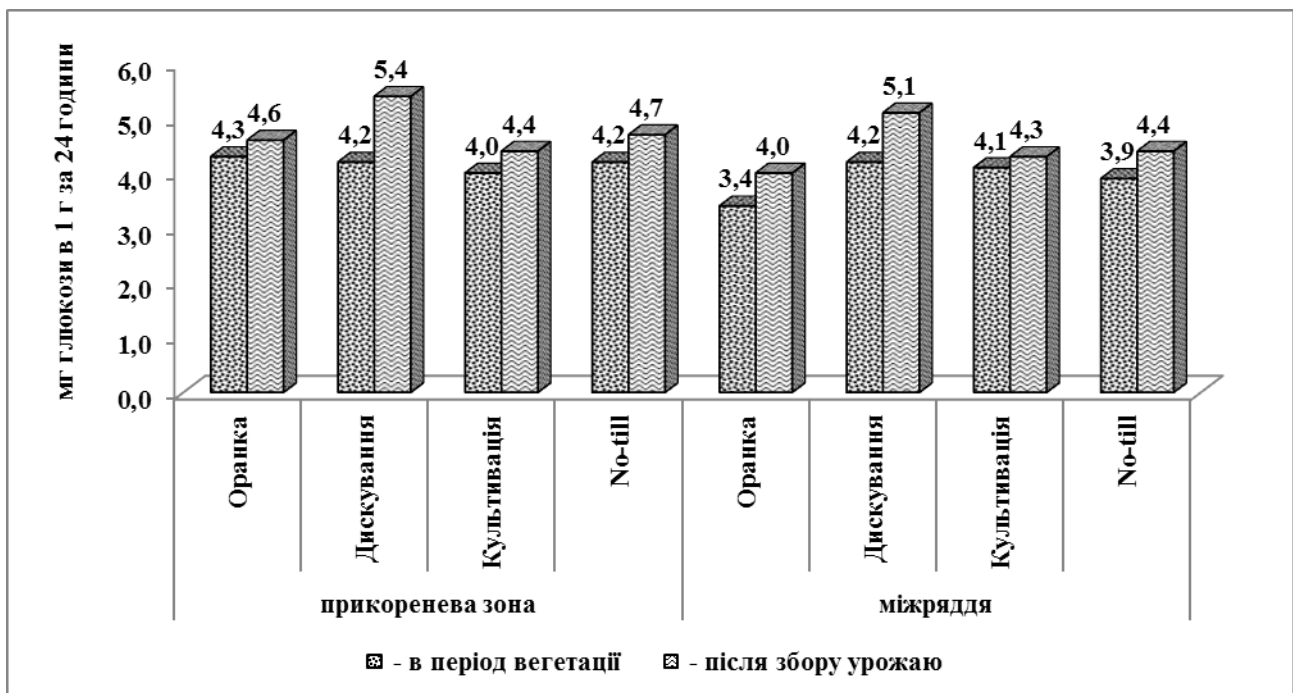


Рис. 2. Рівень інвертазної активності чорнозему типового протягом вегетаційного періоду під впливом різних способів обробки ґрунту.

Fig. 2. The level of the invertase activity of the typical chernozem during the growing season under influence of different tillage methods.

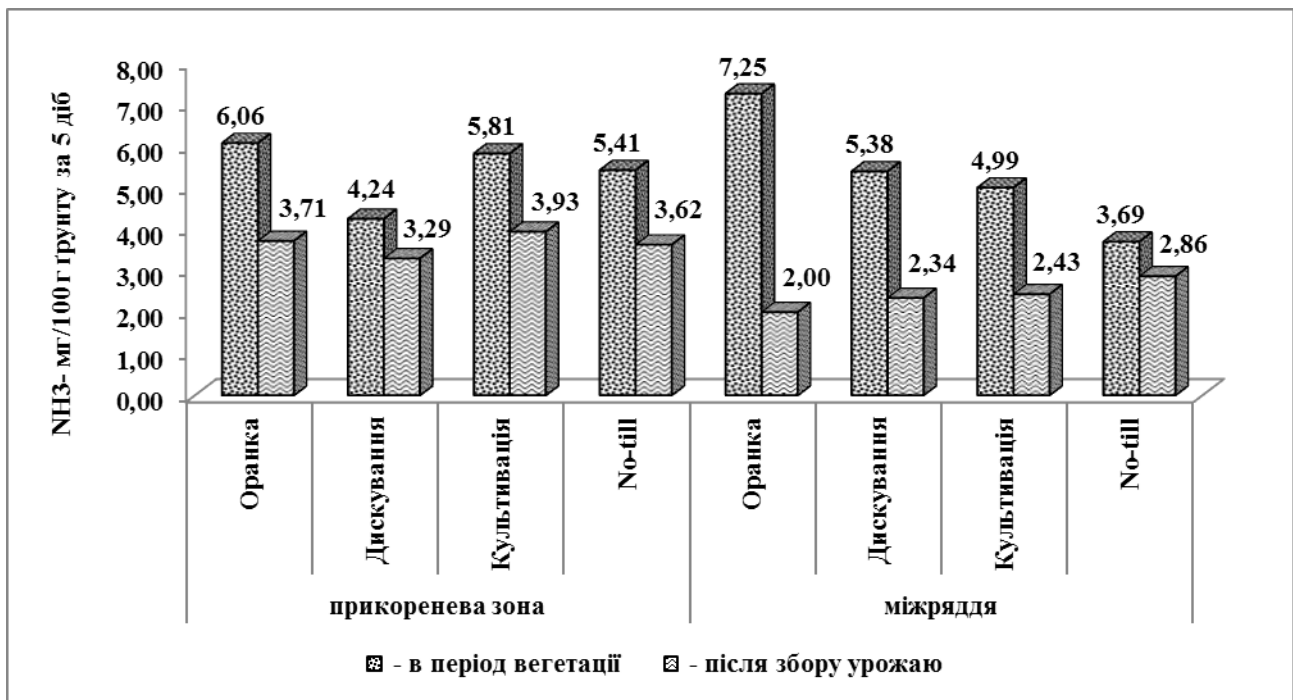


Рис. 3. Рівень амоніфікаційної здатності чорнозему типового за весь період вегетації під впливом різних способів обробітку ґрунту.

Fig. 3. The level of the ammonification ability of the typical chernozem during the growing season under influence of different tillage methods.

Ґрунтовий азот в основній своїй масі представлений органічними сполуками, які входять у склад гумусу і тільки незначна його частина, від залишків до 5% знаходиться у формі неорганічних сполук – нітратів та амонію.

Органічний азот гумусу безпосередньо не засвоюється рослинами, але під дією ґрунтових мікроорганізмів він постійно мінералізується і тим самим стає доступним для них.

Оскільки для росту та розвитку вищих рослин азот необхідний у формі NH_3^+ і NO_3^- , тому вміст їх у ґрунті та здатність ґрунту до їх мобілізації являється важливим показником біохімічної активності ґрунту.

У зв'язку з цим було проведено визначення амоніфікаційної та нітрифікаційної здатностей ґрунту. Амоніфікаційна здатність у період вегетації рослин проходить найкраще на варіанті культивация: у прикореневій зоні 7,25 мг $\text{NH}_4/100$ г ґрунту, у 1,45 рази більше за варіант No-till (прикоренева зона). Після періоду активної вегетації рослин рівень амоніфікаційної здатності падає у 1,5-2,0 рази і настає етап нітрифікаційної трансформації азоту (рис. 3).

Нітрифікацією називається окиснення аміаку до азотистої і азотної кислот. Вона відбувається найбільш активно за умов достатньої кількості мінерального амонійного азоту, при рН $\sim 7,0$ і достатній аерації, тому за результатами аналізу отримуємо зворотню тенденцію зміни показника нітрифікаційної здатності чорнозему типового –

після збору урожаю він значно вище ніж в період вегетації культури. Найвище значення спостерігається в прикореневій зоні на варіанті культивация, на оранці (прикоренева зона) нижче на 16%, на варіантах No-till та дискування на 33% та 48% відповідно (рис. 4).

Вивчення інтенсивності розкладення целюлози дає можливість судити про темпи розкладання рослинних залишків, в складі яких зосереджена значна кількість клітковини. А.А. Імшенецький та інші відмічають, що розклад целюлози ґрунтовими мікроорганізмами являє інтерес як найбільш великий за масштабами процес пов'язаний із кругообігом вуглецю в природі. Гумусоутворення в тому чи іншому ступені залежить від розкладення рослинних залишків, котрі потрапляють до ґрунту (Імшенецький А.А., 1953; Аристовская Т.В., 1980; Валагурова Е.В., 1982).

Целюлозолітична активність в період вегетації озимого жита характеризується зростанням на варіантах культивация та нульового обробітку.

Порівнюючи дані целюлозолітичної активності прикореневої зони та міжряддя на варіантах з мінімалізацією обробітку чорнозему типового, виявлено аналогічну тенденцію як й з біогенністю ґрунту, а саме: проявляється більш чітка диференціація целюлозолітичної активності між прикореневою зоною та міжряддям (рис. 5).

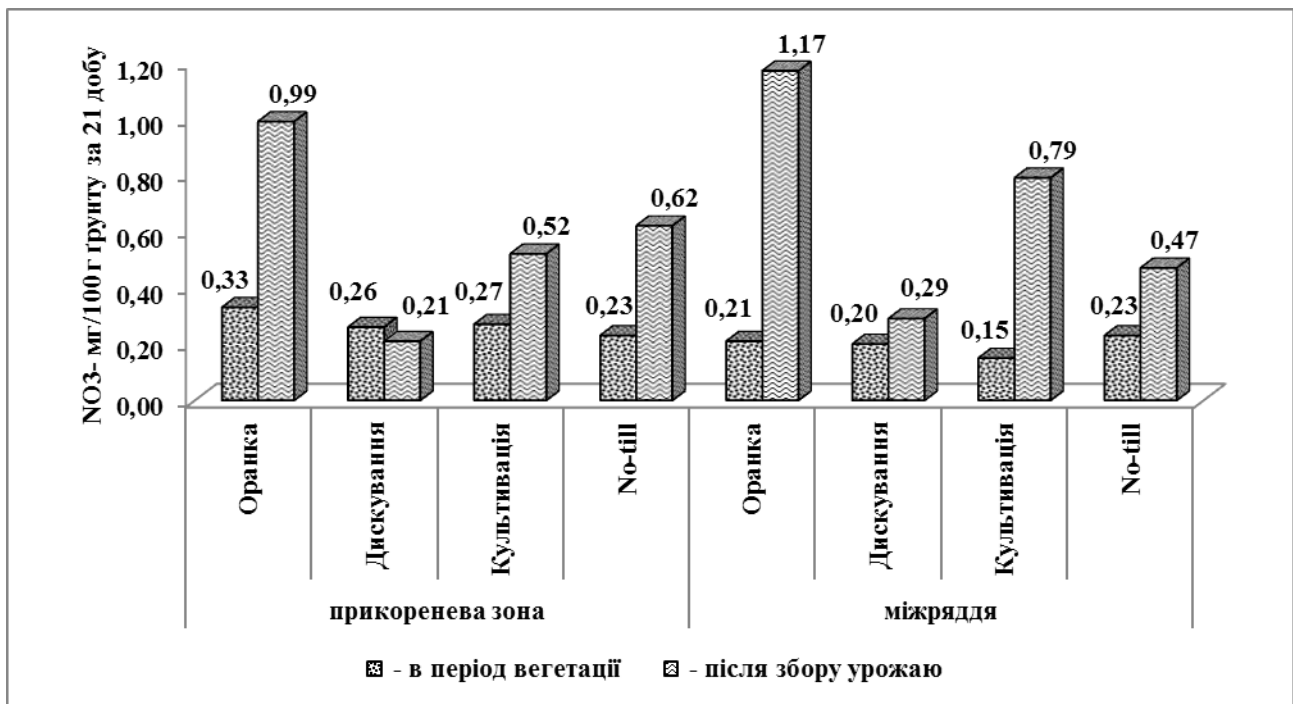


Рис. 4. Рівень нітрифікаційної здатності чорнозему типового за період вегетації під впливом різних способів обробітку ґрунту.

Fig. 4. The level of the nitrification ability of the typical chernozem during the growing season under influence different tillage methods.

Якщо на початку вегетації на оранці в прикореневій зоні цей показник склав 12,8 %, а в міжрядді – 17,9 %, то зі зменшенням механічного тиску на ґрунт відбулися протилежні зміни, і на варіанті з No-till у прикореневій зоні целюлозолітична активність склала 17,9 %, а у міжрядді – 14,2 %.

Після збору урожаю озимого жита на всіх варіантах як у прикореневій зоні так і у міжрядді відзначено зростання целюлозолітичної активності чорнозему типового, що пояснюється надходженням рослинних решток. Після збирання урожаю істотної різниці між варіантами не спостерігається.

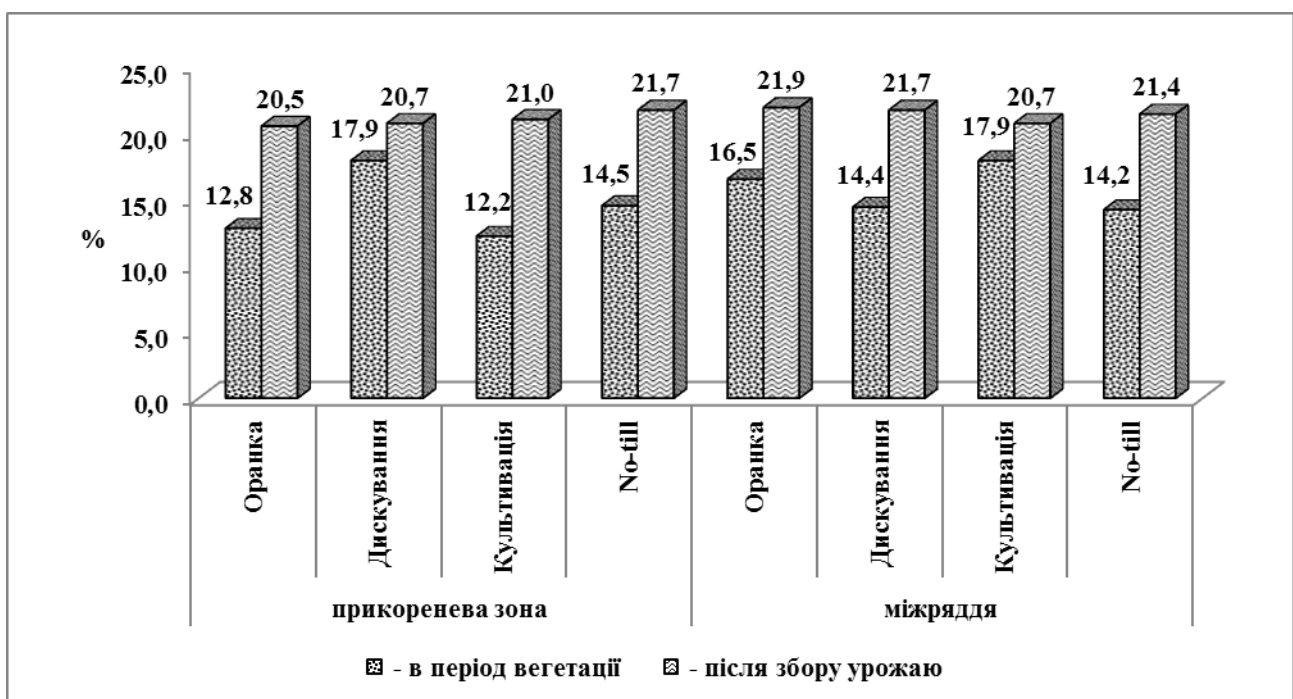


Рис. 5. Целюлозолітична активність чорнозему типового за різних систем обробітку ґрунту.

Fig. 5. The cellulolytic activity of the typical chernozem under different tillage systems.

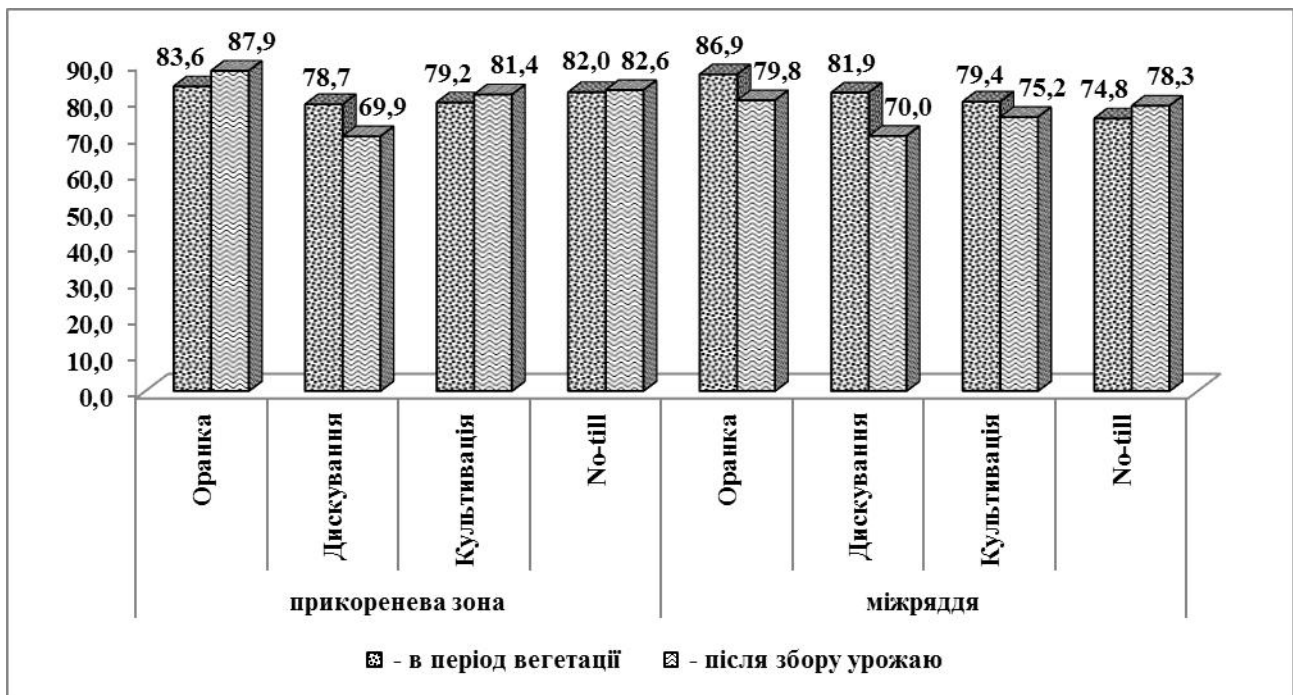


Рис. 6. Біологічна активність чорнозему типового за різних систем обробітки ґрунту (за інтегрованим показником біологічної активності)

Fig. 6. The biological activity of the typical chernozem under different tillage systems (with integrated indicator of biological activity).

Для характеристики інтенсивності та спрямованості мікробіологічних процесів ґрунту в цілому, розраховано інтегрований показник біологічної активності (ІПБА) за отриманими даними ферментативної активності, амоніфікаційної та нітрифікаційної, целюлозолітичної здасностей ґрунту.

В період вегетації озимого жита найвищі значення інтегрованого показника біологічної активності чорнозему типового отримані на варіантах оранки та No-till в прикорневій зоні, дещо нижче значення ІПБА на варіанті дискування та культивування. У міжрядді спостерігається тенденція до зниження рівня біологічної активності зі зменшенням інтенсивності обробітки ґрунту (рис. 6).

За умов використання нульового обробітки різних коливань не відмічено між строками відбору ґрунтових зразків, тому можна говорити про високу активність і стає функціонування ґрунтового мікробіоценозу протягом всього вегетаційного періоду.

Висновки. Отже, при обробітку ґрунту різної інтенсивності, а також при застосуванні нульового обробітку, відбуваються зміни у направленості та інтенсивності окремих мікробіологічних процесів. Так, встановлено що під впливом мінімалізації обробітку чорнозему типового зростала дегідрогеназна активність та здатність ґрунту до розкладення клітковини. Процеси амоніфікації та нітрифікації, навпаки, проходили краще за умов інтенсивного

обробітку, тобто оранки. Різні способи обробітку ґрунту не мали істотного впливу на зміни інвертазної активності. В цілому, за інтегрованим показником біологічної активності найкращим був варіант із застосуванням оранки, дещо нижче цей показник на варіанті No-till.

Список літератури:

1. Ковда В. А. Биохимические циклы в природе и их нарушение человеком. – М.: Наука, 1975. – 74 с.
2. Кулик А. Ф. «Оценка устойчивости лесных биогеоценозов степной зоны Украины» // Питання степового лісознавства та лісової рекультивування земель. Міжвуз. зб. наук. праць. – Д.:РВВ ДНУ. – Вип. 5. – 2001. – с. 26-30.
3. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований Ростов на дону: Из-во ЦВВР, 2004. – 350с.
4. Семиколенных А.А. Каталазная активность почв Северной Тайги // Почвоведение. – 2001. – №1. – С.90-91.
5. Даденко Е.В. Некоторые методические аспекты применения показателей ферментативной активности в диагностике и мониторинге почв // Тезисы докладов международной научной конференции "Экология и биология почв" – Ростов-на Дону, 2005. – С. 143-147.
6. Карягина Л.А, Михайловская Н.А. Определение активности полифенолоксидазы и пероксидазы в почве // Весці АН БССР, серія с/г навук. - Минск. - 1986. - № 2. - С. 40 – 41.
7. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – с. 252.

8. Мишустин Е.М., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Колос, 1970. – 344 с.
9. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Колос, 1993. – 175 с.
10. Ацци Дж. Сельськохозяйственная екологія. – Москва – Ленинград, 1959. – 480с.
11. Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Методология исследования биологической активности почв на примере Северного Кавказа. – Научная мысль Кавказа, – 1999. – 1. С.32-37.
12. Якість ґрунту. Відбір проб. Частина 6. Настанови щодо відбору, оброблення та зберігання ґрунту для дослідження аеробних мікробіологічних процесів у лабораторії (ISO 10381-6:1993, IDT) – чинний з 2001-11-09. – К.: Держстандарт України, 2002 – 9с.
13. Имшенецкий А.А. Микробиология целлюлозы. - М.:Изд-во Акад. наук СССР, 1953. - 439 с.
14. Аристовская Т.В. Микробиология процессов почвообразования. - Л.: Наука, 1980. - 188 с.
15. Валагурова Е.В. та ін. Микроорганизмы и разложение клетчатки в условиях заповедников. // Структура и функции микробных сообществ почв с различной антропогенной нагрузкой: тезисы докл. респ. конф. (Чернигов, 17 – 21 мая 1982 г.); отв. ред. Е.И. Андреюк, Е.В. Валагурова. - К.: Наук, думка, 1982. – С. 105 - 110.

MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF TYPICAL CHERNOZEM UNDER DIFFERENT TILLAGE

R. P. Vilnyy

The modern agricultural production requires transition to resource-ecological safety technologies which will contribute to recovery of biodiversity, reproduction of the soil fertility, improvement of the ecological state as a whole.

As a way to solve these issues, it is proposed to reduce the mechanical load on the soil, which is the basis for the development of new technologies. The activity of the soil microbiota is sensitive to the changes in the anthropogenic load and therefore it could be used as an additional biodiagnostic indicator for assessment of the ecological condition of the soils. The purpose of our research was to define the changes in the microbiological activity of the typical chernozem using different tillage methods. The microbiological activity was calculated based on the enzyme activity (dehydrogenase, invertase) and cellulose destroying, nitrification and ammonification abilities of soil. When applying tillage minimization and zero tillage methods, the increase of the level of the dehydrogenase activity in 1,25; 1,6; 1,4 times respectively was observed in comparison with plowing. In general, after harvesting a decrease was observed in the activity of dehydrogenase at all the methods and at some of them by 51 % in comparison with the period of culture growth. Significant fluctuations of the invertase activity between tillage methods were not identified. The ammonification ability during the growing season was better at the method with cultivation. After the period of the active vegetation, the level of the ammonification ability decreases by 1,5 - 2,0 times. The highest nitrification ability was observed in the root zone for the method with cultivation, for plowing (the root zone) was 16% lower, for No-till and disking methods 33% and 48% respectively. Studying of the intensity of the cellulose decomposition allows to define the rate of decomposition of the plant residues, where a significant amount of fiber s concentrated. The cellulolytic activity of the winter rye during the growing season increased for methods with the cultivation and zero tillage. For all the methods after harvesting the winter rye, the increase of cellulolytic activity of the typical chernozem was determined both in the root zone and in the row middle, what is to be explained by the arrival of the plant residues to the soil. No significant difference between the methods is observed after harvesting. In order to describe the intensity and targeting of the microbiological processes in the soil as a whole, an integrated indicator of biological activity (IIBA) was calculated based on the received data of the enzymatic activity, and ammonification, nitrification, cellulose destroying capacity of the soil. In terms of integrated indicator of biological activity the best method was the one using plowing, this index was slightly lower for No-till method. When using the zero tillage, no violent fluctuations between the periods of soil selection are not observed, that is why a high activity and a stable functioning of the soil microbial cenosis during the growing season can be claimed.

Keywords: typical chernozem, soil cultivation, microbial activity, enzymatic activity, ammonification ability, nitrification ability.

Одержано редколегією 30.04.2014

ВПЛИВ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ВОЛОГОЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ НА БОНІТЕТ БУРУВАТО-ПІДЗОЛИСТИХ ПОВЕРХНЕВО-ОГЛЕСНИХ ГРУНТІВ ПЕРЕДКАРПАТТЯ

I. С. СМАГА

Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна
e-mail: Smaga.Ivan@gmail.com

Розглянуто специфіку формування запасів продуктивної вологи в бурувато-підзолистих поверхнево-оглесних ґрунтах Передкарпаття залежно від способу землекористання та впливу осушувальної меліорації. Розраховано максимально можливі запаси продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту за прописом чинної методики бонітування ґрунтів та представлено результати визначення параметрів даного критерію на основі 3-х річних експериментальних досліджень вмісту вологи в ґрунті впродовж вегетаційного періоду. Апробовано методику бальної оцінки властивостей ґрунту при загальному бонітуванні (вміст гумусу та максимально можливих запасів продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту, а також вміст рухомого фосфору та обмінного калію в метровому шарі ґрунту) на прикладі бурувато-підзолистого поверхнево-оглесного ґрунту Сторожинецького земельно-оціночного району Чернівецької області під пасовищем неосушеним, рілляю осушеною та пасовищем осушеним. Встановлено параметри максимально можливих запасів продуктивної вологи в метровому шарі досліджуваного ґрунту різного землекористання при розрахунковому та експериментальному способі визначення та їх бальну оцінку по відношенню до загальнодержавного еталона. Прослідковано вплив параметрів максимально можливих запасів продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту, визначених двома методами на величину загального бонітету ґрунту.

Ключові слова: бонітет ґрунту, продуктивна волога, природно-сільськогосподарське районування, методика бонітування, критерії бонітування, земельно-оціночний район, рухомий фосфор, обмінний калій, бал бонітету, бурувато-підзолистий поверхнево-оглесний ґрунт, пасовище неосушене, пасовище осушене, рілля осушене, вологозабезпеченість ґрунту, осушувальна меліорація.

Вступ. Становлення ринку земель сільськогосподарського призначення в Україні зумовлює потребу у використанні даних з оцінки земель. Згідно з чинною нормативно-правовою базою, вони представлені бонітетом агропромислових груп ґрунтів та їх нормативною грошовою оцінкою, яка розрахована за нормативами, встановленими при проведенні економічної оцінки землі. Особливо важлива роль відводиться бонітуванню ґрунтів, оскільки за даними їх бонітету можливо виявити площі малопродуктивних та деградованих земель, придатність ґрунтових відмін для вирощування окремих сільськогосподарських культур в межах територій з найбільш сприятливими умовами для їх росту і розвитку, а також використовуються при паюванні земель, визначенні розмірів втрат сільськогосподарського виробництва від відчуження земель і розрахунках нормативної грошової оцінки окремих агропромислових груп ґрунтів.

Чинний нормативний документ з бонітетної оцінки (Новаковський, 1992) передбачає визначення загального бонітету агропромислових груп ґрунтів по відношенню до загальнодержавних еталонів та часткових

бонітетів стосовно еталонів, підібраних у межах окремих природно-сільськогосподарських районів. Для всієї території України використовується єдина методика бонітування, незалежно від неоднорідності ґрунтово-кліматичних, геоморфологічних, гідрологічних та інших умов. Тому, важливо встановити об'єктивність бонітетів ґрунтів окремих регіональних умов, що зумовлюють відповідні параметри властивостей ґрунту, наприклад його вологозабезпеченості.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. В останні роки виконано фундаментальні наукові розробки щодо вдосконалення методичних аспектів бонітування ґрунтів: обґрунтовано оцінку системи «ґрунт-клімат-поле» (Медведев, Плиско, 2011), визначення ґрунтово-кліматичного індексу (Булгаков, Карманов, 2010), розрахунки агропотенціалів природної і ефективної родючості (Полупан з співав., 2008), а також подальшої деталізації шкали бонітування в рамках чинної методики (Канаш, 2002; 2008).

У відповідності з положенням статті 199 Земельного кодексу України, порівняльна оцінка якості ґрунтів має проводитися за їх природними властивостями, які мають сталий

характер і суттєво впливають на урожайність сільськогосподарських культур, вирощуваних у конкретних ґрунтово-кліматичних умовах. Це повністю узгоджується з чинним нормативним документом, тобто офіційною методикою бонітування (Новаковський, 1992). Тому, подальший розвиток чинної системи бонітування ґрунтів вбачається в удосконаленні окремих її методичних положень, зокрема щодо об'єктивного врахування вологозабезпеченості ґрунтів та апробації їх у регіональних умовах.

Мета досліджень – встановити об'єктивність бальної оцінки вологозабезпеченості бурувато-підзолистих поверхнево-оглеєних ґрунтів Передкарпаття за різних методів її визначення.

Предмет досліджень – бонітет бурувато-підзолистих поверхнево-оглеєних ґрунтів Передкарпаття.

Об'єкт і методи досліджень. Об'єктом досліджень виступають бурувато-підзолистих поверхнево-оглеєні ґрунти Передкарпаття в межах Сторожинецького земельно-оціночного району Чернівецької області. Збір вихідних даних щодо параметрів ґрунтових властивостей та розрахунок загального бонітету проведено за чинною методикою бонітування ґрунтів України.

Для розрахунків максимально можливих запасів продуктивної вологи в ґрунті використано матеріали польових та лабораторно-аналітичних досліджень ґрунтів різного землекористання (ліс, пасовище неосушене, рілля осушене та пасовище осушене). В зразках ґрунту, відібраних з окремих горизонтів з ґрунтових розрізів визначали: об'ємну масу – методом ріжучого кільця, максимальну гігроскопічність (МГ) ґрунту – методом Ніколаєва, вологість в'янення – розрахунково, вологість ґрунту - термостатно - ваговим методом, найменшу вологоємність – з використанням гіпсових пластин (Вадюнина, 1986). Визначення вмісту вологи в метровому шарі ґрунту проводили за генетичними горизонтами в третій декаді кожного місяця вегетаційного періоду впродовж 2002-2004 рр. На основі таких даних було розраховано середні значення запасів продуктивної вологи за вегетаційний період кожного року та за досліджувані роки.

Результати та їх обговорення. В якості основних критеріїв загального бонітування ґрунтів використовуються запаси гумусу та максимально можливі запаси продуктивної вологи (ММЗПВ) в метровому шарі ґрунту, а також вміст у верхньому шарі ґрунту рухомого фосфору та обмінного калію. Збір даних про зазначені властивості ґрунтів проводиться в розрізі агропромислових груп ґрунтів. Запаси

гумусу розраховуються, виходячи з його вмісту в окремих генетичних горизонтах та їх рівноважної щільності. Вміст рухомого фосфору та обмінного калію передбачено визначати загальноприйнятими в агрохімічних дослідженнях методами залежно від специфіки генетичної природи ґрунту (методи Чирікова, Кірсанова, Мачігіна, Ареніуса). Для кожного метода визначення встановлюється еталонне значення щодо вмісту того чи іншого елемента живлення.

Величини ММЗПВ розраховують як добуток різниці між найменшою вологоємністю та вологістю в'янення та об'ємної маси й глибини відповідного шару чи генетичного горизонту ґрунту. Результати за шарами (генетичними горизонтами) підсумовують і одержують величину ММЗПВ у 0-100 см шарі ґрунту. Об'єктивність такого методу визначення вологозабезпеченості ґрунту не досить висока, оскільки при великомасштабних ґрунтових обстеженнях такі характеристики ґрунтів не визначалися і їх, зазвичай, використовують з довідкової ґрунтознавчої літератури.

Альтернативою такому методу визначення ММЗПВ може стати, на нашу думку, встановлення їх значень на основі експериментально отриманих даних. Для бурувато-підзолистих поверхнево-оглеєних ґрунтів Передкарпаття його величину встановлювали за різних типів землекористання як середнє арифметичне значення за вегетаційний період 2002-2004 рр. В усіх випадках були отримані значно нижчі порівняно з розрахунковими величини, зокрема для ґрунту пасовища неосушеного – в 1,8, ріллі осушеної – майже в 2 та пасовища осушеного – в 1,2 рази.

Бальна оцінка кожного показника властивості ґрунту, прийнятої за критерій бонітування встановлювалася як відношення її фактичного значення до еталонного помножене на 100. Ґрунти різних угідь за запасами гумусу в 0-100 см шарі відносно еталону (500 т/га) отримали оцінку від 46 до 51,6 бала (табл.).

Вміст у 0-100 см шарі ґрунту 200 мм доступної для рослин вологи прийнято за еталонне значення іншого критерію загального бонітування - ММЗПВ. Вважається, що саме за такої величини волого запасів у ґрунті складається оптимальний водно-повітряний режим та повністю задовольняються потреби рослин у воді. Параметри даного показника, які визначені розрахунково, незалежно від виду угіддя, виявилася досить високими та перевищують еталонне значення в 1,2 – 1,5 рази. Тому оцінка цього критерію складає 100 балів за 100-бальною закритою шкалою.

Враховуючи те, що Передкарпаття – територія надмірного зволоження, а надлишок води в ґрунті зумовлює формування несприятливого водно-повітряного режиму та розвиток процесів оглеєння, на нашу думку, така висока оцінка даного показника не зовсім об'єктивна. Він відображає не реальні запаси продуктивної вологи в конкретному шарі ґрунту, а потенційні її величини за умови, що вміст вологи в ґрунті буде знаходитися на рівні, що відповідає найменшій вологості (НВ). Таке явище, зазвичай, може спостерігатися нетривалий час лише після поливу чи випадання опадів, а впродовж більшої частини вегетаційного періоду, навіть у ґрунтах гумідних зон, вміст вологи в ґрунті буде на рівні нижчому за величину цієї ґрунтово-гідрологічної константи. Для більшості сільськогосподарських культур оптимальні умови вологозабезпеченості складаються при вологості ґрунту на рівні НВ – 0,7 НВ. Надлишок вологи в ґрунтах Передкарпаття зумовлює необхідність проведення осушувальної меліорації шляхом закладання гончарного дренажу, як однієї з складових системи комплексного їх окультурювання (Назаренко, 1981). За умови повноцінного функціонування дренажних систем, у даних ґрунтах середні за вегетаційний період реальні запаси продуктивної вологи є нижчими, ніж отримуються при розрахунку за НВ і ВВ з врахуванням об'ємної маси та глибини шару ґрунту (Смага, 2013).

У випадку оцінки ММЗПВ за експериментально встановленими їх значеннями, бальна оцінка буде складати 77,7 – 100 балів. Найнижче значення оцінки даних критеріїв отримав ґрунт ріллі, осушеної закритим гончарним дренажем у 1974 році. В 0-100 см шарі ґрунту пасовища, осушеного закритим

гончарним дренажем у 1914 році значення ММЗПВ близьке до еталонного – 208,4 мм. Його бальна оцінка – 100 балів. Ймовірно, що у даному ґрунті не повністю відводиться надлишкова волога через неналежне функціонування дренажної системи після тривалого періоду її експлуатації. В ґрунті пасовища неосушеного оцінка даного показника складає 85,7 бала. Згідно з даними раніше проведених досліджень, запаси продуктивної вологи в бурувато-підзолистому оглеєному ґрунті виявилися досить динамічними за роками та були оцінені як задовільні (сінокіс осушений) та дуже добрі (пасовище неосушене, пасовище осушене) згідно з відомою в землеробстві градацією (Смага, 2013).

Інша характерна ознака бурувато-підзолистих кислих оглеєних ґрунтів Передкарпаття – недостатня забезпеченість елементами мінерального живлення рослин, зокрема, рухомим фосфором та обмінним калієм. При бальній оцінці зазначених критеріїв за еталон береться такий їх вміст, коли вже немає потреби вносити в ґрунт елемент живлення у вигляді добрив, оскільки це вже не зумовлює приросту урожаю.

Бальна оцінка вмісту рухомого фосфору, визначеного за методом Кірсанова (еталонне значення – 25 мг/100 г ґрунту) складає 9,2 – 14,4 бала. Вміст обмінного калію у верхньому шарі ґрунту залежно від угіддя змінюється в межах 1,6 – 2,5 мг/100 г ґрунту й отримав оцінку 9,4 – 14,7 бала. Бонітет розраховували як середньозважене значення з 4-х бальних оцінок, використовуючи ціну еталонного значення кожного з критеріїв загального бонітування ґрунтів. В першому випадку використали бальну оцінку ММЗПВ, отриманих розрахунково, а в другому – експериментально.

Табл.
Бальна оцінка основних критеріїв бонітування та загальний бонітет бурувато-підзолистого поверхнево-оглеєного ґрунту Сторожинецького земельно-оціночного району

Запаси гумусу		ММЗПВ (розрахунково)		ММЗПВ (експериментально)		P ₂ O ₅		K ₂ O		Бонітет ґрунту	
т/га в 0-100 см шарі	бал	мм в 0-100 см шарі	бал	мм в 0-100 см шарі	бал	мм в 0-100 см шарі	бал	мм в 0-100 см шарі	бал	1	2
Пасовище неосушене											
255	51,0	307,0	100	171,4	85,7	5,1	20,4	1,6	9,4	45,2	41,6
Рілля осушена											
230	46,0	307,0	100	155,5	77,7	2,5	10,0	2,5	14,7	42,7	37,1
Пасовище осушене											
258	51,6	238,7	100	208,4	100	4,3	17,2	1,9	11,2	45,0	45,0

Примітка: 1 – при бальній оцінці значень ММЗПВ, отриманих розрахунково; 2 – при бальній оцінці значень ММЗПВ, отриманих експериментально.

Таб.
Scoring basic appraisal criteria and overall creditworthiness of brownish-podzolic gley soil surface of Storozhynets land-estimation area

Різниця в отриманих значеннях бонітету склала 0 – 5,6 бала. Отже, визначення величини ММЗПВ розрахунково підвищує значення загального бонітету ґрунту.

Висновки.

1. Одним з шляхів отримання об'єктивних показників бонітетної оцінки ґрунтів у сучасних умовах виступає удосконалення чинного нормативного документа та апробація окремих його методичних положень в специфічних регіональних умовах.

2. Розраховані за прописом методики бонітування, значення максимально можливих запасів продуктивної вологи в метровому шарі бурувато-підзолистого поверхнево-оглеєного ґрунту істотно перевищують експериментально отримані: під пасовищем неосушеним – в 1,8, пасовищем осушеним – 1,2 та ріллею осушеною – 2 рази. Даний критерій загального бонітування має найвищу бальну оцінку серед інших: 100 балів, незалежно від угіддя – при визначенні його параметрів розрахунковим методом і 77,7 (рілля осушена), 85,7 (пасовище неосушене) та 100 балів (пасовище осушене) – при використанні для її розрахунку експериментально отриманих даних.

3. При визначенні величини максимально можливих запасів продуктивної вологи в досліджуваному ґрунті розрахунковим методом його загальний бонітет під пасовищем неосушеним зростає на 3,6, а ріллею осушеною – 5,6 бала.

Список літератури:

1. Булгаков Д.С. Почвенно-климатические показатели как методическая основа оценки состояния земель для

целей сельскохозяйственного мониторинга/ Д.С. Булгаков, И.И. Карманов // Агрохимия і ґрунтознавство.-Міжвідомч. тематич. наук. зб.- Спецвипуск до VIII з'їзду УТГА.- Кн. 2.- Харків, 2010.- С. 177-179.

2. Вадюнина А.Ф. Методы исследования физических свойств почв / Вадюнина А.Ф., Корчагина З.А. – М.: Агропромиздат, 1986. – 416 с.

3. Канаш О.П. Внутрігосподарське детальне бонітування ґрунтів / О.П. Канаш // Агрохимия і ґрунтознавство.-Міжвідомч. тематич. наук. зб.- Спецвипуск до VI з'їзду УТГА.- Кн. 2.- Харків, 2002.- С.74-76.

4. Канаш О.П. Бонітування ґрунтів у контексті сучасних земельних проблем / О.П. Канаш // Генеза, географія та екологія ґрунтів: зб. наук. пр.-Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2008.-С. 269-273.

5. Медведєв В.В. Бонітування ґрунтів в Україні: підсумки і перспективи / В.В. Медведєв, І.В. Пліско // Вісник ХНАУ.-Сер. Ґрунтознавство, агрохімія, землеробство, лісове господарство, екологія ґрунтів.- 2011.-№1. - С. 22-28.

6. Новаковский Л.Я. Методика бонитировки почв Украины / Новаковский Л.Я., Канаш А. П., Розумный А.И., Деревицкий А.В., Медведєв В.В. [та інші]. – К., 1992. – 102 с.

7. Полупан М.І. Родючість ґрунтів і ґрунтового покриву Степу Південного і Сухого за агропотенціалами сільськогосподарських культур та бонітувальними критеріями / М.І. Полупан, В.А.Величко, В.Б.Соловей // Вісник аграрної науки.- 2008.-№2.-С. 18-25.

8. Смага І.С. Вологозабезпеченість бурувато-підзолистих поверхнево-оглеєних ґрунтів Передкарпаття за різних способів землевикористання// Вісник аграрної науки.-2013. - №8. - С. 14-17.

EFFECT OF METHODS FOR DETERMINATION THE PROVISION OF MOISTURE ON THE ESTIMATION BROWNISH-PODZOLIC GLEY SOIL OF PRECARPATHIANS

I. S. Smaha

The specific formation of productive moisture reserves in brown-podzolic gley soil Precarpathians depending on how land use and the impact of drainage reclamation have been discussed. Was calculated maximum possible reserves of productive moisture in the meter soil layer by prescription current appraisal methods of soil and presents the results of determining the parameters of the criterion based on 3-year pilot study of moisture content in the soil during the growing season. The methodology point estimation the soil properties with a total appraisal (humus content and the maximum possible reserves of productive moisture in meter soil layer and content of mobile phosphorus and exchangeable potassium in the upper soil layer) on the example of brownish-podzolic gley soil Storozhinetskiy estimated land area Chernivtsi region by occupation non-drained pasture, drained arable land and drained pasture have been tested. It was determined the parameters maximum possible reserves of productive moisture in the meter layer of soil investigated different land use in the calculation and the experimental method of determination and their point estimation in relation to the national standard. Was followed influence the parameters of maximum possible reserves of productive moisture in the meter soil layer determined by two methods on the value of the total estimation of the soil.

Keywords: estimation of soil, productive moisture, natural and agricultural zoning, appraisal methodology estimation of soil, criteria of estimation, land evaluation area, the mobile phosphorus, potassium exchange, point estimation, brownish-podzolic gley soil, non-drained pasture, drained pasture, drained arable land, provision of moisture, drainage reclamation.

Одержано редколегією 23.12.2013

УДК: 574.52(265.2)

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ СЕСТОНА НА ГИДРОФИЗИЧЕСКОМ ПОЛИГОНЕ ТРОПИЧЕСКОЙ ЗОНЫ ТИХОГО ОКЕАНА

Г. Ю. КОЛОМЕЙЧЕНКО, С. А. ПЕТРОВ

*Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
пер. Шампанский, 2, г. Одесса, Украина, 65058
e-mail: Xenia2002@mail.ru*

Приведены результаты определения активности щелочной фосфатазы сестона поверхности вод северо-восточной части тропической зоны Тихого океана. Результаты данных исследований необходимо для определения экологического фона на гидрофизическом полигоне при геолого-разведочных работах в Тихом океане. Выявленное содержание белка в фотическом слое тропической зоны отражает продуктивность данной акватории и может быть использовано при биомониторинге.

Ключевые слова: щелочная фосфатаза, сестон, фотический слой, белок, термоклин.

Введение. В районе гидрофизического полигона в Тихом океане на разрезе по 133° з.д. 5° с.ш. по 16° с.ш. и на полигоне с координатами 131° 20' з.д., 12° с.ш.; 133° 20' з.д., 12° с.ш.; 133° 20' з.д., 16° с.ш.; 131° 20' з.д., 16° с.ш. проведены исследования щелочной фосфатазы сестона на поверхности и двух горизонтах термоклина.

Для правильной оценки воздействия антропогенных факторов на экосистемы необходимо оценивать различные физиолого-биохимические показатели (Маляревская А.Я., 1985.; Черханов Ю.П., 1982; Коломейченко Г.Ю., Семёнова О.А., 2010). В последнее время используют фосфатазную активность сестона для оценки состояния водных экосистем. Фосфатазная активность связана с численностью гидробионтов и их физиологическим состоянием. Активность внеклеточных ферментов гидробионтов является показателем степени эвтрофикации водной среды.

Материалы и методы. В период 44-го рейса НИСП «Григорий Ушаков» в районе гидрофизического полигона государственного океанографического научно-исследовательского института, расположенного в северо-восточной тропической зоне Тихого океана, наряду с гидрологическими и гидробиологическими наблюдениями, были проведены биохимические эксперименты. Определялся уровень активности фосфатазы, как показателя эвтрофикации региона и содержания белка, характеризующем продуктивность в фотическом

слое. Сестон отбирался с поверхности верхней границы термоклина и нижней границы термоклина гидрозондом (Цыбань А.В., 1980).

Фосфатазную активность определяли по методу Левицкого (Левицкий А.П. и др., 1973), белок определяли по методу Лоури (Lowry О.Н., 1951). Полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке (Гордон А., 1976).

Результаты и обсуждение. Поверхностный слой в этой зоне развит до глубины 60-70 м, что характерно для восточных районов экваториальной структуры. Интенсивное выпадение осадков превышает испарение. Как следствие, поверхностный слой относительно опреснен, значение солёности в нем изменяются в диапазоне 33,56-34,66 ‰. Распределение солёности по горизонтали характеризует изменчивость 33,56-34,62 ‰. Нижняя граница поверхностного гомологического слоя совпадает с верхней границей сезонного термоклина. Максимум солёности на глубине 75-80 м (34,65-34,80 ‰). Второй максимум – на глубине 150-200 м (34,79-34,76 ‰). Минимум – на глубине 100-150 м северного происхождения. Активность щелочной фосфатазы на разрезе (Табл. 1) значительно изменяется от $1,79 \pm 0,40 \text{ мкМ} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ на 12° с.ш. до $20,04 \pm 3,83 \text{ мкМ} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ на 5° с.ш.

На гидрофизическом полигоне активность щелочной фосфатазы определялась на трех горизонтах (Табл. 2). На поверхности активность

щелочной фосфатазы определялась от $3,56 \pm 0,75$ $\mu\text{M}\cdot\text{мг}^{-1}\cdot\text{мин}^{-1}$ на станции 18, до $38,81 \pm 14,31$ $\mu\text{M}\cdot\text{мг}^{-1}\cdot\text{мин}^{-1}$ на станции 17, находившейся на севере полигона. На большинстве станций полигона активность щелочной фосфатазы на поверхности была в пределах $10\text{-}20$ $\mu\text{M}\cdot\text{мг}^{-1}\cdot\text{мин}^{-1}$.

Таблица 1.

*Активность щелочной фосфатазы сестона поверхностных вод на разрезе, $\mu\text{M}\cdot\text{мг}^{-1}$ белка·мин⁻¹**

Table 1.

*Alkaline phosphatase activity of the sestone of surface water on the cut, $\mu\text{M}\cdot\text{mg protein}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ **

№ станции	Координаты	Дата	Время	Поверхность
				$M \pm m$
1	130° з.д. 5° с.ш.	28.05	16.00	$4,39 \pm 1,63$
2	133° з.д. 5° с.ш.	30.05	09.00	$20,04 \pm 3,83$
3	133° з.д. 7° с.ш.	31.05	14.00	$11,03 \pm 6,19$
4	133° з.д. 9° с.ш.	1.06	07.00	$9,98 \pm 1,83$
5	133° з.д. 11° с.ш.	1.06	23.00	$2,45 \pm 0,54$
6	133° з.д. 12° с.ш.	2.06	13.00	$1,75 \pm 0,40$

* $P < 0,05$

На большинстве станций верхней границы термоклина активность щелочной фосфатазы была ниже, чем на поверхности. Такая же тенденция отмечалась и на нижней границе термоклина. Это, по-видимому, связано с качественным составом сестона, который изменяется с глубиной. Содержание общего белка в сестоне поверхностного слоя на разрезе

пересекающем внутритропический гидрофронт было довольно однородно и колебалось в пределах от $2,18 \pm 0,15$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ до $4,78 \pm 1,30$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ (Табл. 3) содержания белка. На гидрофизическом полигоне содержание белка (Табл. 3) определялась в сестоне поверхностного слоя в пределах от $0,63 \pm 0,18$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на севере полигона и до $2,35 \pm 0,20$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на юге полигона. В сестоне, взятом с верхней границы термоклина, содержание общего белка было в пределах $0,78 \pm 0,01$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на станции 17 с координатами 131° з.д. и 13° с.ш. и $2,51$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на станции 15 с координатами 132° з.д. и 16° с.ш., а также $2,53 \pm 0,07$ на станции 8 и $2,30 \pm 0,41$ на станции № 9 на юге полигона. На остальных станциях содержание общего белка сестона, отобранного с верхней границы термоклина, квазиоднородно. Сестон, отобранный на нижней границе термоклина, содержал от $0,75 \pm 0,05$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ белка на севере полигона и до $3,55 \pm 0,51$ $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на юге исследуемого района.

Выводы:

1. Определение фосфатазной активности в сестоне на гидрофизическом полигоне необходимо для определения экологического фона при геолого-разведочных работах в Тихом океане.

2. Содержание белка в фотическом слое тропической зоны отражает продуктивность данной акватории и может быть использовано при биомониторинге.

3. Содержание белка в пробах сестона зависит от глубины и положений станций отбора.

Табл. 2.

*Активность щелочной фосфатазы сестона на горизонтах гидрофизического полигона, $\mu\text{M}\cdot\text{мг}^{-1}$ белка·мин⁻¹**

Tab. 2.

*Alkaline phosphatase activity of the seston on the horizons of hydrophic proving ground, $\mu\text{M}\cdot\text{mg protein}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ **

№ станции	Координаты	Дата	Время	$M \pm m$				
				поверхность	ВГТ		НГТ	
7	131° з.д. 13° с.ш.	8.06	11.30	$21,45 \pm 4,24$	35 м	$6,93 \pm 0,01$	150 м	$6,66 \pm 1,15$
8	131° з.д. 12° с.ш.	8.06	23.00	$3,56 \pm 0,75$	40 м	$12,10 \pm 2,77$	140 м	$2,92 \pm 0,44$
9	132° з.д. 14° с.ш.	9.06	22.15	$10,12 \pm 2,77$	60 м	$5,07 \pm 1,46$	150 м	$3,31 \pm 0,23$
10	132° з.д. 12° с.ш.	10.06	08.00	$17,50 \pm 4,64$	45 м	$11,97 \pm 4,65$	135 м	$7,72 \pm 0,43$
11	133° з.д. 13° с.ш.	10.06	16.30	$16,47 \pm 5,91$	40 м	$17,45 \pm 1,53$	145 м	$13,97 \pm 2,94$
12	133° з.д. 12° с.ш.	10.06	00.30	$17,82 \pm 4,43$	60 м	$10,28 \pm 3,60$	140 м	$15,73 \pm 1,26$
13	133° з.д. 13° с.ш.	11.06	17.00	$11,10 \pm 5,32$	70 м	$9,35 \pm 3,15$	170 м	$10,41 \pm 0,52$
14	133° з.д. 14° с.ш.	11.06	11.30	$9,35 \pm 3,16$	60 м	$11,10 \pm 3,50$	150 м	$15,27 \pm 2,51$
15	133° з.д. 15° с.ш.	12.06	22.30	$15,22 \pm 3,83$	70 м	$10,78 \pm 8,64$	150 м	$9,31 \pm 0,71$
16	133° з.д. 16° с.ш.	13.06	08.00	$4,49 \pm 1,31$	55 м	$3,90 \pm 1,89$	160 м	$14,20 \pm 0,72$
17	132° з.д. 15° с.ш.	14.06	10.00	$38,80 \pm 14,91$	80 м	$12,33 \pm 1,25$	155 м	$11,66 \pm 0,88$
18	132° з.д. 16° с.ш.	14.06	21.00	$28,69 \pm 2,24$	85 м	$17,93 \pm 5,18$	195 м	$26,07 \pm 1,93$

ВГТ – верхняя граница термоклина в метрах

НГТ – нижняя граница термоклина в метрах

* $P < 0,05$

Таблиця 3.
Содержание общего белка в сестоне
поверхностного слоя на разрезе, $M \pm m$; $mg \cdot L^{-1}$ *

Table 3.
The total protein content in the surface layer on the
seston sectional, $M \pm m$; $mg \cdot L^{-1}$ *

№ стан-ции	Координаты	Дата	Время	$M \pm m$
1	130° з.д. 5° с.ш.	28.05	16.00	4,75 ± 1,30
2	133° з.д. 5° с.ш.	30.05	09.00	2,81 ± 0,48
3	133° з.д. 7° с.ш.	31.05	14.00	29,0 ± 0,46
4	133° з.д. 9° с.ш.	01.06	07.00	2,18 ± 0,15
5	133° з.д. 11° с.ш.	01.06	23.00	4,02 ± 1,11
6	133° з.д. 12° с.ш.	02.06	13.00	3,37 ± 1,10

* $P < 0,05$

Список литературы:

1. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим воздействиям // Гидробиологический журнал. – 1985. – Т. 3. – С. 70-82.
2. Черханов Ю.П. Задачи фонового мониторинга окружающей природной среды и их информативное обеспечение // Банки данных в

- геофизике // Материалы с Международного симпозиума, г. Москва. – 1982. – С. 93-101.
3. Коломейченко Г.Ю., Семёнова О.А. Адаптация внутриклеточных организмов // г. Одесса. – 2010. – 87 с.
 4. Агатова Л.Н., Саноисников В.В., Винтович В.Р. Влияние активности фосфатазы на скорость минерализации фосфора и его круговорот в продукционно-деструкционном цикле.
 5. Хоминская Н.В. Активность фосфатазы фитопланктона в Киевском и Кременчутском водохранилище // Гидробиологический журнал. – 1984. – Т. 20. – № 6. – С. 84-89.
 6. Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений / Цыбань А.В. – А.: Гидролит. издат, 1980. – 192 с.
 7. Левицкий А.П., Марченко А.П., Рыбак Т.А. Спектрометрический метод определения активности фосфатазы по П.Б. (1946) в модификации Левицкого / «Лабораторное дело». – 1973. – № 10. – С. 626.
 8. Lowry O.H. Protein meagurment With the folin – Phenol meagent // I. Biol. Chem 1951. – Vol. 193. – № 3. – P. 265-274.
 9. Гордон А. Спутник химика. – М.: Мир, 1976. – С. 514-517.

АКТИВНІСТЬ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ СЕСТОНУ НА ГІДРОФІЗИЧНОМУ ПОЛІГОНІ ТРОПІЧНОЇ ЗОНИ ТИХОГО ОКЕАНУ

Коломєйченко Г.Ю., Петров С.А.

Наведено результати визначення активності лужною фосфатази сестону поверхні вод північно-східної частини тропічної зони тихоого океану. Результати даних досліджень необхідно для визначення екологічного фону на гідрофізичному полігоні при геолого-розвідних роботах у тихому океані. Виявлений вміст білка у фотичном шарі тропічної зони відображає продуктивність даної акваторії і може бути використане при біомоніторингу.

Ключові слова: лужна фосфатаза, сестон, фотичний шар, білок, термоклін.

Одержано редколегією 25.08.2014

БІОХІМІЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ, МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА

- Ю. М. БАШТА, Д. О. МІНЧЕНКО, О. О. РАТУШНА, Y. M. BASHTA, D. O. MINCHENKO, O. O. RATUSHNA, O. V. KOVALEVSKA, O. H. MINCHENKO** ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ **O. V. KOVALEVSKA, O. H. MINCHENKO** EXPRESSION OF PROTEIN PHOSPHATASE DUSP GENES IN SUBCUTANEOUS CHOLOVİKIV З ОЖИРНІЯМ ТА НОРМАЛЬНОЮ АБО ADIPOSE TISSUE OF OBESE MEN WITH NORMAL AND ПОРУШЕНОЮ ТОЛЕРАНТНІСТЮ ДО ГЛЮКОЗИ IMPAIRED GLUCOSE TOLERANCE 3
- Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. БУЧКОВСЬКА, G. P. KOPYLCHUK, I. M. BUCHKOVSKA, Н. Л. БОРЩОВЕЦЬКА, Н. В. ЧОПИК** АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ **N. L. BORSCHOVETSKA, N. V. CHOPYK** THE ACTIVITY OF СИНТЕЗУ ТА КОН'ЮГАЦІЇ ГЛУТАТІОНУ В ГЕПАТОЦИТАХ GLUTATHIONE SYNTHESIS AND CONJUGATION ENZYMES IN ЩУРІВ ЗА УМОВ НИЗЬКОПРОТЕЇНОВОГО РАЦІОНУ ТА RAT HEPATOCYTES UNDER CONDITIONS OF LOW-PROTEIN ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ DIET AND ACUTE LIVER INJURY 10
- С. В. ВЕРЬОВКА, Н. Г. РАКША, О. М. САВЧУК** АКТИВАЦІЙНА ДІЯ СОРБОВАНОГО ПЛАЗМІНУ. **S. V. VEREVKA, N. G. RAKSHA, A. N. SAVCHUK** ACTIVATION ЕФЕКТУ ПЛАЗМІНУ. **MODELLING IN VITRO** EFFECT OF THE SORBED PLASMIN. MODELLING *IN VITRO* 16
- О. М. ВОЛОЩУК, Г. П. КОПИЛЬЧУК, О. М. КОМІНКО** АКТИВНІСТЬ NAD^+ -ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ ЦИКЛУ КРЕБСА **O. M. VOLOSHCHUK, G. P. KOPYLCHUK, O. M. KOMINKO** THE ACTIVITY OF KREBS CYCLE NAD^+ -DEPENDENT DEHYDROGENASES UNDER CONDITIONS OF PROTEIN АЛІМЕНТАРНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ ПРОТЕЇНУ ALIMENTARY DEPRIVATION 20
- О. В. КУШНІРИК, М. М. МАРЧЕНКО, О. І. ХУДИЙ, Л. М. О. V. KUSHNIRYK, M. M. MARCHENKO, O. I. KHUYDI, ВАСІНА, Л. В. ХУДА, О. М. КАВУЛЯ** ЗАСТОСУВАННЯ **L. M. VASINA, L. V. KHUDA, O. M. KAVULYA** THE CAROTIN SYNTHESIZING DRİDЖІВ **RHODOTORULA** APPLICATION OF YEAST *RHODOTORULA GLUTINIS* FOR GLUTINIS ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ДАРНІА ОБТУСА KURZ, CULTIVATION OF *SIMOCEPHALUS VETULUS* (MÜLLER, 1776) 1875 У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ UNDER THE LABORATORY CONDITIONS 24
- Я. А. ГАРМАШ, Д. О. МІНЧЕНКО, Д. О. КОМПАНИЄЦЬ, I. A. GARMASH, D. O. MINCHENKO, D. O. KOMPANIETS, А. О. КУЛІНІЧ, О. В. КОВАЛЕВСЬКА, О. Г. МІНЧЕНКО** АКУТНИЙ ДЕФІЦИТ ГЛУТАМІНУ ЗМІНЮЄ ЕКСПРЕСІЮ **A. O. KULINICH, O. V. KOVALEVSKA, O. H. MINCHENKO** ACUTE L-GLUTAMINE DEPRIVATION AFFECTS THE ГЕНІВ ПЕНТОЗО-ФОСФАТНОГО ШЛЯХУ У КЛІТИНАХ EXPRESSION OF G6PD, GPI, TKT, TALDO1, PGLS AND RPIA ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87: ЕФЕКТ ВИКЛЮЧЕННЯ ERN1 GENES IN U87 GLIOMA CELLS: EFFECT OF ERN1 KNOCKDOWN 30
- Я. Б. РАЄЦЬКА, Т. В. ПІЩУК, О. І. ДЖУС, О. М. САВЧУК, Л. І. ОСТАПЧЕНКО** ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ **YA. B. RAETSKA, T. V. ISCHUK, O. I. DZHUS, O. M. SAVCHUK, L. I. OSTAPCHENKO** EXPERIMENTAL MODELING OF 1ST AND ЛУЖНОГО ОПІКУ І ТА ІІ-ГО СТУПЕНЮ СТРАВОВОДУ У 2ND DEGREES ALKALI ESOPHAGUS BURN IN IMMATURE RATS СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ 39

ЕКОЛОГІЯ

- М. П. ЗАМОРОВА, В. В. ЗАМОРОВ** ЖИВЛЕННЯ КАРАСЯ **M. P. ZAMOROVA, V. V. ZAMOROV** FEEDING OF COMMON СРІБЛЯСТОГО *CARASSIUS GIBELIO* В ПРИДУНАЙСЬКИХ PRUSSIAN CARP *CARASSIUS GIBELIO* IN THE DANUBE LAKES ОЗЕРАХ ЯЛПУГ І КУГУРЛУЙ YALPUG AND KUGURLUY 45
- Д. Є. РЕШЕТНЯК** ЧИ ВИНИЩУЄ *HARPALUS RUFIPES* **D. E. RESHETNYAK** DOES *HARPALUS RUFIPES* (COLEOPTERA, (COLEOPTERA, CARABIDAE) БУР'ЯНИ АБО ЦІЛЬОВІ CARABIDAE) EXTERMINATE WEEDY OR TARGET PLANTS OF РОСЛИНИ В АГРОЦЕНОЗАХ? AGROCENOSSES? 52

БОТАНІКА. ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОТИ І БІОРЕСУРСІВ

- Л. І. БОЙКО** ІСТОРІЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ІНТРОДУКЦІЇ **L. I. BOYKO** HISTORY AND PROSPECTS OF AN INTRODUCTION ВИДІВ РОДУ *PITTIOSPORUM BANKS EX SOL* В УМОВАХ OF SPECIES OF THE *PITTIOSPORUM BANKS EX SOL* GENUS IN ЗАЩИЩЕНОГО ҐРУНТУ КРИВОРІЗЬКОГО БОТАНІЧНОГО THE CONDITIONS OF THE PROTECTED SOIL OF KRYVVI RIG САДУ НАН УКРАЇНИ BOTANICAL GARDEN NAS OF UKRAINE 56
- Ю. С. ПЕРЕГРИМ** ІНТРОДУКЦІЯ РІДКІСНИХ І ЗНИКАЮЧИХ **YU. S. PEREGRYM** THE INTRODUCTION OF RARE AND ВИДІВ РОДУ *ASTRAGALUS L.* (FABACEAE) ПРИРОДНОЇ ENDANGERED SPECIES OF GENUS *ASTRAGALUS L.* (FABACEAE) OF NATURAL FLORA OF UKRAINE: PROGRESS AND ФЛОРИ УКРАЇНИ: УСПІХИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ PROSPECTS 64
- І. Г. ОЛЬШАНСЬКИЙ** РІД *ALNUS* MILL. (BETULACEAE) **I. G. OLSHANSKYI** GENUS *ALNUS* (BETULACEAE) IN THE ФЛОРИ УКРАЇНИ FLORA OF UKRAINE 72
- В. В. БУДЖАК, Т. С. ДВІРНА** КАРТУВАННЯ ВИДІВ **V. V. BUDZHAK, T. S. DVIRNA** MAPPING OF ALIEN PLANT АДВЕНТИВНИХ РОСЛИН РОМЕНСЬКО-ПОЛТАВСЬКОГО SPECIES OF ROMENS-POLTAVA GEOBOTANIC AREA ГЕОБОТАНІЧНОГО ОКРУГУ 78

ҐРУНТОЗНАВСТВО

- Р. П. ВІЛЬНИЙ** МІКРОБІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ **R. P. VILNYI** MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF TYPICAL ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО ЗА РІЗНИХ СПОСОБІВ ОБРОБІТКІВ CHERNOZEM UNDER DIFFERENT TILLAGE ҐРУНТУ 82
- І. С. СМАГА** ВПЛИВ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ **I. S. SMAHA** EFFECT OF METHODS FOR DETERMINATION THE ВОЛОГОЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ НА БОНІТЕТ БУРВАТО- PROVISION OF MOISTURE ON THE ESTIMATION BROWNISH- ПІДЗОЛИСТИХ ПОВЕРХНЕВО-ОГЛЕСНИХ ҐРУНТІВ PODZOLIC GLEY SOIL OF PRECARPATHIANS ПЕРЕДКАРПАТТЯ 89

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

- Г. Ю. КОЛОМЕЙЧЕНКО, С. А. ПЕТРОВ** АКТИВНОСТЬ **G. YU. KOLOMEYCHENKO, S. A. PETROV** ALKALINE ЩЕЛОЧНОЇ ФОСФАТАЗИ СЕСТОНА НА PHOSPHATASE ACTIVITY OF THE SESTON AT THE ГІДРОФІЗИЧЕСКОМ ПОЛИГОНЕ ТРОПІЧЕСКОЇ ЗОНИ HYDROPHISIC PROVING GROUND OF PACIFIC OCEAN ТИХОГО ОКЕАНА TROPICAL AREA 93